

УДК 576.535+591.39+612.119

*Д.І. Білько, Н.М. Білько*

*Національний університет «Києво-Могилянська академія», м. Київ*

## **ПОТЕНЦІЙНІ МОЖЛИВОСТІ РАННІХ ЕМБРІОНАЛЬНИХ КЛІТИН ФОРМУВАТИ ГЕМОПОЕТИЧНІ КЛІТИНИ В КУЛЬТУРІ ТКАНИН IN VITRO**

Ембріональні стовбурові клітини (ЕСК) є плюрипотентними. Нещодавно показано, що ЕСК можуть диференціюватися у різні спеціалізовані клітини і моделювати процес раннього ембріогенезу. Досліджували ЕСК методом «висячої краплі» *in vitro*. Цистоподібні утворення, які отримали назву «ембріодні тільця», формувалися у спеціальних умовах за наявності комплексу ростових факторів. Проаналізували шляхи диференціювання ЕСК у гемопоетичні. Результати розглядаються як підґрунтя для розробки моделі дослідження ранніх подій у ембріогенезі і пошуку шляхів для накопичення соматичних попередників і диференційованих клітин для трансплантацій.

**Ключові слова:** ембріональна стовбурова клітина, культура *in vitro*, ембріодні тільця, гемопоез, трансплантація.

Ідентифікація умов диференціювання, яка б забезпечувала комітування ембріональних стовбурових клітин (ЕСК) у різні клітини, і особливо пошуки шляхів для управління цими процесами є найбільш вагомим та бажаним методом досліджень, пов'язаних з культивуванням клітин. Культуру ЕСК ссавців у лабораторії вперше вдалося отримати у 1981 р. та лише через майже 20 років (у 1998 р.) вдалося отримати стовбурову плюрипотентну клітину з раннього ембріона людини. Проте вже через декілька років після цього відкриття стало відомо, що ЕСК здатна не лише до широкого диференціювання, а й має потенціал замінювати клітини багатьох органів та тканин: серцевої, панкреатичної і навіть нервової [1, 2].

Дослідженнями останніх років доведено існування тотипотентної ЕСК як родоначальника всіх клітинних популяцій та організму в цілому [3–6]. Розробка ембріональних клітинних ліній сприяла вивченню клітин різних напрямків диференціювання поза організмом за умов культивування *in vitro*. Doetchman у 1985 р. повідомив про те, що диференціювання ЕСК у суспензійній культурі може дати ріст еритроцитів *in vitro* [7]. Інші дослідники описали наявність макрофагів, лімфоцитів, нейтрофілів та тучних клітин під час диференціювання ЕСК у культурі *in vitro* [2]. Є недавні повідомлення про довготривалий лімфопоез

опромінених мишей, яким вводили диференційовані ЕСК як джерело кровотворних клітин [8].

Нещодавно в культурі ембріональних клітин за наявності комплексу ростових факторів отримані цистоподібні утворення, які назвали «ембріодними тільцями». Вони є аналогами жовткового мішка на ранніх етапах розвитку ембріона і утворюються плюрипотентними стовбуровими клітинами [9–11]. Дані щодо розвитку гемопоетичних клітин з ембріодних тілець суперечливі. Частина вчених стверджують, що гемопоез з'являється на 8–10-ту добу [12], інші — на 4-ту добу [13]. Невідомо, коли саме виникають перші кровотворні клітини, який шлях диференціювання вони обирають, яка їх функціональна активність, немає вичерпної інформації про те, як впливають ці чи інші комплекси цитокінів на напрям диференціювання клітин і його інтенсивність. Для досягнення цієї мети необхідні моделі для вивчення основ молекулярного і клітинного контролю гемопоезу в нормі і патології, які могли би поглибити розуміння фундаментальних подій розвитку ембріона, причин вроджених дефектів і шляхів їх виправлення або запобігання.

**Матеріал і методи.** Як джерело плюрипотентних ембріональних клітин використовували ES-клітини [10, 13]. Лінію плюрипотентних ембріональних мишиних клітин

© Д.І. Білько, Н.М. Білько, 2011

(wild type  $D_3 R_1$ ) підтримували у недиференційованому стані кокультуванням з міотично інактивованими фібробластоподібними клітинами ембріона миші. Щільність клітин доводили до  $3 \cdot 10^4$ /мл культуральним середовищем (Iscove's IMDM, 20 % фетальної сироватки, 2 мМ L-глутамін, 1,2 мМ L-монотіогліцерол). Додавали 100 Од/мл лейкемієінгібуючого фактора DIA/LIF (Sigma).

Культування клітин проводили методом «вісячої краплі» [14, 15]. У  $9 \text{ см}^2$  пластикову чашку Петрі на дно поміщали 10 мл дистильованої води. На внутрішню поверхню кришки переносили краплини із суспензією клітин по 20 мкл, дотримуючись помірної дистанції, щоб уникнути злиття (приблизно 75–80 крапель може розміститися на 1 кришці). Кришку перегортали і закривали нею чашку. Переносили чашку в  $\text{CO}_2$ -інкубатор (7,5 %) за умов абсолютної вологості та культивували вісячі краплини 2 дні. Після 2 днів культивування ЕСК розміщали на вершині вісячої краплини та проліферували, утворюючи однорідні сферичні тіла однакових розмірів, тобто ембріодні тільця.

Зміна середовища відбувалася кожні 2 дні. Нарощування маси ембріодних тілець (100 агрегатів/мл) проводили у повному живильному середовищі за наявності LIF у мікробіологічних чашках Петрі ( $9 \text{ см}^2$  у діаметрі), до яких агрегати не прикріплюються. Через 3–5 діб ЕТ переносили у желатинізовані 96-коміркові планшети, по одному ЕТ на комірку. Частина комірок залишали для культивування протягом місяця, замінюючи середовище кожні 2–3 дні. Для аналізу виходу клітин гемопоетичного напрямку диференціювання кожного дня супернатант центрифугували і робили препарати на предметних скельцях. Забарвлення проводили за Романовським–Гімзою. Препарати готували на цитоцентрифузі Shandon 3 (USA) і аналізували під світловим мікроскопом фірми Zeiss (Німеччина).

**Результати та їх обговорення.** Культивування ранніх ембріональних клітин миші в культурі *in vitro* призводило до формування ЕТ на другу добу інкубації. ЕТ нагадували сферичні цисти розміром декілька сот мікрон. «Дозрівання» ЕТ протягом 3–4 діб у мікробіологічних планшетах досяглося за наявності LIF, а індукція диференціювання відбувалася шляхом переносу ЕТ у желатинізовані 96-коміркові планшети, де з живильного середовища був видалений LIF, що спричиняло інтенсифікацію спонтанного

диференціювання клітин у кардіоміоцитарному напрямку, які виявляли завдяки ритмічним синхронізованим скороченням частин ЕТ та появою нервових клітин, згідно з їх морфологічною характеристикою і експресією відповідних генів. За допомогою використання спеціалізованих специфічних моноклональних антитіл групою дослідників у цих клітинах досліджувалася експресія генів міозину, нестину і променіну [16]. Одночасно з ЕТ у процесі їх культивування у повному живильному середовищі нами були отримані і гемопоетичні клітини [16, 17]. Раніше автори вважали, що гемопоетичний напрям диференціювання можна дослідити тільки зі зруйнованих ЕТ. Ріст еритроїдних клітин у культурі з ембріодних тілець був описаний Keller у 1995 р., але у пізніші строки (8–9-й день) [12].

Кілька закономірностей виявлено під час культивування ЕТ щодо гемопоезу. По-перше, за оптимальних умов гемопоетичні клітини визначаються у більшості випадків. Так, при культивуванні у 96-коміркових планшетах гемопоетичні клітини знаходили у 70–80 % комірок. По-друге, комітування у гемопоез відбувається при відсутності ростових факторів за виключенням тих, які знаходяться у фетальній телячій сироватці. Культивування у *serum-free* культурах демонструвало незначне гемопоетичне комітування. Дослідники пов'язують цей факт із наявністю у сироватці BMP-4 (*bone morphogenetic protein 4*), який індукує гематопоез у ЕТ [12].

Крім того, не можна заперечувати, що саме ЕТ забезпечує мікрооточення та суміш паракринних факторів, які сприяють гемопоезу. Підтвердженням цьому є наявність експресії генів відповідних ростових факторів і рецепторів ростових факторів, які експресуються у процесі розвитку ЕТ [10]. По-третє, виявилось, що черговість подій у ембріоні і ЕТ співпадають. Так, відомо, що вперше великі ядерні еритроїдні клітини у миші з'являються у кровотворних островках жовткового мішка на 7–8-й день гестації. Вони містять ембріональні форми глобіну і представляють головну популяцію серед гемопоетичних клітин у період раннього розвитку. Згідно з класичними уявленнями, на 9–10-й день ріст бластоподібних і примітивних еритроїдних клітин продовжує підтримуватись у фетальній печінці. Те ж саме ми спостерігали і при культивуванні ЕТ (рис. 1). На відміну від подій у фетальній печінці поява ранньої еритроїдної популяції

у межах ЕТ припадає на 4-ту добу диференціювання. У той самий час виявляються і поодинокі мієлоїдні клітини, які згодом переважають, саме на 10–12-й день, коли зовсім зникає примітивна еритроїдна популяція як *in vitro*, так і *in vivo*.

мікроскопічного дослідження. І у зв'язку з тим що вони не визначаються під світловим мікроскопом безпосередньо і не відрізняються за кольором, як еритроцити, складається думка, що гемопоетичні клітини у цей час відсутні.

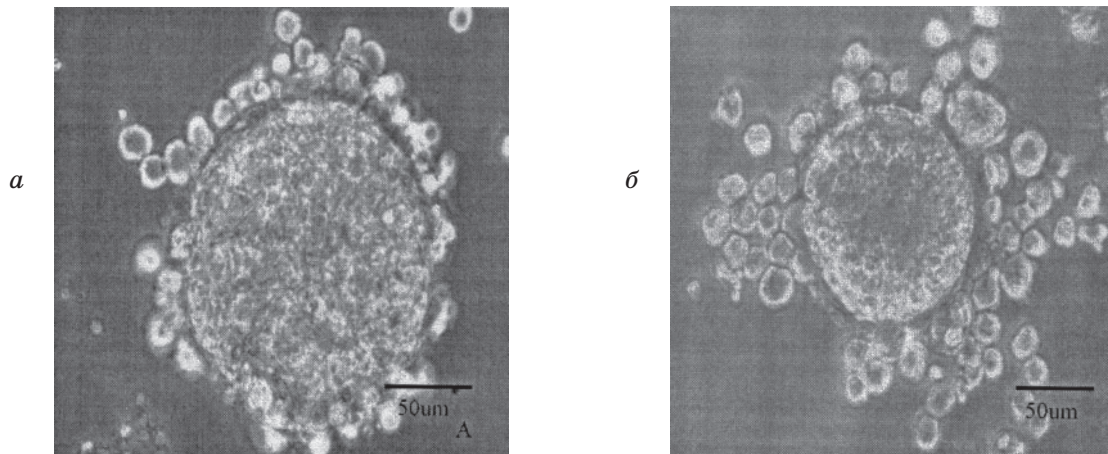


Рис. 1. ЕТ, отримані з ембріональної стовбурово-клітинної лінії wild D<sub>3</sub> R<sub>1</sub> у різні терміни культивування *in vitro*: а — 7 діб; б — 14 діб. Інвертований мікроскоп, × 600

Результати роботи свідчать про те, що механізми, які залучені до формування системи гемопоезу *in vivo*, функціонують і *in vitro*. Лімфоїдні клітини протягом культивування не виявлялись. Проте є повідомлення, що вони з'являються пізніше, ніж еритроїдна і гранулоцитарно-макрофагальна популяція, на 15–20-й день і складають 10 % від мієлоїдної популяції. Для їх отримання потрібні спеціальні умови, такі як фідерний шар зі стромальних клітин, середовище із низьким вмістом кисню чи іморталізація з ретровірусом [16].

Ми отримали гемопоетичні клітини з супернатанту, тобто з середовища, яке покривало ЕТ під час культивування. Нами було проведено морфологічний аналіз клітинних елементів з супернатанту на препаратах, виготовлених на цитоцентрифузі (рис. 2). Виявилось, що гемопоез ЕТ на зазначених термінах культивування був представлений бластоподібними клітинами, макрофагами і зрілими мієлоїдними формами. Перенесення цих клітин у наступну культуру з напіврідким агаром із додаванням гранулоцитарно-макрофагального фактора показало, що перенесені клітини є клонотипними та колонієутворюючими одиницями [3]. Ефективність клонування гемопоетичних клітин-попередників визначалась за про-

Отримані нами дані вказують на те, що гемопоетичні клітини мігрують з ембріоїдного тільця одночасно з нервовими, але вони не виявляються за морфологією під час

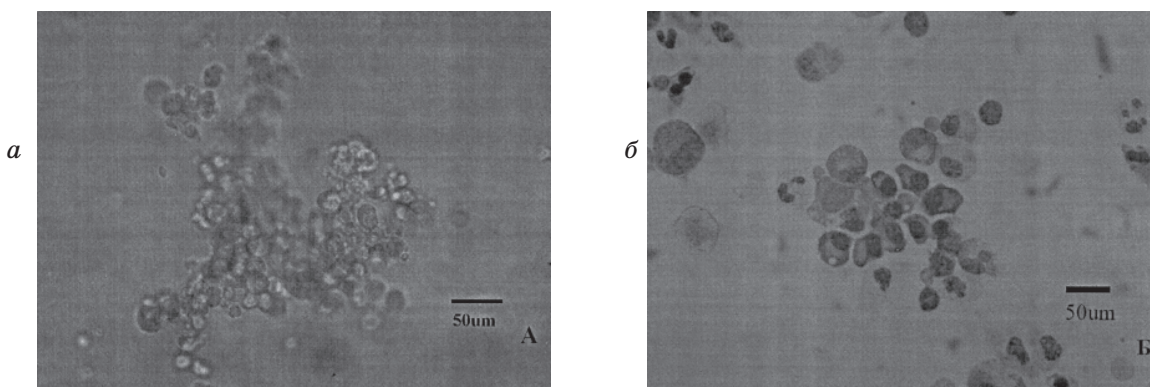


Рис. 2. Колонія в напіврідкому агарі, яка виросла з клітин супернатанту культури ЕТ на 2-й день після прикріплення до поверхні комірки ЕТ, інвертований мікроскоп, × 400 (а). Гемопоетичні (еритроїдна і гранулоцитарні) клітини, виділені з цієї колонії, забарвлення за Романовським–Гімзою, × 900 (б)

центним співвідношенням до експлантованих ЕТ. Виходячи з того, що в 1 комірку падає 1 ЕТ, наявність кровотворних клітин була відмічена у 70–80 % комірок.

Використання іншого шляху визначення клоногенних кровотворних клітин (руйнування ембріодних тілець) з наступним культивуванням отриманих клітин у напіврідкому агарі *in vitro* призводило до формування у культурі малих компактних колоній починаючи вже з першої доби. Ці колонії склалися з недиференційованих малих за розміром бластоподібних клітин, які надалі не продукували гемопоетичних клітин. Вважається, що саме ці колонії є мірилом мультипотентності клоногенних клітин. Тільки пізніше, на 4-й день культивування визначалися перші гемопоетичні колонії з комітованих клітин-попередників. Великі колонії визначалися у процесі диференціювання у двотижневий термін. Важливо відмітити, що кількість колоній, які продукувались, була відносно малою по відношенню до кількості зруйнованих ЕТ. Так, одне зруйноване ЕТ забезпечувало ріст 1 або 2 гемопоетичних колоній ( $1,5 \pm 0,5$ ). Їх кількість не підвищувалась зі збільшенням терміну культивування і вірогідно не відрізнялась від результатів культивування на наступні дні ( $p < 0,05$ ).

Еритроїдні гемоглобінізовані колонії в культурі визначалися на 8-й день. Їх кількість не перевищувала колонієутворення гранулоцитарно-макрофагальних попередників і дорівнювала відповідно  $1,2 \pm 0,3$ . Між іншим, завдяки червоному кольору саме ці колонії вперше були описані Keller у 1993 р. [8], який пов'язав їх появу з початком гемопоезу, хоча це був вже результат диференціювання еритроїдних клітин протягом кількох днів.

#### Список літератури

1. Тотипотентная стволовая клетка и гемопоез / Н. М. Билько, К. Брумбаров, М. Кросс, А. Вобус // Ветеринарная патология. — 2003. — № 1 (5). — С. 22–24.
2. Brook F. A. The origin and efficient derivation of embryonic stem cells in the mouse / F. A. Brook, R. L. Gardner // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1997. — V. 94. — P. 5709–5712.
3. Cerdan C. Formation and hematopoietic differentiation of human embryoid bodies by suspension and hanging drop cultures / C. Cerdan, S. H. Hong, M. Bhatia // Current Protocols in Stem Cell Biology. — 2007. — Ch. 1. — Unit 1D.2.
4. Cheng L. Sustained gene expression in retrovirally transduced, engrafting human hematopoietic stem cells and their lympho-myeloid progeny / L. Cheng, C. Du // Blood. — 1998. — V. 92. — P. 83–92.
5. The *in vitro* development of blastocyst-derived embryonic stem cell lines: formation of visceral yolk sac, blood islands and myocardium / T. C. Doetschman, H. Eistetter, W. Katz [et al.] // J. Embryol. Exp. Morphol. — 1985. — V. 87. — P. 27–45.
6. Evans M. J. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos / M. J. Evans, M. H. Kaufman // Nature. — 1981. — V. 292. — P. 154–156.

Таким чином, аналіз результатів культуральних досліджень показав, що гемопоез в культурі *in vitro* починається вже в перші дні після адгезії ЕТ до желатинізованої поверхні комірки одночасно з кардіоміоцитами і нервовими клітинами, які в цей термін описували Wobus зі співавт. [15]. Наявність саме гемопоетичних клітин не була визнана раніше у зв'язку з особливостями їх функціонування в культурі за таких умов. Тому першими дослідники виявили кардіоміоцити за їх скороченнями, нервові клітини — за їх характерною морфологією з гіллястими відростками [3, 10]. Беручи до уваги те, що гемопоетичні клітини не адгезують, ми провели дослідження супернатанту на наявність цих клітин. Аналіз препаратів, отриманих за допомогою цитоцентрифуги, показав, що процес формування гемопоетичних клітин відбувається одночасно із формуванням зазначених типів клітин. Виявилось, що без додаткових факторів гемопоез у культурі підтримується протягом місяця. Продовження досліджень у цьому напрямку безумовно дасть нові дані про функціонування ранніх гемопоетичних клітин на первісних етапах розвитку. Результати аналізу проліферативного потенціалу поліпотентних кровотворних стовбурових клітин і їх найближчих нащадків у процесі диференціювання ЕСК у культурі тканин *in vitro* розглядаються нами як підґрунтя для створення моделі, за допомогою якої буде продовжено вивчення механізмів молекулярного і клітинного контролю первісних етапів гемопоезу в нормі і патології.

Науково-дослідницька робота фінансувалася Фондом фундаментальних досліджень Міністерства освіти і науки України і виконувалася на базі Центру молекулярних і клітинних досліджень НаУКМА.

7. *Hole N.* Embryonic stem cell-derived haematopoiesis / N. Hole // Cell Tissues Organs. — 1999. — V. 165. — P. 181–189.
8. *Keller G.* Hematopoietic commitment during embryonic stem cell differentiation in culture / G. Keller, M. Kennedy // Mol. Cell. Biol. — 1993. — V. 13. — P. 473–486.
9. Derivation of completely cell culture derived mice from early-passage embryonic stem cells / A. Nagy, J. Rossant, R. Nagy [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1993. — V. 90. — P. 8424–8428.
10. Directed differentiation of human embryonic stem cells as spin embryoid bodies and a description of the hematopoietic blast colony forming assay / E. S. Ng, R. P. Davis, T. Hatzistavrou [et al.] // Current Protocols in Stem Cell Biology. — 2008. — Ch. 1. — Unit 1D.3.
11. *Odorico J. S.* Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines / J. S. Odorico, D. S. Kaufman, J. A. Thomson // Stem Cells. — 2001. — V. 19. — P. 193–204.
12. *Sakai Y.* Embryoid body culture of mouse embryonic stem cells using microwell and micropatterned chips / Y. Sakai, Y. Yoshiura, K. Nakazawa // J. of Bioscience and Bioengineering. — 2011. — V. 111, № 1. — P. 85–91.
13. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells / M. J. Shamblott, J. Axelman, S. Wang [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1998. — V. 95. — P. 13726–13731.
14. *Stover A. E.* The generation of embryoid bodies from feeder-based or feeder-free human pluripotent stem cell cultures / A. E. Stover, P. H. Schwartz // Methods in Molecular Biology. — 2011. — V. 767, № 6. — P. 391–398.
15. *Trettner S.* Embryoid body formation: recent advances in automated bioreactor technology / S. Trettner, A. Seeliger, N. I. zur Nieden // Methods in Molecular Biology. — 2011. — V. 690. — P. 135–149.
16. *Wobus A.* Potential of embryonic stem cells / A. Wobus // Molecular Aspects of Medicine. — 2001. — V. 22. — P. 149–164.
17. Establishing a dynamic process for the formation, propagation, and differentiation of human embryoid bodies / G. Yirme, M. Amit, I. Laevsky [et al.] // Stem Cells and Development. — 2008. — V. 17, № 6. — P. 1227–1241.

*Д.И. Билько, Н.М. Билько*

#### **ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ РАННИХ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК ФОРМИРОВАТЬ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ IN VITRO**

Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) являются плюрипотентными. Исследованиями последних лет показано, что ЭСК могут дифференцироваться в разные специализированные клетки и моделировать процесс раннего эмбриогенеза. Исследовали ЭСК методом «висящей капли» *in vitro*. Цистоподобные образования, которые получили название «эмбрионидные тельца», формировались в специальных условиях при наличии комплекса ростовых факторов. Проанализировали пути дифференцировки ЭСК в гемопоэтические. Результаты рассматриваются как основание для разработки модели исследования ранних событий, происходящих в эмбриогенезе и поиска путей накопления соматических предшественников и дифференцированных клеток для трансплантации.

**Ключевые слова:** эмбриональная стволовая клетка, культура *in vitro*, эмбриональные тельца, гемопоэз, трансплантация.

*D.I. Bilko, N.M. Bilko*

#### **POTENTIAL POSSIBILITY OF EMBRYONIC STEM CELLS TO FORM HEMOPOIETIC CELLS IN VITRO**

Embryonic stem cells (ES) are a type of pluripotent cells. Recently ES cells were found to be able to develop into specialized somatic cells and to recapitulate processes of early embryogenesis. The ES cells by the «hanging drop» method *in vitro* culture was investigated. Embryoid bodies (EB) of defined cell numbers have been generated, and morphology of EB-derived cells during hemopoietic differentiation *in vitro* was evaluated. These properties allow the use ES cells as model system for investigation of early embryonic development and for the generation of somatic precursors or differentiated cells for transplantation.

**Key words:** embryonic stem cell, culture *in vitro*, embryoid bodies, hemopoiesis, transplantation.

УДК 577.175.44.085.22

*С.Б. Билявская, Г.А. Божок, Е.И. Легач, Т.П. Бондаренко*

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков*

## **ГОРМОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОВОРОЖДЕННЫХ ПОРОСЯТ**

Исследованы гормонопродукция тироксина, жизнеспособность и морфология клеток первичной культуры щитовидной железы новорожденных поросят на разных сроках культивирования. Показано наличие гормональной активности культуры, активный рост и формирование монослоя из жизнеспособных клеток.

**Ключевые слова:** тироксин, щитовидная железа, первичная культура, тироцит.

Клетки неонатальной ткани щитовидной железы (ЩЖ) являются удобной моделью изучения эндокринной функции, поскольку обладают высокой пролиферативной активностью, чувствительностью к действию ряда стимуляторов, способностью к органоспецифической дифференцировке. Известно, что ткань ЩЖ состоит из гетерогенной популяции клеток, имеющих разных предшественников. Тироциты, представляющие собой эпителиальные клетки, функция которых заключается в биосинтезе и секреции тироксина, занимают основную массу тиреоидной ткани. Парафолликулярные С-клетки (кальцитонинпродуцирующие клетки) составляют 0,1 % от всех клеток ЩЖ и являются производными клеток нервного гребня. Есть данные, что в неонатальной ткани ЩЖ их в 10 раз больше, чем в зрелой [1]. Оксифильные клетки, или клетки Ашкенази–Гюртле, отличаются от фолликулярного эпителия большей величиной, эозинофильной гранулированной цитоплазмой, данные клетки секретируют биогенные амины, в том числе серотонин [2]. Кроме того, ЩЖ обильно васкуляризирована и имеет большое количество соединительнотканых элементов, что, в свою очередь, обогащает клеточную культуру эндотелиальными клетками и фибробластами. Такая гетерогенность культуры ЩЖ ставит вопрос о необходимости определения фенотипической принадлежности клеток. Поэтому на данном этапе исследования была поставлена задача идентифицировать тиреоидный эпителий в первичной культуре ЩЖ по способности секретировать тироксин.

Трансплантация ткани/клеток ЩЖ может являться методом лечения гипотиреоза. Эффективность данного метода может обуславливаться не только заместительной функцией трансплантата, но и биогенной стимуляцией регенерации собственной ткани ЩЖ. В связи с этим огромное значение имеет получение жизнеспособных гормонально-активных клеточных культур, способных компенсировать недостаток тиреоидных гормонов.

Цель исследования — изучить гормональную активность и морфологические особенности клеток первичной культуры ЩЖ новорожденных поросят.

**Материал и методы.** Тироциты и фолликулы изолировали из ЩЖ новорожденных поросят путем 3-этапной ферментативной дезагрегации с использованием 1 мкг/мл коллагеназы типа IA и 0,1 мкг/мл ДНКазы (Sigma, USA) при 37 °С с последующим охлаждением и 3-кратной отмывкой раствором, содержащим 0,2 % бычьего сывороточного альбумина. Полученную суспензию, состоящую из 0,5·10<sup>6</sup> фолликулов и 1·10<sup>6</sup> клеток с жизнеспособностью 80–90 %, помещали в культуральные флаконы (Stastet, USA) и культивировали на среде 199, обогащенной 10 % фетальной телячьей сывороткой, при 37 °С в атмосфере 5 % CO<sub>2</sub> в течение 6 суток. Питательную среду заменяли на 1-е и 4-е сутки культивирования. На 2-е и 6-е сутки отбирали среду культивирования на определение содержания гормонов. Концентрацию тироксина измеряли радиоиммунологическим методом с помощью стандартных тест-наборов РИА-Т4 СТ (Бе-

© С.Б. Билявская, Г.А. Божок, Е.И. Легач, Т.П. Бондаренко, 2011

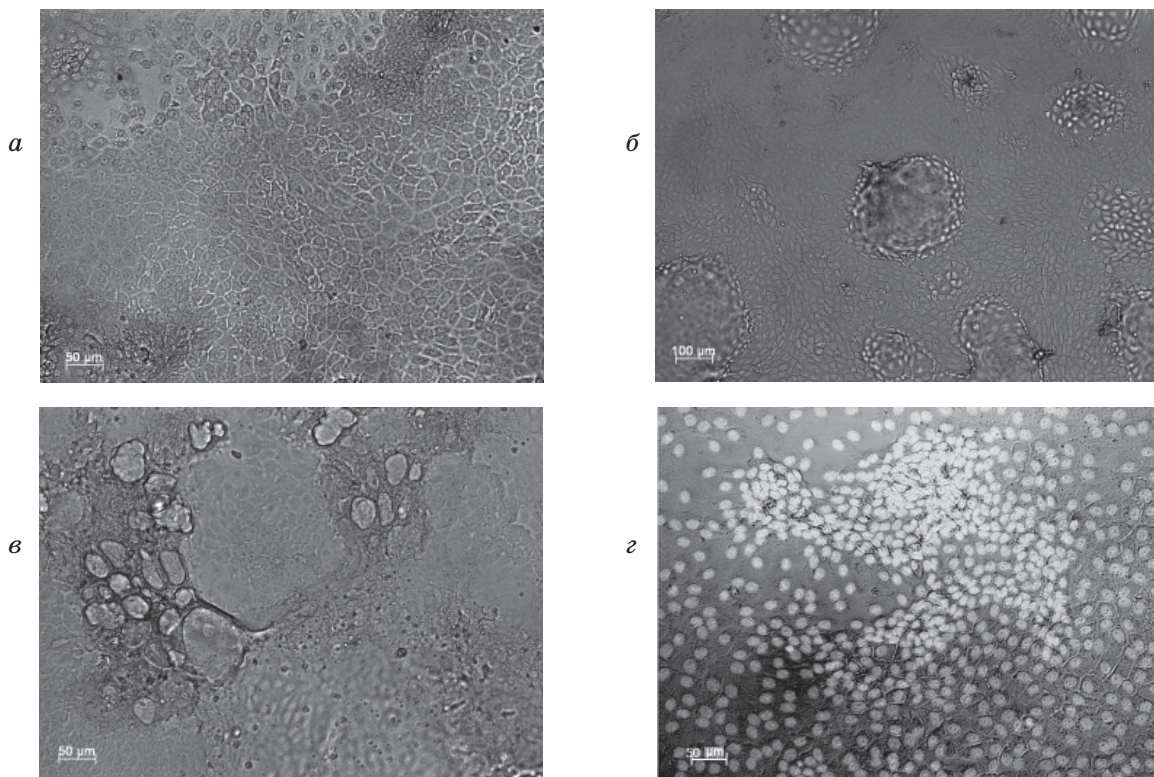
ларусь) согласно инструкции. Концентрацию клеток подсчитывали в камере Горяева, жизнеспособность определяли методом суправитального окрашивания трипановым синим. В целях визуализации жизнеспособных клеток культуру прижизненно окрашивали флюоресцентным красителем Hoechst 33342 (Sigma, USA) в конечной концентрации 5 мкг/мл и исследовали с помощью конфокального лазерного микроскопа Carl Zeiss Axio Observer Z1 и пакета прикладных программ для обработки изображения. Впоследствии клеточную культуру фиксировали 4 % параформальдегидом, окрашивали гематоксилином и эозином, микроскопировали в фазовом контрасте. Статистическую обработку результатов проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента для значений с нормальным распределением и однофакторного дисперсионного анализа — для непараметрических данных.

**Результаты и их обсуждение.** На 2-е сутки концентрации тироксина в среде культивирования первичной культуры ЩЖ новорожденных поросят достигала  $(122,49 \pm 0,70)$  нмоль/л, на 6-е сутки содержание гормона снижалось до  $(56,75 \pm 1,20)$  нмоль/л. Снижение уровня тироксина в данном случае составляло 53,67 %. В аналогичных ис-

следованиях гормонопродукции тироцитов новорожденных поросят показано снижение уровня тироксина со 2-х по 5-е сутки культивирования на 86,1 % [3]. Гормонопродуцирующий потенциал первичной культуры тироцитов, полученный нами, оказался выше, чем таковой органотипической культуры ЩЖ новорожденных поросят, где уровень тироксина составил  $(36,29 \pm 1,70)$  нмоль/мг белка [4]. Кроме того, в исследовании [5] содержание тироксина в среде культивирования на 2-е сутки составляло  $(14,28 \pm 0,60)$  нмоль/мг белка, а на 6-е —  $(8,31 \pm 0,10)$  нмоль/мг белка, что значительно ниже полученных нами значений.

Полученные нами результаты свидетельствуют о более высокой гормональной активности первичной культуры тироцитов новорожденных поросят, полученной по разработанной нами методике, по сравнению с активностью органотипической культуры. Кроме того, наличие продукции тироксина в первичной культуре ЩЖ новорожденных поросят свидетельствует о принадлежности клеток культуры к фолликулярному эпителию, участвующему в синтезе и секреции гормона.

Микроскопическими исследованиями (рисунок) показано, что на 2-е сутки культи-



Первичная культура клеток ЩЖ новорожденных поросят: *a* — 2-е сутки; *б* — 4-е сутки; *в* — 6-е сутки; *г* — окрашивание флюоресцентным красителем Hoechst 33342

вировання первична культура клеток ЩЖ новорожденных поросят характеризовалась активным ростом (конфлюентность монослоя достигала 60–70 %). Клетки монослоя имели полигональную форму, крупное ядро, содержащее по 2 ядрышка и более, что свидетельствует об отсутствии или о слабой дифференцировке клеток (рисунок, а). В последующие сутки культивирования имело место образование множественных клеточных доменов округлой формы с многослойной структурой (рисунок, б). К 6-м суткам монослой достигал 100 %, наблюдалась частичная дифференцировка клеток, неофолликулогенез: границы доменов уплотнялись, при этом наблюдалось образование фолликулоподобных структур (рисунок, в).

При микроскопии культуры, окрашенной флюоресцентным красителем Hoechst 33342 (рисунок, г), визуализировались ядра с интенсивной флюоресценцией, что является относительным показателем жизнеспособности клеток.

Таким образом, полученную жизнеспособную гормонально-активную первичную

культуру клеток ЩЖ можно использовать в дальнейшем для изучения возможности коррекции гормональной недостаточности щитовидной железы путем трансплантации.

#### Выводы

1. Первичная культура клеток щитовидной железы новорожденных поросят на 6-е сутки культивирования имеет способность к синтезу и секреции тироксина, концентрация которого значительно, выше чем в органотипической культуре щитовидной железы. Наличие тироксина в среде культивирования доказывает принадлежность клеток культуры к фолликулярному эпителию.

2. Первичная культура клеток щитовидной железы новорожденных поросят обогащена жизнеспособными клетками тиреоидного эпителия, обладающими высоким пролиферативным потенциалом, что предполагает возможность длительного поддержания культуры, а также необходимость проведения дальнейших исследований морфологии при многократном пассажировании клеток.

#### Список литературы

1. Wolf H. J. Distribution of calcitonin containing cells in the normal neonatal human thyroid gland: a correlation of morphology with peptide content / H. J. Wolf, R. A. DeLelis // J. Clin. Endocrinol. Metabol. — 1975. — V. 41. — P. 1076–1081.
2. Тронько Н. Д. Рак щитовидной железы у детей Украины (последствия чернобыльской катастрофы) / Н. Д. Тронько, Т. И. Богданова. — К. : Чернобыльинтеринформ, 1997. — 200 с.
3. Изучение морфофункциональных свойств культивируемых тироцитов новорожденных поросят с целью определения возможности их применения для компенсации гипофункций щитовидной железы / И. Н. Шостак, Н. Д. Тронько, Ю. Н. Зурнаджи [и др.] // Проблемы эндокринологии. — 1992. — Т. 38, № 5. — С. 33–37.
4. Пат. 46440 Україна, № 12N5/00. Спосіб підвищення гормональної активності органотипових культур щитовидних залоз новонароджених поросят з метою їх подальшої трансплантації / Білявська С. Б., Божок Г. А., Легач Є. І. [та ін.] (Україна). — Заявл. 09.06.09 ; опубл. 25.12.09, Бюл. № 24.
5. Луговий С. В. Вплив кріоконсервування на культуру клітин щитовидної залози новонароджених поросят : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / С. В. Луговий. — Харків, 2003. — 18 с.

*С.Б. Білявська, Г.А. Божок, Е.І. Легач, Т.П. Бондаренко*

#### ГОРМОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ І МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРВИННОЇ КУЛЬТУРИ КЛІТИН ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ НОВОНАРОДЖЕНИХ ПОРОСЯТ

Досліджено гормонопродукцію тироксину, життєздатність і морфологію клітин первинної культури щитовидних залоз новонароджених поросят у різні терміни культивування. Показано наявність гормональної активності культури, активний ріст і формування моношару із життєздатних клітин.

**Ключові слова:** тироксин, щитовидна залоза, первинна культура, тироцит.

*S.B. Bilyavskaya, G.A. Bozhok, E.I. Legach, T.P. Bondarenko*

#### HORMONAL ACTIVITY AND MORPHOLOGICAL PECULIARITY OF PRIMARY CELL CULTURE OF THYROID GLANDS OF NEWBORN SUCKING PIGS

Thyroxin production, cells viability and morphology of primary cell culture of thyroid glands of newborn sucking pigs were investigated on the different time of cultivation. The presence of hormonal activity of culture, strong growth and the formation of a monolayer of viable cells was shown.

**Key words:** thyroxin, thyroid gland, primary culture, thyroid cell.

УДК 612.41.014:612.43.089.6

*Г.А. Божок, В.В. Кирошка, Ю.О. Тищенко, Ю.В. Люпина\*,  
Я.Д. Карпова\*, Н.П. Шарова\*, Е.И. Легач*

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков  
\*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, г. Москва*

### **ВЛИЯНИЕ ИНТРАПОРТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ДОНОРСКИХ СПЛЕНОЦИТОВ И ХЛОРИДА ГАДОЛИНИЯ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ ТКАНЕВЫХ АЛЛОГРАФТОВ ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗ**

Известно, что введение донорских иммунокомпетентных клеток в портальную вену печени за 7–14 дней до трансплантации органа или ткани от того же донора может индуцировать состояние донор-специфической толерантности к аллогу. Было изучено влияние интрапортального введения спленоцитов, а также хлорида гадолиния ( $GdCl_3$ ) на результат аллотрансплантации фрагментов ткани щитовидной железы и яичников у крыс. Выживаемость трансплантата оценивали по двум параметрам: уровню гормонов в сыворотке крови и сохранности структуры ткани трансплантата на гистологических образцах. Установлено, что выживаемость аллогraftов ткани щитовидной железы и яичников была лучше у реципиентов с интрапортальным введением спленоцитов. Введение хлорида гадолиния отменяло этот эффект.

*Ключевые слова:* трансплантация, щитовидная железа, яичники, донор-специфическая толерантность, хлорид гадолиния.

Трансплантация ткани эндокринных желез является методом восстановления гормонального потенциала, утраченного вследствие болезни. В клинике используется трансплантация островков поджелудочной железы [1], ткани паразитовидной [2] и щитовидной [3] желез, гормонопродуцирующих клеток тестисов [4] и яичников [5].

Известно, что при пересадке аллогенных органов/тканей активируется иммунная система реципиента и запускается процесс острого отторжения. Применение иммуносупрессии при трансплантации тканей эндокринных желез является нежелательным, так как может нарушить их гормонопродуцирующую функцию [6, 7], поэтому внимание исследователей привлекает возможность индукции специфической толерантности к трансплантату.

Экспериментально установлено, что донор-специфическую толерантность (ДСТ) к трансплантату можно вызвать путем введения иммунокомпетентных клеток донора в портальную вену печени за 7–14 дней до трансплантации, после чего производится

трансплантация органа или ткани от того же донора. Эффект ДСТ был показан при аллотрансплантации почки, сердца, печени, кишечника, кожи, фрагментов периферического нерва и островков поджелудочной железы [8–15].

Предполагается, что механизм развития ДСТ связан с особенностями процесса презентации антигена в печени, в частности клетками Купфера [16], так как при введении хлорида гадолиния, который избирательно ингибирует функцию макрофагов, индукции ДСТ не наблюдается [17].

В нашей работе мы исследовали влияние интрапортального введения спленоцитов донорского происхождения, а также хлорида гадолиния на результат аллотрансплантации фрагментов ткани щитовидной железы и яичников у крыс.

**Материал и методы.** Эксперименты были проведены на 3–4-месячных крысах-самках линий Вистар и Август. Донорами являлись крысы линии Вистар, реципиентами — крысы линии Август. Все манипуляции с животными проводились в соответст-

© Г.А. Божок, В.В. Кирошка, Ю.О. Тищенко и др., 2011

вии с положениями «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, которые используются с экспериментальной и иной научной целью» (Страсбург, 1985) и национальными нормами по биоэтике (I Национальный конгресс по биоэтике, Киев, 2001).

Крысам линии Август проводили тиреоидэктомию по методу [18] или овариэктомию по методу [19] за 7 дней до трансплантации.

Спленоциты получали из селезенки крыс линии Вистар по методу [20]. От эритроцитов избавлялись путем трехкратной обработки клеточной суспензии раствором, содержащим 154 мМ хлорида аммония, 10 мМ бикарбоната натрия, 0,082 мМ ЭДТА. Жизнеспособность полученных спленоцитов, которую проверяли методом суправитального окрашивания трипановым синим, составляла в среднем 90 %.

Животным групп с индукцией ДСТ за 7 дней до трансплантации фрагментов эндокринных желез вводили в порталную вену печени 0,5 мл физиологического раствора, содержащего  $1 \times 10^7$  спленоцитов. Двум группам крыс с индукцией ДСТ за день до введения спленоцитов делали внутрибрюшинную инъекцию раствора хлорида гадолиния ( $GdCl_3$ , 1 мг/100 г массы тела). Трансплантацию фрагментов ткани щитовидной железы (ФрЩЖ) или яичников (ФрЯ) проводили под капсулу левой почки.

Животных забивали на 30–35-е сутки после трансплантации, забирали кровь для измерения гормонов и почку с трансплантатом на гистологический анализ. Радиоиммунологическим методом измеряли общий тироксин (Т4) и трийодтиронин (Т3) с по-

мощью тест-наборов TOTAL T4 RIA KIT и TOTAL T3 RIA KIT (Immunotech); эстрадиол и прогестерон с помощью тест-наборов РИА-Эстрадиол-СТ и РИА-Прогестерон-СТ (Беларусь). Для гистологического анализа почки с трансплантатами были зафиксированы в 10 % формалине и залиты в парафин. Серийные срезы толщиной 5 мкм были окрашены гематоксилином и эозином.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета анализа программы Excel с использованием t-критерия Стьюдента и однофакторного дисперсионного анализа для непараметрических данных (ANOVA). При  $p < 0,05$  различия считались статистически достоверными.

**Результаты и их обсуждение.** В результате оперативного вмешательства (тиреоидэктомии либо овариэктомии) у экспериментальных животных возникает состояние недостаточности тиреоидных или половых гормонов (таблица). Аллотрансплантация фрагментов соответствующей железы может частично компенсировать эту недостаточность. В случае трансплантации ФрЩЖ наблюдается компенсация уровня Т4 на 40 %, а в случае овариэктомии на 23 % — уровня эстрадиола и 47 % — прогестерона по сравнению с интактным контролем.

Интрапортальное введение спленоцитов донорского происхождения (индукция ДСТ) позитивно влияет на результат аллотрансплантации ФрЩЖ и ФрЯ. В этом случае наблюдается уровень Т4, составляющий 82 % от значений в интактном контроле; уровни эстрадиола и прогестерона составляют 45 и 73 % от контроля соответственно. Введение спленоцитов на фоне действия

*Уровень гормонов в сыворотке крови экспериментальных животных*

| Группа                               | Т4,<br>нмоль/л | Т3,<br>нмоль/л | Эстрадиол,<br>нмоль/л · 10 <sup>-2</sup> | Прогестерон,<br>нмоль/л |
|--------------------------------------|----------------|----------------|--|-------------------------|
| Интактный контроль                   | 70,8±4,3       | 2,1±0,5        | 34,6±5,4                                 | 83,3±15,3               |
| Тиреоидэктомия                       | 19,2±3,5*      | 2,3±0,5        | —  | —                       |
| Овариэктомия                         | —              | —              | 7,9±1,7*                                 | 10,7±2,5*               |
| Трансплантация ФрЩЖ                  | 32,8±7,1*      | 2,0±0,7        | —  | —                       |
| Трансплантация ФрЯ                   | —              | —              | 7,5±4,3*                                 | 39,4±3,1*               |
| Трансплантация ФрЩЖ + ДСТ            | 58,2±12,9      | 2,2±0,8        | —  | —                       |
| Трансплантация ФрЯ + ДСТ             | —              | —              | 15,4±5,1*                                | 61,4±11,9               |
| Трансплантация ФрЩЖ + ДСТ + $GdCl_3$ | 26,1±5,5*      | 1,9±0,9        | —  | —                       |
| Трансплантация ФрЯ + ДСТ + $GdCl_3$  | —              | —              | 7,7±2,3*                                 | 26,9±12,2*              |

*Примечания:* 1. У животных с моделью тиреоидной недостаточности уровень половых гормонов не изучали, и наоборот.

2. \*  $p < 0,05$ , уровень гормона достоверно отличается от контроля.

GdCl<sub>3</sub> не приводило к значительному увеличению уровня гормонов после трансплантации. Нужно также отметить, что в группах животных с моделью тиреоидной недостаточности не наблюдалось достоверного изменения уровня ТЗ по сравнению с контролем.

Гистологический анализ выявил признаки отторжения аллогraftов как ФрЩЖ, так и ФрЯ. Наблюдалась диффузная инфильтрация лимфоцитами, а также выраженный лимфоцитарный барьер между паренхимой почки и трансплантатом. Отмечено нарушение характерной структуры ткани эндокринных желез и замещение ее соединительной. Такая же картина в целом была характерна для трансплантатов животных, которым были введены спленоциты на фоне GdCl<sub>3</sub>.

При исследовании трансплантатов животных, которым были введены спленоциты без GdCl<sub>3</sub>, выявлена достаточно хорошо сохранившаяся структура ткани яичников или щитовидной железы. На гистологических срезах образцов трансплантатов ФрЯ, полученных от животных этой группы, отмечены фолликулы различной степени

зрелости (примордиальные, первичные, преантральные и антральные), а также желтые тела, что свидетельствует о функциональной полноценности аллогraftов. На гистологических срезах образцов трансплантатов ФрЩЖ наблюдалась хорошо сохранившаяся ткань щитовидной железы, содержащая фолликулы, выстланные высоким кубическим эпителием и заполненные коллоидом с вакуолями резорбции, что свидетельствовало об активной гормонопродуцирующей функции аллогraftов. В обоих типах аллогraftов наблюдалась развитая сосудистая сеть.

#### Выводы

На основе результатов исследования уровня гормонов и гистологического анализа можно заключить, что при аллотрансплантации ткани эндокринных желез развивается острое отторжение трансплантата. Интрапортальное введение спленоцитов донорского происхождения за 7 дней до трансплантации приводит к улучшению выживаемости аллогraftов. Введение хлорида гадолиния (GdCl<sub>3</sub>) отменяет этот эффект.

#### Список литературы

1. Allotransplantation of cryopreserved parathyroid tissue for severe hypocalcemia in a renal transplant recipient / S. M. Flechner, E. Berber, M. Askar [et al.] // *Am. J. Transplant.* — 2010. — V. 10. — P. 2061–2065.
2. Long-term graft function after allogeneic islet transplantation / J. R. Lakey, T. Kin, G. L. Warnock [et al.] // *Cell Transplant.* — 2007. — V. 16. — P. 441–446.
3. Trial of autotransplantation of cryopreserved thyroid tissue for postoperative hypothyroidism in patients with Graves' disease / K. Shimizu, S. Kumita, Y. Kitamura [et al.] // *J. Am. Coll. Surg.* — 2002. — V. 194. — P. 14–22.
4. Male fertility and strategies for fertility preservation following childhood cancer treatment / R. T. Mitchell, P. T. Saunders, R. M. Sharpe [et al.] // *Endocr. Dev.* — 2009. — V. 15. — P. 101–134.
5. Restoration of ovarian function after orthotopic (intraovarian and periovarian) transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a woman treated by bone marrow transplantation for sickle cell anaemia: case report / J. Donnez, M. M. Dolmans, D. Demylle [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2006. — V. 21. — P. 183–188.
6. Shushan A. Immunological factors in infertility / A. Shushan, J. G. Schenker // *Am. J. Reprod. Immunol.* — 1992. — V. 28, № 3–4. — P. 285–287.
7. Different effects of FK506, rapamycin, and mycophenolate mofetil on glucose-stimulated insulin release and apoptosis in human islets / J. D. Johnson, Z. Ao, P. Ao [et al.] // *Cell Transplant.* — 2009. — V. 18, № 8. — P. 833–845.
8. Pretransplant infusion of mesenchymal stem cells prolongs the survival of a semiallogeneic heart transplant through the generation of regulatory T cells / F. Casiraghi, N. Azzollini, P. Cassis [et al.] // *J. Immunol.* — 2008. — V. 181, № 6. — P. 3933–3946.
9. Oko A. Prolongation of rat kidney graft survival after inoculation of allogeneic spleen cells: the effect of various routes of cell transfer / A. Oko, I. Idasiak-Piechocka, K. Pawlaczuk // *Ann. Transplant.* — 2002. — V. 7, № 2. — P. 51–53.
10. Repeating intraportal donor-specific transfusion may induce tolerance following adult living-related donor liver transplantation / Y. Sato, T. Ichida, H. Watanabe [et al.] // *Hepatogastroenterology.* — 2003. — V. 50, № 51. — P. 601–606.
11. Prolongation of xenograft survival by combining donor-specific intravenous presensitization with FK 506 / H. Iwata, Y. Umeda, Y. Matsuno [et al.] // *Transplant. Proc.* — 2002. — V. 34. — P. 2745–2748.

12. Prolonged survival of mouse skin allografts in recipients treated with donor splenocytes and antibody to CD40 ligand / T. G. Markees, N. E. Phillips, R. J. Noelle [et al.] // *Transplantation*. — 1997. — V. 64, № 2. — P. 329–335.

13. Prolonged survival of donor-specific rat intestinal allograft by administration of bone-marrow-derived immature dendritic cells / D. Sheng Sun, H. Iwagaki, M. Ozaki [et al.] // *Transpl. Immunol.* — 2005. — V. 14, № 1. — P. 17–20.

14. Survival of long nerve allografts following donor antigen pretreatment: a pilot study / T. H. Tung, V. B. Doolabh, S. B. Mackinnon [et al.] // *J. Reconstr. Microsurg.* — 2006. — V. 22, № 6. — P. 443–449.

15. Treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus by transplantation of islet cells plus bone marrow cells via portal vein in rats / K. Ikebukuro, Y. Adachi, Y. Yamada [et al.] // *Transplantation*. — 2002. — V. 73. — P. 512–518.

16. *Parker G.A.* Liver immunobiology / G. A. Parker, C. A. Picut // *Toxicol. Pathol.* — 2005. — V. 33, № 1. — P. 52–62.

17. *Diaz-Peromingo J.A.* Influence of gadolinium-induced kupffer cell blockade on portal venous tolerance in rat skin allograft transplantation / J. A. Diaz-Peromingo, A. Gonzalez-Quintela // *Eur. Surg. Res.* — 2005. — V. 37, № 1. — P. 45–49.

18. *Легач Е. И.* Ретроградный способ тиреоидэктомии крыс как адекватная модель гипотиреоза / Е. И. Легач // *Трансплантология*. — 2005. — Т. 8, № 2. — С. 92–94.

19. *Кабак Я. М.* Практикум по эндокринологии / Я. М. Кабак. — М.: Сов. наука, 1968. — 236 с.

20. *Клаус Д.* Лимфоциты: методы / Д. Клаус. — М.: Мир, 1990. — 395 с.

**Г.А. Божок, В.В. Кірошка, Ю.О. Тищенко, Ю.В. Люпіна, Я.Д. Карпова, Н.П. Шарова, Є.І. Легач**  
**ВПЛИВ ІНТРАПОРТАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ ДОНОРСЬКИХ СПЛЕНОЦИТІВ ТА ХЛОРИДУ ГАДОЛІНІЮ**  
**НА ВИЖИВАННЯ ТКАНИННИХ АЛОГРАФТІВ ЕНДОКРИННИХ ЗАЛОЗ**

Відомо, що введення донорських імунокомпетентних клітин у портальну вену печінки за 7–14 днів до трансплантації органа чи тканини від того ж самого донора може індукувати стан донор-специфічної толерантності до алографту. Було вивчено вплив інтрапортального введення спленоцитів, а також хлориду гадолінію ( $GdCl_3$ ) на результат алотрансплантації фрагментів тканини щитовидної залози та яєчників у щурів. Вживаність трансплантата оцінювали за двома параметрами: рівнем гормонів у сироватці крові та збереженості структури тканини трансплантата на гістологічних зразках. Встановлено, що вживаність алографтів тканини щитовидної залози та яєчників була краще у реципієнтів з інтрапортальним введенням спленоцитів. Уведення хлориду гадолінію відміняло цей ефект.

**Ключові слова:** трансплантація, щитовидна залоза, яєчники, донор-специфічна толерантність, хлорид гадолінію.

**G.A. Bozhok, V.V. Kiroshka, Yu.O. Tishchenko, Y.V. Lyupina, Ya.D. Karpova, N.P. Sharova, E.I. Legach**

**INFLUENCE OF DONOR SPLENOCYTES INTRAPORTAL INFUSION AND GADOLINIUM CHLORIDE ON THE SURVIVAL OF THE ENDOCRINE GLANDS ALLOGRAFT TISSUE**

It is known, that infusion of donor immune cells in portal vein of the liver for 7–14 days before the transplant organ or tissue from the same donor can induce a state of donor-specific tolerance to the allograft. The effect of infusion of splenocytes into the portal vein, as well as gadolinium chloride ( $GdCl_3$ ), on the outcome of allotransplantation of the tissue fragments of thyroid gland and ovaries was studied in rats. Graft survival was evaluated by two parameters: the level of hormones in blood serum and the preservation of the graft tissue structure on histological specimens. It was established, that survival of allograft tissue of the thyroid gland and ovaries was better in recipients with infusion of splenocytes into the portal vein. The introduction of  $GdCl_3$  abolished this effect.

**Key words:** transplantation, thyroid gland, ovaries, donor-specific tolerance, gadolinium chloride.

УДК 616.36-089:616-08-06

**В.В. Боровик, Д.А. Гранов, Ф.К. Жеребцов, Д.Н. Майстренко,  
И.О. Руткин, М.И. Генералов**

**ФГУ РНЦРХТ Минздравсоцразвития РФ, г. Москва**

## **СОСУДИСТЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ**

Сосудистые осложнения при выполнении ортотопической трансплантации печени (ОТП) и послеоперационном периоде встречаются в 5–15 % случаев. Своевременная диагностика и адекватная коррекция позволяют существенно снизить риск потери трансплантата, а также увеличить выживаемость пациентов после ОТП.

**Материал и методы.** С июня 1998 г. по июнь 2011-го в клинике ФГУ РНЦРХТ выполнено 98 ОТП. В 2 наблюдениях выполнялась трансплантация правой доли от живого родственного донора (по методике С.В. Готье), у 5 пациентов в отдаленном послеоперационном периоде выполнено 6 ретрансплантаций. Во время операции основными сосудистыми осложнениями, потребовавшими хирургической коррекции, были недостаточный артериальный кровоток по сформированным анастомозам (n=6), тромбоз собственной печеночной артерии и ее ветвей (n=5), деформация с перегибом воротного анастомоза (n=3), отсутствие значимого кровотока в портальной системе реципиента (n=1). Это потребовало выполнения тромбэктомии, гепаринизации сосудистой русла печени либо повторной артериальной или портальной реконструкции, в том числе кавапортальной транспозиции. В целях профилактики синдрома «обкрадывания» артериального кровотока печени было выполнено лигирование гастродуоденальной или селезеночной артерии у 6 пациентов — во всех случаях применялся флоуметрический контроль объемного кровотока.

Ранний послеоперационный период: отмечен тромбоз печеночной артерии — в 1 случае, тромбоз воротной вены — в 2, тромбоз нижней полой вены — в 1 наблюдении. У 2 пациентов диагностирован синдром «обкрадывания» артериального кровотока

печени за счет усиления притока артериальной крови к увеличенной селезенке.

В позднем послеоперационном периоде наблюдались стеноз каво-кавального соустья и супрапеченочного отдела НПВ в 4 случаях в сроки 3, 6, 7 и 24 мес и потребовали проведения баллонной дилатации и стентирования суженного сегмента нижней полой вены стентом Gianturco-Rösch длиной 5–7 см и диаметром 25–30 мм («Cook», США).

**Результаты.** Интраоперационно при выявлении неадекватного артериального кровотока стандартное применение флоуметрии позволило своевременно провести коррекцию нарушений — выполнение реконструкции анастомоза, перевязки гастродуоденальной и селезеночной артерий в целях усиления артериального притока к печени. В 10 из 11 случаев сниженного артериального притока, тромбоза печеночной артерии на уровне анастомоза и ее ветвей удалось добиться значимого артериального притока к печени — не менее 100 мл/мин по данным флоуметрии и визуализации артериального кровотока при транспаренхиматозной доплерографии. В 3 наблюдениях повторная реконструкция воротного анастомоза привела к значимому усилению портального притока и ликвидации деформации в зоне соустья. У 1 больного с отсутствием портального притока (тромбоз селезеночной и верхней брыжеечной вен) потребовалось наложение соустья между нижней полой веной и воротной веной трансплантата с созданием искусственного гепатопетального кровотока за счет сужения просвета нижней полой вены. В раннем послеоперационном периоде при диагностике портального тромбоза выполнялись тромбэктомии открытым способом, в 1 случае проведен локальный тромболизис через катетеризированную пу-

почную вену. Гемодинамически значимые градиенты (более 10 мм рт. ст.) в системе нижней полой вены потребовали баллонной дилатации и стентирования ретропеченочного сегмента у 1 больной. У больного с диагностированным артериальным тромбозом дважды выполнялась тромбэктомия без эффективного восстановления артериального кровотока в печени. Состояние пациента расценивалось как стабильное, а появление донорского органа лишь через 2 мес позволило выполнить ретрансплантацию. Синдром «обкрадывания», клинически прояв-

ляющийся дисфункцией трансплантата, был купирован путем редукции кровотока за счет эмболизации селезеночной артерии металлическими спиралями.

Проведение доплерфлоуметрии после реваскуляризации трансплантата позволяет своевременно диагностировать и устранить неадекватное кровоснабжение печени. Современные методы интервенционной радиологии дают возможности эффективной и малотравматичной коррекции сосудистых осложнений в отдаленные сроки после ОТП.

УДК 616.127-08-089.843:611.832-018

*А.В. Габрієлян, В.Й. Сморжевський, Т.М. Доманський, В.Ф. Оніщенко*  
*Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова*  
*НАМН України, м. Київ*

## **СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ В КОМПЛЕКСІ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ З ПОРУШЕНОЮ ФУНКЦІЄЮ СКОРОЧЕННЯ МІОКАРДА**

Проаналізовано стан експериментальних та клінічних досліджень ефективності застосування та механізму дії стовбурових клітин на уражений міокард, а також шляхи доставки стовбурових клітин до ураженого міокарда при лікуванні ішемічної хвороби серця та хронічній серцевій недостатності. Продемонстровано, що накопичений досвід довів перспективність використання стовбурових клітин у лікуванні порушеної скорочувальної функції міокарда.

**Ключові слова:** скорочувальна функція міокарда, стовбурові клітини, ішемічна хвороба серця, хронічна серцева недостатність.

У наш час серцево-судинні захворювання викликають майже 40 % усіх випадків смерті населення більшості розвинутих країн Європи. За статистичними даними різних країн, клінічні форми ішемічної хвороби серця реєструються у 15–20 % дорослого населення. В Україні саме вона на 66,8 % визначає рівень смертності від хвороб системи кровообігу всього населення і на 53,8 % — його працездатної частини [1]. Ішемічна хвороба серця та серцева недостатність продовжують бути значним тягарем для системи охорони здоров'я [2]. Тому будь-який новий метод лікування серцевої недостатності, який приводить до покращання стану здоров'я пацієнта, має велике значення.

Перші доповіді про застосування стовбурових клітин (СК) в експерименті, опубліковані понад 10 років тому [3, 4], продемонстрували перспективи клінічного застосування СК як нового методу лікування. Було визначено, що застосування СК для хворих, що страждають на гострий інфаркт міокарда та/або хронічну серцеву недостатність, — перспективний напрямок у лікуванні даної групи пацієнтів. Незважаючи на це, ще недостатньо вивчені механізми їх впливу на ушкоджений міокард [5, 6].

Мета роботи — визначення сучасного стану СК у лікуванні хворих з ішемічною хворобою серця та хронічною серцевою недостатністю.

**Ефективність застосування СК при ураженні міокарда.** Доцільність та ефективність використання СК при різних ураженнях серцевого м'язу — головне питання всіх клінічних досліджень, що проводяться [7–14]. Низка клінічних досліджень у пацієнтів з гострим інфарктом міокарда у терміні від 5 до 14 днів показали покращання регіонарної скоротливості стінки лівого шлуночка (ЛШ), збільшення фракції викиду (ФВ) ЛШ та покращання вінцевого кровотоку, зменшення розміру зони інфаркту міокарда та покращання перфузії.

Ефективність застосування СК у терапії ішемічної кардіоміопатії було продемонстровано в численних дослідженнях [15–22]. Було доведено, що введення СК після перенесеного інфаркту міокарда у терміні 3–144 місяці відбувається покращання регіонарного скорочення стінки ЛШ, збільшення його ФВ та зменшення його кінцево-діастолічного об'єму (КДО).

**Механізм дії СК.** На думку багатьох науковців, введення СК у пошкоджений міокард приводить до активної регенерації міокарда через трансдиференціювання введених СК [23–26].

Ряд досліджень показали існування ще й альтернативного механізму впливу екзогенних СК, які можуть також стимулювати проліферацію ендогенних клітин попередників кардіоміоцитів або СК через неоангіогенез [27–29].

© А.В. Габрієлян, В.Й. Сморжевський, Т.М. Доманський, В.Ф. Оніщенко, 2011

Отримані факти в доклінічних і клінічних дослідженнях дозволили сформулювати нову концепцію клітинної терапії, яка ґрунтується на можливості відновлення ніші СК, тим самим полегшуючи здатність самостійної регенерації серця [30]. Низка досліджень продемонструвала наявність інших механізмів: екзогенні СК можуть привести до припинення регенерації через злиття донорських клітин з приймаючими кардіоміоцитами [31]. Крім того, припускають, що застосування СК опосередковано, змінюючи механічні властивості, зміцнюють післяінфарктний рубець, що приводить до поліпшення серцевої функції [29].

**Шляхи введення СК.** Одним з актуальних питань застосування СК є способи їх доставки та мобілізація СК в ураженій ділянці. Циркулюючі прогеніторні клітини і СК можуть мобілізуватися у місці пошкодження при гострому інфаркті міокарда, [27, 32–34]. Це явище зумовлено мобілізацією СК під впливом цитокінінів, що накопичуються в ураженій ділянці.

Здатність СК до самонаведення до ураженої ділянки міокарда стала підґрунтям для дослідження трансваскулярного способу їх введення в експериментальних дослідженнях. Дослідження трансваскулярного введення СК при інфаркті міокарда показали, що завдяки хемотаксису виражена клітинна адгезія та розвивається реперфузія в ураженій ділянці [35–37].

У дослідженні в постінфарктних хворих значна тропність до міокарда невідібраних клітин кісткового мозку спостерігалась тільки після інтракоронарного введення клітин, а не після їх внутрішньовенного введення [38]. Незважаючи на отримані результати експериментальних досліджень, внутрішньовенний метод не отримав широкого практичного розповсюдження, оскільки тропність клітин до інших органів обмежує клінічне застосування цього методу [39, 40]. Селективне внутрішньокоронарне застосування забезпечує максимальну концентрацію клітин у певному місці протягом найближчого часу. Strauer зі співавт. [7] показали поліпшення регіонарного скорочення стінки ЛШ, зменшення розміру інфаркту та покращання перфузії при інтракоронарному введенні мононуклеарів кісткового мозку у пацієнтів з гострим інфарктом міокарда.

Дослідження TOPCARE-AMI продемонструвало значне покращання регіонарної скоротливості стінки ЛШ, збільшення ФВ ЛШ та покращання вінцевого кровотоку

після інтракоронарного введення мононуклеарів кісткового мозку та клітин-попередників, отриманих з циркулюючої крові, у пацієнтів з гострим інфарктом міокардом. [12–14]. Fernandez-Aviles зі співавт. [8], а також у дослідженні BOOST [41] після інтракоронарного введення мононуклеарів кісткового мозку зареєстрували покращання регіонарного скорочення стінки ЛШ та збільшення ФВ ЛШ. Kuethe зі співавт. [9], на відміну від попередників, показали відсутність змін регіонарної скоротливості стінки ЛШ та ФВ ЛШ.

Chen зі співавт. у клінічному дослідженні інтракоронарно вводили мезенхімальні СК. В результаті було отримано покращання регіонарного скорочення стінки ЛШ та збільшення ФВ ЛШ, зменшення КДО ЛШ та розміру інфаркту міокарда [10]. Vanderheyden зі співавт. продемонстрували результати клінічного дослідження СК CD133<sup>+</sup>, які вводили інтракоронарно пацієнтам з гострим інфарктом міокарда. Вони показали покращання регіонарного скорочення стінки ЛШ, збільшення ФВ ЛШ та покращання перфузії [11]. У пацієнтів з ішемічною кардіоміопатією Assmus зі співавт. [22] показали збільшення ФВ ЛШ при інтракоронарному застосуванні мононуклеарів кісткового мозку.

**Пряме введення СК** є кращим методом для доставки у пацієнтів з хронічною оклюзією коронарних артерій, яка виключає трансваскулярний спосіб доставки клітин. Пряме впорскування клітин в ішемічний або склерозований міокард, де є острівцеві клітин з обмеженим кровопостачанням, може в низці випадків супроводжуватись погіршенням виживання клітин в осередку [42]. Метод прямого введення особливо підходить для застосування великих клітин (МСК, міобласти), які можуть призвести до мікроемболізації після інтракоронарного введення. Слід зазначити, що з'ясувати і оцінити ефективність клітинної трансплантації може бути складно, якщо ін'єкція клітин проводиться одночасно з АКШ.

Методи прямого, трансепікардіального введення були використані у пацієнтів з ішемічною хворобою. Menasche зі співавт. [15] та Siminiak [17] у дослідженнях продемонстрували ефективність клінічного застосування міобластів у пацієнтів з ішемічною кардіоміопатією. Вони свідчать про покращання регіонарного скорочення стінки ЛШ та збільшення ФВ ЛШ. Herreros зі співавт. [16] та Chachques [18] вводили міоблас-

ти пацієнтам з ішемічною кардіоміопатією трансепікардіально (під час АКШ). В результаті спостерігались покращання регіонарного скорочення стінки ЛШ, збільшення ФВ ЛШ та збільшення життєздатності міокарда.

Stamm зі співавторами [19–21] показали у дослідженні, що результатом трансепікардіального застосування CD133<sup>+</sup> та міобластів у хворих з ішемічною кардіоміопатією (під час АКШ) є покращання регіонарного скорочення стінки ЛШ, збільшення ФВ ЛШ, зменшення КДО ЛШ та покращання перфузії.

Клітини можуть бути безпосередньо введені в стінку ЛШ через ендокард за допомогою катетера з ін'єкційною голкою [19, 43–46]. Використання катетера з ін'єкційною голкою дозволяє позиціонувати проти необхідної ділянки ендокарда під рентгеноваскулярним контролем. При цій методиці електромеханічні характеристики можуть бути використані для розмежування життєздатного, ішемічного чи склеротизованого осередку міокарда [43–46]. В експериментальному дослідженні ін'єкційний спосіб введення через коронарний синус під контролем УЗД був використаний для доставки СК через коронарні вени в міокард [47, 48]. При цьому позиціонування ін'єкційного катетера у конкретній коронарній вені є складною процедурою.

#### Список літератури

1. Горбась І. М. Ішемічна хвороба серця: епідеміологія і статистика / І. М. Горбась «Інститут кардіології ім. М. Д. Стражеска» АМН України // Здоров'я України. — 2009. — № 3/1.
2. American Heart Association. Heart and Stroke Statistics: 2005 Update. — Available at : <http://www.americanheart.org/downloadable/heart/1105390918119HDSStats2005Update.pdf>. Accessed December 3, 2005.
3. Cell transplantation for myocardial repair: an experimental approach / D. Marelli, C. Desrosiers, M. el-Alfy [et al.] // Cell Transplant. — 1992. — V. 1. — P. 383–390.
4. Differentiation and long-term survival of C2C12 myoblast graft in heart / G. Y. Koh, M. G. Klug, M. H. Soonpaa, L. J. Field // J. Clin. Invest. — 1993. — V. 92. — P. 1548–1554.
5. Chien K. R. Stem cells: lost in translation / K. R. Chien // Nature. — 2004. — V. 428. — P. 607–608.
6. No consensus on stem cells // Nature. — 2004. — V. 428. — P. 587.
7. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans / B. E. Strauer, M. Brehm, T. Zeus [et al.] // Circulation. — 2002. — V. 106. — P. 1913–1918.
8. Experimental and clinical regenerative capability of human bone marrow cells after myocardial infarction / F. Fernandez-Aviles, J. A. San Roman, J. Garcia-Frade [et al.] // Circ. Res. — 2004. — V. 95. — P. 742–748.
9. Lack of regeneration of myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans with large anterior myocardial infarctions / F. Kuethe, B. M. Richartz, H. G. Sayer [et al.] // Int. J. Cardiol. — 2004. — V. 97. — P. 123–127.
10. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction / S. L. Chen, W. W. Fang, F. Ye [et al.] // Am. J. Cardiol. — 2004. — V. 94. — P. 92–95.
11. Selected intracoronary CD133<sup>+</sup> bone marrow cells promote cardiac regeneration after acute myocardial infarction / M. Vanderheyden, S. Mansour, B. Vandekerckhove [et al.] // Circulation. — 2004. — V. 110 (suppl. III). — P. 324–325.

Узагальнивши накопичений матеріал експериментальних та клінічних досліджень, ми можемо вважати, що використання СК є перспективним напрямком лікування інфаркту міокарда та хронічної серцевої недостатності. У даній галузі здобуті суттєві досягнення, однак продовжує залишатись низка питань, що потребує вирішення: вибір методики введення СК, їх дози та кратності введення.

Різноманітність запропонованих способів доставки СК до ділянки ураженого міокарда свідчить про відсутність остаточного рішення щодо вибору способу введення СК.

Результати, отримані у клінічних дослідженнях, дають підстави вважати доцільним продовжувати дослідження для розробки методики клінічного застосування при гострому інфаркті міокарда та хронічній серцевій недостатності. Слід констатувати, що ще не розроблено диференційований підхід до вибору тактики лікування СК. Потребують додаткового вивчення питання термінів введення СК після перенесеного інфаркту міокарда та при хронічній серцевій недостатності, способів введення СК, ефективності використання СК, різних за походженням.

Таким чином, використання СК — сучасний перспективний метод, що потребує додаткових досліджень.

12. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI) / B. Assmus, V. Schachinger, C. Teupe [et al.] // *Circulation*. — 2002. — V. 106. — P. 3009–3017.
13. Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging / M. B. Britten, N. D. Abolmaali, B. Assmus [et al.] // *Circulation*. — 2003. — V. 108. — P. 2212–2218.
14. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial / V. Schachinger, B. Assmus, M. B. Britten [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2004. — V. 44. — P. 1690–1699.
15. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction / P. Menasche, A. A. Hagege, J. T. Vilquin [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2003. — V. 41. — P. 1078–1083.
16. Autologous intramyocardial injection of cultured skeletal muscle-derived stem cells in patients with non-acute myocardial infarction / J. Herreros, F. Prosper, A. Perez [et al.] // *Eur. Heart J.* — 2003. — V. 24. — P. 2012–2020.
17. Autologous skeletal myoblast transplantation for the treatment of postinfarction myocardial injury: phase I clinical study with 12 months of follow-up / T. Siminiak, R. Kalawski, D. Fiszer [et al.] // *Am. Heart J.* — 2004. — V. 148. — P. 531–537.
18. Autologous human serum for cell culture avoids the implantation of cardioverter-defibrillators in cellular cardiomyoplasty / J. C. Chachques, J. Herreros, J. Trainini [et al.] // *Int. J. Cardiol.* — 2004. — V. 95 (suppl. D). — P. 29–33.
19. Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-month follow-up / P. C. Smits, R. J. van Geuns, D. Poldermans [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2003. — V. 42. — P. 2063–2069.
20. CABG and bone marrow stem cell transplantation after myocardial infarction / C. Stamm, H. D. Kleine, B. Westphal [et al.] // *Thorac. Cardiovasc. Surg.* — 2004. — V. 52. — P. 152–158.
21. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration / C. Stamm, B. Westphal, H. D. Kleine [et al.] // *Lancet*. — 2003. — V. 361. — P. 45–46.
22. Transcoronary transplantation of progenitor cells and recovery of left ventricular function in patients with chronic ischemic heart disease: results of a randomized, controlled trial / B. Assmus, J. Honold, R. Lehmann [et al.] // *Circulation*. — 2004. — V. 110 (suppl. III). — P. 238.
23. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium / D. Orlic, J. Kajstura, S. Chimenti [et al.] // *Nature*. — 2001. — V. 410. — P. 701–705.
24. Cardiomyocytes induce endothelial cells to trans-differentiate into cardiac muscle: implications for myocardium regeneration / G. Condorelli, U. Borello, L. De Angelis [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2001. — V. 98. — P. 10733–10738.
25. Implantation of bone marrow stem cells reduces the infarction and fibrosis in ischemic mouse heart / M. Kudo, Y. Wang, M. A. Wani [et al.] // *J. Mol. Cell Cardiol.* — 2003. — V. 35. — P. 1113–1119.
26. Bone marrow stromal cells improve cardiac performance in healed infarcted rat hearts / E. L. Olivares, V. P. Ribeiro, J. P. S. Werneck de Castro [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2004. — V. 287. — P. H464–H470.
27. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function / A. A. Kocher, M. D. Schuster, M. J. Szabolcs [et al.] // *Nat. Med.* — 2001. — V. 7. — P. 430–436.
28. Myocardial neovascularization by bone marrow angioblasts results in cardiomyocyte regeneration / M. D. Schuster, A. A. Kocher, T. Seki [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2004. — V. 287. — P. H525–H532.
29. Cell transplantation to prevent heart failure: a comparison of cell types / T. Fujii, T. M. Yau, R. D. Weisel [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* — 2003. — V. 76. — P. 2062–2070.
30. Moore K. A. Stem cells and their niches / K. A. Moore, I. R. Lemischka // *Science*. — 2006. — V. 311. — P. 1880–1885.
31. Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiation / J. M. Nygren, S. Jovinge, M. Breitbach [et al.] // *Nat. Med.* — 2004. — V. 10. — P. 494–501.
32. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia / A. Kawamoto, H. C. Gwon, H. Iwaguro [et al.] // *Circulation*. — 2001. — V. 103. — P. 634–637.
33. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction / S. Shintani, T. Murohara, H. Ikeda [et al.] // *Circulation*. — 2001. — V. 103. — P. 2776–2779.
34. Transdifferentiation of human peripheral blood CD34<sup>+</sup>-enriched cell population into cardiomyocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells *in vivo* / E. T. Yeh, S. Zhang, H. D. Wu [et al.] // *Circulation*. — 2003. — V. 108. — P. 2070–2073.

35. Early expression of angiogenesis factors in acute myocardial ischemia and infarction / S. H. Lee, P. L. Wolf, R. Escudero [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 2000. — V. 342. — P. 626–633.
36. Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy / A. T. Askari, S. Unzek, Z. B. Popovic [et al.] // *Lancet.* — 2003. — V. 362. — P. 697–703.
37. *Frangogiannis N. G.* The inflammatory response in myocardial infarction / N. G. Frangogiannis, C. W. Smith, M. L. Entman // *Cardiovasc. Res.* — 2002. — V. 53. — P. 31–47.
38. Monitoring of bone marrow cell homing to the infarcted human myocardium / K. C. Wollert, M. Hofmann, G. P. Meyer [et al.] // *Circulation.* — 2004. — V. 110 (suppl. III). — P. 436.
39. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution / I. M. Barbash, P. Chouraqui, J. Baron [et al.] // *Circulation.* — 2003. — V. 108. — P. 863–868.
40. Assessment of the tissue distribution of transplanted human endothelial progenitor cells by radioactive labeling / A. Aicher, W. Brenner, M. Zuhayra [et al.] // *Circulation.* — 2003. — V. 107. — P. 2134–2139.
41. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial / K. C. Wollert, G. P. Meyer, J. Lotz [et al.] // *Lancet.* — 2004. — V. 364. — P. 141–148.
42. Transplantation of autologous fresh bone marrow into infarcted myocardium: a word of caution / A. Bel, E. Messas, O. Agbulut [et al.] // *Circulation.* — 2003. — V. 108 (suppl. II). — P. 247–252.
43. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation / H. F. Tse, Y. L. Kwong, J. K. Chan [et al.] // *Lancet.* — 2003. — V. 361. — P. 47–49.
44. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease: a feasibility study / S. Fuchs, L. F. Satler, R. Kornowski [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2003. — V. 41. — P. 1721–1724.
45. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure / E. C. Perin, H. F. Dohmann, R. Borojevic [et al.] // *Circulation.* — 2003. — V. 107. — P. 2294–2302.
46. Improved exercise capacity and ischemia 6 and 12 months after transendocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells for ischemic cardiomyopathy / E. C. Perin, H. F. Dohmann, R. Borojevic [et al.] // *Circulation.* — 2004. — V. 110 (suppl. II). — P. 213–218.
47. Percutaneous transvenous cellular cardiomyoplasty: a novel nonsurgical approach for myocardial cell transplantation / C. A. Thompson, B. A. Nasser, J. Makower [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2003. — V. 41. — P. 1964–1971.
48. Percutaneous transvenous transplantation of autologous myoblasts in the treatment of postinfarction heart failure: the POZNAN trial / T. Siminiak, D. Fiszer, O. Jerzykowska [et al.] // *Eur. Heart J.* — 2004. — V. 25. — P. 264.

***А.В. Габриелян, В.И. Смержевский, Т.Н. Доманский, В.Ф. Онищенко***

#### **СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В КОМПЛЕКСЕ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С НАРУШЕННОЙ ФУНКЦИЕЙ СОКРАЩЕНИЯ МИОКАРДА**

Проанализировано состояние экспериментальных и клинических исследований эффективности применения и механизма действия стволовых клеток на поврежденный миокард, а также пути доставки стволовых клеток к пораженному миокарду при лечении ишемической болезни сердца и хронической сердечной недостаточности. Продемонстрировано, что накопленный опыт доказал перспективность использования стволовых клеток в лечении нарушенной сократительной функции миокарда.

***Ключевые слова:*** сократительная функция миокарда, стволовые клетки, ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность.

***A.V. Gabrielyan, V.I. Smorjevskiy, T.M. Domanskiy, V.F. Onischenko***

#### **STEM CELLS IN COMPLEX TREATMENT OF PATIENTS WITH IMPAIRED MYOCARDIAL CONTRACTIVE FUNCTION**

The state of experimental and clinical studies and the effectiveness of the mechanism of action of stem cells in the affected myocardium, and ways of delivery of stem cells into diseased myocardium in the treatment of coronary heart disease and chronic heart failure. It was demonstrated, that accumulated experience has shown promising use of stem cells in the treatment of myocardial contractile function.

***Key words:*** contractile function of the myocardium, stem cells, coronary heart disease, chronic heart failure.

УДК 615.361.013.68.014.41:612.017.1:616.381-002

**К.А. Гольцев, И.А. Криворучко\*, К.А. Ачгибесов\*, О.В. Сафранчук,  
О.Ю. Кожина, М.В. Останков, А.Н. Гольцев**

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков  
\* Харьковский национальный медицинский университет*

## **ПРИМЕНЕНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ КОРДОВОЙ КРОВИ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ОСТРОГО ГНОЙНОГО ПЕРИТОНИТА У КРЫС**

Представлены экспериментальные данные по оценке эффективности криоконсервированной кордовой крови в комплексной терапии острого гнойного перитонита. Показано, что применение криоконсервированной кордовой крови в комплексе с антибиотиком на фоне предварительной релапаротомии положительно влияет на содержание медиаторов воспаления: концентрацию провоспалительного (ИФН- $\gamma$ ) и противовоспалительного (ИЛ-10) цитокинов, С-реактивного белка, показатели крови, а также выживаемость животных с острым гнойным перитонитом. Установлено, что каждая из схем изменяла в разной степени цитокиновый профиль. Наиболее выраженное снижение уровня провоспалительного цитокина ИФН- $\gamma$  и положительное влияние на синтез противовоспалительного цитокина ИЛ-10, уменьшение концентрации С-реактивного белка и коррекция показателей крови наблюдались в группе животных, которым во время релапаротомии и санации брюшной полости внутривенно вводили криоконсервированную кордовую кровь с антибиотиком. В этой же группе наблюдалась максимальная выживаемость животных. Такое действие криоконсервированной кордовой крови можно связать с ее участием в регуляторных эффектах, обеспечивающих сопряженную работу биологических систем: иммунной, эндокринной и нервной.

**Ключевые слова:** острый гнойный перитонит, криоконсервированная кордовая кровь, цитокин ИЛ-10, цитокин ИФН- $\gamma$ , С-реактивный белок, лейкоцитоз.

Проблема перитонита определяется широкой распространенностью указанного заболевания, сложностью и множеством нарушений в организме больного [1–6]. Несмотря на применение антибиотиков широкого спектра действия, некоторых видов иммуномодуляторов, экстракорпоральных методов детоксикации организма, гипербарической оксигенации, СВЧ и т. д., существенного снижения летальности не наблюдается [2, 3, 7–15].

В свете новых диагностических технологий очевидна необходимость изучения роли иммуновоспалительного процесса при перитоните [17]. Это позволит оптимизировать схемы и повысить эффективность применения иммуномодулирующей терапии, направленной на уменьшение реакции локального воспаления, минимизации риска развития аутоиммунной агрессии, нарушения в целом гомеостаза организма и, как

итого, снизить степень инвалидности и летальность пациентов. Приведенные факты свидетельствуют об актуальности такого рода исследований. К тому же, терапевтическое воздействие на иммунную систему считается целесообразным при лечении перитонита [16].

Исходя из сказанного, становится очевидным необходимость применения для лечения острого гнойного перитонита (ОГП) препаратов с потенциалом системной регуляторной активности (коррекции) [5, 13, 14]. На основании достаточного объема информации к ним вполне можно отнести и препараты, которые получены из кордовой крови человека [18–21]. Одним из них является «Гемокорд», который был апробирован в наших исследованиях как потенциальный корректор состояния иммунную систему организма экспериментальных животных при развитии ОГП.

© К.А. Гольцев, И.А. Криворучко, К.А. Ачгибесов и др., 2011

«Гемокорд» разработан и производится в Институте проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины [19]. Представляет собой суспензию взвешенных в собственной плазме кордовой крови ядросодержащих клеток, в состав которых входят криоконсервированные гемопоэтические и мезенхимальные стволовые клетки. Аутологичная плазма содержит биологически активные вещества, например, монокины, интерлейкины, интерферон, ферменты, гормоны, микроэлементы, аминокислоты и витамины.

Цель работы — оценить эффективность корректирующего влияния криоконсервированной кордовой крови (кКК) в комплексном лечении крыс с ОГП на медиаторы воспаления: провоспалительного ИФН- $\gamma$  и противовоспалительного ИЛ-10, уровень С-реактивного белка (С-РБ), показатели крови, а также выживаемость животных.

**Материал и методы.** Работа выполнена на крысах линии Вистар массой 160–180 г 6-месячного возраста в соответствии с правилами «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в научных целях» (Страсбург, 1985), одобренными Национальным конгрессом Украины по биоэтике (Киев, 2003) [22]. Лабораторных животных содержали в условиях вивария ИПКиК НАН Украины и использовали в экспериментальной работе согласно рекомендациям [23].

Моделировали ОГП путем перевязки и отсечения червеобразного отростка, который оставляли в брюшной полости крысы [6]. Оперировали крыс под общим тиопенталовым наркозом. Лейкоконцентрат выделяли из цельной кордовой крови человека путем отделения эритроцитов пассивной седиментацией в градиенте плотности с добавлением полиглюкина. Криоконсервировали его на программном замораживателе УОП-6 производства СКТБсОП ИПКиК НАН Украины без добавления традиционного криопротектора по двухэтапной программе, разработанной и запатентованной в ИПКиК НАН Украины [19]. Размораживание осуществляли на водяной бане при температуре 40–41 °С [18].

Все крысы были разделены на пять групп: 1-я — интактные крысы (контроль); 2-я — крысы с ОГП, которым через 24 часа после операции проводили релапаротомию с санацией брюшной полости раствором фурацилина; 3-я — крысы с ОГП, которым после релапаротомии проводили внутримышеч-

ную инъекцию ампициллина в дозе 40 мг/кг массы тела; 4-я — крысы с ОГП, которым после релапаротомии одновременно с инъекцией ампициллина внутривенно вводили кКК в объеме 0,3 мл —  $(5-6) \cdot 10^6$  клеток; 5-я — крысы с ОГП, которым после релапаротомии внутривенно вводили только кКК в том же объеме.

Содержание клеток-продуцентов цитокинов ИЛ-10 и ИФН- $\gamma$  оценивали в селезенке крыс методом проточной цитофлуориметрии (FACS Calibur, BD, США) с использованием моноклональных антител (МАТ) (BD, США) к соответствующим медиаторам [3]. Для идентификации внутриклеточных антигенов перед инкубацией с МАТ клетки предварительно пермеабелизировали с помощью реактивов Cytotfix/Cytoperm и Perm/Wash Duffer фирмы BD Pharmingen. В качестве контроля использовали пробы с добавлением неиммунных меченных FITC и PE МАТ того же изотипа, что и антитела против исследуемого маркера. Статистический учет данных, полученных цитофлуориметрическим анализом, осуществляли с помощью программы WinMDI 2.8. Уровень С-реактивного белка определяли в сыворотке крови крыс с использованием метода латексной агглютинации. Количество лейкоцитов в крови, взятой из хвостовой вены крыс, определяли в геманализаторе (Abacus, Австрия). Морфологический состав клеток периферической крови оценивали на мазках-отпечатках, окрашенных азу-Р эозином по Романовскому [14] в световом микроскопе (Primo Star Carl Zeiss, Германия; окуляр  $\times 10$ , объектив  $\times 90$  — иммерсия).

Оценку указанных показателей проводили на 1-е, 3-и и 5-е сутки после релапаротомии. Из эксперимента животных выводили путем декапитации [23]. Во 2–5-й группах были дополнительно оставлены животные с ОГП для определения их выживаемости в течение 1, 3, и 5-х суток после релапаротомии.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по методу Стьюдента–Фишера с помощью программы Statistica 7.0 (Stat Soft Inc), адаптированной к поставленным задачам.

**Результаты и их обсуждение.** В ходе исследования выявили взаимосвязь между различными маркерами иммунного воспаления и их ролью в патогенезе ОГП. Провоспалительный цитокин ИФН- $\gamma$  является одним из главных медиаторов первичного иммунного ответа на антиген. Он активирует иммунную реакцию и, регулируя

функцию Т- и В-лимфоцитов при эксквизитных ситуациях, может запускать аутоиммунную реакцию. Как видно из представленных на рис. 1 данных, на 1-е сутки после релапаротомии количество клеток с рецептором к ИФН- $\gamma$  достоверно ( $p < 0,001$ ) повышалось у крыс группы 2. На 5-е сутки наблюдали незначительное снижение данного показателя у животных этой группы по сравнению с контролем, что доказывает участие провоспалительного цитокина в инициации «запуска» воспалительного процесса. При стандартном лечении антибиотиком уровень провоспалительного цитокина у крыс группы 3 оставался повышенным и на 5-е сутки наблюдения, но был ниже, чем у животных группы 2.

У крыс группы 4, которым после релапаротомии вместе с антибиотиком была введена кКК, наблюдали более выраженное на 5-е сутки снижение концентрации клеток с рецептором к данному цитокину, чем в группах 3 и 5 (рис. 1). Полученные данные свидетельствуют о том, что кКК оказывает более выраженный эффект только в сочетании с антибиотиком.

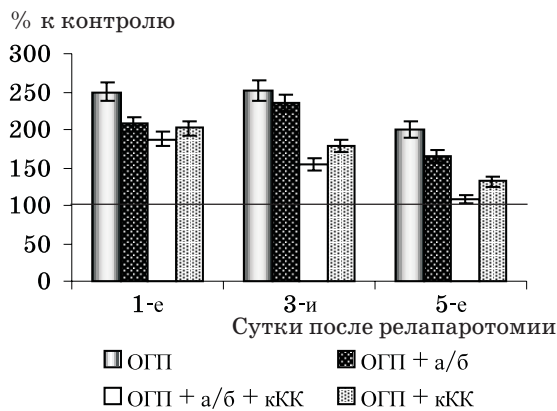


Рис. 1. Динамика содержания провоспалительного цитокина ИФН- $\gamma$  у крыс с ОГП и после лечения: горизонтальная линия — контроль

Известно, что прогрессирование воспалительного процесса может происходить не только под влиянием абсолютного увеличения концентрации клеток-продуцентов провоспалительных цитокинов, но и вследствие недостатка противовоспалительных цитокинов. При определении содержания клеток с рецептором к ИЛ-10 у крыс группы 2 мы выявили значительную их вариабельность, что, вероятно, отражает полиморфизм состояния иммунологической реактивности организма животного по отношению к патологическому процессу. У одних животных отмечали низкое содержание

клеток-продуцентов ИЛ-10 относительно контроля и на 5-е сутки. У других такого снижения не наблюдали, что, по-видимому, отражает особенности активации клеток в ответ на воспалительный процесс. На основании полученных данных было показано, что отсутствие клеток с рецептором к ИЛ-10 или низкое их содержание позволяют прогнозировать неблагоприятное течение перитонита с летальным исходом.

Результаты исследования демонстрируют значимость дефицита противовоспалительных цитокинов в патогенезе перитонита. Уровень цитокина ИЛ-10, оказывающего корректирующее влияние на Т-клеточное звено иммунной системы, хотя и повышался у крыс группы 3 при традиционной терапии уже на 1-е сутки исследования, однако не достигал контрольных значений и на 5-е сутки (рис. 2). Ближе всего эти показатели приближались к контролю у крыс группы 4 на 5-е сутки исследования. У крыс группы 5 хотя и наблюдали более выраженное повышение уровня цитокина ИЛ-10 на 5-е сутки, чем у животных группы 3, но он был ниже, чем у крыс группы 4 в этот период. Этот факт подтверждается повышением уровня клеток с рецептором к ИЛ-10 у животных группы 4 и 5 на 5-е сутки относительно исходного фона ( $p < 0,05$ ), рис. 2.

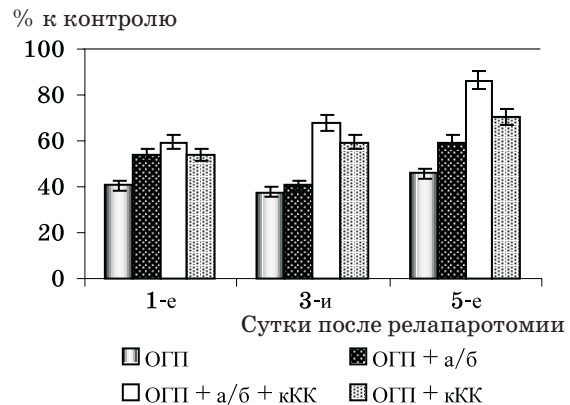


Рис. 2. Динамика содержания противовоспалительного цитокина ИЛ-10 у крыс с ОГП и после лечения: горизонтальная линия — контроль

Хотя концентрация ИЛ-10 во всех исследуемых группах была ниже контрольной, его содержание у крыс группы 4 было достоверно выше, чем у крыс групп 3 и 5 (рис. 2).

Применение кКК с антибиотиком положительно воздействовало на цитокиновый профиль, что проявлялось во влиянии в большей степени на концентрацию клеток-продуцентов противовоспалительного ИЛ-10 и способствовало подавлению активации

клеток-продуцентов провоспалительного цитокина ИФН- $\gamma$ .

Доказательством развития иммуновоспалительного процесса у крыс с ОГП на 1-е сутки после операции было обнаружение положительных результатов (от + до ++), при исследовании С-РБ в сыворотке крови животных всех опытных групп. На 3-и сутки также была выявлена положительная, но более слабая реакция (+) у крыс всех групп. На 5-е сутки у крыс группы 4 отмечали слабopоложительную реакцию или ее отсутствие. В этот период у крыс групп 3 и 5 наблюдали положительную реакцию на содержание С-РБ в сыворотке крови с результатом (+).

Экспансия патологического процесса и развитие воспаления в брюшине подтверждается палочкоядерным сдвигом на фоне лейкоцитоза. Такое увеличение содержания палочкоядерных форм на 1-е сутки у крыс всех исследуемых групп животных, вероятно, отражает не только иммунное воспаление, но и реакцию организма на стрессовую ситуацию, показывая остроту развития патологического процесса. Степень и длительность выраженного лейкоцитоза у крыс при развитии ОГП и лечении была различна. Так, у нелеченных животных группы 2 через сутки после релапаротомии содержание лейкоцитов периферической крови в 2 раза превышало контрольные показатели. На 3-и сутки у животных этой группы наблюдали увеличение уровня лейкоцитов в 3 раза. У выживших животных этой группы количество лейкоцитов крови, хотя и снижалось на 5-е сутки, в 2 раза превышало контрольные показатели. Применение антибиотика приводило к снижению содержания лейкоцитов на 1-е сутки у крыс группы 3, однако их количество достоверно превышало показатели контрольной группы ( $p > 0,5$ ). На 3-и сутки количество лейкоцитов вновь возрастало в 3 раза, т. е. также, как и в группе 2, в эти же сроки. На 5-е сутки наблюдалось незначительное снижение количества лейкоцитов, однако данный показатель был выше контроля. У крыс группы 4 выраженная положительная динамика уменьшения количества лейкоцитов в крови была отмечена уже на 3-и сутки. На 5-е сутки количество лейкоцитов еще в большей степени снизилось и практически соответствовало контролю (рис. 3). У крыс группы 5 количество лейкоцитов во все сроки наблюдения было ниже, чем в группе 2 и 3, но выше, чем в группе 4.

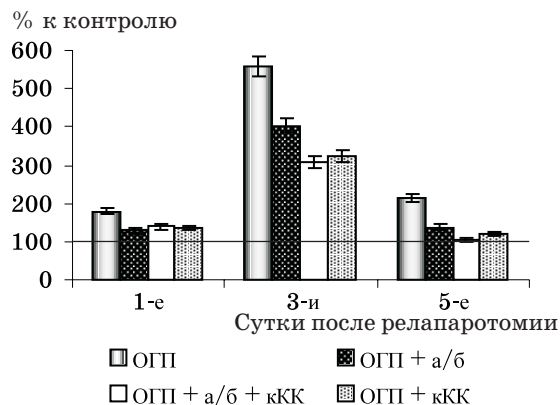


Рис. 3. Количество лейкоцитов крови у крыс с ОГП и после лечения: горизонтальная линия — контроль

При оценке морфологического состава крови крыс группы 2 после релапаротомии наблюдали нейтрофилез со сдвигом влево. Такого рода изменения крови характерны при экспансии смешанной аэробно-анаэробной инфекции [9]. Одним из наиболее значимых изменений в клеточном составе крови крыс этой группы является 5, 6-кратное снижение количества лимфоцитов на 1-е сутки после релапаротомии. Данный факт может подчеркивать проявление стресс индуцированной ситуации при ОГП, и снижение количества лимфоцитов за счет их гибели в данных условиях подчеркивает «молниеносность» ответа иммунной системы организма крыс на инвазию инфекционного начала (рис. 4).

На фоне применяемой терапии наблюдали существенное перераспределение форменных элементов крови уже на 1-е сутки, которое сохранялось на протяжении всего срока исследования. Так, у крыс группы 3 после введения антибиотика показатели крови на 5-е сутки были достоверно выше, чем у животных группы 2. Примерно в 1,5 раза снижался процент нейтрофилов и в 3 раза повышался процент лимфоцитов. Однако и к этому сроку еще очевидны были существенные отличия указанных показателей от контроля. После лечения крыс введением кКК вместе с антибиотиком положительная динамика основных показателей крови была выражена в большей степени, хотя очевидность ее проявления наблюдали только на 3-и сутки. Особенно стоит подчеркнуть весьма значимое повышение уровня лимфоцитов на 5-е сутки по сравнению с показателями у крыс группы 3 ( $p < 0,05$ ), которое существенно приближалось к контрольным значениям (рис. 4). У животных

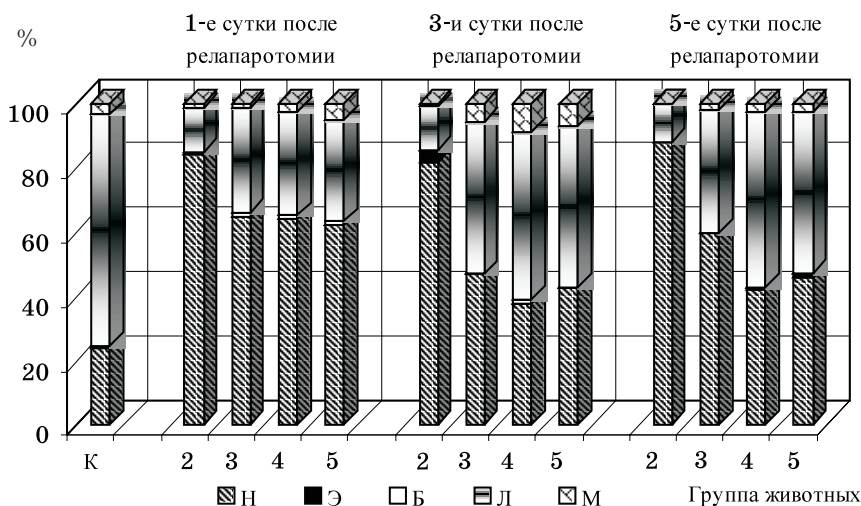


Рис. 4. Лейкоцитарная формула крови крыс с ОГП и после лечения

группы 5 положительная динамика основных показателей крови была менее выражена, чем у крыс группы 4, и ее проявление наблюдали только на 5-е сутки. Данный факт согласуется с результатами ряда исследований, в которых показана выраженная способность препаратов кордовой крови оказывать ингибирующий эффект на бактериальную микрофлору. Такой потенциал препарата реализуется через его способность стимулировать лимфоцитопоз и проявлять бактериотоксическую активность [5, 19, 20].

Была установлена положительная корреляция между частотой повышения уровня ИФН- $\gamma$  и палочкоядерными нейтрофилами ( $r=0,51 \pm 0,09$ ), с одной стороны, и ИФН- $\gamma$  и С-РБ ( $r=1,0$ ) — с другой, т. е. при сопоставлении полученных результатов была обнаружена прямая положительная связь между показателями воспалительных реакций. Вместе с тем концентрация ИЛ-10 имела отрицательную корреляцию с содержанием С-РБ ( $r=0,51$ ), что свидетельствует об интенсивности воспалительного ответа на фоне недостатка факторов защиты. На основании полученных данных было показано, что отсутствие клеток с рецептором к ИЛ-10 или низкое их содержание в течение 5 суток позволяют прогнозировать неблагоприятное течение перитонита с летальным исходом. Проведенное исследование продемонстрировало значимость дефицита противовоспалительных цитокинов в патогенезе ОГП и формировании воспалительного процесса.

Оценка интегрального показателя тяжести развития ОГП, а именно: гибель животных, показала четкие различия в исследуемых группах (рис. 5). На 3-и сутки после

релапаротомии в группе 2 нелеченных животных погибло около 50 %, на 5-е сутки — 80 %. Это соответствует результатам других экспериментальных и клинических наблюдений по летальности при тяжелых формах перитонита [6, 8, 12]. В группе 3, животных которой лечили только антибиотиком, интегральная выживаемость была в 1,8 раза выше, чем в группе 2. Применение с антибиотиком кКК повышало выживаемость примерно на 25 % уже на 3-и сутки относительно таковой в группе 2. На 5-е сутки различия выживаемости в группах нелеченных животных и леченных введением кКК с антибиотиком становились еще более выраженными, подчеркивая существенное преимущество такого лечения над применением только антибиотика (группа 3) или только введением кКК. Важно заметить, что основная масса животных в группах 2 и 3 погибала на 3-и сутки, а на 5-е — погибало около 20 % крыс. В группах 4 и 5 гибель животных была равномерной, а именно: при- % к контролю

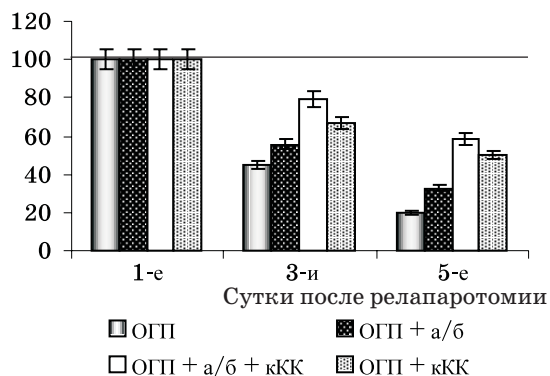


Рис. 5. Показатели выживаемости крыс с ОГП и после лечения: горизонтальная линия — контроль

мерно по 20 % как на 3-и, так и на 5-е сутки. Таким образом, благодаря введению кКК создавался «запас прочности» выживаемости уже на 3-и сутки, подчеркивая ее влияние на быструю мобилизирующую активность организма.

Таким образом, результаты исследования у крыс с ОГП продемонстрировали способность кКК в сочетании с антибиотиком воздействовать на медиаторы иммунного воспаления, изменяя в разной степени цитокиновый профиль, что коррелировало с уровнем С-РБ, показателями крови и выживаемостью животных.

#### Выводы

1. Криоконсервированная кордовая кровь при сочетанном применении с антибиотиком во время релапаротомии является важным компонентом патогенетического

лечения острого гнойного перитонита в условиях эксперимента.

2. Установлено преимущество применения криоконсервированной кордовой крови с антибиотиком над применением только антибиотика или только криоконсервированной кордовой крови, что обеспечивает наиболее выраженное снижение концентрации клеток-продуцентов провоспалительного цитокина интерферона- $\gamma$  и уровень С-реактивного белка, а также способствует повышению количества клеток с рецепторами к провоспалительному цитокину интерлейкину-10 и выживаемостью животных.

3. Полученные результаты экспериментальных исследований позволяют рекомендовать криоконсервированную кордовую кровь в сочетании с антибиотиком и релапаротомией для клинического применения при лечении острого гнойного перитонита.

#### Список литературы

1. Ашрафов Р. А. Этиология и патогенез перитонита / Р. А. Ашрафов // Харківська хірургічна школа. — 2002. — № 1. — С. 106–110.
2. Гринев М. В. Хирургический сепсис / М. В. Гринев, М. И. Громов, В. Е. Комраков. — СПб. — М., 2001. — 350 с.
3. Методология изучения системного воспаления / Е. Ю. Гусев, Л. Н. Юрченко, В. А. Черешнев, Н. В. Зотова // Цитокины и воспаление. — 2008. — Т. 7, № 1. — С. 15–23.
4. Иванова Ю. В. Динамика некоторых показателей гомеостаза организма после СВЧ-облучения брюшной полости при экспериментальном гнойном перитоните / Ю. В. Иванова // Харківська хірургічна школа. — 2005. — № 3, вип. 18. — С. 57–60.
5. Мельник В. М. Обґрунтування і результати патогенетичного лікування експериментального гострого гнійного поширеного перитоніту / В. М. Мельник, О. І. Пойда // Укр. журнал екстремальної медицини ім. Г. О. Можаяєва. — 2005. — Т. 6, № 4. — С. 56–60.
6. Острый разлитой перитонит / под ред. А. И. Струкова, В. И. Петрова, В. С. Паукова. — М. : Медицина, 1987. — 228 с.
7. Ачох З. З. Комплексное лечение разлитого гнойного перитонита с использованием гипохлорида натрия и ронколейкина : автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. наук / З. З. Ачох. — Краснодар, 2005. — 22 с.
8. Бондарев В. И. К вопросу о видеолaparоскопической санации брюшной полости у больных с острым разлитым перитонитом / В. И. Бондарев, Р. В. Бондарев // Укр. мед. альманах. — 2003. — № 6. — С. 20–22.
9. Буянов В. М. Комплексное лечение острого разлитого перитонита / В. М. Буянов, Т. И. Ахметели, Н. Б. Ломидзе // Хирургия. — 1997. — № 8. — С. 4–8.
10. Сепсис: диагностическая концепция, патогенез и интенсивная терапия / Гельдфанд Б. Р., Руднев В. А., Проценко Д. Н. [и др.] // Сепсис в начале XXI века: классификация, клинко-диагностическая концепция и лечение. — М.—СПб., 2004. — С. 3–35.
11. Гнойный перитонит. Патопфизиология и лечение / под ред. А. Я. Цыганенко. — Харьков : Контраст, 2002. — 280 с.
12. Иммунология : практикум / [Пастер Е. У., Овод В. В., Позур В. К., Вихоть Н. Е.]. — К. : Вища школа, 1989. — 304 с.
13. Назаренко Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун. — М. : Медицина, 2000. — 544 с.
14. Применение препарата бактимс при лечении экспериментального разлитого гнойного перитонита / Б. А. Саидханов, К. О. Махмудов, А. Р. Гутникова [и др.] // Клінічна хірургія. — 2001. — № 6. — С. 49–51.
15. Малый В. П. Сепсис в практике клинициста / В. П. Малый. — Харьков : Прапор, 2008. — 584 с.
16. Иммунокорректоры в комплексном лечении послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений у хирургических больных и мониторинг иммунологических показателей / А. А. Бу-

натян, Е. В. Ивняева, В. В. Нигода, Л. И. Винницкий // Анестезиология и реаниматология. — 2004. — № 5. — С. 79–83.

17. Применение кордовой крови у больных с желудочными кровотечениями язвенного генеза / В. В. Бойко, В. И. Грищенко, А. А. Цуцаева, И. А. Криворучко // Вісник проблем біології і медицини. — 1999. — Вип. 3. — С. 14–18.

18. Гольцев А. Н. Пуповинная кордовая кровь человека как источник гемопоэтических клеток для клинического применения. Часть I. Характеристики гемопоэтического потенциала / А. Н. Гольцев, Т. А. Калиниченко // Проблемы криобиологии. — 1998. — № 1. — С. 3–24.

19. Хирургическая модель острого гнойного перитонита / Ф. Ф. Усиков, Е. В. Пастернак, Л. Д. Романова [и др.] // Хирургия. — 1984. — № 8. — С. 27–29.

20. Заготовка, криоконсервирование и клиническое применение гемопоэтических клеток кордовой крови человека : метод. рекомендации / [Цуцаева А. А., Грищенко В. И., Прокопюк О. С. и др.]. — Харьков, 2000. — 18 с.

21. Чернов В. Н. Классификация и принципы лечения острого гнойного перитонита / В. Н. Чернов, Б. М. Белик // Хирургия. — 2000. — № 4. — С. 52–56.

22. Загальноетичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. — 2003. — Т. 8, № 1. — С. 142–145.

23. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / [Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А., Западнюк Б. В.]. — К. : Вища школа, 1983. — 383 с.

*К.А. Гольцев, І.А. Криворучко, К.А. Ачгібесов, О.В. Сафранчук, О.Ю. Кожина, М.В. Останков, А.М. Гольцев*

#### **ВИКОРИСТАННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ КОРДОВОЇ КРОВІ В КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ ГОСТРОГО ГНІЙНОГО ПЕРИТОНІТУ У ЩУРІВ**

Представлені експериментальні дані щодо оцінки ефективності впливу кріоконсервованої кордової крові в комплексній терапії гострого гнійного перитоніту. Показано, що застосування кріоконсервованої кордової крові в комплексі з антибіотиком на тлі попередньої релапаротомії мало позитивний вплив на вміст медіаторів запалення: концентрацію прозапального (ІФН- $\gamma$ ) і протизапального (ІЛ-10) цитокінів, С-реактивного білка, показників крові та виживаність тварин з гострим гнійним перитонітом. Встановлено, що кожна схема змінювала цитокіновий профіль різною мірою. Найбільш виражене зниження рівня прозапального цитокіну ІФН- $\gamma$  позитивно впливає на синтез протизапального цитокіну ІЛ-10, зменшення концентрації С-реактивного білка та корекція показників крові спостерігалися у групі тварин з попередньою релапаротомією та санацією черевної порожнини з внутрішньовенним введенням кріоконсервованої кордової крові з антибіотиком. В цій самій групі була максимальна виживаність тварин. Такий позитивний вплив кріоконсервованої кордової крові можна пов'язати з її участю в регуляторних ефектах, які забезпечують сполучену роботу біологічних систем: імунної, ендокринної та нервової.

**Ключові слова:** *гострий гнійний перитоніт, кріоконсервована кордова кров, цитокін ІЛ-10, цитокін ІФН- $\gamma$ , С-реактивний білок, лейкоцитоз.*

*К.А. Goltsev, І.А., Krivoruchko, К.А. Achgibesov, О.В. Safranchuk, О.Ю. Kozhina, М.В. Ostankov, А.М. Goltsev*

#### **APPLICATION OF CRYOPRESERVED CORD BLOOD IN COMBINED THERAPY OF ACUTE PURULENT PERITONITIS IN RATS**

The experimental data on estimation of the efficiency of cryopreserved cord blood in a combined therapy of acute purulent peritonitis are presented. It has been shown, that application of cryopreserved cord blood in combination with antibiotic on the background of preliminary relaparotomy positively affects the content of inflammation mediators: concentration of pro-inflammatory (IFN- $\gamma$ ) and anti-inflammatory (IL-10) cytokines, level of C-reactive protein, blood indices, as well as survival of animals with acute purulent peritonitis. It has been established, that each protocol changed the cytokine profile in a different extent. The most manifested reduction of the level of pro-inflammatory cytokine IFN- $\gamma$  and positive effect on the synthesis of pro-inflammatory cytokine IL-10, decrease in the concentration of C-reactive protein and correction of blood indices were observed on the group of animals, which during relaparotomy and sanitation of abdominal cavity were intravenously injected with cryopreserved cord blood with antibiotic. In the same group there was found the maximum survival of animals. Such an effect of cryopreserved cord blood may be related to its involvement into regulatory effects, providing a conjugated work of biological systems: immune, endocrine and nervous ones.

**Key words:** *acute purulent peritonitis, cryopreserved cord blood, cytokine IL-10, cytokine IFN- $\gamma$ , C-reactive protein, leukocytosis.*

УДК 612.35+616.36-091.8-089.843

*І.В. Гомоляко, І.В. Григорова, Н.Є. Клочкова,  
Л.С. Донцова, І.О. Швадчин*

*Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова  
НАМН України, м. Київ*

## МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧІНКИ ДОНОРІВ

Морфологічні ознаки вірусного ураження печінки виявлені у 36,4 % клінічно здорових донорів за відсутності вірусів гепатиту С та В. Це свідчить про обов'язковість морфологічних досліджень печінки донорів на дотрансплантаційному етапі. Доцільним є використання каріометрії як об'єктивного критерію морфофункціонального стану печінки.

**Ключові слова:** гепатоцит, печінка, трансплантація, морфометрія, гідропічна дистрофія.

Об'єктивна оцінка стану печінки потенційного родинного донора є надзвичайно важливою, оскільки від цього значною мірою залежить успіх подальшої трансплантації [1, 2]. Придатність печінки донора для трансплантації визначається результатами клініко-лабораторних досліджень, однак біохімічні показники функції органа не завжди корелюють з її морфологічними характеристиками, а візуальна морфологічна оцінка стану печінки є досить суб'єктивною, незважаючи на наявність розроблених чітких критеріїв [3, 4].

Метою даного дослідження було вивчення морфологічних характеристик печінки потенційних родинних донорів та дослідження можливостей об'єктивізації морфологічних характеристик дистрофічно-запального процесу в печінці клінічно здорових осіб.

**Матеріал і методи.** Досліджено 44 біоптати печінки клінічно здорових осіб — можливих родинних донорів печінки. Всі лабораторні показники, в тому числі і біохімічні показники функції печінки знаходились в межах норми, віруси гепатитів В і С не виявлені. Біоптати печінки обробляли за стандартною гістологічною методикою із забарвленням зрізів гематоксилін-еозином, резорцин-фуксином та за ШИК-реакцією. Дистрофічно-запальні зміни в печінці оцінювали за шкалою R. Knodell et al. [4], до якої додатково була введена градація 0,5 бала з метою реєстрації мінімальних змін;

відповідно сформовано п'ять груп спостережень. Паралельно використовували шкалу METAVIR [3]. Каріометрія ядер гепатоцитів (по 50 ядер у трьох випадково обраних полях зору) включала оцінку площі (s) та яскравості (int) ядер гепатоцитів; обладнання — аналізатор зображення (Olympus, Японія), програмне забезпечення — DP-SOFT (Німеччина) та PARADISE (Україна).

Для аналізу цифрового матеріалу використовували оптимальне квантування ознак за квантильно-ранговим класифікаційним методом з виділенням трьох діапазонів для кожного з показників з умовними позначеннями і назвами: sA — «дрібні» ядра, sB — «середні», sC — «великі»; intA — «темні», intB — «помірні», intC — «світлі». Достовірність відмінностей між групами визначали за допомогою критерію Ст'юдента,  $\chi^2$  Пірсона, критерію Манна-Уїтні-Вілкоксона [5–7]. Статистичні показники розраховували з використанням комп'ютерних програм «EXCEL» (Microsoft, 2003, USA) та «STATISTICA 6.1» (StatSoft Inc., 1984–2004, USA) [8].

**Результати та їх обговорення.** Характеристика вираженості морфологічних змін у донорів печінки представлена відповідно до модифікованої шкали R. Knodell et al. у балах (таблиця). У переважної більшості донорів (I група, 54,5 %) фіброз портальних просторів був відсутній, у 20,5 % (II група) мав незначну вираженість і спостерігався в окремих портальних трактах. Ознаки фіб-

© І.В. Гомоляко, І.В. Григорова, Н.Є. Клочкова та ін., 2011

## Вираженість морфологічних змін у біоптатах печінки донорів, %

| Ознака   | Групи          |                  |                |                |               |                |
|--|----------------|------------------|----------------|----------------|---------------|----------------|
|  | I<br>(0 балів) | II<br>(0,5 бала) | III<br>(1 бал) | IV<br>(2 бали) | V<br>(3 бали) | VI<br>(4 бали) |
| Фіброз печінки                                     | 54,5           | 20,5             | 15,9           | 6,8            | 2,3           | –              |
| Інфільтрація порталних трактів                     | 47,7           | 31,8             | 11,4           | 6,8            | 2,3           | –              |
| Внутрішньочасточкова дегенерація, фокальні некрози | 29,5           | 34,1             | 18,2           | 15,9           | 2,3           | –              |

розу порталних просторів були виявлені у 11 осіб (I–V групи, 25,0 %), причому F3 (септальний фіброз з портално-портальними і портално-септальними зв'язками) був виявлений лише у 1 донора (2,3 %). Таким чином, у 75,0 % біоптатів печінки донорів фіброз був практично відсутній, але в 1 випадку за відсутності клініко-лабораторних ознак патології спостерігались значні фіброзні зміни, що робило недоцільним використання такої печінки для трансплантації.

Запальна інфільтрація порталних трактів є наступною морфологічною ознакою, яка характеризує стан печінки донорів. У 47,7 % (I група) спостережень запальна інфільтрація була відсутня, в 31,8 % (II група) слабка запальна інфільтрація спостерігалась в окремих порталних трактах і лише у 4 донорів прояви запалення були значними і оцінювались у 2 (IV група) і в 3 (V група) бали, причому у V групі запальна інфільтрація спостерігалась інтралобулярно і мала дифузний підгострий характер. Клітинний склад запальних інфільтратів переважно лімфоцитарний.

Дистрофічні зміни гепатоцитів є найбільш суттєвим проявом ураження печінки і ознакою печінково-клітинної недостатності. В 15 випадках (34,1 %) спостерігалась типова велико- та дрібнокрапельна жирова дистрофія, найбільш виражена у осіб IV та V груп, але її інтенсивність не перевищувала 10,0 %.

Білково-гідропічна дистрофія спостерігалась практично у всіх можливих донорів, але мала різний ступінь вираженості. В 29,5 % (I група) архітектоніка печінки збережена, гепатоцити мали чіткі контури, слабкобазофільну цитоплазму і лише невеликі групи клітин мали вакуолізовану цитоплазму. Осередки дифузного рожевого, стійкого до амілази забарвлення свідчили про початкові стадії білково-гідропічної дистрофії. Загальний об'єм ураження в цій групі не перевищував 10,0 %, що не враховували як суттєву патологію. У II групі (34,1 %) дистрофічні зміни були подібними,

але більш вираженими — площа ділянок білково-гідропічної дистрофії становила 10,0–30,0 %. У III–V групах відмічалось подальше посилення дистрофічного процесу зі збільшенням ділянок білково-гідропічної дистрофії, появою балонних клітин та точкових некрозів гепатоцитів. Посилення дистрофічних процесів супроводжувалось також появою осередків дисконкомплексції балочок, втратою міжклітинних зв'язків, набряком, облітерацією синусоїдів, посиленням реакції печінкових макрофагів. Незважаючи на наявність нормальних біохімічних показників та відсутність інфікованості вірусами гепатиту В і С, у 16 донорів печінки з 44 виявили морфологічні зміни, характерні для вірусного ушкодження, що не виключає ураження печінки вірусами Herpesviridae. Активність дистрофічно-запальних змін за шкалою METAVIR становила A0 та A1, а в 1 випадку була розцінена як A2.

Каріометрія дозволяє об'єктивно охарактеризувати дистрофічний процес в печінці і, відповідно, печінково-клітинну недостатність у донорів [9–11]. Дистрофічні зміни в цитоплазмі гепатоцитів супроводжувались змінами в будові ядер. В I групі ядра гепатоцитів досить мономорфні, округлої форми, з чіткими контурами та характерно розподіленим хроматином. У II групі спостерігалось збільшення кількості великих гіперхромних або гіпохромних ядер. Поліморфізм ядер поступово зростав в III та IV групах головним чином за рахунок збільшення кількості дрібних ядер, диспластичні процеси супроводжувались появою надвеликих гіперхромних ядер. В V групі система ядер набувала надмірної мономорфності за рахунок накопичення дрібних ядер. Загалом, візуально зменшення розмірів та різке посилення поліморфізму ядер гепатоцитів спостерігалось у 36,4 % донорів III–V груп.

Дослідження показників площі та яскравості ядер гепатоцитів виявило значні їх коливання: в межах від 10 до 100 мкм<sup>2</sup> — площа, в межах від 60 до 200 у. о. — яскравість.

За критерієм Ст'юдента достовірні відмінності за показником площі були виявлені між I і IV та I і V групами: I група —  $(54,18 \pm 4,80)$  мкм<sup>2</sup>, IV група —  $(30,19 \pm 5,60)$  мкм<sup>2</sup>,  $p < 0,05$ ; V група —  $(16,87 \pm 6,40)$  мкм<sup>2</sup>,  $p < 0,001$ ; за показником яскравості достовірні відмінності виявлені не були. Лише оптимальне квантування показників дозволило виявити суттєві відмінності між групами.

Характеристики ядер гепатоцитів за показником площі у різних групах дослідження представлено на рис. 1. В I та II групах з мінімальними дистрофічними змінами більше 85 % складають ядра, які належать до sB типу (нормальні). Ядра гепатоцитів sA типу не перевищують 25,3 %, а sC типу — 1,2–10,0 %. В III–V групах кількість ядер sA типу достовірно зростає до 52,9–57,6 % ( $p < 0,05$ ); кількість ядер sC типу в V групі достовірно зростає до 16,0 % ( $p < 0,05$ ).

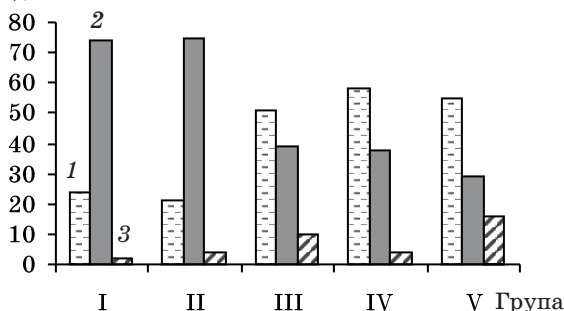


Рис. 1. Характеристика розподілу різних типів ядер гепатоцитів печінки донорів за показником площі: 1 — sA; 2 — sB; 3 — sC

Таким чином, система ядер за ознакою площі за наявності мінімальних дистрофічно-запальних змін є достатньо мноморфною та стабільною з переважанням ядер sB типу. Посилення дистрофічних та запальних процесів супроводжується посиленням поліморфізму системи та накопиченням ядер sA типу. За максимальної вираженості дистрофічно-запального процесу (V група) достовірно зростає частка ядер sC типу.

Аналогічна закономірність простежується на рис. 2 — в I та II групах з мінімальними дистрофічними змінами 85,2 % ядер належать до intB типу (нормальні). В III групі частка ядер intA та intC типу зростає в 1,5–2,0 рази. В IV групі значно посилюється поліморфізм і зростає частка ядер intC типу. Для V групи характерним є надмірне (83,3 %) накопичення ядер intA типу. І хоча це спостереження є єдиним в V групі, його результат цілком співпадає з результатами попередніх досліджень, які показали наявність тісного зв'язку між вираженістю біл-

ково-гідропічної дистрофії та змінами структури системи ядер. Така реакція є типовою відповіддю на вплив інтоксикації, гіпоксії та прямого вірусного ураження [9].

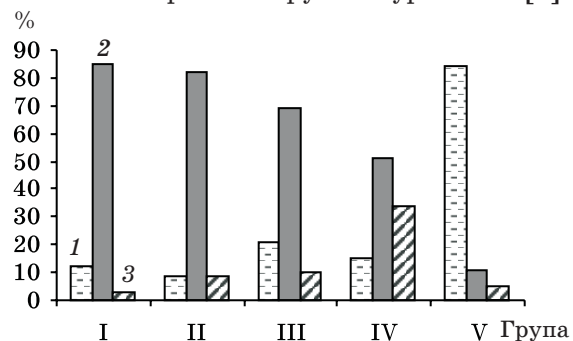


Рис. 2. Характеристика розподілу різних типів ядер гепатоцитів печінки донорів за показником яскравості: 1 — intA; 2 — intB; 3 — intC

Таким чином, у можливих донорів печінки за наявності нормальних клініко-лабораторних показників та відсутності вірусів гепатитів B і C під час морфологічного дослідження біоптатів у 25,0 % випадків був виявлений фіброз портальних просторів різного ступеня вираженості, головним чином F1. В 1 випадку спостерігались значні фіброзні зміни (F3), що робило недоцільним використання такої печінки для трансплантації.

У 20,5 % випадків мала місце запальна інфільтрація портальних просторів, а в 1 випадку спостерігалось інтралобулярне дифузне підгостре запалення.

Основним гістологічним феноменом, який зумовлює печінково-клітинну недостатність і є морфологічним еквівалентом функціонального стану печінки, є білково-гідропічна дистрофія, яка спостерігається за наявності прямого вірусного ураження, інтоксикації, гіпоксії. Використання каріометрії дозволяє об'єктивізувати оцінку її вираженості, оскільки прогресування білково-гідропічної дистрофії супроводжується суттєвими змінами структури системи ядер гепатоцитів з посиленням поліморфізму системи і накопиченням маргінальних типів ядер. Суттєвою перевагою каріометрії є системність оцінки змін ядер гепатоцитів незалежно від візуальних характеристик печінки, що може бути використано навіть за наявності неадекватних біопсій.

Виявлений комплекс дистрофічно-запальних та фіброзних змін у печінці різного ступеня вираженості, в тому числі з активністю процесу A1F3, свідчить про вірусне ураження печінки, що за відсутності вірусів

гепатиту С та В не виключає ушкодження печінки вірусами герпетичної групи. Такі зміни були виявлені у 36,4 %, що вказує на

необхідність обов'язкових морфологічних досліджень печінки донорів на дотрансплантаційному етапі.

#### Список літератури

1. Современные аспекты трансплантации части печени от живого родственного донора в Украине / О. Г. Котенко, А. О. Попов, А. А. Коршак [и др.] // Трансплантология. — 2008. — Т. 10, № 1. — С. 194–200.
2. Котенко О. Г. Трансплантационные технологии в лечении опухолей печени / О. Г. Котенко // Трансплантология. — 2008. — Т. 10, № 1. — С. 209–216.
3. French METAVIR Cooperative Study Group. Intra observer and interobserver variations in liver biopsies in patients with chronic hepatitis C // Hepatology. — 1994. — V. 20. — P. 15–20.
4. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis / R. G. Knodell, K. G. Ishak, W. C. Black [et al.] // Hepatology. — 1981. — V. 4. — P. 431–435.
5. Кимбл Дж. Как правильно пользоваться статистикой / Дж. Кимбл. — М. : Финансы и статистика, 1982. — 294 с.
6. Боровиков В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере / В. Боровиков. — СПб. : Питер, 2003. — 688 с.
7. Statistical methods in biological and medical sciences / ed. by C. R. Rao, R. Chakraborty. — Elsevier, 1991. — 554 p.
8. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. — М. : Медиа Сфера, 2002. — 312 с.
9. Донцова Л. С. Кариометрические характеристики печени при ишемии / Л. С. Донцова // Судинні і онкологічні захворювання: морфогенез та екологічний патоморфоз : 6-й Конгрес патологів України : матеріали конгресу. — Вінниця, 1998. — С. 272–273.
10. Визначення діагностичної ефективності морфометричних параметрів / І. В. Гомоляко, К. П. Тумасова, І. О. Швадчин [та ін.] // Вісник морфології. — 2004. — № 10 (1). — С. 35.
11. Кількісні методи в порівняльній оцінці морфологічних змін в печінці при хронічному гепатиті С, доброякісних та злоякісних її новоутвореннях / І. В. Гомоляко, О. Г. Котенко, В. І. Янченко [та ін.] // Лабораторна діагностика. — 2009. — № 2 (48). — С. 28–32.

#### **И.В. Гомоляко, И.В. Григорова, Н.Е. Клочкова, Л.С. Донцова, И.А. Швадчин** МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧЕНИ ДОНОРОВ

Морфологические признаки вирусного поражения печени выявлены у 36,4 % клинично здоровых доноров при отсутствии вирусов гепатита С и В. Это свидетельствует об обязательности морфологических исследований печени доноров на дотрансплантационном этапе. Целесообразно использование кариометрии как объективного критерия морфофункционального состояния печени.

**Ключевые слова:** гепатоцит, печень, трансплантация, морфометрия, гидрорическая дистрофия.

#### **I.V. Gomolyako, I.V. Grigорова, N.Ye. Klochkova, L.S. Dontsova, I.O. Shvadchin** MORPHOLOGIC CHARACTERISTICS OF THE DONOR'S LIVER

Morphological signs of viral hepatitis are revealed in 36,4 % of clinically healthy donors of liver without VHC and VHB. This fact highlights the need for obligatory morphologic investigations of donors' liver before transplantation. It would be appropriate to use karyometry as objective criterion of morphofunctional state of liver.

**Key words:** hepatocytos, hepar, transplantation, morphometry, hydropic degeneration.

УДК 621.36+001.21/22+615.841

*І.В. Гомоляко, Р.О. Зограб'ян, В.М. Торак,  
Л.С. Донцова, Г.В. Самсонова*

*Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова  
НАМН України, м. Київ*

### **ЦИТОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМИ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ КРОВІ У РЕЦИПІЄНТІВ НИРКОВОГО ТРАНСПЛАНТАТА З НАЯВНІСТЮ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ**

Вивчено зв'язок між цитометричними характеристиками системи нейтрофільних гранулоцитів крові та наявністю герпетичної інфекції у потенційних реципієнтів ниркового трансплантата.

**Ключові слова:** трансплантація нирки, нейтрофільні гранулоцити, цитометрія, імуносупресія, герпетична інфекція.

Інфекційні ускладнення у реципієнтів ниркового трансплантата виникають на тлі взаємодії багатьох уражаючих факторів, що робить цю проблему дуже складною для вирішення. Серед головних причин розвитку інфекційних уражень трансплантованої нирки слід виділити імуносупресивну терапію. Вона створює підґрунтя для активації інфекції, призводить до значної трансформації симптомів інфекційних уражень, надає інфекціям швидкопрогресуючого характеру, що ускладнює та може стати однією з причин дисфункції ниркового трансплантата.

Імуносупресивна терапія призводить до активації персистуючих вірусів герпетичної групи — простого герпесу, вірусу Епштейна–Барр, цитомегаловірусу. В результаті активації вірусної інфекції відбувається ураження епітеліальних тканин ендотелію судин, але важливим також є те, що вони справляють додатковий імуномодулюючий ефект. З одного боку, герпес-віруси активуються в результаті недостатності фагоцитів, Т-лімфоцитів-хелперів, цитотоксичних лімфоцитів, зниження продукції медіаторів імунітету, в тому числі й інтерферонів [1, 2]. З іншого боку, вони самі викликають недостатність функції фагоцитуючих клітин, тобто тієї ланки імунітету, яка меншою мірою страждає від імуносупресивної терапії і за рахунок якої забезпечується спеціфічний захист та стабільність організму.

Слід, окрім того, мати на увазі, що навіть у латентному стані віруси цієї групи не є вже такими безневинними, оскільки, паразитуючи внутрішньоклітинно, вони призводять до повільного, але невідворотного погіршення структурно-функціональних характеристик клітин. Тому, з нашої точки зору, роль герпес-вірусів у розвитку інфекційних і неінфекційних ускладнень у пацієнтів з трансплантованою ниркою є значущою.

Виходячи з описаного, можна припустити, що адекватна оцінка активності герпес-вірусної інфекції, стану фагоцитуючих клітин: нейтрофілів, моноцитів, гістіоцитів-макрофагів — та максимальне збереження їх функції є тим шляхом, який може покращити результати трансплантації нирок.

Лабораторна діагностика герпес-вірусних інфекцій здійснюється такими сучасними методами: вірусологічний метод, ультроструктурні дослідження, біологічні проби; методи визначення вірусної ДНК (гібридизація ДНК, полімеразно-ланцюгова реакція); методи визначення вірусних антигенів (ІФА, МФА); серологічні методи з виявленням специфічних IgM і IgG, цитологічні та гістологічні дослідження. Важливим є дослідження фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів (НГ) та моноцитів, оскільки герпетичні віруси пригнічують їхню функцію, що сприяє власній репродукції вірусів і розвитку грибкових та бактеріальних ускладнень. Крім того, система НГ

© І.В. Гомоляко, Р.О. Зограб'ян, В.М. Торак та ін., 2011

крові досить чутливо реагує на метаболічні розлади збільшенням кількості НГ з пригніченою функцією, тому дослідження НГ дозволяє визначити рівень метаболічної інтоксикації, що має суттєве значення для оцінки загального стану хворого.

В попередніх наших дослідженнях було показано, що існує високий ступінь відповідності між цитометричними, ультраструктурними, цитохімічними та імунологічними характеристиками НГ крові, що дає підстави для використання цитометрії для оцінки структурно-функціонального стану системи НГ.

Метою нашого дослідження на першому етапі було вивчення зв'язків між цитометричними характеристиками системи НГ крові та наявністю герпетичної інфекції у потенційних реципієнтів ниркового трансплантата.

**Матеріал і методи.** Дослідну групу склали 28 потенційних пацієнтів, яких було обстежено до операції, віком від 14 місяців до 18 років: осіб чоловічої статі — 11, жіночої — 17. У всіх хворих визначали наявність IgG до вірусів простого герпесу, цитомегаловірусу та вірусу Епштейна–Барр (хронічна інфекція), реплікацію вірусу виявляли методом полімеразно-ланцюгової реакції. Паралельно було досліджено стан системи НГ крові. Дослідження НГ проводили методом цитометрії на забарвлених у стандартних умовах за Романовським–Гімзою мазках крові, аналізатор зображення Olympus (Японія), програмне забезпечення DP-SOFT (Німеччина) та Paradise (Україна); умови освітлення та збільшення також стандартні. Результати вимірювання площі клітин подані в мкм<sup>2</sup>, показник яскравості цитоплазми — в умовних одиницях. Метод базований на виділенні 4 типів НГ за показниками площі (s) та яскравості цитоплазми (int) в залежності від ультраструктурних, цитохімічних та кількісних характеристик НГ: sI(A) — «малі», sII(B) — «середні», sIII(C) — «збільшені» та sIV(D) — «великі»; intI(A) — «темні», intII(B) — «помірні»,

intIII(C) — «просвітлені» та intIV(D) — «світлі». Показник площі визначає розміри НГ та їхні адгезивні властивості, показник яскравості цитоплазми — стан внутрішньоклітинних структур та рівень окислювального метаболізму. Наявність НГ intIII(C)- та intIV(D)-типів свідчить про збільшення рівня окислювального метаболізму в НГ та зниження їх фагоцитарної активності. При проведенні аналізу отриманих числових даних враховували характер розподілів різних типів НГ; переважаючий клітинний тип; рівень поліморфізму системи та коефіцієнт пошкодження системи (КПС) НГ.

Контрольну групу становили 10 здорових донорів з негативними результатами вірусологічних тестів. Групу порівняння склали 26 клінічно здорових осіб, у яких в крові виявлялись IgG до вірусів герпес-групи без ознак реплікації вірусу.

Достовірність отриманих результатів визначали за критеріями Ст'юдента і Пірсона [3, 4].

**Результати та їх обговорення.** Структура вірусного ураження в дослідних і порівняльних групах представлена в табл. 1.

Відповідно до результатів, наведених в табл. 1, було виділено чотири групи пацієнтів — реципієнтів нирки. Оскільки у пацієнтів з трансплантацією нирки найбільша увага приділяється цитомегаловірусній інфекції, групи формувались відносно CMV. До I групи були віднесені особи з ознаками реплікації CMV, до II — особи, не інфіковані CMV, до III — особи, які були інфіковані CMV (IgG(+)) ПЛР(-), до IV — особи, заражені асоціацією вірусів (CMV IgG(+); HV IgG(+); EBV IgG(+)).

Розподіл НГ за показниками площі та яскравості у осіб групи порівняння представлений на рис. 1.

Для здорових осіб без ознак інфікованості вірусами герпес-групи характерним є близький до нормального розподілу різних типів НГ, причому розподіли показників площі та яскравості подібні, що свідчить про гармонійність системи.

Таблиця 1. Характеристика вірусного ураження пацієнтів — реципієнтів нирки на доопераційному етапі

| Група      | Інфікованість одним з герпес-вірусів |           |            | Інфікованість асоціацією герпес-вірусів |         |          |         | Наявність реплікації CMV |                   |
|------------|--------------------------------------|-----------|------------|---|---------|----------|---------|--------------------------|-------------------|
|            | IgG(+) CMV                           | IgG(+) HV | IgG(+) EBV | CMV, HV, EBV                            | CMV, HV | CMV, EBV | HV, EBV | IgG(-) ПЛР(+) CMV        | IgG(-) ПЛР(-) CMV |
| Контрольна | 6                                    | 7         | 5          | 8                                       | —       | —        | —       | —                        | —                 |
| Дослідна   | 5                                    | 2         | —          | 14                                      | 3       | 2        | 2       | 5                        | 7                 |

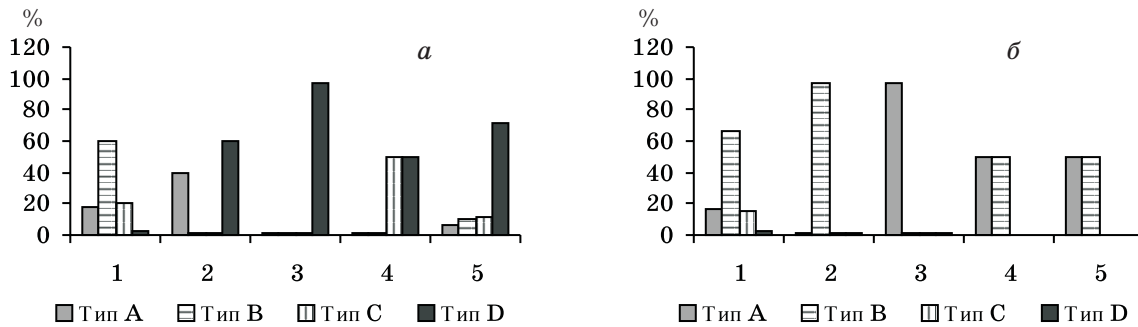


Рис. 1. Розподіл НГ за показниками площі (а) і яскравості (б) при різних типах вірусної інфекції: 1 — здорові донори крові; 2 — інфіковані тільки цитомегаловірусом; 3 — інфіковані вірусом Епштейна-Барр; 4 — інфіковані вірусом простого герпесу; 5 — інфіковані асоціацією вірусів

Для клінічно здорових CMV IgG(+) осіб типовим є наявність маргінальних типів НГ за показником площі, переважно sIV(D), при цьому спостерігається надмірна концентрація помірно активованих НГ (100%), відсутня гармонійність структури системи. Це свідчить про значні порушення функції системи НГ з незначним пригніченням їх функціональної активності.

У клінічно здорових EBV IgG(+) осіб профіль системи НГ був ще більш мономорфним. У всіх випадках (100%) за показником площі переважали НГ sIV(D)-типу, за яскравістю — 100% НГ intI(A)-типу. Отже, при EBV система представлена неактивованими типами НГ, тобто також має місце функціональна недостатність системи НГ.

Група HSV за показником площі більш поліморфна, представлена 2 типами НГ — sIII(C) і sIV(D), а за показником яскравості також 2 типами НГ — intI(A) і intII(B). Така структура системи також свідчить про її структурно-функціональну недостатність, яка займає проміжне положення між CMV та EBV.

В групі з асоціацією вказаних вірусів спостерігався більший, ніж в інших групах, поліморфізм з однаковою кількістю НГ

sIII(C)- і sIV(D)-типів та помірно зниженими функціональними характеристиками.

Розподіл НГ за показниками площі та яскравості в дослідних групах подано на рис. 2.

У дослідних групах характер розподілу різних типів НГ за показником площі суттєво відрізнявся від такого у контрольній та групі порівняння, але дослідні групи практично між собою не розрізнялись. Виключення склали хворі III групи, які були інфіковані тільки цитомегаловірусом. Як правило, в групах домінували НГ sIII(C)- і sIV(D)-типів.

За показником яскравості спостерігалась таке ж, як у групі порівняння, домінування НГ intII(B)-типу. Виключення складала III група реципієнтів, інфікованих одним вірусом CMV, у яких домінуючими були НГ intI(A)-типу.

Другим критерієм, який характеризує структурно-функціональний стан системи НГ, є рівень поліморфізму клітинної системи, який, як відомо, відхиляється від норми при розвитку патологічних змін у клітинних системах. Аналіз розподілу рівнів поліморфізму в системі НГ за показниками площі і яскравості в контрольних і дослідних групах представлено в табл. 2.

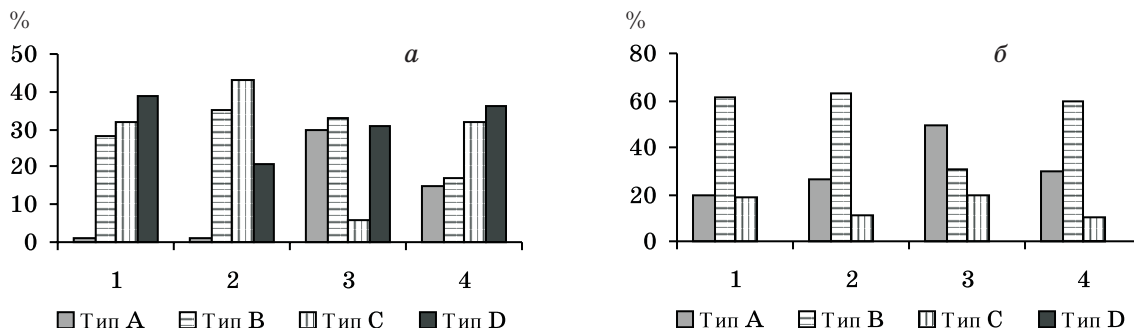


Рис. 2. Розподіл НГ за показником площі (а) та яскравості (б) при різних типах вірусної інфекції: 1 — інфіковані цитомегаловірусом, ПЛР позитивний; 2 — відсутність інфікування цитомегаловірусом; 3 — інфіковані одним цитомегаловірусом, ПЛР негативний; 4 — інфіковані асоціацією вірусів

Таблиця 2. Основні характеристики системи НГ у хворих, %

| Група    | Параметр   | Рівень поліморфізму |      |      |      |
|----------|------------|---------------------|------|------|------|
|          |            | 1                   | 2    | 3    | 4    |
| Контроль | Площа      | 10                  | 73,3 | 16,7 | 0    |
|          | Яскравість | 6,7                 | 80   | 13,3 | 0    |
| I        | Площа      | 50                  | 50   | 0    | 0    |
|          | Яскравість | 0                   | 0    | 100  | 0    |
| II       | Площа      | 100                 | 0    | 0    | 0    |
|          | Яскравість | 0                   | 0    | 100  | 0    |
| III      | Площа      | 66,7                | 33,3 | 0    | 0    |
|          | Яскравість | 0                   | 0    | 66,7 | 33,3 |
| IV       | Площа      | 58,3                | 25,0 | 16,7 | 0    |
|          | Яскравість | 0                   | 0    | 75   | 25   |

В дослідних групах стійко переважає 1-й рівень поліморфізму системи за показником площі та 3-й рівень поліморфізму за показником яскравості. Це відображає значні відхилення в структурі системи НГ від норми, а саме: надмірний поліморфізм, неоднорідність системи за показником площі та надмірне накопичення мономорфних НГ за показником яскравості, що є свідченням неспроможності системи.

На наступному етапі нами досліджено групи дослідження системи (КПС) НГ. Так, у хворих I групи, які мали ознаки реплікації CMV, КПС становив 0,83 (0,66–0,92), тобто знаходився в межах норми. У II групі хворих, не інфікованих CMV, індекс КПС складав 1,42 (1,04–1,80), тобто був підвищений. Підвищенням виявився КПС і в III і в IV групах реципієнтів — 1,5 (0,82–2,70) і 1,11 (0,82–1,98) відповідно — та в усіх групах порівняння — 1,14 (0,85–1,50).

Таким чином, у даній групі дослідження у реципієнтів нирки на доопераційному етапі спостерігались суттєві відхилення структури системи НГ від норми. У клінічно здорових осіб, у інфікованих вірусами герпес-групи осіб і у реципієнтів стан системи НГ був подібним за загальною тенденцією до зростання кількості збільшених та великих НГ sIII(C)- і sIV(D)-типів та кількості НГ intIII(C)-типу, що є свідченням гіперплас-

тичних процесів та активації системи. Відмінними були розподіли різних типів НГ — у реципієнтів спостерігався більш виражений поліморфізм системи за обома показниками, хоча він і дещо нівелювався при його аналізі за чотирма рівнями. Таке стійке співвідношення характеристик площі та яскравості цитоплазми клітин дає підстави розглядати це явище як прояв впливу герпес-вірусної інфекції, зокрема, цитомегаловірусу, на стан системи НГ з порушенням структурно-функціональних характеристик системи.

Порівняння груп за показником КПС показало, що у кожного дослідного результату індивідуальні, однак у цілому по групах він коливається від 0,66 до 2,70. При цьому найнижчим, нормальним, він був у групі з позитивною полімеразно-ланцюговою реакцією. В усіх інших групах — дослідних і групах порівняння КПС знаходився в межах 1,0–1,5, тобто підвищеним. Пояснити цей факт можна тим, що реплікація вірусу «тонізує» систему НГ. Одночасне виявлення хронічної герпес-вірусної інфекції та певних закономірних структурно-функціональних порушень у системі НГ не виключає можливості наявності причинно-наслідкового зв'язку між цими двома явищами, що потребує подальших поглиблених досліджень.

### Список літератури

1. Понякина И. Д. Активация апоптоза нейтрофилов периферической крови как показатель аутоинтоксикации организма / И. Д. Понякина // Клиническая лабораторная диагностика. — 2003. — № 7. — С. 19–21.
2. Казмирчук В. Е. Клиника, диагностика и лечение герпесвирусных инфекций человека / В. Е. Казмирчук, Д. В. Мальцев. — К. : Феникс, 2009 — С. 13–28.

3. Гомоляко І. В. Нейтрофільні гранулоцити крові в нормі та при патології (цитологічне дослідження) / І. В. Гомоляко, К. П. Тумасова, Н. Є. Клочкова // Лабораторна діагностика. — 2006. — № 4 (38). — С. 50–55.

4. Маянский А. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А. Н. Маянский, Д. Н. Маянский. — Новосибирск : Наука, Сиб. отд., 1989. — 344 с.

*И.В. Гомоляко, Р.О. Зограбян, В.М. Торак, Л.С. Донцова, Г.В. Самсонова*

**ЦИТОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМЫ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА С НАЛИЧИЕМ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ**

Изучена взаимосвязь между цитометрическими характеристиками системы нейтрофильных гранулоцитов крови и наличием герпетической инфекции у потенциальных реципиентов почечного трансплантата.

*Ключевые слова:* трансплантация почки, нейтрофильные гранулоциты, цитометрия, иммуносупрессия, герпетическая инфекция.

*I.V. Homoliako, R.O. Zograbian, V.M. Torak, L.S. Dontsova, G.V. Samsonova*

**CYTOMETRIC CHARACTER OF NEUTROPHIL GRANULOCYTES OF BLOOD IN RENAL TRANSPLANT RECIPIENTS WITH HERPES INFECTION**

The interrelation between the cytometric characters of blood neutrophil granulocytes and the presence of herpes infection in potential renal transplant recipients.

*Key words:* renal transplantation, neutrophil granulocytes, cytometry, immunosuppression, herpes infection.

УДК 621.36+001.21/22+615.841

**І.В. Гомоляко, Р.О. Зограб'ян, В.М. Торак,  
Г.В. Самсонова, Т.М. Полушина**

*Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова  
НАМН України, м. Київ*

## **ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМИ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ КРОВІ У РЕЦИПІЄНТІВ НИРКОВОГО АЛОТРАНСПЛАНТАТА ДИТЯЧОГО ВІКУ**

Вивчено особливості реагування системи нейтрофільних гранулоцитів за умов трансплантації нирки у пацієнтів дитячого віку. Встановлено, що у пацієнтів з вродженою аномалією розвитку сечової системи термін захворювання є відносно коротшим, ніж у дітей та дорослих, хворих на хронічний гломерулонефрит, що зменшує вплив патогенних факторів на структурно-функціональний стан системи нейтрофільних гранулоцитів.

**Ключові слова:** трансплантація нирки, нейтрофільні гранулоцити, цитометрія.

Морфологічні дослідження відіграють важливу роль у визначенні тактики ведення хворого після трансплантації нирки. До таких морфологічних досліджень відносяться пункційні біопсії нирки, аспіраційні біопсії, цитологічні дослідження осаду сечі, дослідження мазків периферичної крові з оцінкою стану лімфоцитів, нейтрофілів, тромбоцитів та моноцитів. Морфологічні дослідження, особливо ті, для яких матеріал отримують неінвазивним шляхом, є надзвичайно важливими щодо розробки методів діагностики та моніторингу стану ниркового алотрансплантата (НАТ).

Однією з таких морфологічних методик є цитометрія нейтрофільних гранулоцитів (НГ) крові. В попередніх дослідженнях було встановлено, що система НГ крові дорослих осіб досить чутливо реагує на підвищення рівня креатиніну збільшенням кількості НГ з пригніченою функцією; виявлені певні зміни в структурі системи НГ, які характерні і співпадають у часі з розвитком гострого та хронічного відторгнення, вірусної інфекції. Накопичення необхідної маси даних для розробки діагностичних критеріїв є одним з головних завдань на шляху розробки нових діагностичних технологій.

Метою даного дослідження було вивчення особливостей реагування системи НГ за умов трансплантації нирки у пацієнтів дитячого віку.

Доцільність таких досліджень зумовлена тим, що у хворих на вроджену аномалію розвитку сечової системи (ВАРСС) термін захворювання є відносно коротшим, ніж у дітей та дорослих, хворих на хронічний гломерулонефрит (ХГН), що зменшує вплив патогенних факторів на структурно-функціональний стан системи НГ.

**Матеріал і методи.** Обстежено 29 дітей у віці від 1,2 до 18,0 років, осіб жіночої статі — 17, чоловічої — 12. Всім хворим перед операцією та в ранньому післяопераційному періоді проводили дослідження системи НГ периферичної крові. В контрольну групу увійшли 30 здорових донорів крові — контрольна група (КІ), отримані результати порівнювали з результатами груп хворих: 19 осіб на ниркову патологію ВАРСС (Іа група), 10 осіб дитячого віку, хворих на ХГН (Іб група), 21 дорослої особи, хворих на ХГН (ІІ група), до та після трансплантації нирки. До груп дослідження були включені також хворі без суттєвих ускладнень у ранньому післяопераційному періоді.

Всім хворим після трансплантації нирки проводили 4-компонентну імуносупресивну терапію (зенапакс, сандімум неорал, селсепт, метилпреднізолон). Для діагностики стану НАТ використовували комплекс клініко-лабораторних та інструментальних методів, який включав ультразвукову оцінку ниркового кровотоку.

© І.В. Гомоляко, Р.О. Зограб'ян, В.М. Торак, Г.В. Самсонова та ін., 2011

Дослідження НГ проводили методом цитометрії в мазках крові, забарвлених в стандартних умовах за методом Романовського-Гімзи; використовували аналізатор зображення (Olympus, Японія), програмне забезпечення DP-SOFT (Німеччина) та Paradise (Україна). Результати вимірювання площі клітин подані в  $\mu\text{m}^2$ , показник яскравості цитоплазми — в умовних одиницях. Метод базований на виділенні 4 типів НГ за показниками площі (s) та яскравості цитоплазми (int) в залежності від ультраструктурних, цитохімічних та кількісних характеристик НГ [1, 2]. Показник площі НГ дозволяє оцінити їх адгезивні властивості та розміри, показник яскравості цитоплазми — стан внутрішньоклітинних структур та рівень окислювального метаболізму, окрім того, звертали увагу на такі ознаки активації клітин, як розвиток псевдоподій, адгезивність і просвітлення цитоплазми.

Достовірність отриманих результатів визначали за критеріями Ст'юдента і Пірсона.

**Результати.** Структурно-функціональні характеристики системи НГ, які оцінюються на основі розподілів різних типів НГ у контролі та у хворих різних груп спостереження за параметрами площі та яскравості, наведено на рис. 1–3.

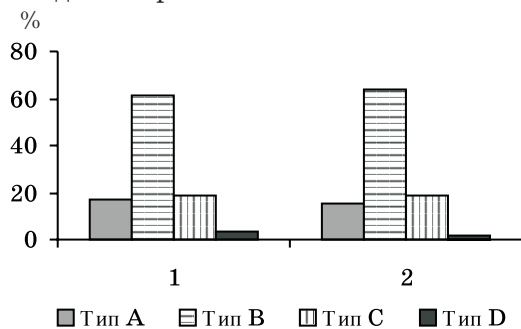


Рис. 1. Частота різних типів НГ за показником площі (1) та яскравості цитоплазми (2) в контролі у здорових донорів

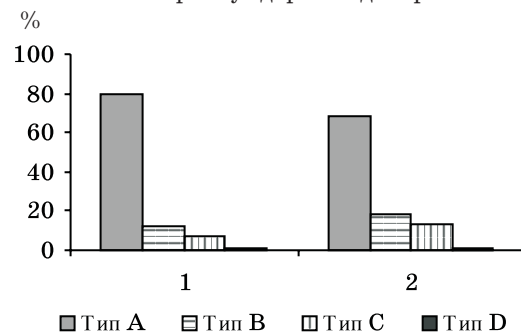


Рис. 2. Частота різних типів НГ за показником площі (1) та яскравості цитоплазми (2) в контролі у дорослих, хворих на ХГН

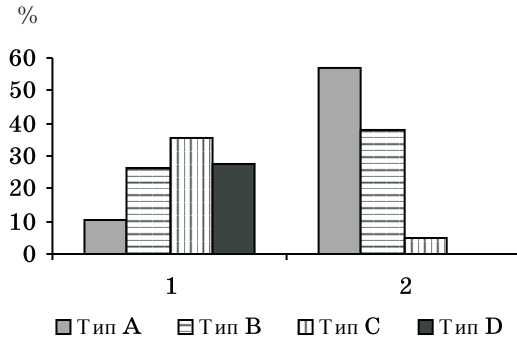


Рис. 3. Частота різних типів НГ за показником площі (1) та яскравості цитоплазми (2) в контролі у дітей, хворих на ХГН

У контрольній групі переважають НГ sB(II)- і intB(II)-діапазонів, тобто клітини середніх розмірів із помірною прозорістю цитоплазми, що відповідає нормі. Окрім того, слід відмітити подібність розподілів показників площі і яскравості, що свідчить про гармонійний стан системи і є додатковим критерієм стабільності і функціональної активності системи.

У дорослих пацієнтів з ХГН (II) суттєво переважали НГ sI(A), intI(A), тобто розміри та адгезивні властивості НГ були суттєво зменшені, цитоплазма ущільнена, конденсована, що є свідченням зниження функціональної активності системи. В цій групі спостерігається пригнічення обох досліджених показників. Такі клітини на ультраструктурному рівні характеризуються гладенькою поверхнею, відсутністю псевдоподій, невеликою кількістю дрібних органел, в тому числі й азурофільних гранул. Це відображає високий рівень метаболічної інтоксикації, в тому числі пов'язаної з високим рівнем креатиніну.

Структура системи НГ у дітей, хворих на ХГН, на доопераційному етапі відрізнялась від стану такої у дорослих.

У дітей з ХГН система НГ мала іншу структуру. За параметрами площі вона характеризувалась значним поліморфізмом з переважанням збільшених НГ sIII(C)- і sIV(D)-типів; за параметром яскравості переважали НГ intI(A)-типу. На відміну від дорослих ультраструктурна характеристика таких клітин у дітей свідчила про активований стан НГ — спостерігався помірний розвиток псевдоподій, підвищена адгезивність клітин, в цитоплазмі спостерігалась висока концентрація азурофільних гранул. За показником яскравості спостерігалась висока частка нормальних intII(B) НГ, така структура свідчить про більшу активність і

збереженість системи НГ, ніж у дорослих, хоча негармонійне співвідношення показників відображає її певну функціональну недостатність та напруженість функції.

Структура системи НГ у дітей, хворих на ВАРСС, на доопераційному етапі була подібною до такої у дітей, хворих на ХГН, що свідчить про існуючі загальні закономірності в реакції системи НГ у дітей з термінальною нирковою недостатністю.

В ранньому післяопераційному періоді (1 місяць після трансплантації) за відсутності ускладнень структура системи НГ у дорослих осіб змінювалась відповідно до відновлення функції нирки та зменшення метаболічної інтоксикації, що супроводжувалось збільшенням частки НГ sB(II)- та intB(II)-типів, тобто помірно активованих (нормальних) НГ (рис. 4). Крім того, спостерігалось загальне посилення поліморфізму системи за показником площі.

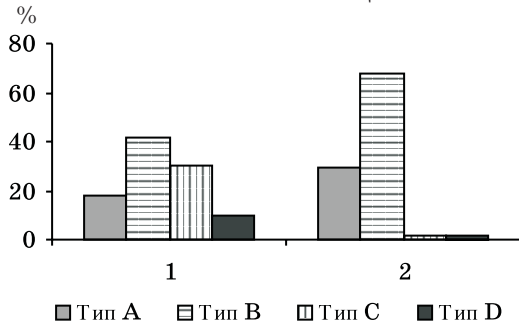


Рис. 4. Частота різних типів НГ за показником площі (1) та яскравості цитоплазми (2) в контролі у дорослих, хворих на ХГН (II), у післяопераційному періоді

У дітей, хворих на ХГН, зберігалась картина, характерна для доопераційного стану, хоча і з деяким підвищенням частки НГ sB(II)- та intB(II)-типів, при цьому частка НГ sIV(D)/intI(A) залишалась значною, що підтверджує активний характер НГ з такою характеристикою (рис. 5).

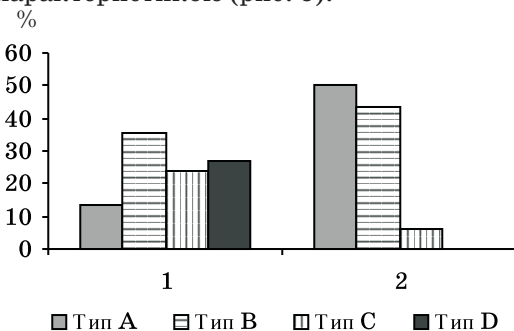


Рис. 5. Частота різних типів НГ за показником площі (1) та яскравості цитоплазми (2) в контролі у дітей, хворих на ХГН, у післяопераційному періоді

У хворих на ВАРСС після операції відбувається більш значна перебудова системи НГ (рис. 6). За показником площі переважають НГ sII(C)-типу, а за показником яскравості цитоплазми — НГ intB(II)-типу, тобто спостерігається більш виражена нормалізація системи НГ, ніж у хворих на ХГН. При цьому у дітей, хворих на ХГН, в 11,8 % переважаючим клітинним типом є тип sI(A) та у 88,2 % — intI(A); у хворих на ВАРСС НГ sI(A)-типу є переважаючим клітинним типом тільки в 4,8 %, а intI(A) — в 33,3 %, а домінуючим клітинним типом є intB(II).

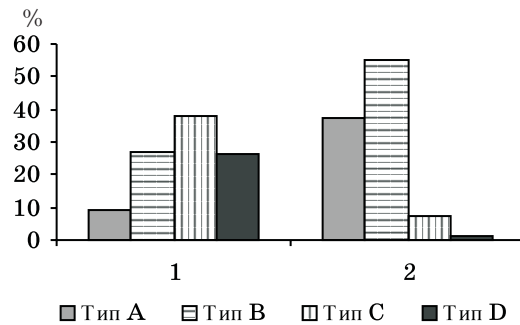


Рис. 6. Частота різних типів НГ за показником площі (1) та яскравості цитоплазми (2) у дітей, хворих на ВАРСС, у післяопераційному періоді

Одним із важливих критеріїв, який характеризує структурно-функціональний стан системи НГ, є рівень поліморфізму клітинної системи, який, як відомо, може значно відхилятися від норми при розвитку патологічних змін у клітинних системах. Аналіз розподілу рівнів поліморфізму в системі НГ за показниками площі і яскравості в групах дослідження представлено на рис. 7, 8.

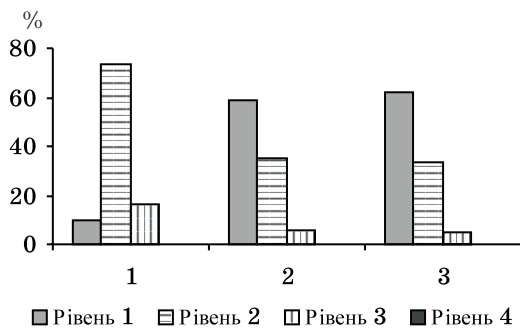


Рис. 7. Частота різних рівнів поліморфізму системи НГ за показником площі в контролі (1), у дітей, хворих на ХГН (2), та у дітей, хворих на ВАРСС (3), у післяопераційному періоді

В контрольній групі для обох параметрів типовим є 2-й рівень поліморфізму, при якому більше 70 % клітин у популяції складають НГ одного типу (в контролі — типи sII(B) і intII(B)). Четвертий рівень, при яко-

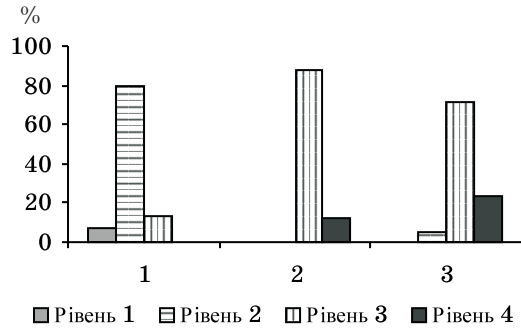


Рис. 8. Частота різних рівнів поліморфізму системи НГ за показником яскравості в контролі (1), у дітей, хворих на ХГН (2), та у дітей, хворих на ВАРСС (3), у післяопераційному періоді

му спостерігається надмірне накопичення одного з типів НГ, — у вигляді окремих клітин.

У дітей, хворих на ХГН та на ВАРСС, реакція подібна і за показником площі спостерігається виражений поліморфізм, а за показником яскравості системи НГ досить мономорфна — суттєво переважає 3-й рівень поліморфізму системи, при якому переважна більшість НГ належить до одного клітинного типу; у групі хворих на ВАРСС вдвічі частіше спостерігаються випадки з надмірною мономорфністю системи.

Узагальнюючою характеристикою для всіх досліджених показників є морфофункціональна група (таблиця). В групі контролю 70,0 % спостережень належить до норми, в інших групах значення норми відсутні. Переважна кількість спостережень належить до II морфофункціональної групи, але у хворих на ВАРСС у порівнянні з хворими на ХГН достовірно вдвічі зростає частка I морфофункціональної групи та на 15,1 % зменшується частка спостережень, які належать до II морфофункціональної групи.

*Розподіл морфофункціональних груп НГ, %*

| Група         | Морфофункціональні групи НГ |      |      |     |
|---------------|-----------------------------|------|------|-----|
|               | N                           | I    | II   | III |
| Контроль      | 70                          | 20,0 | 10,0 | 0   |
| Хворі з ХГН   | 0                           | 17,6 | 76,5 | 5,9 |
| Хворі з ВАРСС | 0                           | 33,3 | 66,7 | 0   |

Підсумовуючи отримані результати, ми відмітили, що у дітей з термінальною нирковою недостатністю в доопераційному періоді стан системи НГ менше відрізнявся від норми, ніж у дорослих пацієнтів. Він характеризувався більшим поліморфізмом та більш вираженою нормалізацією стану си-

стеми за умов неускладненого післятрансплантаційного періоду.

Аналіз клінічних даних показав, що ранній післятрансплантаційний період у дітей, прооперованих з приводу ВАРСС, протікає більш сприятливо, порівняно з іншими групами. Встановлені особливості реагування системи НГ у хворих на термінальну ниркову недостатність, після трансплантації нирки, які дають підстави вважати, що у дітей, хворих на вроджену патологію нирок, структурно-функціональна нормалізація системи НГ відбувається швидше, ніж у дорослих та дітей, хворих на ХГН, а це означає, що більша збереженість системи НГ є хорошим прогностичним показником і максимальне оздоровлення системи НГ на дотрансплантаційному етапі є ще одним шляхом для покращання результатів трансплантації.

**Висновки**

Стан системи нейтрофільних гранулоцитів у дітей за параметрами площі та яскравості нейтрофільних гранулоцитів, ультраструктурна характеристика таких клітин у дітей свідчать про активний стан нейтрофільних гранулоцитів, спостерігаються помірний розвиток псевдоподій, помірна адгезивність клітин, в цитоплазмі висока концентрація азурофільних гранул, саме така структура свідчить про більшу активність і збереженість системи нейтрофільних гранулоцитів, ніж у дорослих.

В ранньому післяопераційному періоді (1 місяць після трансплантації) за відсутності ускладнень структура системи нейтрофільних гранулоцитів у дорослих осіб змінюється відповідно до відновлення функції нирки та зменшення метаболічної інтоксикації, що супроводжується збільшенням частки нейтрофільних гранулоцитів sB(II)- та intB(II)-типів, тобто помірно активованих (нормальних) нейтрофільних гранулоцитів. Крім того, спостерігається загальне посилення поліморфізму системи за показником площі.

У дітей, хворих на хронічний гломерулонефрит, зберігається подібна до передопераційного стану картина, хоча і з деяким підвищенням частки нейтрофільних гранулоцитів sB(II)- та intB(II)-типів, при цьому частка нейтрофільних гранулоцитів sIV(D)/intI(A) залишалась значною, що підтверджує активний характер нейтрофільних гранулоцитів з такою характеристикою.

У пацієнтів з вродженою аномалією розвитку сечової системи після операції відбувається значна перебудова системи нейтро-

фільних гранулоцитів, за показником площі переважають нейтрофільні гранулоцити sII(C)-типу, а щодо показником яскравості цитоплазми — нейтрофільні гранулоцити intV(II)-типу, а саме: спостерігається більш виражена нормалізація системи нейтрофільних гранулоцитів, ніж у хворих на хронічний гломерулонефрит. При цьому у ді-

тей, хворих на хронічний гломерулонефрит, в 11,8 % переважаючим клітинним типом є тип sI(A) та у 88,2 % — intI(A); у хворих з вродженою аномалією розвитку сечової системи нейтрофільні гранулоцити sI(A)-типу є переважаючим клітинним типом тільки в 4,8 %, а intI(A) — в 33,3 %, а домінуючим клітинним типом є intV(II).

### Список літератури

1. Гомоляко І.В. Ультраструктурна та морфометрична характеристика нейтрофільних гранулоцитів крові / І.В. Гомоляко, К.П. Тумасова // Цитология и генетика. — 2001. — № 5. — С. 44–48.
2. Тумасова К.П. Структурно-функціональна характеристика кислород-зависимой бактерицидной системы нейтрофильных гранулоцитов / К.П. Тумасова // Збірник наукових робіт, присвячений 25-річчю Інституту клінічної та експериментальної хірургії АМН України. — К. : Клінічна хірургія, 1997. — С. 252–258.
3. Траїлін А.В. Гістологічна класифікація та морфологічна характеристика форм патології ниркового алотрансплантату : метод. рекомендації / А.В. Траїлін, Т.Н. Ніконенко. — К., 2007. — 27 с.
4. Руководство по общей патологии человека / [под ред. Н. К. Хитрова, Д. С. Саркисова, М. А. Мальцева]. — М., 1999. — 724 с.
5. Пинегин Б.В. Нейтрофилы: структура и функция / Б.В. Пинегин, А.Н. Маянский // Иммунология. — 2007. — № 6. — С. 374–382.
6. Seely A. J. Cell membrane expression (connectivity) regulates neutrophil delivery, function and clearance / A. J. Seely, J. L. Pascual, N. V. Christou // Crit. Care. — 2003. — V. 7 (4). — P. 291–307.
7. Деєв В.А. Взаємозв'язок між оксидантною та мієлопероксидазною активністю нейтрофільних гранулоцитів крові у гнійно-септичних хворих / В.А. Деєв, К.П. Тумасова // Лабораторна діагностика. — 1999. — № 2. — С. 13–15.

**И.В. Гомоляко, Р.О. Зограбян, В.М. Торак, Г.В. Самсонова, Т.М. Полушина**

#### ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМЫ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧЕЧНОГО АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА ДЕТСКОГО ВОЗРАСТА

Изучены особенности реакции системы нейтрофильных гранулоцитов в условиях трансплантации почки у детей. Установлено, что у пациентов с врожденной аномалией развития мочевой системы продолжительность заболевания короче, чем у детей и взрослых, больных хроническим гломерулонефритом, что уменьшает и влияние патогенных факторов на структурно-функциональное состояние системы нейтрофильных гранулоцитов и поражение иммунной системы.

**Ключевые слова:** трансплантация почки, нейтрофильные гранулоциты, цитометрия.

**I.V. Homoliako, R.O. Zograban, V.M. Torak, G.V. Samsonova, T.M. Polushina**

#### THE NEUTROPHIL GRANULOCYTES SYSTEM IN PEDIATRIC RENAL ALLOTRANSPLANT RECIPIENTS

The peculiarities of neutrophil granulocytes system response were studied in pediatric renal transplant recipients. It was determined, that the renal disease duration was found to be shorter in these patients than in adults and that fact weakens the influence of pathologic factors on structural and functional state of neutrophil leucocytes and immune system.

**Key words:** renal transplantation, neutrophil granulocytes, cytometry.

УДК 576.3/.7.086.83:616-089.811-092.9

*В.К. Гринь, А.Г. Попандопуло, Б.Б. Ивнев, Р.М. Радык*

*ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака  
НАМН Украины», г. Донецк*

## **ВОССТАНОВЛЕНИЕ ДВИГАТЕЛЬНЫХ И КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ У КРЫС ПОСЛЕ ФОКАЛЬНОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

Проведен анализ результатов комплексного экспериментального исследования воздействия мезенхимальных стволовых клеток на восстановление неврологических функций у крыс линии Вистар–Киото после моделирования острой фокальной ишемии. Исследование проведено на 45 здоровых крысах-самках инбредной линии Вистар–Киото. Клеточный материал вводили в день моделирования ишемии. Животные были разделены на пять групп: две группы клеточной терапии с интравентрикулярным и парентеральным введением клеточного материала; две группы с интравентрикулярным и парентеральным введением плацебо, ложнооперированные животные. Показано, что восстановление когнитивных функций происходит уже на вторую неделю наблюдений в группах клеточной терапии, тогда как в группах без введения клеток статистически достоверного улучшения не наступало. Также в группах клеточной терапии выявлено существенное снижение показателей смертности животных.

*Ключевые слова:* *фокальная ишемия, мезенхимальные стволовые клетки.*

Ишемический инсульт является наиболее часто встречаемым синдромом в общей структуре цереброваскулярной патологии. По данным международных мультицентровых исследований, удельный вес ишемических поражений головного мозга составляет 80–85 % от всех мозговых инсультов. По данным ВОЗ, ежегодно от цереброваскулярных заболеваний умирают около 5 млн человек.

В связи с высоким уровнем летальности, значительной инвалидизацией и социальной дезадаптацией пациентов особое значение приобретает церебральный ишемический инсульт. В развитых странах заболеваемость инсультом составляет 2900 случаев (500 переходящих нарушений мозгового кровообращения и 2400 инсультов) на 1 млн населения в год; при этом 75 % инсультов являются первыми в жизни. Заболеваемость инсультом в возрасте старше 55 лет удваивается с каждым десятилетием жизни. Около 80 % больных, перенесших инсульт, становятся инвалидами, из них у 10 % пациентов состояние здоровья расценивается как тяжелое, что определяет постоянную постороннюю помощь. Данный факт показывает

большую экономическую значимость и заинтересованность научных сообществ и социальных служб в решении проблемы церебральных инсультов [1].

На данный момент коррекция патохимического каскада, вызванного ишемическим инсультом, включает реперфузионную и нейропротекторную терапию. Клинический успех этих лечебных мероприятий зависит от срока давности наступления острой ишемии, объема поражения ткани головного мозга, анатомии кровоснабжения ишемизированной области у конкретного пациента, пластичности мозга [2] и особенностей ответа на лекарственную терапию. Три последних пункта зависят от индивидуальных особенностей организма пациентов, поэтому терапевтический эффект у разных пациентов при прочих равных условиях различается.

В условиях постоянно развивающейся современной медицины появилось новое направление лечения ишемического инсульта, такое как клеточная терапия. Данный метод лечения является хирургическим и относится к трансплантологии. Концепция этого метода заключается в наличии у ство-

© В.К. Гринь, А.Г. Попандопуло, Б.Б. Ивнев, Р.М. Радык, 2011

ловых клеток, с определенной квазипотентностью и стволовостью, репаративного и нейропротекторного эффектов на головной мозг в условиях патологического процесса при их трансплантации [3].

**Материал и методы.** Исследование проведено на 45 здоровых крысах-самках инбредной линии Вистар–Киото массой 180–220 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария по 4 особи в клетке со свободным доступом к пище и воде и постоянным светотемновым режимом согласно «Принципам ухода за лабораторными животными». В течение 7 суток перед началом исследования животные были адаптированы к условиям лаборатории и персоналу.

Все мероприятия с использованием животных проводились в соответствии с положениями международных принципов гуманного обращения с животными, изложенными в «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (NIH publ. No. 93-23, revised 1985). Животных выводили из эксперимента путем декапитации после предварительной наркотизации.

Все особи, вошедшие в исследование, были разделены на пять групп: I — 5 животных, которым была произведена трепанация черепа без других хирургических манипуляций; IIА — 10 особей, которым была произведена трепанация черепа с последующей окклюзией средней мозговой артерии (СМАо) и внутривенным введением 100 мкл 0,9 % NaCl; IIВ — 10 особей, которым была произведена трепанация черепа с последующей СМАо и внутрижелудочковым введением 10 мкл 0,9 % NaCl; IIIА — 10 крыс, которым производилась внутривенная инъекция 5 млн ММСК в 100 мкл; IIIВ 10 крыс, которым производилась интравентрикулярная инъекция 500 тыс. ММСК в 10 мкл; IV — 45 intactных животных.

Первая группа животных была набрана для исключения влияния посторонних факторов на чистоту получаемых результатов и максимального ограничения изучаемого

воздействия. Исходя из этих соображений, животным I группы была произведена хирургическая операция в таком объеме: наркотизация (раствор кетамина 125 мг/кг), доступ (разрез произведен от латерального края глазницы до ушной раковины, разво-дились мышцы, обнажалось овальное отверстие тройничного нерва, которое было расширено до размера примерно 4×4 мм с помощью бормашины), вскрытие твердой мозговой оболочки. Операционная рана послойно ушита [4].

У животных II и III групп смоделировано состояние острой фокальной ишемии путем окклюзии средней мозговой артерии (СМАо) [5]. После СМАо животные I, II и III групп были тестированы для исследования поведенческого статуса: водный лабиринт Морриса [6], «открытое поле», тест «на избегание», тест «на предпочтительное использование конечности».

Животных I, II и III групп тестировали за 5 дней до начала эксперимента, а также на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки после операции. Животные выводились из эксперимента на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки соответственно.

**Результаты и их обсуждение.** До начала исследования все особи, включенные в эксперимент, были подвергнуты предварительному тестированию и составили IV экспериментальную группу. Параметры, полученные в ходе предварительного тестирования, были приняты за нормальные, а показатели следующих фаз эксперимента сравнивались с ними. В тесте «открытое поле» оценивали количество пересеченных квадратов исследуемым животным (табл. 1) и количество стоек (табл. 2).

Анализ данных, полученных в ходе тестирования группы I в открытом поле показал, что, исследуя такой параметр, как количество пересеченных квадратов, по контрольным временным промежуткам 3-и, 7-е, 14-е, 21-е, 28-е сутки не обнаружено статистически значимого различия ( $p=0,438$ ). Эти результаты позволяют предположить,

Таблица 1. Количество пересеченных квадратов в тесте «открытое поле»

| Группа | 3-и сутки    | 7-е сутки     | 14-е сутки    | 21-е сутки    | 28-е сутки    |
|--------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| I      | 96,000±2,642 | 101,000±2,195 | 103,500±3,624 | 98,670±7,468  | 104,300±6,741 |
| IIА    | 23,00±2,81   | 27,500±3,036  | 19,000±3,254  | 20,250±2,027  | 30,000±2,394  |
| IIВ    | 19,00±1,76   | 16,500±2,244  | 22,00±2,33    | 20,000±2,093  | 18,830±2,344  |
| IIIА   | 22,000±2,226 | 47,000±4,565  | 98,500±3,684  | 98,670±3,955  | 103,00±10,82  |
| IIIВ   | 20,000±2,279 | 40,000±3,308  | 92,000±3,107  | 100,20±3,41   | 105,000±7,506 |
| IV     |              |               |               | 103,900±1,078 |               |

Таблица 2. Количество стоек в тесте «открытое поле»

| Группа | 3-и сутки     | 7-е сутки     | 14-е сутки    | 21-е сутки    | 28-е сутки    |
|--------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| I      | 6,0000±0,5719 | 6,5000±0,5222 | 6,0000±0,7169 | 5,500±1,152   | 6,000±1,914   |
| IIА    | 1,0000±0,2243 | 1,000±0,392   | 1,0000±0,3942 | 1,0000±0,4959 | 2,500±0,993   |
| IIВ    | 1,0000±0,2036 | 1,000±0,277   | 1,0000±0,4195 | 1,0000±0,3604 | 1,0000±0,4576 |
| IIIА   | 1,0000±0,2007 | 3,0000±0,3062 | 5,0000±0,4509 | 5,0000±0,8813 | 6,000±1,105   |
| IIIВ   | 1,0000±0,2166 | 2,0000±0,3228 | 4,5000±0,4695 | 4,5000±0,5031 | 5,0000±0,8355 |
| IV     |               |               |               | 5,0000±0,1924 |               |

что трепанация черепа в своем объеме не оказывает такого эффекта, который мог бы значительно повлиять на изменения неврологического статуса животных и условно сравнивать СМАо у животных с классическим эндогенным ишемическим инсультом.

Результаты теста «на предпочтительное использование конечности» показывают, что животные группы II не вернулись к использованию правой конечности при приеме пищи (табл. 3). Большинство животных III группы использовали правую конечность уже на 21-е сутки. К концу наблюдения все животные III группы использовали правую конечность при приеме пищи.

в группах IIIА и IIIВ (табл. 4). Смертность животных в группах с интравентрикулярными инъекциями немного выше, чем в группах с внутривенным введением как клеточного материала, так и плацебо, и была максимальной на 3-и и 7-е сутки после СМАо.

**Выводы**

Уровень регресса неврологического дефицита крыс линии Вистар–Киото после экспериментальной фокальной ишемии в широком временном спектре с использованием мезенхимальных стволовых клеток свидетельствует о наличии значительного

Таблица 3. Показатель использования правой конечности в тесте «на предпочтительное использование конечности», %

| Группа     | 3-и сутки | 7-е сутки | 14-е сутки | 21-е сутки | 28-е сутки |
|------------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| I          | 80        | 75        | 75         | 66,6       | 100        |
| II (А, В)  | 20        | 10        | 25         | 25         | 25         |
| III (А, В) | 20        | 20        | 45         | 75         | 100        |
| IV         | 84        | 84        | 84         | 84         | 84         |

Таблица 4. Распределение показателей гибели животных по основным временным промежуткам

| Группа | 3-и сутки | 7-е сутки | 14-е сутки | 21-е сутки | 28-е сутки | Всего, %    |          |
|--------|-----------|-----------|------------|------------|------------|-------------|----------|
|        |           |           |            |            |            | в подгруппе | в группе |
| I      | 0         | 0         | 0          | 0          | 0          | –           | –        |
| IIА    | 3         | 1         | 0          | 0          | 0          | 40          | 55       |
| IIВ    | 4         | 2         | 1          | 0          | 0          | 70          |          |
| IIIА   | 1         | 0         | 0          | 0          | 0          | 12,5        | 18,75    |
| IIIВ   | 2         | 0         | 0          | 0          | 0          | 25          |          |

Остальные блоки неврологических тестов, примененных в исследовании, соответствуют основным тенденциям восстановления неврологических функций после фокальной ишемии по основным временным промежуткам.

Показатели смерти животных в группах IIА и IIВ достоверно отличаются от таковых

положительного эффекта трансплантации данного вида клеточного материала. По данным неврологического тестирования по всем исследуемым параметрам выявлено, что восстановление неврологических функций у крыс групп IIIА и IIIВ наблюдается уже на 7-е сутки и достоверно отличается от показателей тестирования на 3-и сутки

после СМАо. При проведении тестирования на 14–28-е сутки у крыс групп ПА и ПВ не выявлено статистически различимого отличия от показателей группы контроля. В группах ПА и ПВ восстановления когнитивных функций не произошло до окончания наблюдений.

Результаты большинства блоков тестирования показали, что уровень восстановле-

ния неврологических функций при интравентрикулярном и внутривенном пути введения статистически значимо не различается. Более предпочтительным все же считается интравентрикулярный путь введения, так как является более селективным и объем введения клеточного материала значительно меньше, чем при внутривенной трансплантации.

#### Список литературы

1. Human stem cell therapy in ischaemic stroke: a review / S. Banerjee, D. Williamson, N. Habib [et al.] // Oxford Journals. — 2011. — Iss. 1. — P. 7–13.
2. Neurogenesis in dentate subgranular zone and rostral subventricular zone after focal cerebral ischemia in the rat / Kunlin Jin, Manabu Minami, Jing Q. Lan [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2001. — V. 98 (8). — P. 4710–4715.
3. Proliferation and differentiation of progenitor cells in the cortex and the subventricular zone in the adult rat after focal cerebral ischemia / R. L. Zhang, Z. G. Zhang, L. Zhang [et al.] // Neuroscience. — 2006. — V. 105. — P. 33–41.
4. Focal brain ischemia in the rat: methods for reproducible neocortical infarction using tandem occlusion of the distal middle cerebral and ipsilateral common carotid arteries. / S. Brint, M. Jacewicz, M. Kiessling [et al.] // J. Cereb. Blood Flow Metab. — 2006. — V. 8. — P. 74–85.
5. Зинькова Н. Н. Терапия ишемического инсульта головного мозга у крыс с помощью мезенхимных стволовых клеток / Н. Н. Зинькова, Е. Г. Гилерович, И. Б. Соколова // Цитология. — 2007. — Т. 7, № 49. — С. 566–575.
6. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat / R. Morris // J. Neurosci. Methods. — 2006. — V. 11. — P. 47–60.

**В.К. Гринь, А.Г. Попандопуло, В.В. Івнев, Р.М. Радик**

#### ВІДНОВЛЕННЯ РУХОВИХ ТА КОГНІТИВНИХ ФУНКЦІЙ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПІСЛЯ ФОКАЛЬНОЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

Проведено аналіз результатів комплексного експериментального дослідження впливу мезенхімальних стовбурових клітин на відновлення неврологічних функцій у щурів лінії Вістар-Кіото після моделювання гострої фокальної ішемії. Дослідження проведено на 45 здорових щурах-самцях інбредної лінії Вістар-Кіото. Клітинний матеріал вводили в день моделювання ішемії. Тварин було розподілено на п'ять груп: дві групи клітинної терапії з інтравентрикулярним та парентеральним введенням клітинного матеріалу; дві групи з інтравентрикулярним та парентеральним введенням плацебо, хібнооперовані тварини. Показано, що відновлення когнітивних функцій відбувається вже на другий тиждень спостереження у групах клітинної терапії, тоді як у групах без введення клітин статистично вірогідного покращання не було. Також у групах клітинної терапії виявлено суттєве зниження показників смертності тварин.

**Ключові слова:** фокальна ішемія, мезенхімальні стовбурові клітини.

**V.K. Grin, A.G. Popandopulo, V.V. Ivnev, R.M. Raduk**

#### NEUROLOGICAL FUNCTIONS RECOVERY AT RATS AFTER FOCAL EXPERIMENTAL ISCHEMIA BY MESENCHYMAL STEM CELLS TRANSPLANTATION

The analysis of results of complex experimental research of mesenchymal stem cells influence on neurological functions recovery of rats of Wistar-Kioto line after modeling acute focal ischemia has been made. The research has been performed on 45 healthy female rats of Wistar-Kioto inbreeding line. The cell material deliver on the day of ischemia modeling. The animals were divided in 5 groups: cell therapy groups with intraventricular and parenteral cell material delivery; groups with intraventricular and parenteral placebo delivery (PIA and PIB) and group of false-operated animals. It was shown, that the recovery of cognitive functions takes place already on the second week of observations in the cell therapy groups, whereas in the groups without cell delivery there was no statistically significant improvement. The considerable reduction of rate of mortality of animals is also observed in the cell therapy groups.

**Key words:** focal ischemia, mesenchymal stem cells.

УДК 576.3/.7.056.83:616.126.52/.56

*В.К. Гринь, А.Г. Попандоуло, М.В. Петрова,  
И.Ю. Мокрик, Д.Л. Юдицкий*

*ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака  
НАМН Украины», г. Донецк*

### **ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИНГ АОРТАЛЬНОГО И ЛЕГОЧНОГО КЛАПАНОВ СЕРДЦА КСЕНОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

Тканевой инженеринг подразумевает реконструкцию жизнеспособной ткани с использованием аутологичных клеток, подсаженных на соединительнотканый матрикс. Данное исследование было нацелено на создание биомодифицированных сердечно-сосудистых трансплантатов посредством девитализации соединительнотканного матрикса сердечных клапанов свиней с сохранением их физиологической адгезивности. Полученные в результате эксперимента графты пригодны для заселения клетками и дальнейшей их ревитализации.

**Ключевые слова:** *тканевой инженеринг, графт, девитализация, адгезия, ревитализация.*

Протезирование сердечных клапанов занимает значительное место в лечении клапанных пороков сердца. Как правило, подобного рода операции имеют место на терминальных стадиях заболеваний в тех случаях, когда пластику пораженных клапанов по тем или иным причинам осуществить невозможно. Одними из главных показаний к протезированию служат грубые изменения клапана (часто с выраженным кальцинозом и фиброзом створок), обуславливающие нарушение системной гемодинамики. На сегодняшний день протезирование аортальных клапанов настолько востребовано, что превалирует над операциями по их пластической реконструкции [1, 2].

Большинство пациентов с протезированными клапанами — это лица с искусственными (механическими) протезами. В то же время механические протезы сердечных клапанов имеют ряд недостатков, включая необходимость пожизненного приема антикоагулянтов, возможность развития тромботических осложнений, протезного эндокардита и острых дисфункций, недолговечность и неспособность к росту [1–3].

В отличие от механических клапанов биологические протезы позволяют избежать антикоагулянтной терапии, которая вызывает поражение печени, обладают

естественной резистентностью к инфекции, имеют хорошие гемодинамические свойства, снижают риск рецидива эндокардита, а кроме того, потенциально способны к ремоделированию в организме реципиента. Способность к ремоделированию особенно важна для детей и пациентов молодого возраста, когда необходимо обеспечить не только поддержание и обновление структуры трансплантата, но и его рост. В настоящее время частота появлений врожденных пороков сердца и сосудов держится на постоянном уровне и составляет около 0,8 % от всех родившихся. Иными словами, ежегодно в мире рождается примерно 100 000 детей с врожденными пороками сердца [1]. В связи с этим не вызывает сомнений необходимость и актуальность дальнейших разработок в области биомоделирования сердечных клапанов.

Биопротезы также не лишены недостатков — достаточно часто отмечается биодеградация клапанов (кальциноз, разрывы створок). Основной причиной подобных процессов считаются клетки донора, попадающие в организм реципиента вместе с трансплантатом и провоцирующие иммунный ответ на HLA антигены [2], а также инициация погибшими клетками кальцификации ткани трансплантата.

© В.К. Гринь, А.Г. Попандоуло, М.В. Петрова, и др., 2011

В связи с этим в последние годы активно разрабатываются методы обработки трансплантатов, обеспечивающие гибель клеток донора (девитализацию). Считается, что такой подход позволит снизить иммунный ответ и будет способствовать повышению долговечности трансплантатов клапанов сердца [1–4]. Кроме того, исключение из процесса репарации донорских клеток в ткани трансплантируемого протеза позволит использовать в качестве основы для биологического трансплантата ксеногенный материал (ксенографт). Это, безусловно, позволит сделать процедуру протезирования сердечных клапанов более доступной.

Увеличение долговечности и самообновление графта также зависят от того, насколько быстро тканеобразующие клетки реципиента проникнут в матрикс донорского клапана, образуют там популяцию и приступят к созданию собственного матрикса [3]. Максимально ускорить этот процесс можно при условии заселения трансплантата аутоклетками реципиента еще на стадии культивирования.

Таким образом, целью данной работы явилась разработка наиболее эффективного метода девитализации ксенографтов, а также последующая оценка их пригодности в качестве каркаса для аутологических клеток реципиента.

**Материал и методы.** Исследование проводилось с использованием сердечных клапанов 6-месячных свиней (рис. 1, 2), которые прошли соответствующую обработку раствором ЭДТА (Sigma, США) в целях инициации апоптотической гибели клеточной составляющей трансплантата с минимальным разрушающим воздействием на экстрацеллюлярный матрикс.

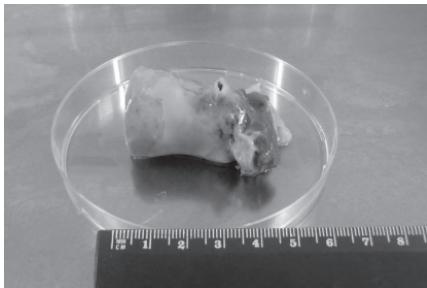


Рис. 1. Аортальный ксенографт

На следующем этапе графты, прошедшие такую обработку, подвергали оценке на сохранность их адгезивных свойств, для чего девитализированные графты инкубировали с фетальными фибробластами человека, выделенными и культивированными в

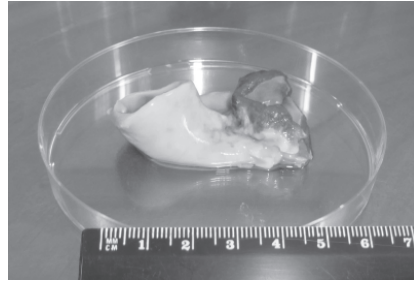


Рис. 2. Легочный ксенографт

соответствии с общепринятой методикой [5], а также предварительно окрашенными витальным флуоресцентным красителем РКН 67 Green (Sigma, США). Степень их адгезии на девитализированной ткани сердечных клапанов оценивали на 5-е сутки инкубации с использованием флуоресцентного микроскопа.

**Результаты и их обсуждение.** По результатам гистологического анализа образцов, прошедших обработку раствором ЭДТА (рис. 3), наблюдались характерные для апоптоза морфологические изменения в клетках (кариопикноз, кариорексис), а также уменьшалось общее их количество, в то время как клетки контрольных (интактных) образцов, напротив, имели нормальную морфологию, характерную для фибробластов: вытянутые веретенообразной формы клетки с овальным ядром (рис. 4). Это позволило нам считать процесс инициации апоптоза успешно запущенным.

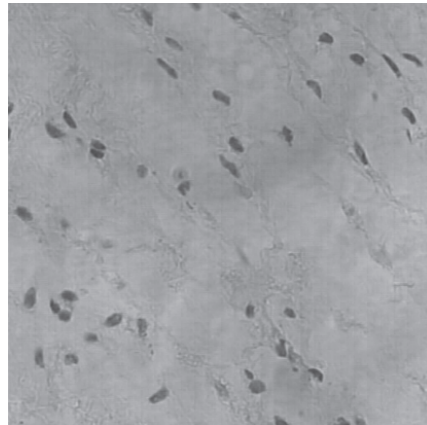


Рис. 3. Морфология клеток ксенографта. Экспериментальный образец, подвергавшийся обработке раствором ЭДТА в течение 2 суток. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 400$ , ок. 10, об. 40

При флуоресцентном анализе будущих трансплантатов выявлено ярко выраженное свечение адгезированных на соединительнотканном матриксе клеток в лучах синевioletового спектра (рис. 5), что свидетельствует о сохранении внеклеточным мат-

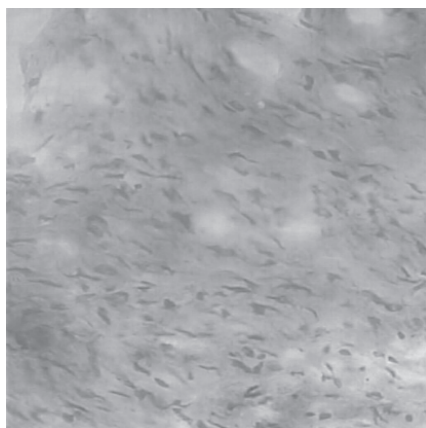


Рис. 4. Морфология клеток ксенографта. Контрольный (интактный) образец

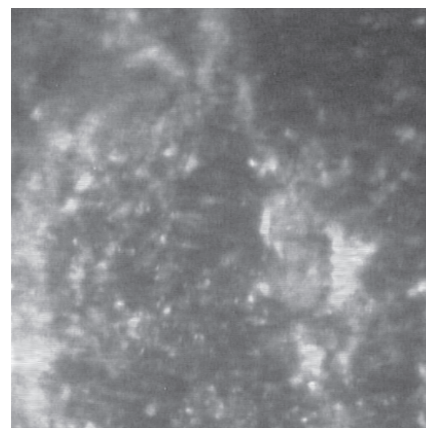


Рис. 5. Флуоресцентный анализ обработанных ксеногенных графтов, 5-е сутки инкубации с фибробластами.  $\times 400$ , ок. 10, об. 40

риксом адгезивных свойств и его дальнейшей пригодности для заселения тканеобразующими аутоклетками реципиента.

#### Выводы

Полученные результаты свидетельствуют об успешности первого этапа заплани-

рованных исследований. Обработка графтов раствором ЭДТА эффективна для достижения девитализации ткани и в то же время достаточно лояльна по отношению к соединительнотканному матриксу, сохраняя его пригодным для дальнейшего заселения клетками в целях ревитализации.

#### Список литературы

1. *Schmidt D.* Tissue engineering of heart valves using decellularized xenogeneic or polymeric starter matrices / D. Schmidt, U. A. Stock, S. P. Hoerstrup // *Phil. Trans. R. Soc. B.* — 2007. — V. 362. — P. 1505–1512.
2. Изучение биосовместимости трансплантатов клапанов сердца, девитализированных антикальцинозным способом / В. С. Акатов, Р. М. Муратов, И. С. Фадеева [и др.] // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* — 2010. — Т. V, № 2. — С. 36–41.
3. Криосохраненные аллогraftы в реконструктивной хирургии пороков аортального клапана / [Бокерия Л. А., Муратов Р. М., Скопин И. И. и др.]. — М. : НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 2007. — 282 с.
4. Подавление кальцификации трансплантатов клапанов сердца путем их девитализации / В. С. Акатов, Н. И. Фесенко, В. В. Соловьев [и др.] // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* — 2010. — Т. V, № 1. — С. 41–46.
5. Влияние факторов культивирования на жизнеспособность фетальных фибробластов человека / А. Г. Попандопуло, Д. Ю. Игнатов, И. О. Слипченко [и др.] // *Вестник неотложной и восстановительной медицины.* — 2003. — Т. 4, № 2. — С. 323–325.

**В.К. Гринь, А.Г. Попандопуло, М.В. Петрова, І.Ю. Мокрик, Д.Л. Юдіцький**

#### ТКАНИННИЙ ІНЖЕНЕРІНГ АОРТАЛЬНОГО ТА ЛЕГЕНЕВОГО КЛАПАНІВ СЕРЦЯ КСЕНОГЕННОГО ПОХОДЖЕННЯ

Тканинний інженерінг передбачає реконструкцію життєздатної тканини з використанням аутологічних клітин, підсаджених до сполучнотканинного матриксу. Дане дослідження було спрямовано на виготовлення біомодифікованих серцево-судинних трансплантатів шляхом девіталізації сполучнотканинного матриксу серцевих клапанів серця свиней зі збереженням їх фізіологічної адгезивності. Отримані графти є придатними для заселення клітинами з метою подальшої ревіталізації.

**Ключові слова:** *тканинний інженерінг, графт, девіталізація, адгезія, ревіталізація.*

**V.K. Gryn, A.G. Popandopulo, M.V. Petrova, I.Yu. Mokryk, D.L. Yuditskiy**

#### TISSUE ENGINEERING OF AORTIC AND PULMONARY HEART VALVES OF XENOGENIC NATURE

Tissue engineering involves the reconstitution of viable tissue with the use of autologous cells grown on connective tissue matrix. This research was aimed to produce biomodified cardiovascular graft by devitalization of xenogenic porcine heart valves with preserving their physiological adhesion. Thus, they are suitable for cell colonization and revitalization.

**Key words:** *tissue engineering, graft, devitalization, adhesion, revitalization.*

УДК 616.12-008.46.2-005.4-02-089.843

**В.К. Гринь, А.Г. Попандопуло, С.И. Эстрин, Е.М. Денисова,  
Н.В. Сергиенко, А.А. Рябко**

*ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии  
им. В.К. Гусака НАМН Украины», г. Донецк*

## **ВЛИЯНИЕ КЛЕТОЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ НА ТЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА**

Регенеративная терапия с использованием клеточных технологий открывает новые возможности в борьбе с постинфарктными функциональными и структурными изменениями сердца. В статье представлен клинический опыт применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга у пациентов с хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза. На основании годичного наблюдения установлены безопасность и хорошая переносимость данной методики пациентами. Отмечено положительное влияние данного лечения на течение сердечной недостаточности по сравнению с медикаментозной терапией пациентов контрольной группы.

**Ключевые слова:** клеточная терапия, постинфарктное ремоделирование миокарда, сердечная недостаточность.

Заболевания сердца и сосудов по-прежнему занимают ведущее место среди причин смерти больных в развитых странах [1]. При этом в основе этой высокой летальности лежит сердечная недостаточность (СН). Так, 70 % мужчин и 63 % женщин с диагнозом ХСН умирают в течение 6 лет после появления первых клинических признаков заболевания, причем на первый год заболевания приходится до 50 % смертельных исходов. Однолетняя смертность больных с клинически выраженной СН достигает 26–29 % [2]. Больные с СН ишемической этиологии имеют наихудший прогноз в сравнении с группами пациентов, страдающими СН другой этиологии.

Богатый арсенал современных фармакологических средств: ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АПФ),  $\beta$ -адреноблокаторы (БАБ), антагонисты альдостерона (АА), блокаторы ангиотензиновых рецепторов (БАР), диуретики, сердечные гликозиды и другие препараты — позволяют кардиологам на современном этапе воздействовать на различные звенья патогенеза СН. Контроль над артериальной гипертензией, эффективная коррекция гипергликемии и дислипидемии как факторов риска позволяют снизить темпы развития гипер-

трофии и дисфункции миокарда, отсрочить возникновение ишемической болезни сердца (ИБС) и, как следствие, инфаркта миокарда (ИМ). Применение ингибиторов АПФ и БАБ для блокады нейрогуморальных систем позволяет предотвратить ремоделирование сердца. А внедрение в широкую медицинскую практику хирургических и эндоваскулярных методов реваскуляризации миокарда позволяет думать о скорой победе над грозными осложнениями атеросклероза.

Однако существует большая группа пациентов, у которых перечисленные методы оказываются неэффективными или неприменимыми. Речь идет о больных с обширными осложненными ИМ в анамнезе, дистальным типом атеросклеротического поражения коронарных сосудов, а также о больных, у которых ранее выполнялись хирургические вмешательства (стентирование, аортокоронарное шунтирование) и повторные операции невозможны.

Клеточная терапия рассматривается в настоящее время как новый метод лечения широкого спектра сложных заболеваний сердечно-сосудистой системы. Перспективным представляется этот метод лечения и для данной категории больных. Проводятся

© В.К. Гринь, А.Г. Попандопуло, С.И. Эстрин и др., 2011

экспериментальные и клинические исследования по внедрению в поврежденный миокард различных типов клеток — кардиомиоцитов, клеток костного мозга, скелетных миобластов и др. [3]. Применение указанных методик призвано изменить процессы постинфарктного ремоделирования ЛЖ сердца, повлиять на восстановление поврежденных кардиомиоцитов, стимулировать ангиогенез и, как следствие, улучшить функцию сердечной мышцы [4]. Многие исследователи рассматривают клеточную терапию в качестве дополнения, а в ряде случаев и альтернативы применяемым традиционным хирургическим методам лечения трудно курабельных сердечнососудистых заболеваний, в том числе и дорогостоящим операциям по пересадке сердца [5]. Первый опыт применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток (МСК) костного мозга у пациентов с ХСН ишемической этиологии показал, что их применение относительно безопасно и способно в разной степени улучшить перфузию и/или сократимость миокарда [6, 7].

**Материал и методы.** В исследование включено 30 пациентов, страдающих ИБС, с постинфарктной дисфункцией ЛЖ. Критериями включения в исследование пациентов с ИБС являлись: наличие у пациентов атеросклеротического поражения коронарных сосудов по данным коронароангиографии (КАГ), невозможность реваскуляризации зоны инфаркта (нешунтабельная и/или непригодная для транслюминальной баллонной ангиопластики коронарная артерия), возраст пациента не более 70 лет, подписание пациентом информированного согласия на участие в клиническом испытании. Критериями невключения в исследование являлись: заболевания костного мозга, которые препятствуют забору материала и трансплантации (лимфома, миелодиспластический синдром и др.), острый ИМ, недавний (менее 6 недель до начала исследования) инсульт, наличие указаний на диагностированные злокачественные новооб-

разования, выраженная дисфункция почек, выраженная дисфункция печени, иммунокомпрометирующий статус, наличие активной инфекции любого типа.

Возраст пациентов составил от 46 до 70 лет. Диагноз ИБС был верифицирован на основании клинической картины заболевания, анамнеза, данных неинвазивных и инвазивных методов исследования. Наличие атеросклероза коронарных артерий было документировано данными селективной коронарографии. Продолжительность заболевания составила от 7 до 14 лет, средняя —  $(7,36 \pm 3,32)$  года.

Все пациенты в начале исследования, а также через 3, 6 и 12 месяцев проходили обследование, включавшее общеклинические анализы, ЭКГ, ЭхоКГ, суточное мониторирование ЭКГ, тест с 6-минутной ходьбой, проходили анкетирование по Миннесотскому опроснику.

Все пациенты получали необходимую медикаментозную терапию. При поступлении в стационар они в среднем получали 4,6 препарата, а во время госпитализации — в среднем 6,9 препарата ( $p=0,03$ ). Все пациенты получали ингибиторы АПФ, 58 % — сердечные гликозиды (дигоксин), 53,5 % — амиодарон (кордарон), 98 % — БАБ, 62 % — петлевые диуретики и антагонисты альдостерона (спиронолактон или эплеренон), 87,9 % — нитропрепараты, 48,4 % — варфарин, 100 % — кардиомагнил, 44,5 % — плавикс, 100 % — статины.

У всех пациентов эффективность максимальных доз медикаментов была незначительной: сохранялась стенокардия высокого ФК, признаки ХСН. Все пациенты, включенные в исследование, были отнесены к II–IV ФК ХСН по классификации Нью-Йоркской Ассоциации Сердца (NYHA).

Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1, 2.

Было сформировано две группы больных: в первую группу вошли 15 пациентов, которым проводилась клеточная терапия с использованием аутологичных МСК в соче-

Таблица 1. Распределение больных ИБС разного пола по ФК согласно NYHA

| Пол больных | Всего | ФК по NYHA |    |      |      |      |    |
|-------------|-------|------------|----|------|------|------|----|
|             |       | II         |    | III  |      | IV   |    |
|             |       | абс.       | %  | абс. | %    | абс. | %  |
| Мужчины     | 23    | 3          | 10 | 14   | 46,7 | 6    | 20 |
| Женщины     | 7     | 0          | 0  | 4    | 13,3 | 3    | 10 |
| Всего       | 30    | 3          | 10 | 18   | 60,0 | 9    | 30 |

Таблица 2. Исходная клиническая характеристика пациентов (n=30)

| Основной показатель                 | Основная группа<br>(внутривенное введение) | Группа контроля<br>(медикаментозная терапия) |
|-------------------------------------|--|--|
| Средний возраст, лет                | 56,7±10,5                                  | 57,0±10,2                                    |
| Средняя длительность болезни, лет   | 6,1±3,0                                    | 7,6±2,3                                      |
| ИМ в анамнезе                       |  |  |
| 1                                   | 6  | 7  |
| 2                                   | 9  | 6  |
| Развитие постинфарктных аневризм ЛЖ | 5  | 4  |
| Время от последнего ИМ, лет         | 3,2±3,4                                    | 2,9±1,5                                      |

тании с традиционным медикаментозным лечением ХСН, во вторую (контрольную) — 15 больных, принимавших медикаментозную терапию согласно современным стандартам лечения данной патологии. Пациенты двух групп были сопоставимы между собой по клинико-ангиологическим показателям.

Различий в клинических характеристиках исследуемых групп и групп контроля выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

После обследования пациентов, подписания информированного согласия для получения аутологичных МСК в условиях операционной под местной анестезией из задневерхнего гребня подвздошной кости проводили забор костного мозга в количестве 100–110 мл. В условиях клеточной лаборатории из полученной взвеси клеток методом градиентного центрифугирования выделяли МСК. В течение 14–21 дня культивировали данную популяцию клеток до достижения клеточности  $5 \cdot 10^7$ . Исходную суспензию МСК разводили в изотоническом растворе хлорида натрия непосредственно перед введением. Трансплантацию полученной культуры проводили путем внутривенной инфузии в течение 20–25 минут.

Полученные результаты обрабатывали статистически.

**Результаты и их обсуждение.** При контрольном обследовании у всех пациентов основной группы отмечалось клиническое улучшение, что выражалось в снижении степени СН по классификации NYHA. Уменьшение проявлений СН и снижение ФК по NYHA выявлено у пациентов основной группы, при этом эффект удерживался на протяжении 3–4 месяцев ( $p < 0,05$ ), рис. 1, 2.

В группе пациентов, получавших клеточную терапию, выявлено статистически достоверное ( $p < 0,05$ ) улучшение качества жизни по Миннесотскому опроснику (MLHFQ) — на 33 и 17 баллов соответственно че-

рез 3 и 6 месяцев, в то время как в группе пациентов, получавших медикаментозную терапию, за 3 месяца качество жизни практически не изменилось, а через 6 месяцев — ухудшилось на 6 баллов (рис. 3).

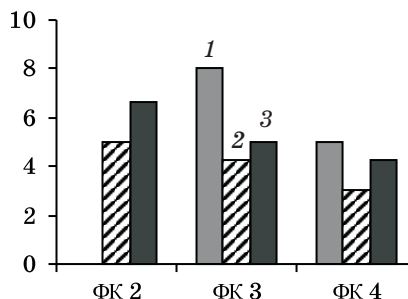


Рис. 1. Динамика ФК по NYHA при внутривенном введении ауто ССК: 1 — до введения; 2 — через 3 мес; 3 — через 6 мес. Здесь и на рис. 2, 3

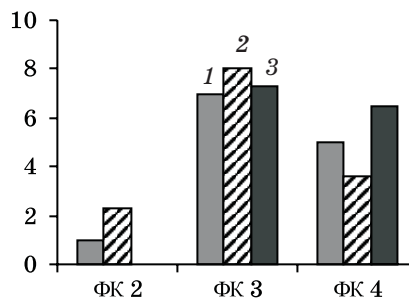


Рис. 2. Динамика ФК по NYHA при медикаментозной терапии

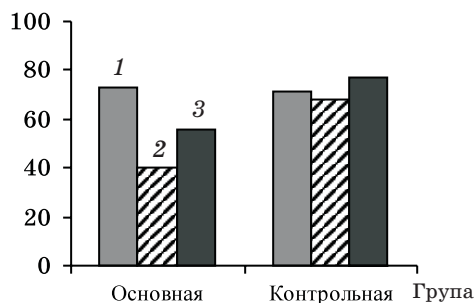


Рис. 3. Динамика качества жизни по Миннесотскому опроснику (MLHFQ)

При анализе глобальной сократимости ЛЖ по ЭхоКГ наблюдалось достоверное уменьшение объемов ЛЖ в основной группе относительно таковых в группе контроля с умеренным увеличением ФВ ЛЖ в собственно исследуемой группе по сравнению с исходными значениями. Отличие средней ФВ ЛЖ в основной группе было достоверно значимым через 3 месяца после введения (табл. 3).

трансплантации пациентам с ИБС. Клиническое улучшение было отмечено у всех пациентов основной группы, выразившееся в уменьшении проявлений СН. Положительная динамика показателей КДО ЛЖ позволяет говорить о позитивном влиянии данной методики на процессы ремоделирования сердечной мышцы.

Не прекращаются дискуссии вокруг вопроса об оптимальном пути введения кле-

Таблица 3. Динамика КДО ЛЖ и ФВ ЛЖ у пациентов обследованных групп

| Показатель | Срок исследования | Группа                              |                                     |
|------------|-------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
|            |                   | основная                            | контрольная                         |
| КДО ЛЖ, мл | До введения       | 244,1±24,3                          | 251,4±28,1                          |
|            | Через 3 мес       | 193,4±18,9; p<0,05                  | 248,6±42,1; p>0,05                  |
|            | Через 6 мес       | 204,3±45,6; p, p <sub>1</sub> >0,05 | 268,3±25,6; p, p <sub>1</sub> >0,05 |
| ФВ ЛЖ, %   | До введения       | 33,8±3,6                            | 42,4±4,2                            |
|            | Через 3 мес       | 42,8±4,8; p<0,05                    | 40,3±3,8; p>0,05                    |
|            | Через 6 мес       | 40,3±5,1; p, p <sub>1</sub> >0,05   | 36,5±3,8; p, p <sub>1</sub> >0,05   |

*Примечание.* Разница достоверна при сравнении с показателем: p — до лечения; p<sub>1</sub> — через 3 месяца лечения.

До недавнего времени считалось, что ИМ приводит к необратимому ремоделированию сердечной мышцы, что закономерно заканчивается развитием ХСН в течение нескольких месяцев или лет. В настоящее время накоплен материал о влиянии пересадки различных видов клеток на функцию сердечной мышцы. В качестве материалов для кардиомиопластики в исследованиях использовались гладкомышечные клетки, собственные миообласты из скелетных мышц, кардиомиоциты, стволовые клетки костного мозга. МСК соответствуют большинству критериев, которыми должны обладать клетки, используемые в заместительной терапии сердечнососудистой системы. По данным ряда исследований, наиболее важными критериями являются: способность клеток дифференцироваться в кардиомиоциты, содержать сократительные структуры, отсутствие реакции отторжения, минимальные ишемические повреждения, шок, некроз и апоптоз пересаженных клеток, способность пересаженных клеток к репарации поврежденного участка (замещение соединительной ткани и формирование полноценной биомеханической архитектоники сердечной ткани).

В нашем исследовании было показано положительное влияние аутологических МСК костного мозга на течение ХСН при их

точного материала. Благодаря «homing»-процессу, существование которого доказано во многих экспериментальных работах, происходит миграция клеток к поврежденным участкам миокарда и зонам ишемии. Это обеспечивает реализацию перечисленных эффектов клеточной терапии на уровне миокарда. Чрезвычайно важным является то, что методика внутривенной трансплантации — безопасная и неинвазивная процедура. Это делает её применимой у пациентов с тяжелой СН на фоне рефрактерной к медикаментозному лечению стенокардии, а также инкурабельного состояния пациента относительно проведения реваскуляризирующих оперативных вмешательств.

По мнению многих авторов, ХСН еще до развития застойных изменений является генерализованным заболеванием с поражением сердца, периферических сосудов, скелетной мускулатуры и других органов [2, 3]. Исходя из этого положения, системное введение МСК может явиться наиболее оптимальным у данной категории пациентов.

Большинство проводимых в настоящее время исследований показало положительное влияние клеточной терапии на сократительную способность миокарда и степень его васкуляризации [3, 6, 7]. Однако остается открытым вопрос о более отдаленных эффектах данного вида терапии, в частности,

влияние на выживаемость пациентов. Несомненно, это станет объектом будущих научных исследований.

#### Выводы

Клинические результаты, полученные в нашем исследовании, показывают, что внутривенное введение аутологичных МСК эффективно для уменьшения проявлений ХСН ишемической этиологии, что выражается в достоверном увеличении ФВ ЛЖ, снижении КДО ЛЖ и повышении качества жизни пациентов. Эффект однократного внутривенного введения аутологичных МСК применительно к увеличению насосной функции сердца и повышению качества жизни удерживается на протяжении 3–4 месяцев. Возможно, применение аутоло-

гичных МСК в комплексной терапии на этапе, предшествующем прямой реваскуляризации (АКШ, ЧКА) у пациентов с низкой ФВ (ниже 30 %) для достижения операбельности, а также после прямой реваскуляризации у пациентов с сохраняющейся низкой ФВ для повышения качества жизни.

Таким образом, регенеративная клеточная терапия является активно развивающимся направлением медицинских биотехнологий, безусловно, применимых в лечении пациентов с тяжелой сердечной дисфункцией ишемической этиологии. Внутривенный способ введения аутологичных МСК заслуживает внимания в связи с хорошей переносимостью и развитием достоверного положительного эффекта после его применения.

#### Список литературы

1. Плотников Е. Ю. Стволовые клетки в регенеративной терапии сердечных заболеваний: роль межклеточных взаимодействий / Е. Ю. Плотников, Д. Б. Зоров, Г. Т. Сухих // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. — 2009. — Т. 4, № 1. — С. 43–49.
2. Воронков Л. Г. Предиктори якості життя хворих із хронічною серцевою недостатністю III функціонального класу за NYHA / Л. Г. Воронков, Л. П. Паращенко, Г. В. Яновський // Серце і судини. — 2009. — № 1. — С. 1–8.
3. Беленков Ю. Н. Клеточная терапия в лечении хронической сердечной недостаточности: виды применяемых стволовых клеток, результаты последних клинических исследований / Ю. Н. Беленков, Е. В. Привалова, И. С. Чекнев // Кардиология и сердечнососудистая хирургия. — 2008. — № 5. — С. 4–18.
4. Использование системной трансплантации кардиомиоцитов, полученных из мезенхимальных стволовых клеток аутологичного костного мозга, при комплексной терапии больных хронической сердечной недостаточностью / А. Ф. Цыб, А. Г. Коноплянков, М. А. Каплан [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. — 2008. — № 1. — С. 78–84.
5. Strauer B. E. The therapeutic potential of stem cells in heart disease / B. E. Strauer, M. Brehm, C. M. Schannwell // Cell Prolif. — 2008. — V. 41. — P. 126–145.
6. Role of adult bone marrow stem cells in the repair of ischemic myocardium / S. Charwat, M. Gyongyo, I. Lang [et al.] // Experimental Hematology. — 2008. — V. 36. — P. 672–680.
7. Menasche P. Cell-based therapy for heart disease: a clinically oriented perspective / P. Menasche // Molecular Therapy. — 2009. — V. 17, № 7. — P. 758–766.

#### **В.К. Гринь, А.Г. Попандопуло, С.І. Естрин, О.М. Денисова, Н.В. Сергієнко, О.О. Рябко** ВПЛИВ КЛІТИННОЇ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ НА ПЕРЕБІГ ХРОНІЧНОЇ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ

Регенеративна терапія з використанням клітинних технологій відкриває нові можливості у боротьбі з післяінфарктними функціональними та структурними змінами серця. У статті представлений клінічний досвід використання аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку у пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю ішемічного генезу. На основі річного спостереження встановлено безпечність та добру переносимість даної методики пацієнтами. Відмічено позитивний вплив цього виду лікування на перебіг серцевої недостатності у порівнянні з медикаментозною терапією пацієнтів групи контролю.

**Ключові слова:** клітинна терапія, післяінфарктне ремоделювання міокарда, серцева недостатність.

#### **V.K. Grin, A.G. Popandopulo, S.I. Estrin, E.M. Denisova, N.V. Sergienko, A.A. Ryabko** THE IMPACT OF CELL TRANSPLANTATION ON THE COURSE OF CHRONIC HEART FAILURE IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE

Regenerative therapy using cellular technology opens up new opportunities in combating postinfarction functional and structural changes of the heart. The article presents the clinical experience

---

of using autologous mesenchymal stem cells of bone marrow in patients with chronic heart failure of ischemic origin. Based on years of observation established safety and good tolerability of this technique patients. Noted the positive impact this type of treatment on the course of heart failure compared with controls. According to the ultrasound examination revealed improvements internally cardiac hemodynamics in patients 3 months after intravenous injection of cell suspensions. The effect is somewhat diminished cheers 6 and 12 months. However, this result has provided a number of patients after revascularization surgery cell therapy.

**Key words:** *cell therapy, postinfarction myocardial remodeling, heart failure.*

УДК 616-036.11:616.61-089.843-008.64

*С.Н. Гриценко, С.П. Корнеева, Т.А. Семенова, С.Н. Корогод,  
А.В. Литвинов, В.А. Собокарь*

*Запорожская медицинская академия последипломного образования*

## **ИНТЕНСИВНАЯ ЗАМЕСТИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ ОСТРОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА**

Показано, что характерной особенностью гемодинамических нарушений у реципиентов с отсроченной функцией почечного трансплантата на протяжении первых четырнадцати суток являлась артериальная гипертензия I ст., повышение периферической сосудистой резистентности и умеренная систолическая дисфункции. Наблюдалось существенное уменьшение показателей системного транспорта и потребления кислорода.

**Ключевые слова:** трансплантация почки, острая почечная недостаточность, транспорт кислорода.

Острая почечная недостаточность трансплантата является частным случаем острой почечной недостаточности. Это внезапная потеря почечной функции (трансплантата), сопровождающаяся быстрым ростом креатинина, задержкой жидкости, водно-электролитными нарушениями.

По данным большинства авторов, у 20–70 % больных после трансплантации трупной донорской почки развивается олигоанурия как следствие некробиотических процессов ишемического происхождения в канальцах [1–4]. Метод заместительной терапии (гемодиализ или перитонеальный диализ), на котором находился реципиент, и время, прошедшее от последней процедуры гемодиализа, являются факторами, влияющими на развитие острой почечной недостаточности.

Цель — изучить состояние гемодинамики и транспорта кислорода у реципиентов почечных трансплантатов с отсроченной функцией в раннем послеоперационном периоде.

**Материал и методы.** Проанализированы 40 историй болезни пациентов (19 женщин, 21 мужчин) с первично-нефункционирующим почечным трансплантатом, у которых продолжилась заместительная терапия методом гемодиализа в раннем послеоперационном периоде. Средний возраст пациентов — 34,7 года (18–54 года). Клинический диагноз у 32 из них был хронический гломе-

рулонефрит, у 2 — полистозная болезнь почек, у 2 — аномалия развития почек, у 1 — сахарный диабет 1-го типа, у 3 — хронический пиелонефрит. Все они получали программный гемодиализ трижды в неделю с недельной диализной дозой > 1,2. Бикарбонатный гемодиализ проводили на диализаторах F 6, 7, 8 HPS (Fresenius). Использовали аппараты для гемодиализа Fresenius 4008E, Fresenius 4008B. Дозу диализа в послеоперационном периоде поддерживали не ниже показателя КТ/V 1,2. Объем ультрафильтрации определяли в зависимости от артериального давления, центрального венозного давления и прироста массы тела. В период отсутствия функции трансплантата у этих больных исследовали показатели гемодинамики и кислородного режима.

Гемодинамические показатели определяли с помощью эхокардиоскопа EN Visor (Филипс), показатели кислородного транспорта — аппаратом ABL 500 (Радиометр).

**Результаты.** Послеоперационные показатели гемодинамики реципиентов с отсроченной функцией трансплантата отражены в табл. 1.

Проанализировав данные табл. 1, мы можем отметить, что систолическое артериальное давление в сравнении с исходным показателем снизилось на 4,6 % на 3-и сутки наблюдения и статистически достоверно не отличалось от исходного показателя на 1-е, 5-е, 7-е, 14-е и 21-е сутки раннего пос-

© С.Н. Гриценко, С.П. Корнеева, Т.А. Семенова и др., 2011

Таблица 1. Послеоперационные показатели гемодинамики реципиентов с отсроченной функцией трансплантата (n=40)

| Показатель                                     | Исходные данные | 1-е сутки | 3-и сутки  | 5-е сутки | 7-е сутки  | 14-е сутки | 21-е сутки |
|--|-----------------|-----------|------------|-----------|------------|------------|------------|
| САД, мм рт. ст.                                | 153±2           | 146,0±3,2 | 145,0±3,8* | 149,0±2,9 | 156,0±3,4  | 149,0±3,4  | 147,0±2,8  |
| ДАД, мм рт. ст.                                | 93,5±1,6        | 90,0±2,3  | 87,0±2,4*  | 92,0±1,4  | 85,0±2,4*  | 88±2*      | 87,0±1,5*  |
| СрАД, мм рт. ст.                               | 113,2±1,3       | 108,6±2,4 | 106,8±2,8* | 111,8±1,9 | 108,6±2,3  | 108,3±2,4  | 106,6±1,8* |
| ЦВД, мм рт. ст.                                | 2,1±0,1         | 1,2±0,1*  | —          | —         | —          | —          | —          |
| ЧСС, мин <sup>-1</sup>                         | 85,4±0,8        | 98,2±2,0* | 88,7±2,4   | 86,8±1,6  | 85,2±1,4   | 85,0±1,4   | 84,0±1,1   |
| УО, мл   | 79,3±2,7        | 52,8±3,7* | 65,0±4,1*  | 63,8±2,6* | 69,2±2,9*  | 70,1±2,8*  | 83,4±3,1   |
| СИ, л·мин <sup>-1</sup> ·м <sup>-2</sup>       | 3,84±0,11       | 2,96±0,1* | 3,32±0,15* | 3,2±0,1*  | 3,40±0,11* | 3,44±0,10* | 3,92±0,14  |
| ФВ, %  | 56,7±2,0        | 40,5±1,5* | 45,1±1,3*  | 45,9±1,4* | 48,0±1,1*  | 50,7±1,2*  | 55,4±1,8   |
| ИОПСС, дин·с·см <sup>-5</sup> ·м <sup>-2</sup> | 2358±104        | 2902±112  | 2520±116   | 2747±98*  | 2510±134   | 2434±102   | 2061±92*   |

\* Разница достоверна при сравнении с исходными данными. Здесь и в табл. 2.

леоперационного периода. Диастолическое артериальное давление на 1-е и 5-е сутки не отличалось от исходного показателя. Диастолическое артериальное давление снизилось на 7,0; 9,1; 5,9 и 7,0 % по сравнению с исходным показателем соответственно на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е послеоперационные сутки. Среднее артериальное давление в 1-е сутки и 21-е послеоперационные сутки снижалось в среднем соответственно на 5,7 и 5,9 % по сравнению с соответствующим дооперационным показателем.

ЦВД в 1-е послеоперационные сутки было снижено на 42,9 % в сравнении с дооперационным показателем и составило (1,2±0,1) мм рт. ст.

Частота сердечных сокращений в 1-е послеоперационные сутки увеличилась на 14,9 %, а с 3-х послеоперационных суток достоверно не отличалась от соответствующего дооперационного показателя.

Ударный объем левого желудочка сердца достоверно снижался на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е и 14-е послеоперационные сутки в сравнении с дооперационным показателем в среднем на 33,4; 18,1; 19,6; 12,7 и 11,4 % соответственно. На 21-е сутки раннего послеоперационного периода ударный объем левого желудочка сердца не отличался от исходного и составил (83,4±3,1) мл.

Сердечный индекс был снижен на 23,0; 13,6; 16,7; 11,5 и 10,6 % соответственно на

1-е, 3-и, 5-е, 7-е и 14-е послеоперационные сутки. Показатель сердечного индекса, определенный на 21-е послеоперационные сутки, достоверно не отличался от этого показателя до операции.

Фракция выброса левого желудочка сердца на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е и 14-е послеоперационные сутки в среднем снижалась соответственно на 28,6; 20,5; 20,1; 15,4 и 10,6 % в сравнении с дооперационным показателем. Показатель фракции сердечного выброса левого желудочка сердца на 21-е сутки статистически достоверно не отличался от соответствующего дооперационного показателя.

Индекс общего периферического сосудистого сопротивления на 1-е и 5-е послеоперационные сутки превышал величину дооперационного показателя в среднем на 23,0 и 16,5 %. На 3-и, 7-е и 14-е сутки данный показатель достоверно не отличался от исходного, однако средние значения оставались высокими. Наиболее значительное повышение периферической сосудистой резистентности происходило на 1-е и 5-е послеоперационные сутки. К концу 3-й недели раннего послеоперационного периода ИОПСС снизился относительно дооперационной величины в среднем на 12,6 %.

Показатели кислородного режима у реципиентов с отсроченной функцией почечного трансплантата в раннем послеоперационном периоде приведены в табл. 2.

Таблиця 2. Післяопераційні показателі кислородного режиму у реципієнтів з отсроченою функцією трансплантата (n=7)

| Показатель  | До операции | 1-е сутки   | 3-и сутки   | 5-е сутки   | 7-е сутки   | 14-е сутки  |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| СТО <sub>2</sub> ,<br>мл·мин <sup>-1</sup> ·м <sup>-2</sup> | 449,7±16,3  | 343,6±14,9* | 323,3±15,6* | 318,4±15,8* | 330,1±18,1* | 368,7±14,2* |
| ПО <sub>2</sub> ,<br>мл·мин <sup>-1</sup> ·м <sup>-2</sup>  | 121,4±6,1   | 91,3±5,3*   | 88,7±5,4*   | 80,9±3,6*   | 79,3±4,9*   | 102,1±6,5*  |
| КУО <sub>2</sub> , %  | 27,0±0,9    | 26,5±1,1    | 27,4±1,3    | 25,4±0,9    | 24,0±1,2*   | 27,7±1,3    |

Системний транспорт кислорода у реципієнтів до операції в середньому складав (449,7±16,3) мл·мин<sup>-1</sup>·м<sup>-2</sup>, потреба кислорода була нормальною і в середньому складала (121,4±6,1) мл·мин<sup>-1</sup>·м<sup>-2</sup>. Коефіцієнт утилізації кислорода тканинами також був нормальним. На протязі 14 післяопераційних днів показателі доставки і потреби кислорода суттєво відрізнялися від відповідних доопераційних показателів. Системний транспорт кислорода був знижений на 1-й, 3-й, 5-й, 7-й і 14-й дні спостереження відповідно на 23,6; 28,1; 29,2; 26,6 і 18,1 % в порівнянні з доопераційним показателем. Потреба кислорода знизилася ще більш значимо на 1-й, 3-й, 5-й, 7-й і 14-й дні спостереження відповідно на 24,8; 26,1%, 33,4; 34,6 і 15,9 % в порівнянні з доопераційним показателем. Показатель утилізації кислорода тканинами достовірно знизився в ранньому післяопераційному періоді у хворих з отсроченою функцією трансплантата тільки на 7-й дні в середньому на 11,2 %. Зниження доставки кислорода в ранньому післяопераційному періоді відбувалося за рахунок зменшення концентрації гемоглобіна з (89,1±2,8) до (75,0±1,6) г/л

(p<0,001) і зниження продуктивності серцево-судинної системи.

#### Висновки

Характерною особливістю гемодинамічних порушень у реципієнтів з отсроченою функцією ниркового трансплантата на протязі перших чотирнадцяти днів була артеріальна гіпертензія I ст., підвищення периферическої судинної резистентності і зниження фракції викида лівого шлуночка серця, що вказувало на помірно виражену систолічну дисфункцію. Нормодинамічний режим кровообігу підтримувався за рахунок збереженої тахікардії. Спостережувалося суттєве зменшення показателів системного транспорту і потреби кислорода. Таким пацієнтам замість терапії гемодіалізом проводили в щоденному режимі, з малими об'ємами ультрафільтрації, з постійним моніторингом артеріального тиску, центрального венозного тиску. Метою заміщення функції нирок в такому випадку є недопущення поглиблення порушеного транспорту кислорода до тканин і продовження періоду ішемії трансплантата.

#### Список літератури

1. Renal Dialysis / [ed. by J. D. Briggs et al.]. — Chapman & Hall Medical, 1994. — 449 p.
2. NKF — DOQI Clinical Practice Guidelines for Hemodialysis Adequacy // Am. J. of Kidney Diseases. — 1997. — P. S15–S66.
3. Інтенсивна терапія / [пер. з англ.; гл. ред. А. І. Мартынов]. — М.: ГЭОТАР-медіцина, 1998. — 639 с.
4. Справочник по терапії неотложных состояний : в 2 кн. / [Гриценко С. Н., Сулов В. В., Шаповал С. Д., Кошевой А. В.]. — Запорожье : Орбита-ЮГ, 2010. — 641 с.

#### С.М. Гриценко, С.П. Корнєєва, Т.А. Семенова, С.М. Корогод, А.В. Литвинов, В.А. Собокарь ІНТЕНСИВНА ЗАМІСНА ТЕРАПІЯ ГОСТРОЇ НЕДОСТАТНОСТІ НИРКОВОГО ТРАНСПЛАНТАТА

Показано, що характерною особливістю гемодинамічних порушень у реципієнтів з відстроєною функцією ниркового трансплантата протягом перших чотирнадцяти діб була артеріальна гіпертензія I ст., підвищення периферическої судинної резистентності і помірна систолічна дисфункція. Спостережувалося суттєве зменшення показників системного транспорту і споживання кисню.

**Ключові слова:** трансплантація нирки, гостра ниркова недостатність, транспорт кисню.

*S.N. Gritsenko, S.P. Korneyeva, T.A. Semenova, S.N. Korogod, A.V. Litvinov, V.A. Sobokar*  
INTENSIVE REPLACEMENT THERAPY OF ACUTE RENAL TRANSPLANT FAILURE

It was shown, that a character feature of hemodynamic disorders in recipients with delayed renal graft function during the first fourteen days was hypertension, increasing of peripheral vascular resistance, and moderate systolic dysfunction. There was a significant decrease in systemic indicators of transport and oxygen consumption.

*Key words: kidney transplantation, acute renal failure, oxygen transport.*

УДК 616-089.843

**В.К. Денисов**

*Трансплантационный центр*

*Донецкого областного клинического территориального медицинского объединения*

## **ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕЖДИСЦИПЛИНАРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ**

Проанализированы особенности взаимодействия трансплантологов со специалистами других клинических дисциплин. Показано, что низкая трансплантационная активность в Украине, обусловлена не только дефицитом донорских органов, но и, в отличие от других стран, дефицитом кандидатов на трансплантацию. Это связано с отсутствием эффективного междисциплинарного взаимодействия. Для решения этой проблемы трансплантация органов и диагностика смерти мозга должны быть внесены в стандарты ведения больных, предусматривающие обучение смежных специалистов в трансплантационных центрах и их последующую ответственность за выполнение этих стандартов.

**Ключевые слова:** трансплантология, медицинское образование, общественное мнение, трансплантационная координация.

Основной задачей современного этапа развития трансплантологии является обеспечение доступности трансплантаций органов нуждающимся пациентам. В последнее время количество пересадок, выполняемых во всем мире, достигло 100 тысяч ежегодно и продолжает постепенно увеличиваться. Однако потребность в трансплантациях растет опережающими темпами. Эта общемировая тенденция обусловлена в первую очередь дефицитом донорских органов. В Украине, занимающей последние места или вообще отсутствующей в международных статистических рейтингах, отражающих трансплантационную активность, кроме дефицита донорских органов существует еще и дефицит кандидатов на трансплантацию. Это связано с отсутствием эффективного междисциплинарного взаимодействия при формировании листа ожидания на трансплантацию органов, организации органного донорства и ведении трансплантационных реципиентов в позднем послеоперационном периоде.

Цель настоящего исследования — анализ особенностей взаимодействия трансплантологов со специалистами других клинических дисциплин и поиск путей решения имеющихся проблем.

**Материал и методы.** Проанализированы нормативно-правовые документы, регламентирующие трансплантацию органов, а также организационные особенности взаимодействия трансплантологов со смежными специалистами. Оценена взаимосвязь междисциплинарного взаимодействия в трансплантологии с деятельностью средств массовой информации.

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что особенностью трансплантологии как никакого другого раздела является очень большая востребованность скоординированной работы смежных специалистов [1–4].

На этапе отбора кандидатов на трансплантацию одна из важных проблем — позднее обращение пациентов. Например, проведение гемодиализа у подавляющего числа пациентов в Украине начинается с использованием катетеризации магистральных сосудов в качестве первоначального сосудистого доступа. При терминальных стадиях заболеваний других жизненно важных органов (сердца, печени) возможность эффективного замещения утраченной функции, сравнимого с диализом, отсутствует и эти больные погибают. Позднее обращение пациентов с органодеградирующими заболеваниями к профильным смежным

© В.К. Денисов, 2011

специалистам (нефрологу, гастроэнтерологу, эндокринологу, кардиологу и др.) связано с низким уровнем диспансеризации, а позднее направление или отказ от направления к трансплантологу обусловлен отсутствием трансплантационных методов лечения в отечественных стандартах. Необходимо их создание в Министерстве здравоохранения с участием соответствующих республиканских специалистов. Эти стандарты должны предусматривать обязательное направление пациентов, нуждающихся в заместительном лечении, к трансплантологу. Решение пациента о выборе трансплантации в качестве основного метода лечения или отказе от нее должно приниматься на основании его подробного информирования о современных возможностях заместительной терапии непосредственно врачом-трансплантологом.

Недоступность трансплантаций большинству нуждающихся в них является мощным источником социального напряжения и во многом обусловлена критическим дефицитом донорских органов. Этот дефицит определяется устаревшей формой организации посмертного органного донорства. Действия региональных донорских служб сводятся к попыткам установления контактов с администрацией регионов и руководством отделений интенсивной терапии. Распоряжения местных органов исполнительной власти в области здравоохранения, призванные регулировать вопросы органного донорства, носят рекомендательный характер и не подкреплены соответствующими нормативно-правовыми актами, оговаривающими прежде всего ответственность главных врачей медицинских организаций и заведующих отделений интенсивной терапии за организацию органного донорства. Донорская активность лечебно-профилактического учреждения не является критерием качества работы его руководителя, потому что обязанность исполнять работы по органному донорству не прописана законодательно.

Необходимо внедрение единой государственной системы трансплантационной координации, имеющей бюджетное финансирование, главной задачей которой является организация работ по донорству в стационарах регионов и предоставление донорских органов в трансплантационные центры с указанием отчетности и ответственности администрации отделений интенсивной терапии за работы по донорству. Для

этого юристы и экономисты Министерства здравоохранения должны адаптировать общеизвестные принципы трансплантационной координации к условиям работы в Украине.

Во всем мире качество оказания помощи в отделениях интенсивной терапии оценивают по удельному весу (среди умерших) диагностированных смертей мозга на фоне сохранного кровотока. К тому же при таком подходе значительно облегчается выполнение всех этапов посмертного донорства. В связи с этим ключевым для организации эффективного посмертного органного донорства является введение диагностики смерти на основании смерти мозга в стандарты диагностики смерти человека.

В области финансирования необходимо выделение целевого государственного финансирования не только на донорское обеспечение и трансплантационную координацию, но и на проведение информационных кампаний в средствах массовой информации.

Ведение пациентов после трансплантации органов включает пожизненную иммуносупрессивную терапию, требующую мониторинга и значительных затрат. В последние годы, несмотря на низкую трансплантационную активность, отмечается постепенное расширение спектра пересаживаемых органов и увеличение количества трансплантационных реципиентов. Например, в течение 2010 года в Донецком трансплантационном центре амбулаторно наблюдался и получал иммуносупрессию 121 реципиент: после трансплантации почки — 109, трансплантации печени — 10, сердца — 1 и костного мозга — 1. Перечень используемых иммуносупрессантов включал как традиционные, так и практически все современные препараты: зенапакс, симулект, антитимоцитарный глобулин, бортезомиб, неорал, програф, селл-септ, мифортик, микофенолата мофетил, имуран, сертикан, медрол. Серьезной проблемой становится появление на фармацевтическом рынке генерических иммуносупрессантов, более дешевых, но уступающих по эффективности оригинальным препаратам. На фоне увеличения пула успешно реабилитированных реципиентов все более значимой становится проблема нон-комплаенса и недостаточной подготовки смежных специалистов в вопросах диагностики и лечения осложнений иммуносупрессии и сопутствующих заболеваний у трансплантационных реципиентов. Для по-

вышения эффективности иммуносупрессии после трансплантации органов необходима регламентация работ, связанных с ее организацией, и обучение смежных специалистов.

В сфере профессионального образования крайне необходимо создание кафедр трансплантологии в медицинских вузах и преподавание «Клинической трансплантологии» студентам и интернам медицинских вузов, а также последиplomная подготовка смежных специалистов по вопросам трансплантологии. Основной целью этой подготовки является умение создать необходимые условия для широкого использования трансплантации органов при терминальных стадиях их заболеваний [5–7].

Конкретными целями обучения являются: умение сформулировать показания для трансплантации жизненно важных органов; показания к органному донорству; умение поставить предварительный диагноз осложнений после трансплантации органа.

В приказе № 155/24 Министерства здравоохранения «Про затвердження заходів МОЗ та АМН України щодо виконання Державної цільової соціальної програми «Трансплантація» на період до 2012 року» в разделе № 4 «Забезпечення підготовки професійних кадрів» предусмотрено введение обучения по вопросам трансплантологии для:

- студентов медицинских вузов, врачей-интернов, врачей-специалистов;
- преподавателей (на базе Национальной медицинской академии последиplomного образования им. П.Л. Шупика, Запорожской медицинской академии последиplomного образования, Донецкого медицинского университета);
- врачей-трансплантологов;
- врачей-специалистов в рамках тематического усовершенствования.

Нами подготовлены программы, учебное пособие, методические рекомендации и указания, а также тесты. Накоплено очень много информации, в том числе уникальной — это журналы и учебники по трансплантологии, видеофильмы. В Центре сосредоточены пациенты и оборудование, которых кроме трансплантологов практически никто не видит. Однако несмотря на неоднократные обращения ассоциации трансплантологов к руководству департамента кадровой политики, образования и науки Министерства здравоохранения даже изданный приказ не выполняется в запланированном объеме, позволяющем довести

обучение трансплантологии до уровня преподавания других клинических специальностей.

Итогом более чем 10-летней работы явилось введение, например, в Донецком медицинском университете преподавания трансплантологии для интернов всех лечебных специальностей в течение 1 дня и для интернов-хирургов — в течение 5 дней. При этом общая педагогическая нагрузка составляет менее 0,5 ставки. Выделенное время не позволяет организовать полноценную подготовку смежных специалистов в вопросах трансплантологии. Информацию о трансплантации органов они, как и все общество, получают стихийно из масс-медиа, преимущественно в виде мифов с активной антирекламой и созданием отрицательных образов. Черный пиар увеличивает тиражи изданий, но препятствует формированию положительного общественного мнения о трансплантологии, что привело к появлению следующих проблем:

- запущенному состоянию пациентов, обращающихся в трансплантационный центр;
- отсутствию эффективного посмертного и родственного донорства;
- некорректным административным решениям.

Полноценное преподавание трансплантологии содействовало бы укреплению трансплантационных центров, формированию положительного общественного мнения об этом разделе, улучшению финансирования, кадрового обеспечения с устранением профессиональной разобщенности специалистов, участвующих во внедрении высоких технологий в современные стандарты медицинской помощи.

Анализ учебных программ додипломного обучения и для интернов разных специальностей показал, что практически в каждой специальности есть разделы, которые могут быть отнесены к компетенции трансплантолога и переданы под организацию цикла по трансплантологии, в рамках которого вопросы, представленные разрозненно, могут быть объединены в одно целое.

Оптимальным путем решения вопроса является волевое решение Министерства здравоохранения о введении полноценного преподавания трансплантологии с указанием персональной и дисциплинарной ответственности за его выполнение соответствующих руководителей. Режим введения преподавания трансплантологии в Украине

должен быть поэтапным, начиная с вузов областей, в которых есть трансплантационные центры, готовые к такой работе, с созданием кафедр на их базе.

### Выводы

Низкая трансплантационная активность в Украине обусловлена не только дефицитом донорских органов, но и, в отличие от других стран, дефицитом кандидатов

на трансплантацию. Это связано с отсутствием эффективного междисциплинарного взаимодействия. Для решения этой проблемы трансплантация органов и диагностика смерти мозга должны быть внесены в стандарты ведения больных, предусматривающие обучение смежных специалистов в трансплантационных центрах и их последующую ответственность за выполнение этих стандартов.

### Список литературы

1. *Логинов И. В.* Значение организационных факторов в преодолении дефицита донорских органов / И. В. Логинов, Н. В. Кечаева, О. Н. Резник // Вестник трансплантологии и искусственных органов. — 2011. — Т. XIII, № 1. — С. 100–107.
2. The critical pathway for deceased donation: reportable uniformity in approach to deceased donation / B. Domingues-Gil, F. L. Delmonico, F. A. M. Shaheen [et al.] // *Transplant. International*. — 2010. — № 4. — P. 373–378.
3. *Lane C. A.* Nephrology: a specialty in need of resuscitation? / C. A. Lane, M. A. Brown // *Kidney International*. — 2009. — V. 76. — P. 594–596.
4. *Wynn J. J.* Increasing organ donation and transplantation: the U.S. experience over the past decade / J. J. Wynn, C. E. Alexander // *Transplant. International*. — 2010. — № 4. — P. 324–332.
5. *Денисов В. К.* Проблемы и перспективы общеобразовательной подготовки врачей по специальности «Трансплантология» в медицинских вузах / В. К. Денисов // *Трансплантологія*. — 2004. — Т. 7, № 3. — С. 13–18.
6. Роль нефролога в формировании листа ожидания для трансплантации почки / В. К. Денисов, В. В. Захаров, Л. И. Ткаченко [и др.] // *Український журнал нефрології та діалізу*. — 2005. — № 3. — С. 5–7.
7. *Денисов В. К.* Правовые, организационные и экономические аспекты участия персонала отделений интенсивной терапии в реализации посмертного органного донорства / В. К. Денисов, А. И. Сидоркин // *Клінічна хірургія*. — 2006. — № 4–5. — С. 90–91.

### *В.К. Денісов*

#### ШЛЯХИ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ МІЖДИСЦИПЛІНАРНОЇ ВЗАЄМОДІЇ В ТРАНСПЛАНТОЛОГІЇ

Проаналізовано особливості взаємозв'язку трансплантологів з спеціалістами інших клінічних дисциплін. Показано, що низька трансплантаційна активність в Україні зумовлена не тільки дефіцитом донорських органів, але й, на відміну від інших країн, дефіцитом кандидатів на трансплантацію. Це пов'язано з відсутністю ефективної міждисциплінарної взаємодії. Задля вирішення цієї проблеми трансплантація органів та діагностика смерті мозку мають бути внесені до стандартів ведення хворих, які передбачають навчання суміжних спеціалістів у трансплантаційних центрах та їхню подальшу відповідальність за виконання цих стандартів.

**Ключові слова:** трансплантологія, медична освіта, суспільна думка, трансплантаційна координація.

### *V.K. Denisov*

#### THE WAYS OF INCREASING EFFICIENCY OF INTERDISCIPLINARY COOPERATION IN TRANSPLANTOLOGY

The peculiarities of transplantologists and other clinical discipline experts interaction were analyzed. It was shown, that low transplantation activity in Ukraine is caused not only by deficit of donor organs, but in contrast to other countries by deficit of candidates for transplantation. It is caused by absence of effective interdisciplinary cooperation. In order to solve this problem organ transplantation and diagnostics of brain death should be included in standards of patients maintenance, that provide for training of related specialists in transplantation centers and their future responsibility for the execution of these standards.

**Key words:** transplantology, medical education, public opinion, transplant coordination.

УДК 616.61–089.843(20)

**В.К. Денисов***Трансплантационный центр**Донецкого областного клинического территориального медицинского объединения***ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ В XXI ВЕКЕ. ИТОГИ ПЕРВОГО ДЕСЯТИЛЕТИЯ**

Проанализированы тенденции развития трансплантологии. Установлено, что количество трансплантаций в мире увеличилось до демографически значимого уровня, превысив 100 тыс. операций в год. В Украине качество трансплантаций соответствует международному уровню. Для обеспечения их доступности необходимо интенсифицировать усилия по введению трансплантации органов в стандарты лечения, оптимизировать материальную и нормативно-правовую базу органного донорства. Существенных изменений к лучшему можно ожидать от проведения на постоянной основе информационных кампаний, включая преподавание трансплантологии и работу со средствами массовой информации.

**Ключевые слова:** трансплантология, донорство органов, иммуносупрессия.

Интенсивное развитие трансплантологии во второй половине XX века кардинально изменило подходы к лечению многих заболеваний. По мере увеличения количества трансплантаций органов и улучшения их качества социальная значимость данного раздела значительно возросла, и этот процесс продолжается.

Настоящее исследование проведено в целях оценки тенденций в трансплантации органов по итогам прошедшего десятилетия и более четкого понимания дальнейших перспектив и задач для специалистов.

**Материал и методы.** Изучена статистика трансплантаций, проанализирована информация о новых направлениях в отборе, подготовке, донорском, интра- и послеоперационном обеспечении трансплантационных реципиентов по материалам специализированных журналов, масс-медиа, международных конгрессов, съездов, конференций, стажировок, школ, административных совещаний различных уровней.

**Результаты и их обсуждение.** В докладе координатора Департамента высоких технологий ВОЗ Люка Ноэля на V Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 08.10.10) были представлены следующие данные о трансплантационной активности в мире за 2008 год:

| <i>Орган</i> | <i>Количество трансплантаций</i> |
|--------------|----------------------------------|
| Почки        | 69 300                           |
| Печень       | 20 300                           |
| Сердце       | 5 330                            |

|        |       |
|--------|-------|
| Легкие | 3 330 |
|--------|-------|

|                      |       |
|----------------------|-------|
| Поджелудочная железа | 2 380 |
|----------------------|-------|

Всего было выполнено 100 640 трансплантаций, что составило 10 % от потребности. Учитывая, что летальность после трансплантации органов во многих центрах либо отсутствует, либо ограничена несколькими процентами, можно говорить о том, что количество трансплантаций увеличилось до демографически значимого уровня.

Благодаря появлению новых технологий в мире не только увеличивается количество, но и расширяется перечень трансплантационных операций (таблица). Появляются данные об уникальных операциях и наблюдениях, например, о трансплантациях грудным детям, пациентам старше 80 лет или больным с длительными (более 30 лет) сроками лечения диализом, мультиорганных трансплантациях, пересадках конечностей, лица. Стандартизация всех этапов (идентификации, диагностики смерти, получения согласия родственников потенциального донора на посмертную донацию органов, конверсии от потенциального до реального донорства) позволила выявить резервы для увеличения органного донорства. Аудит работы отделений интенсивной терапии, проведение образовательных кампаний для их сотрудников, совершенствование профессиональных навыков трансплантационных координаторов и достижение высокого уровня их автономности, обратной связи, удовлетворения работой, профес-

© В.К. Денисов, 2011

Современные тенденции развития трансплантологии в мире

| Успехи   | Нерешенные проблемы  |
|--|--|
| <p>Увеличение количества, улучшение качества, расширение перечня пересаживаемых органов</p> <p>Стандартизация всех этапов органного донорства</p> <p>Базовое преподавание трансплантологии, проведение тренингов и общеобразовательных кампаний</p> <p>Совершенствование трансплантационной координации</p> <p>Совершенствование нормативно-правовой базы (Стамбул. декларация 2009 г. о территориальном донорском самообеспечении трансплантаций)</p> <p>Использование «проблемных органов»</p> <p>Парный обмен органами</p> <p>Финансирование живого и посмертного донорства</p> <p>Машинная холодовая перфузия почек</p> <p>Использование селективных иммуносупрессантов</p> <p>Индивидуализация и минимизация иммуносупрессии. Стероиднезависимая иммуносупрессия</p> <p>Применение неинвазивных методов (геномики, протеомики и метаболомики) для посттрансплантационного мониторинга</p> | <p>Дефицит донорских органов</p> <p>Трансплантационный туризм</p> <p>Отсутствие стандартов индукции и идентификации трансплантационной толерантности</p> <p><b>Перспективные направления</b></p> <p>Совершенствование искусственных органов</p> <p>Репаративная медицина</p> <p>Органогенез</p> <p>Ксенотрансплантация</p> |

сионализма путем соответствующих тренингов также повысили эффективность организации посмертного донорства.

Расширены показания к использованию «проблемных органов», изъятых у доноров с асистолией и различными заболеваниями почек [1]. Получил распространение опыт парного обмена органов в рамках национальных программ обмена при наличии положительного кросс-матча или несовместимости по группе крови. Хорошим стимулом для развития живого донорства почек является государственная компенсация расходов донора и широкое внедрение малоинвазивных технологий. Лапароскопическая донорская нефрэктомия стала стандартом благодаря доказанным преимуществам в сравнении с открытыми операциями [2]. Начато выполнение лапароскопических и робот-ассистированных трансплантаций почек [3]. В мире набирает обороты использование машинной холодовой перфузии почек. С особой эффективностью этот метод может быть использован при консервации почек от пожилых доноров и при асистолии [4].

Обращают на себя внимание возросшие возможности иммуносупрессии. Наряду с «классическими» препаратами, зарекомендовавшими свою эффективность, но имеющими большое количество побочных эф-

фектов (антитимоцитарный глобулин, стероиды, ингибиторы кальцинейрина, цитостатики), широко применяются моноклональные антитела anti-CD25 (зенапакс, симулект), anti-CD20 (ритуксимаб), anti-CD52 (кампат), ингибиторы сигнала пролиферации (эверолимус — сертикан). Цель апробации многочисленных иммуносупрессивных протоколов с использованием принципиально новых поколений иммуносупрессантов («Alefacept», «Belatacept», «Sotrastaurin», «CP-690,550», «Eculizumab» и др.) заключается в достижении минимальной, но адекватной иммуносупрессии при отсутствии осложнений [5]. Это позволило выполнять трансплантации пациентам с высоким иммунологическим риском отторжения даже от доноров, несовместимых по группе крови. Использование новых иммуносупрессивных препаратов в различных комбинациях позволяет довольно эффективно решать давно назревшую необходимость отказа от использования в иммуносупрессии стероидов, применение которых сопровождается многочисленными осложнениями.

В ближайшее десятилетие прогресс в трансплантации органов будет обеспечиваться главным образом за счет отработки стандартов индукции трансплантационной толерантности с использованием новых иммуно-

супрессивных протоколов и доступных для практического использования неинвазивных способов ее определения с использованием методов геномики, протеомики и метаболомики [6]. Предполагается, что профилирование экспрессии генов и белков в крови и моче в будущем будет использоваться в качестве высокочувствительных и специфичных тестов для дифференцированной диагностики отторжения, лекарственной токсичности, инфекций, метаболических нарушений, рецидива основного заболевания, требующих разнонаправленного лечения.

К пока не решенным проблемам трансплантологии можно отнести дефицит донорских органов, приведший к распространению трансплантационного туризма. За счет ксенотрансплантаций или неоорганогенеза эта проблема в ближайшие годы решена не будет [7]. Наиболее эффективным способом преодоления дефицита органов в настоящее время является формирование положительного общественного мнения в отношении трансплантаций путем проведения информационных кампаний, широкого обсуждения в обществе этических, юридических и психосоциальных аспектов трансплантологии, обучения специалистов и улучшения организации донорского процесса.

В Украине в течение последнего десятилетия Кабинетом Министров и Министерством здравоохранения в рамках Закона «О трансплантации органов и других анатомических материалов человеку» (принятого Верховной Радой в 1999 г.) издано более 20 нормативно-правовых документов для его выполнения. В связи с наличием специальности «Трансплантология» утверждена новая защитная (по ВАКУ) специальность 14.01.08 — «Трансплантология и искусственные органы», функционируют Координационный центр трансплантации органов тканей и клеток при Министерстве здравоохранения, «НИИ хирургии и трансплантологии АМН Украины», трансплантационные центры (в Донецке, Львове, Запорожье, Одессе, Харькове, Днепропетровске), ассоциация трансплантологов, издавался журнал «Трансплантология», проведены съезды трансплантологов Украины, в том числе III съезд в Донецке в 2004 г. и IV — в Киеве в 2007-м. Результаты исследований украинских трансплантологов докладывались на научных форумах в ближнем и дальнем зарубежье. В некоторых медицинских вузах начато (хотя и в очень ограниченном формате) преподавание трансплантологии.

На государственном уровне важным шагом явилось принятие Кабинетом Министров финансируемых государственных программ развития трансплантологии на 2002–2005 и 2008–2012 гг. Это позволило приобрести новое оборудование для трансплантационных центров, что позволяет выполнять пересадки органов на современном уровне.

Существенные изменения произошли в обеспечении диализом. За десятилетие пул пациентов, лечащихся диализом в Украине, увеличился более чем вдвое и превысил 4000 человек. Например, в Донецкой области в дополнение к имевшимся в Донецком областном клиническом территориальном медицинском объединении, областной детской клинической больнице и в г. Горловке отделениям гемодиализа открыты новые отделения в Мариуполе (2007), Донецке (2008) и Краматорске (2009).

Начато выполнение посмертных изъятий органов у доноров с сохранным кровотоком (при диагностированной смерти мозга). Результаты трансплантаций значительно улучшились и соответствуют международным данным. Расширены показания для выполнения трансплантаций пациентам с высоким операционным риском. Количество наблюдаемых трансплантационных реципиентов за десятилетие в Украине увеличилось вдвое и достигло к 2010 г. согласно отчету Координационного центра трансплантации органов, тканей и клеток при Министерстве здравоохранения 824 человек.

К сожалению, доступность трансплантаций органов в Украине (2,7 /млн/год) в десятки раз ниже, чем в США (92/млн/год, данные ВОЗ по итогам 2008 г.) и странах Евросоюза (в среднем по ЕС — 56/млн/год, данные ВОЗ по итогам 2008 г.). На сегодняшний день необходимо рассматривать эту проблему уже не только с точки зрения ее отрицательного влияния на престиж государства, но и как фактор, несущий угрозу государственной безопасности.

Причина отставания — в недофинансировании или отсутствии финансирования ряда разделов (например, работ, связанных с органом донорством, проведением информационных кампаний), а также в невыполнении уже принятых постановлений и приказов, отсутствии ряда стандартов и ответственности за выполнение уже имеющих приказов.

Во многом сложившаяся ситуация обусловлена интенсивным кадровым движением, отсутствием преемственности и ско-

ординированного подхода в принятии управленческих решений в администрациях различных уровней, отсутствием информационной политики в сфере трансплантации органов на государственном уровне.

Все перечисленные вопросы могут быть в достаточно короткие сроки решены административно по примеру других стран, в том числе России и Белоруссии, в которых благодаря личному участию и контролю со стороны высшего государственного руководства трансплантационная активность за последние 2–3 года была значительно увеличена и сейчас в 3–6 раз выше, чем в Украине.

Таким образом, трансплантология интенсивно развивается и становится самодо-

статочной специальностью. Количество трансплантаций в мире увеличилось до демографически значимого уровня, превысив 100 тысяч операций в год. В Украине качество трансплантаций соответствует международному уровню. Для обеспечения их доступности необходимо интенсифицировать усилия по введению трансплантации органов в стандарты лечения, оптимизировать материальную и нормативно-правовую базу органного донорства. Существенных изменений к лучшему можно ожидать от проведения на постоянной основе информационных кампаний, включая преподавание трансплантологии и работу со средствами массовой информации.

#### Список литературы

1. Heemann U. Marginal organs: how far should we go? / U. Heemann // *Transplant. International*. — 2010. — № 5. — P. 463–464.
2. Dols L. F. Live donor nephrectomy: a review of evidence for surgical techniques / L. F. Dols, N. F. Kok, N. M. Ijzermans // *Transplant. International*. — 2010. — № 2. — P. 121–130.
3. Boggi U. Robotic renal transplantation: first European case / U. Boggi, F. Vistoli, S. Signori // *Transplant. International*. — 2011. — № 2. — P. 213–218.
4. Резник О. Н. Аппаратная перфузия почечных трансплантатов: эволюция представлений о технологии, собственные практические результаты и перспективы применения / О. Н. Резник // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. — 2008. — № 4. — С. 49–56.
5. Advances in immunosuppression for renal transplantation / A. Durbach, H. Francops, S. Beaudreuil [et al.] // *Nephrology*. — 2010. — V. 6, № 3. — P. 160–167.
6. *Hernandes-Fuentes M. P. A «biomarker signature» for tolerance in transplantation / M. P. Hernandez-Fuentes, R. I. Lechler // Nephrology*. — 2010. — V. 6, № 10. — P. 606–613.
7. Regenerative medicine as applied to solid organ transplantation: current status and future challenges / G. Orlando, P. Baptista, M. Birshall [et al.] // *Transplant. International*. — 2011. — № 3. — P. 223–232.

**В.К. Денисов**

#### ТРАНСПЛАНТОЛОГІЯ У ХХІ СТОРІЧЧІ. ПІДСУМКИ ПЕРШОГО ДЕСЯТИРІЧЧЯ

Проаналізовано тенденції розвитку трансплантології. Встановлено, що кількість трансплантаций у світі збільшилась до демографічно значущого рівня, що перевищує 100 тисяч операцій на рік. В Україні якість трансплантаций відповідає міжнародному рівню. Задля забезпечення їх доступності необхідно інтенсифікувати зусилля з введення трансплантаций органів у стандарти лікування, оптимізувати матеріальну і нормативно-правову базу органного донорства. Суттєвих змін на краще можна очікувати від проведення на постійній основі інформаційних кампаній, у тому числі викладання трансплантології та роботу із засобами масової інформації.

**Ключові слова:** трансплантологія, органне донорство, імуносупресія.

**V.K. Denisov**

#### TRANSPLANTATION IN XXI CENTURY. THE RESULTS OF THE FIRST DECADE

The tendencies of transplantation development were analyzed. It has been determined, that the quantity of transplantations had increased up to demography significant level, that is more than 100 thousand operations per year. In Ukraine the quality of transplantations corresponds to international level. In order to provide their availability it is necessary to intensify efforts in implementation of organ transplantation to treatment standards, optimize resource and legal base of organ donation. The essential changes can be expected from the holding of information campaigns on continuing basis, including transplantation teaching and cooperation with mass-media.

**Key words:** transplantology, organ donation, immunosuppression.

УДК 616.61-089.843

*В.К. Денисов, В.В. Захаров, Н.Д. Олещенко, Е.В. Онищенко,  
А.И. Сидоркин, И.И. Деменкова, Т.С. Голубова,  
А.С. Ксенофонтова, О.В. Захарова*

*Трансплантационный центр*

*Донецкого областного клинического территориального медицинского объединения*

## **ПРЕДЕЛЫ ДОПУСТИМОГО РИСКА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧЕК**

Исследование проведено в целях оценки эффективности трансплантации почки при хронической почечной недостаточности у пациентов с высоким операционным риском. Из 630 пересадок почек к этой категории отнесены 84 трансплантации. Из них 31 пересадка выполнена детям, 22 — пациентам с диабетической нефропатией, 31 — больным с другими серьезными факторами риска. Годичная выживаемость указанных реципиентов и почечных трансплантатов составила 95,7 % при хорошем качестве их жизни. Анализ полученных результатов позволяет в дальнейшем расширить показания к выполнению трансплантации почек пациентам с высоким операционным риском.

*Ключевые слова:* трансплантация почки, операционный риск.

Идеальным кандидатом на трансплантацию почки является молодой, хорошо реабилитированный методами внепочечного очищения больной, у которого нет инфекций, нарушений мочеиспускания и выраженной эмоциональной лабильности. Не все пациенты в терминальной стадии почечной недостаточности соответствуют приведенным критериям, но их лечение диализом является не менее сложной клинической задачей, в связи с чем возникает проблема выбора оптимального метода лечения [1–7].

Цель настоящего исследования — оценка целесообразности трансплантации почки пациентам с высоким операционным риском.

**Материал и методы.** Из 630 пересадок почек, выполненных с апреля 1986 г. по июнь 2011 г., к группе высокого операционного риска нами условно отнесены 84 трансплантации. Из них 31 пересадка произведена детям, 22 — пациентам с диабетической нефропатией, 8 — при наличии системных заболеваний (системная красная волчанка — 4, склеродермия — 1, синдром Гудпасчура — 1, амилоидоз — 1, миеломная болезнь — 1), 6 — на фоне аренального состояния вследствие травмы (1), билатеральной нефрэктомии при поликистозе (4), нефрэктомии единственной почки по поводу почечноклеточного рака (1). Пятеро пациентов

были пожилого возраста (62, 63, 66, 67 и 71 года), двое перенесли кардиохирургические вмешательства — установку кардиостимулятора (1) и замену аортального и митрального клапанов вследствие септического эндокардита (1). В 1 случае имел место микроцист (объем мочевого пузыря — 60 мл) после 13-летней анурии на фоне диализного лечения. Одна трансплантация почки выполнена одновременно с удалением поликистозной почки больших размеров (15×29 см). Еще 9 трансплантаций сделаны повторно на те же подвздошные сосуды (у 7 пациентов это была третья по счету трансплантация и у 2 — четвертая трансплантация почки). Проанализированы особенности этих операций, результаты и целесообразность принятой лечебной тактики.

**Результаты и их обсуждение.** В детскую группу вошли 19 мальчиков и 12 девочек в возрасте от 6 до 17 лет (10 детей дошкольного и младшего школьного возраста, 19 — старшего школьного возраста). В дотрансплантационном периоде гемодиализом лечились 26 детей, перитонеальным диализом — 1. Без предварительного диализа трансплантация почки выполнена 4 детям. Длительность лечения диализом составила от 1 месяца до 3 лет. Масса пациентов была от 12 до 42 кг. Основным заболеванием в

© В.К. Денисов, В.В. Захаров, Н.Д. Олещенко и др., 2011

13 случаях являлся гломерулонефрит, в 12 — дисплазия почек, в 5 — мегауретер, в 1 — пиелонефрит. Посмертное донорство имело место в 15 случаях и родственное — в 16. В связи с наличием одностороннего пузырно-мочеточникового рефлюкса и уретерогидронефроза мы у 4 пациентов — 2 девочек 13 и 14 лет (массой 25 и 29 кг) и 2 мальчиков 14 и 7 лет (массой 17 и 28 кг) произвели из 1 параректального доступа одномоментно удаление собственной почки и трансплантацию донорской почки. Пересадка почки выполнена на общие подвздошные сосуды 12 детям и на наружные или внутренние подвздошные сосуды — 19. При формировании артериального анастомоза использовали узловые швы (пролен 6/0–7/0). Мочеточниково-мочепузырный анастомоз формировали по Политано–Лидбеттеру с оставлением уретрального катетера № 8–10. Несмотря на несоответствие размеров почки от взрослого донора, трансплантат удавалось разместить в положении, позволяющем обеспечить адекватный кровоток. При трансплантации отмечены высокие пластические способности тканей, которые компенсировали небольшие диаметр сосудов и толщину сосудистой стенки. Особенностью иммуносупрессии у детей была необходимость назначения сравнительно больших, чем взрослым, доз иммуносупрессантов. Индукционную иммуносупрессию проводили с применением зенапакса или симулекта. Послеоперационная летальность отсутствовала. Максимальный период наблюдения после трансплантации почки ребенку с удовлетворительной функцией трансплантата составляет 13 лет (наблюдение продолжается).

Трансплантации почки при диабете имели следующие особенности. У 15 пациентов был сахарный диабет 1-го типа, у 7 — сахарный диабет 2-го типа. Пересадка выполнена 5 пациентам без ведения диализа, 15 — получали программный гемодиализ, 2 пациента лечились в течение 1 года перитонеальным диализом. Сахарный диабет 1-го типа диагностирован в возрасте от 1 года до 45 лет, в среднем — в  $(17,3 \pm 3,0)$  года, сахарный диабет 2-го типа — в возрасте от 32 до 62 лет, в среднем — в  $(42,1 \pm 3,8)$  года. Период развития терминальной стадии хронической почечной недостаточности при сахарном диабете 2-го типа был короче — от 1 года до 22 лет, в среднем  $(14,0 \pm 2,5)$  года, чем при сахарном диабете 1-го типа — от 11 лет до 31 года, в среднем  $(18,6 \pm 1,2)$  года.

Инсулинотерапия в дозе 50–60 ЕД в сутки и выше (в 1 случае 150 ЕД) на додиализном этапе продолжалась от 11 лет до 31 года. К началу лечения гемодиализом суточную дозу инсулина уменьшали в 1,5–2 раза, в среднем — до  $(34,4 \pm 3,4)$  ЕД. Особенностью диабетической нефропатии перед началом почечной заместительной терапии являлись выраженные отеки, вплоть до анасарки при сравнительно невысокой концентрации креатинина в крови  $(0,4–0,6)$  ммоль/л и сохраненном диурезе  $(1,5–2)$  л/сутки. Масса тела пациентов была от 41 до 112 кг. В 8 случаях имело место ожирение. В 19 случаях пересадка произведена от родственного донора, в 3 случаях — от кадаверного донора. У всех пациентов послеоперационные раны ушивались наглухо и зажили первичным натяжением. В целях индукции иммуносупрессии применяли зенапакс или симулект. Это позволило в 2 случаях отказаться от приема стероидов уже в раннем послеоперационном периоде. У всех пациентов отмечена первичная функция трансплантата с быстрой нормализацией общего самочувствия, артериального давления, концентрации креатинина и гемоглобина в крови. После трансплантации почки умер 1 пациент в связи с артериальным кровотечением через 34 дня после операции (на фоне нормальной концентрации мочевины и креатинина в крови) вследствие воспаления в зоне артериального анастомоза. У остальных (21 пациент) длительность удовлетворительной функции трансплантатов составляет от 5 до 63 месяцев, наблюдение продолжается. При системных заболеваниях, пожилом возрасте, повторных трансплантациях и других факторах риска благоприятный исход трансплантации был обеспечен благодаря применению современных иммуносупрессантов, повышению качества шовных материалов, коагуляции, инструментария, освещения, консервирующих растворов, использованию оптики при формировании анастомозов, наркозно-дыхательного аппарата высшего класса. Все это позволило нам повысить выживаемость и рекомендовать в качестве оптимальных следующие технические приемы при выполнении трансплантации почек.

1. Трансплантация почки технически может быть выполнена с хорошим результатом в любом возрасте, практически независимо от основного заболевания, антропометрических данных и нутриционного статуса кандидата на пересадку, но требует тщатель-

ной дооперационной оценки состояния подвздошных сосудов и мочевыводящих путей.

2. При необходимости удаления собственной почки в целях санации реципиента при наличии у него мочекаменной болезни, мочеточниково-мочепузырного рефлюкса, поликистоза и активного пиелонефрита эта операция может быть выполнена одновременно с последующей трансплантацией донорской почки через обычный параректальный доступ.

3. При наличии множественных артерий или 1 почечной артерии, но небольшого диаметра, либо трансплантации почки детям предпочтительным при формировании артериального анастомоза почечного трансплантата с наружной, внутренней или общей подвздошной артерией является наложение узловых швов с использованием пролена 6/0–7/0.

4. При трансплантации почки детям дошкольного и младшего школьного возраста, имеющим массу 12–18 кг, несмотря на относительно большие размеры почки от взрослого донора, трансплантат удавалось разместить в положении, позволяющем обеспечить адекватный кровоток. При трансплантации отмечены высокие пластические способности тканей, которые компенсировали небольшие диаметр сосудов и толщину сосудистой стенки.

5. При кальцинированной сосудистой стенке, особенно у пациентов с сахарным диабетом, в зоне формирования артериального анастомоза необходимо помнить о возможности отслоения атеросклеротических бляшек при ее проколе иглой. Во избежание этого прокол кальцинированной стенки артерии необходимо делать изнутри кнаружи.

6. Формирование мочеточниково-мочепузырного анастомоза на открытом мочевом пузыре позволяет исключить появление мочевых свищей. При наличии микроциста вследствие многолетней анурии методом выбора при трансплантации донорской почки считаем нефрэктомия собственной почки реципиента на стороне трансплантации и формирование мочеточниково-мочеточникового анастомоза с использованием стента.

7. Залогом успеха при трансплантации почки является надежный лимфо- и гемостаз, сложность обеспечения которого обусловлена, с одной стороны, уремией, с другой — гепаринизацией при проведении программного гемодиализа. Потери времени, связанные с достижением гемостаза, окупаются ушиванием операционной раны

наглухо, что позволяет избежать инфекционных осложнений, возможных при использовании дренажей.

Отдельного рассмотрения требует иммуносупрессия, которая, являясь важным условием ведения реципиентов почечных трансплантатов, может из-за осложнений оказывать самодостаточное отрицательное влияние на качество и продолжительность их жизни. Поэтому велся постоянный поиск ее оптимального варианта. Эволюция иммуносупрессивных протоколов в Донецком трансплантационном центре может быть представлена следующим образом.

В 1986–1994 гг. реципиенты почечных трансплантатов получали преднизолон + имуран или преднизолон + имуран + сандимун, длительность приема которого не превышала 3 месяцев. На этом этапе наибольшая годовая выживаемость трансплантата составила 46 %.

В 1995–1997 гг. схема иммуносупрессии включала преднизолон + имуран + сандимун без ограничения длительности его приема. На этом этапе наибольшая годовая выживаемость трансплантата составила 65 %.

В 1998–2001 гг. в иммуносупрессивный протокол введена эмульсионная форма циклоспорина — сандимун неорал и  $C_2$  мониторинг его концентрации в крови. Имуран заменен целл-цептом. Начато использование антилимфоцитарных антител — антилимфолина, атгема, затем зенапакса. На этом этапе наибольшая годовая выживаемость трансплантата составила 90 %.

В 2002–2011 гг. начато широкое применение зенапакса, симулекта, майфортика и в отдельных случаях — использование тимглобулина, прографа, сертикана с отказом от применения стероидов и снижением доз циклоспорина. Это позволило обеспечить реципиентов минимальной, но адекватной иммуносупрессией в рамках индивидуальных протоколов. Наибольшая годовая выживаемость реципиентов доведена до 100 %, годовая выживаемость почечных трансплантатов — до 96,9 %. Именно на этом этапе выполнено большинство — 80 (95,2 %) операций с высоким операционным риском. Выживаемость реципиентов и почечных трансплантатов в группе высокого операционного риска составила 95,7 %, что соответствует современным стандартам.

#### **Выводы**

Результаты трансплантации почек пациентам с высоким операционным риском позволяют расширить показания к этой опе-

рации при условии тщательного выполнения всех ее этапов и использования индиви-

дуальных протоколов с новыми селективными иммуносупрессантами.

### Список литературы

1. Сравнительный анализ эффективности разных видов почечной заместительной терапии / А. М. Андрусев, Б. Т. Бикбов, И. Г. Ким, Н. А. Томилина // Нефрология и диализ. — 2009. — № 4. — С. 344.
2. Сравнительный анализ долгосрочного лечения гемодиализом и трансплантацией почки / В. К. Денисов, В. В. Захаров, Н. Д. Олещенко [и др.] // Трансплантология. — 2008. — Т. 10, № 1. — С. 168–171.
3. Baer G. Late referral of patients with end-stage renal disease: an in-depth review and suggestions for further actions / G. Baer, N. Lameire, W. Van Biesen // Nephrology Dialysis Transplantation Plus. — 2010. — V. 3, № 1. — P. 17–27.
4. Nutritional status in paediatric kidney transplantation cohort / M. Belingheri, F. Paglilonga, S. Testa [et al.] // Transplant. International. — 2007. — V. 20, suppl. 2. — P. 80.
5. Danovitch G. Handbook of kidney transplantation. Kidney transplantation in children / G. Danovitch. — [4<sup>th</sup> ed.]. — N.-Y., Lippincott Williams et Wilkins 2005. — P. 414–451.
6. Diabetics on dialysis in Italy: a nationwide epidemiological study / G. Panzetta, C. Basile, A. Santoro [et al.] // Nephrology Dialysis Transplantation. — 2008. — V. 23, № 12. — P. 3988–3995.
7. Saluski I. B. Renal osteodystrophy in children / I. B. Saluski, O. Mehls // Clinical guide to bone and mineral metabolism in CRD / [ed. by. K. Olgaard]. — National Kidney Foundation, 2006. — P. 155–175.

*В.К. Денисов, В.В. Захаров, М.Д. Олещенко, Е.В. Онищенко, О.І. Сидоркін, І.І. Деменкова, Т.С. Голубова, Г.С. Ксенофонтова, О.В. Захарова*

### МЕЖА ДОПУСТИМОГО РИЗИКУ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ НИРОК

Дослідження проведено з метою оцінки ефективності трансплантації нирки при хронічній нирковій недостатності у пацієнтів з високим операційним ризиком. З 630 пересаджень нирок до цієї категорії віднесено 84 трансплантації. З них 31 пересадження виконано дітям, 22 — пацієнтам з діабетичною нефропатією, 31 — хворим з іншими серйозними факторами ризику. Річне виживання вказаних реципієнтів і ниркових трансплантатів у групі високого операційного ризику склало 95,7 % при гарній якості життя. Аналіз отриманих результатів дозволяє в подальшому розширити показання до виконання трансплантації нирок пацієнтам з високим операційним ризиком.

*Ключові слова: трансплантація нирки, операційний ризик.*

*V.K. Denisov, V.V. Zakharov, N.D. Oleschenko, E.V. Onischenko, A.I. Sidorkin, I.I. Demenkova, T.S. Golubova, A.S. Ksenofontova, O.V. Zakharova*

### KIDNEY TRANSPLANTATION TO THE HIGH-RISK PATIENTS

The aim of research was to study the kidney transplantation outcome in high-risk candidates. Among 630 kidney transplantations 84 transplantations were put into this group. Among them 31 transplantations are done to children, 22 — to the patients with diabetic nephropathy, 31 — to the patients with other serious risk factors. One year survival rate among mentioned recipients and kidney transplants in group of high risk was 95,7 % with more better quality of life. The analysis of received results let us extend indication for kidney transplantation to high-risk candidates.

*Key words: kidney transplantation, high-risk patients.*

УДК 616.61-089.843.168-037

*В.К. Денисов, А.С. Ксенофонтова, И.И. Деменкова*

*Трансплантационный центр*

*Донецкого областного клинического территориального медицинского объединения*

## **ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИСХОДОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ В ПОЗДНЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ**

В целях прогнозирования функции почечного трансплантата без использования инвазивных методов исследования проанализированы 238 реципиентов. Исследовали 15 базовых клинико-лабораторных и социодемографических показателей. Установлено, что концентрации креатинина и гемоглобина в крови, а также выраженность протеинурии через 1 год после пересадки почки могут быть использованы для прогнозирования исходов трансплантации почки в позднем послеоперационном периоде. Построена математическая модель прогнозирования, которая может быть реализована в среде Excel и использоваться в практическом здравоохранении.

**Ключевые слова:** трансплантация почки, хроническая нефропатия трансплантата, прогностическая модель.

Значительное улучшение результатов трансплантации почек в раннем послеоперационном периоде в течение последнего десятилетия сопровождается расширением пула пациентов с длительными сроками наблюдения. Наиболее значимой проблемой отдаленного послеоперационного периода являются хроническая нефропатия трансплантата, приводящая к возврату на диализ или гибели пациентов.

Для профилактики и эффективного лечения поздней дисфункции пересаженной почки необходимо уметь прогнозировать темпы ее развития [1–3].

Данное исследование проведено в целях создания прогностической модели, позволяющей оценить вероятность утраты функции почечного трансплантата без использования инвазивных методов исследования.

**Материал и методы.** Для выявления признаков, которые могут быть использованы для оценки степени риска смерти с функционирующим трансплантатом или возврата на программный гемодиализ, в целях возможной коррекции возникающей угрозы был использован метод построения математических моделей прогнозирования [4].

Нами проанализированы 238 больных, которые прожили более 1 года с функционирующим трансплантатом. Для прогнозирования последующей продолжительности удовлетворительной функции пересаженной почки исследовали прогностическую

значимость 15 базовых клинико-лабораторных и социодемографических показателей по результатам обследования через 1 год после трансплантации.

При построении регрессионной модели прогнозирования результат считался положительным в случае, когда реципиент прожил более 3 лет от момента пересадки. Для выявления факторов, связанных с достоверным прекращением функционирования трансплантата, был проведен отбор наиболее значимых признаков.

Среди больных было 79 женщин и 159 мужчин, возраст больных на момент исследования составлял от 6 до 67 лет, в среднем 34,7 года, стандартное отклонение для возраста — 11,2 года.

В качестве результирующего признака (прекращения функционирования трансплантата) использовали значение времени до смерти с функционирующим трансплантатом или до возврата на программный гемодиализ (переменная Y).

В качестве факторных признаков исследовали влияние показателей, описывающих состояние пациентов: пол и возраст реципиента на момент трансплантации почки, основной диагноз, приведший к развитию терминальной стадии почечной недостаточности (хронический гломерулонефрит, поликистоз, аномалии развития, сахарный диабет, системная красная волчанка, мочекаменная болезнь, синдром Аль-

© В.К. Денисов, А.С. Ксенофонтова, И.И. Деменкова, 2011

порта, пиелонефрит единственной почки, травма единственной почки), вид донорства (посмертное или родственное), длительность дотрансплантационного гемодиализного лечения (в годах), наличие индукционной иммуносупрессивной терапии антителами, наличие гепатит-вирусных инфекций на момент трансплантации почки, образование (нет, среднее, высшее), место жительства (город, село), количество предыдущих трансплантаций (0, 1, 2, 3, 4), концентрация креатинина в крови через 1 год после трансплантации (в моль/л), артериальное давление через год после трансплантации (в мм рт. ст.), концентрация гемоглобина в крови через год после трансплантации (в г/л), суточная протеинурия через год после трансплантации (отсутствует, минимальная — <0,5 г/сут, умеренная — 0,5–1,0 г/сут, выраженная — >1 г/сут), длительность удовлетворительной функции почечного трансплантата (в годах) — до смерти с функционирующим трансплантатом или до возврата на программный гемодиализ.

При построении модели результат считался положительным (Y=1) в случае, когда реципиент прожил (без возврата на программный гемодиализ) более 3 лет от момента пересадки и точно более 1 года с момента осмотра и взятия данных лабораторного исследования через год после трансплантации, в противном случае результат считался отрицательным (Y=0). При этом отрицательный результат был получен в 70 [(29,4±3,0) %] случаях, положительный результат — в 168 [(70,6±3,0) %] случаях.

В целях проверки качества прогнозирования все случаи (с использованием генератора случайных чисел) были разделены на три множества [4]: обучающее (использовалось для построения модели и включало результаты исследования для 188 случаев), контрольное (использовалось для оптимизации порога принятия-отвержения и включало результаты исследования для 15 случаев) и тестовое (использовалось для

проверки прогностической способности модели на новых данных и включало результаты исследования для 35 случаев).

**Результаты и их обсуждение.** Более 3 лет с функционирующим почечным трансплантатом прожили 168 (70,6 %) пациентов, отрицательный результат получен в 70 (29 %) случаях.

При проведении анализа были поставлены две задачи:

- выявление факторных признаков, которые в наибольшей степени влияют на риск смерти с функционирующим трансплантатом или возврата на программный гемодиализ;

- построение на основе выделенных признаков модели прогнозирования этого риска.

На первом этапе была построена модель прогнозирования на основании всех 15 признаков. Результаты прогнозирования в этой модели приведены в табл. 1.

Чувствительность модели на обучающем множестве составила 100 %, специфичность — 100 %. На тестовом множестве чувствительность модели была 100 %, специфичность — 100 %. Чувствительность и специфичность модели на обучающем и тестовом множестве статистически не различались, что свидетельствовало о ее адекватности.

Для выявления факторов признаков, в наибольшей степени связанных с риском смерти с функционирующим трансплантатом или возврата на программный гемодиализ, был проведен отбор наиболее значимых признаков. Для проведения отбора использовали метод пошагового отбрасывания, анализ β-коэффициентов обобщенной регрессионной модели [5]. Результаты этого анализа приведены в табл. 2.

Из проведенного анализа следует, что к наиболее значимым (p<0,001) могут быть отнесены три признака: концентрация креатинина в крови (X1), концентрация гемоглобина в крови (X2), выраженность протеинурии (X3).

*Таблица 1. Результаты прогнозирования функционирования трансплантата (модель, построенная на полном наборе признаков)*

| Результаты       | Обучающее множество     |                         | Тестовое множество      |                         |
|------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                  | отрицательный результат | положительный результат | отрицательный результат | положительный результат |
| Всего случаев    | 54                      | 134                     | 12                      | 23                      |
| Верный прогноз   | 54                      | 134                     | 12                      | 23                      |
| Неверный прогноз | 0                       | 0                       | 0                       | 0                       |

Таблица 2. Анализ влияния факторных признаков на прогноз функционирования трансплантата (обобщенная регрессионная модель)

| Факторный признак                              | Коэффициент прогнозирования, ( $\beta \pm m$ ) | Уровень значимости отличия от 0 |
|--|--|---------------------------------|
| Пол  | 0,021 $\pm$ 0,027                              | 0,442                           |
| Возраст  | 0,024 $\pm$ 0,034                              | 0,480                           |
| Местожительства                                | 0,002 $\pm$ 0,033                              | 0,946                           |
| Образовательный ценз                           | 0,047 $\pm$ 0,035                              | 0,183                           |
| Длительность дотрансплантационного гемодиализа | 0,047 $\pm$ 0,030                              | 0,125                           |
| Антителная иммуносупрессия                     | -0,035 $\pm$ 0,029                             | 0,230                           |
| Гепатит  | -0,063 $\pm$ 0,029                             | 0,030*                          |
| Количество пересадок                           | -0,017 $\pm$ 0,030                             | 0,561                           |
| Концентрация креатинина в крови                | -0,277 $\pm$ 0,047                             | <0,001*                         |
| Систолическое АД                               | -0,124 $\pm$ 0,055                             | 0,024*                          |
| Диастолическое АД                              | 0,036 $\pm$ 0,045                              | 0,436                           |
| Концентрация гемоглобина в крови               | 0,265 $\pm$ 0,044                              | <0,001*                         |
| Протеинурия                                    | -0,394 $\pm$ 0,047                             | <0,001*                         |

\* Признак достоверный.

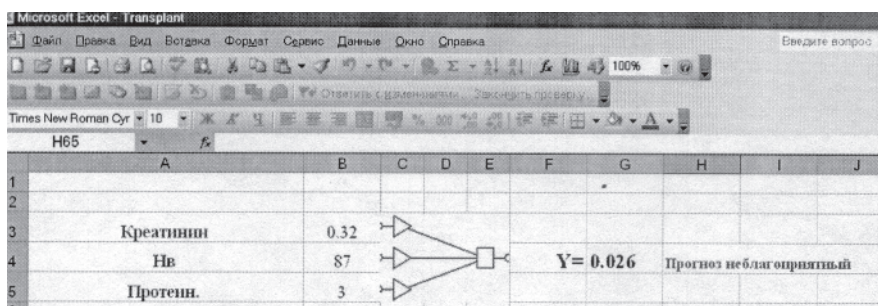
На выделенном наборе признаков была построена модель прогнозирования. После обучения модели нами проведена оптимизация порога принятия-отвержения. Получено значение  $Y_{crit} = 0,435$ . В случае, когда в результате расчетов в рамках построенной модели значение  $Y < Y_{crit}$ , прогнозируется отрицательный результат, в противном случае — прогнозируется положительный результат.

Полученная прогностическая модель с использованием этих факторов описывается уравнением  $Y = -0,967 \cdot X1 + 0,00955 \cdot X2 - 0,143 \cdot X3 - 0,068$ , где  $X1$  — уровень креатинина в крови;  $X2$  — уровень гемоглобина в крови;  $X3$  — протеинурия через год после трансплантации. На тестовом множестве чувствительность модели была 85,4 %; специфичность — 92,0 %.

Чувствительность и специфичность модели на обучающем и тестовом множестве статистически значимо не различаются ( $p > 0,9$  при сравнении по критерию  $\chi^2$ ), что свидетельствует о ее адекватности.

При этом уменьшение количества прогнозирующих признаков от 15 до 3 не привело к снижению качества прогнозирования на обучающем множестве ( $p > 0,9$  по чувствительности и специфичности при сравнении по критерию  $\chi^2$ ), что указывает на значимость отобранных переменных для прогнозирования и интегральной оценки состояния больных.

Для проведения оценки риска смерти с функционирующим трансплантатом или возврата на программный гемодиализ прогностическая модель была реализована в среде табличного процессора Excel. Интерфейс системы приведен на рисунке.



Интерфейс математической модели прогнозирования функции почечного трансплантата в течение 3 лет после пересадки по результатам обследования через 1 год после операции

Для использования модели достаточно ввести значение указанных показателей, расчеты будут автоматически проведены в электронной таблице, там же будет сгенерирован прогноз.

#### Выводы

1. Концентрации креатинина и гемоглобина в крови, а также выраженность протеинурии через 1 год после пересадки почки в наибольшей степени связаны с прекраще-

нием функции трансплантата в отдаленные сроки и могут быть использованы для прогнозирования исходов трансплантации почки в позднем послеоперационном периоде.

2. Построена математическая модель прогнозирования риска смерти с функционирующим трансплантатом или возврата на программный гемодиализ, которая может быть реализована в среде табличного процессора Excel и таким образом использоваться в практическом здравоохранении.

#### Список литературы

1. *Panek R.* Screening for proteinuria in kidney transplant recipients / R. Panek, T. Lawen, B. Kiberd // *Nephrology Dialysis Transplantation*. — 2011. — V. 26. — P. 1385–1387.
2. *Seron D.* Chronic allograft nephropathy — clinical guidance for early detection and early intervention strategies / D. Seron, W. Arns, J. R. Chapman // *Nephrology Dialysis Transplantation*. — 2008. — V. 23, № 1. — P. 2467–2473.
3. GFR — estimating models in kidney transplant recipients on a steroid-free regimen / A. Kukla, Y. El-Shahawi, E. Leister [et al.] // *Nephrology Dialysis Transplantation*. — 2010. — V. 25, № 1. — P. 1653–1661.
4. Теоретические и практические аспекты автоматизированной информационной системы «Депрессии». Сер. «Очерки биологической и медицинской информатики» / [Казаков В. Н., Лях Ю. Е., Кутько И. И. и др.]. — Донецк : Из-во ДонГМУ, 2001. — 160 с.
5. *Петри А.* Наглядная статистика в медицине / А. Петри, К. Сэбин ; пер. с англ. В. П. Леонова. — М. : ГЭОТАР-мед, 2003. — 144 с.

*В.К. Денисов, Г.С. Ксенофонтова, І.І. Деменкова*

#### ПРОГНОЗУВАННЯ НАСЛІДКІВ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ НИРКИ В ПІЗЬНОМУ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОМУ ПЕРІОДІ

З метою прогнозування функції ниркового трансплантата без використання інвазивних методів дослідження проаналізовано 238 реципієнтів. Досліджували 15 базових клініко-лабораторних та соціодемографічних показників. Встановлено, що концентрація креатиніну і гемоглобіну в крові, а також вираженість протеїнурії через 1 рік після пересаджування нирки можуть бути використані для прогнозування наслідків трансплантації нирки у пізньому післяопераційному періоді. Побудовано математичну модель прогнозування, яка може бути реалізована у Excel та використовуватись у практичній охороні здоров'я.

**Ключові слова:** трансплантація нирки, хронічна нефропатія трансплантата, прогностична модель.

*V.K. Denisov, A.S. Ksenofontova, I.I. Demenkova*

#### FORECASTING OF RENAL TRANSPLANTATION RESULTS IN LATE POSTOPERATIVE PERIOD

For the purpose of forecasting of renal transplant function without using invasive methods of research 238 recipients were analyzed. There were 15 basic clinico-laboratorial and sociodemographic indexes under research. It has been determined, that concentration of creatinine and hemoglobin in blood, as well as proteinuria intensity in 1 year after renal transplantation could be used for forecasting of renal transplantation results in late postoperative period. The mathematical model of forecasting has been built, that could be realized in Excel and used in practical health service.

**Key words:** renal transplantation, chronic transplant nephropathy, forecasting model.

УДК 617.7-089.843

*Н.Г. Завгородняя, О.А. Исакова, Н.С. Луценко, О.А. Рудычева*

*ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования»*

## **ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОФТАЛЬМОТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ИХ РЕШЕНИЯ**

На базе Запорожского центра мультиорганной трансплантации произведено 24 сквозных кератопластики у пациентов с патологией роговицы. Сроки ожидания операции больных составили от 6 до 12 месяцев. В целях устранения роговичного синдрома и улучшения качества жизни пациентов до кератопластики произведена фототерапевтическая кератэктомия. Получение нативной роговицы при мультиорганных заборах органов составляет не более 30 % от потребности. Современное законодательство не позволяет широко внедрить трансплантацию роговицы в повседневную практику и требует изменения.

**Ключевые слова:** патология роговицы, сквозная кератопластика, закон о трансплантации.

Основы современной кератопластики были заложены еще в XIX столетии, когда офтальмология, как наука, унаследовала преемственность к хирургическим принципам лечения, возникли первые представления об аллопластике и идеи асептики и антисептики [1].

Последующее XX столетие внесло определенную лепту, новый виток в развитии кератопластики, показало большую потребность и неограниченные возможности данного вида хирургического лечения. За счет массовости проведения кератопластик были усовершенствованы как техника операции, так и инструментальное оснащение, что позволило осуществлять очень тонкие и дозированные манипуляции [2]. Одновременно с этим отмечался прогресс и в смежных дисциплинах — фармакологии, иммунологии. Полученные новые знания вооружили офтальмологов для борьбы с инфекциями — антибиотиками, способствовали познанию биологических реакций [3–5]. Наряду со всемирно признанной сквозной кератопластикой широко стали применяться и другие ее модификации: послойная, тектоническая, мелиоративная, в том числе и по ургентным показаниям и для реконструкции переднего отрезка глаза в плановом порядке [6, 7]. Все это позволило спасти зрение сотням тысяч больных.

Казалось, что в XXI столетии должен отмечаться рост трансплантаций роговицы, однако принятие в 1999 году Закона Украины о трансплантации органов и других анатомических материалов человеку (Ведомости Верховного Совета Украины, 1999, № 41, ст. 377, с изменениями, внесенными согласно Закону № 997-V (997-16) от 27.04.07, ВВР, 2007, № 33, ст. 440, № 2608-VI (2608-17) от 19.10.10, ВВР, 2011, № 11, ст. 69) привело к ограничению на государственном уровне возможностей забора трансплантационного материала (включая ткани и органы). Кроме того, отсутствует и сегодня действующая национальная система консервации и хранения роговичных и других глазных трансплантатов. Небывалый рост инфицирования доноров ВИЧ-инфекцией и гепатитом В и С также резко ограничило возможности использования кератопластик в повседневной практике. Законодательно патологоанатомические службы не являются базами забора, что затрудняет беспрепятственное получение донорской роговицы, а отсутствие презумпции согласия делает невозможным изъятие органов и тканей у трупа без обязательного получения согласия потенциального донора при жизни или его родственников.

При подборе биотканей, кроме юридических, существуют и биологические труднос-

© Н.Г. Завгородняя, О.А. Исакова, Н.С. Луценко, О.А. Рудычева, 2011

ти. Эти трудности вызваны как высокой вирусологической опасностью получаемого трансплантационного материала, так и посмертным гемолизом, вызывающим сомнительные серологические реакции. Как в первом, так и во втором случае ткани бракуются и не подлежат дальнейшему использованию. Для решения данных проблем нами были предприняты следующие организационные мероприятия — официальное участие офтальмохирурга в работе бригад по органному и тканевому донорству на базе Запорожского центра трансплантации, что позволило проводить получение нативной роговицы при мультиорганном заборе в условиях социальной смерти.

Цель — анализ организационной и клинической эффективности трансплантаций роговицы в условиях действующего Закона о трансплантации.

**Материал и методы.** Проведен анализ результатов организационной и лечебной офтальмологической службы, функционирующей на базе Запорожского центра мультиорганной трансплантации за период 2006–2011 г. За данный период выполнено 24 кератопластики с оптической целью. Показанием для проведения хирургического лечения были: первичная дистрофия роговицы — 3 больных (12,5 %), эндотелиально-эпителиальная дистрофия роговицы на артефактичном глазу — 21 больной (87,5 %). Структура сопутствующей глазной патологии представлена следующим образом: первичная открытоугольная глаукома — 7 глаз (29,2 %), миопия высокой степени — 2 глаза (8,3 %), смешанный астигматизм, амблиопия средней степени — 2 глаза (8,3 %), непролиферативная диабетическая ретинопатия — 1 глаз (4,2 %). Возраст больных колебался от 46 до 92 лет. Причиной возникновения патологического процесса роговицы у всех пациентов явилась операционная травма. Длительность заболевания составляла от 10 до 16 месяцев.

У 13 пациентов (54,2 %) с выраженным болевым синдромом, буллезной формой ЭЭД первым этапом произведена фототерапевтическая кератэктомия (ФТК) в сроки 6–12 месяцев перед сквозной кератопластикой. Операцию ФТК проводили под местной анестезией раствором 0,5 % алкаина после механического удаления патологически измененного эпителия роговицы на эксимерном лазере MEL-60. Глубина лазерной абляции ткани роговицы зависела от глубины локализации патологических

изменений тканей роговицы и находилась в пределах 125–145 мкм, диаметр зоны абляции — 6–8 мм.

Для кератопластики использовали свежую донорскую роговицу. При изъятии органа зрения у донора путем энуклеации соблюдались нормо-этические правила, производилось протезирование глазной полости с учетом исходного цвета радужки и формы глаза. Время тепловой ишемии глазного яблока составляло в среднем 15–20 минут, время консервации донорского материала (влажная камера) колебалось от 3 до 12 часов, в среднем составило 5 часов. Сквозная кератопластика выполнена традиционным способом с помощью вакуумных трепанов диаметром 7,0 и 7,5 мм. Сроки наблюдения пациентов после проведения сквозной кератопластики — от 3 до 5 лет.

**Результаты и их обсуждение.** Для широкого внедрения в клиническую практику трансплантации органов, тканей клеток в целях предоставления высокоспециализированной помощи жителям Украины в сентябре 1992 года на базе областной клинической больницы создан Запорожский центр мультиорганной трансплантации. В его состав входят отделения: трансплантации и хронического гемодиализа; трансплантационной анестезиологии и интенсивной терапии, а с недавнего времени задействована и офтальмологическая служба. Это является первым опытом в Украине сотрудничества, способствующего рациональному использованию донорского материала.

Для практического применения предложены организационные принципы работы региональной донорской службы, критерии селекции потенциальных доноров, практический алгоритм диагностики смерти мозга с опытом применения подтверждающих инструментальных методов диагноза смерти мозга, разработаны алгоритмы реанимационного пособия, направленные на сохранение жизнеспособности органов у доноров со смертью мозга.

Однако несмотря на ряд преимуществ мультиорганного забора, а именно: тщательный подбор донора, что гарантирует качество нативной донорской роговицы и юридическую чистоту изъятия органов, на современном этапе сохраняется дефицит донорского материала. Так, с 2006 г. выполнено 24 операции по пересадке роговицы, что составило около 30 % от потребностей. Одновременно с этим отмечается неуклонная тенденция к снижению количества

операцій. Так, в 2008 г. произведено 12 операцій, в 2009-м — 2 операції, а в течение последних двух лет не выполнялись вообще. При этом число пациентов, нуждающихся в данном виде хирургического лечения, растет. Параллельно с этим, хочется отметить еще один негативный факт. Ограниченное количество донорского материала приводит к несвоевременной реабилитации пациентов. Так, сроки ожидания операции наших больных в среднем составили 8 месяцев (от 6 до 12 месяцев) с момента начала заболевания. Учитывая, что эндотелиально-эпителиальная дистрофия роговицы — это заболевание, которое сопровождается не только снижением зрительных функций у данной категории больных, а и выраженным изнуряющим болевым синдромом, данный временной фактор велик. В целях устранения роговичного синдрома и улучшения качества жизни пациентов до момента получения донорской роговицы и проведения кератопластики нами были внедрены методы хирургического лечения — фототерапевтическая кератэктомия, а в последние два года — Collagen-cross-linking. Однако данные виды лечения являются паллиативными, не позволяют восстановить зри-

тельные функции и одновременно с этим дорогостоящие, что не всегда экономически оправданно и доступно каждому пациенту.

### Выводы

На сегодняшний день возникла проблема — оказание в полном объеме и своевременно высококвалифицированной медицинской помощи пациентам с довольно распространенной патологией роговицы. По нашему мнению, устранение дефицита донорской роговицы возможно путем пересмотра и изменения действующей правовой и юридической базы. Считаем необходимым, в Законе о трансплантации внести дополнения, регламентирующие вопросы тканевой (роговичной) трансплантации, позволяющие упростить процедуру получения нативной роговицы (презумпции согласия), не запрещать ее посмертное использование, т. е. определить этапность забора роговицы как в условиях социальной (мультиорганные заборы в реанимационных отделениях), так и биологической (патологоанатомические отделения) смерти. Развивая офтальмотрансплантологию, в конечном счете, все наши усилия направлены на сохранение здоровья нации.

### Список литературы

1. Современные аспекты кератопластики / З. И. Мороз, Х. П. Тахчиди, Е. В. Ковшун [и др.] // Новые технологии в лечении заболеваний роговицы : науч.-практ. конф. : сб. науч. статей. — М., 2004. — С. 289–295.
2. Дронов М. М. Руководство по кератопластике / М. М. Дронов. — СПб., 1997. — 130 с.
3. Богимбаева Г. Е. Кератопластика у больных с различными формами дистрофии роговицы / Г. Е. Богимбаева, Г. А. Есенжан, Т. В. Тарасенко // Новые технологии в лечении заболеваний роговицы : науч.-практ. конф. : сб. науч. статей. — М., 2004. — С. 56–60.
4. Миллюдин Е. С. Роль тканевого банка в работе офтальмологической больницы / Е. С. Миллюдин, А. В. Золотарев, В. К. Степанов // Новые технологии в лечении заболеваний роговицы : науч.-практ. конф. : сб. науч. статей. — М., 2004. — С. 479–485.
5. Копеева В. Г. Современные аспекты сквозной субтотальной кератопластики : автореф. дис. на соискание уч. степени д-ра мед. наук / В. Г. Копеева. — М., 1982. — 365 с.
6. Слонимский А. Ю. Результаты сквозной рекератопластики / А. Ю. Слонимский, С. Ю. Слонимский // Новые технологии в лечении заболеваний роговицы : науч.-практ. конф. : сб. науч. статей. — М., 2004. — С. 334–339.
7. Соколов В. А. Эффективность кератопластических операций при патологии роговицы с угрозой перфорации / В. А. Соколов, Н. И. Павлова, Н. И. Вишневецкая [и др.] // Новые технологии в лечении заболеваний роговицы : науч.-практ. конф. : сб. науч. статей. — М., 2004. — С. 345–349.

*Н.Г. Завгородня, О.А. Исакова, Н.С. Луценко, О.А. Рудичева*

### ОСНОВНІ ПРОБЛЕМИ ОФТАЛЬМОТРАНСПЛАНТОЛОГІЇ ТА МОЖЛИВІ ШЛЯХИ РІШЕННЯ

На базі Запорізького центру мультиорганної трансплантації проведено 24 наскрізні кератопластики у хворих на патологію рогівки. Термін очікування операції становив від 6 до 12 місяців. З метою усунення рогівкового синдрому та поліпшення якості життя пацієнтів до кератопластики була проведена фототерапевтична кератектомія. Отримання нативної рогівки при мультиорганних вилученнях складає не більш ніж 30 % від потреби. Сучасне законодавство не дозволяє широко впровадити трансплантацію рогівки у повсякденній практиці та потребує змін.

**Ключові слова:** патологія рогівки, наскрізна кератопластика, закон про трансплантацію.

---

*N.G. Zavgornyaya, O.A. Isakova, N.S. Lutsenko, O.A. Rudycheva*

**MAIN PROBLEMS OF OPHTHALMOTRANSPLANTATION AND THE WAYS OF DECISION**

Twenty four penetrating keratoplastic at patients with different cornea pathology were performed at Zaporozhye centre for multiorgans transplantation. Waiting time before surgery consist from 6 to 12 month. Phototherapeuticceratectomy (PTC) was produced all patients for the purpose of cornea syndrome removal and improve the quality of life. Multiorgans recovered allows receive not more than 30 % of native cornea from needed. Modern legislation does not widely implemented cornea transplantation to daily practice and requires changes.

*Key words: cornea pathology, penetrating keratoplasty, the law on transplantation.*

УДК 616.61-089.819.843-085-097

*В.В. Захаров, С.О. Варібрус, О.В. Захарова*

*Трансплантаційний центр*

*Донецького обласного клінічного територіального медичного об'єднання*

## **ЕФЕКТИВНІСТЬ НОВИХ ПРОТОКОЛІВ ІНДУКЦІЙНОЇ ІМУНОСУПРЕСИВНОЇ ТЕРАПІЇ ПІСЛЯ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ ТРУПНОЇ НИРКИ**

Проаналізовано результати 176 алотрансплантацій трупної нирки, виконаних у трансплантаційному центрі ДОКТМО. Перша досліджувана група складалася з 61 пацієнта, які отримували Cell-септ; друга — з 60 пацієнтів, які приймали Зенапакс; третя — з 55 осіб, які отримували азатіоприн. Дана оцінка ефективності протоколів індукційної імуносупресивної терапії після алотрансплантації трупної нирки.

**Ключові слова:** трансплантація нирки, імуносупресивна терапія, селл-септ, зенапакс.

Основною метою імуносупресивної терапії після трансплантації нирки є профілактика епізодів гострого відторгнення, що залишається найбільш частим ускладненням раннього післяопераційного періоду, що несприятливо впливає на віддалені результати трансплантації нирки.

Мета дослідження — провести порівняльний аналіз ефективності нових протоколів трьох- та чотирьохкомпонентної імуносупресії, що включає комбінацію зенапакса і селл-септа в сполученні з циклоспорином А і стероїдами.

**Матеріал і методи.** У дослідження включений аналіз результатів 176 алотрансплантацій трупної нирки (АТТН), виконаних у відділенні трансплантації Донецького обласного клінічного територіального медичного об'єднання за період з 1995 по 2009 р.

Досліджувану групу I, що одержала трьохкомпонентну імуносупресивну терапію з листопада 1998 року, склав 61 реципієнт ниркового алотрансплантата. Усі пацієнти досліджуваної групи I одержували базисну імуносупресивну терапію, що включає циклоспорин А (CsA), селл-септ (Cell-sept) і стероїди (Mp). Досліджувану групу II, що одержала чотирьохкомпонентну імуносупресивну терапію з листопада 2000 року, склали 60 реципієнтів ниркового алотрансплантата. Усі пацієнти цієї досліджуваної групи одержували базисну імуносупресивну терапію, що включає циклоспорин А (CsA),

селл-септ (Cell-sept) і стероїди (Mp) та індукційний курс препаратом «Зенапакс» (Zenapax). Контрольну групу склали 55 реципієнтів, які одержували стандартну початкову імуносупресивну терапію, що складається з циклоспорину А (CsA), азатіоприну (Aza) і стероїдів (Mp), у період з січня 1995 року по листопад 1998 року. Період спостереження склав 12 місяців після операції. Досліджувані і контрольна групи пацієнтів були подібні за статтю, віком, первинним захворюванням нирок, номером АТТН, часом холодової ішемії трансплантата, гістосумісністю за системою HLA і середнім рівнем передіснуючих антитіл.

Серед пацієнтів 98 (55,7 %) склали чоловіки і 78 (44,3 %) жінки. Вік реципієнтів коливався від 16 до 68 років, середній вік склав (41,5±3,7) року. Найбільш частою причиною термінальної стадії ХНН, що викликала необхідність трансплантації нирки, був хронічний гломерулонефрит. Він був діагностован у 42 (68,85 %) пацієнтів досліджуваної групи I, у 41 (68,3 %) пацієнта досліджуваної групи II і у 37 (67,27 %) пацієнтів контрольної групи. Хронічний пієлонефрит зустрічався з меншою частотою: у 6 (9,83 %) пацієнтів досліджуваної групи I, у 7 (11,66 %) пацієнтів досліджуваної групи II і у 5 (9,09 %) пацієнтів контрольної групи. Полікістоз нирок діагностовано у 3 (4,92 %) хворих досліджуваної групи I, у 3 (5,0 %) — у досліджуваній групі II і у 4

© В.В. Захаров, С.О. Варібрус, О.В. Захарова, 2011

(7,27 %) — у контрольній групі. Крім того, було встановлено різні аномалії розвитку, що спостерігалися в 7 (11,47 %) пацієнтів досліджуваної групи I, в 6 (10,0 %) пацієнтів досліджуваної групи II й у 6 (10,91 %) пацієнтів контрольної групи. Діабетична нефропатія зустрічалася в 3 (4,91 %) пацієнтів досліджуваної групи I, у 3 (5,0 %) пацієнтів досліджуваної групи II й у 3 (5,45 %) пацієнтів контрольної групи.

Усі хворі до трансплантації одержували лікування програмним гемодіалізом. За показниками проводилася симптоматична терапія.

Донорами ниркових алотрансплантатів стали особи у віці від 18 до 62 років, причиною смерті яких були необоротні зміни головного мозку внаслідок черепно-мозкової травми, порушення мозкового кровообігу або злоякісні новоутворення головного мозку. Вилучення нирок з їх подальшою перфузією і консервацією розчином «Евроколлінз» або «Кустодіол» проводилося за стандартною методикою в донорів після зупинки серця.

Час холодової ішемії трансплантата в середньому становив  $(18,3 \pm 1,3)$  години у досліджуваній групі I,  $(17,7 \pm 1,3)$  години у досліджуваній групі II і  $(16,7 \pm 1,1)$  години у контрольній групі. Більшість операцій були первинними трансплантаціями нирки в досліджуваній групі I — у 51 (83,6 %), в досліджуваній групі II — у 51 (85,0 %) і в контрольній групі — у 45 (81,81 %). Селекція пар донор-реципієнт здійснювалася за результатами прямої перехресної проби і типування за системою HLA (A, B, Dr). Рівень передіснуючих цитотоксичних антитіл варіював від 0 до 60 % у досліджуваній групі і від 0 до 45 % — у контрольній, в середньому складав 7,2 і 6,5 % відповідно. Коливання

сумісності за HLA складали від 0 до 5 антигенів, у середньому  $2,45 \pm 0,23$ .

Алотрансплантація донорської трупної нирки здійснювалася за загальноприйнятою методикою. Формувалися анастомози між судинами ниркового алотрансплантата і клубовими судинами реципієнта, цілісність сечовивідних шляхів досягалася шляхом анастомозу між сечоводом трансплантата та сечовим міхуром реципієнта.

**Результати та їх обговорення.** Порівняльний аналіз ефективності імуносупресивної терапії в досліджуваній і контрольній групах показав, що однорічна виживаємість пацієнтів у досліджуваних і контрольній групах вірогідно не розрізнялася і складала 93,3 % (група II) та 91,8 % (група I) проти 85,5 % (контрольна група),  $p > 0,05$  (таблиця).

Однорічна виживаємість ниркових трансплантатів у досліджуваних і контрольній групах була трохи нижче, але розходження також не досягли статистичної значущості і склали 85,0 % (група II) та 83,6 % (група I) проти 74,5 % (контрольна група),  $p > 0,05$  (таблиця).

Нами виявлено значне зменшення частоти розвитку епізодів гострого відторгнення у пацієнтів досліджуваних груп у порівнянні з частотою у пацієнтів контрольної групи. При цьому ми брали до уваги всі епізоди гострого відторгнення, підтвержені і не підтвержені пункційною біопсією ниркового трансплантата (ПБНТ). Ми вважаємо, що ПБНТ треба робити завжди, коли є підозра на розвиток епізоду гострого відторгнення. Однак у ряді випадків ПБНТ не виконувалася, у таких випадках діагноз ставився на підставі клінічних даних і розглядався як передбачуване відторгнення.

Розвиток 1 епізоду гострого відторгнення відмічався у 28 (45,9 %) з 61 пацієнта до-

*Характеристика гострих кризів відторгнення та результати АТТН через 12 місяців після операції*

| Показник                                     | Контрольна група (n=55) | Досліджувана група I (n=61) | Досліджувана група II (n=60) |
|--|-------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Частота епізодів гострих кризів відторгнення | 36 (65,5 %)             | 28 (45,9 %)                 | 16 (26,6 %)                  |
| Частота стероїдорезистентного відторгнення   | 16 (29,0 %)             | 6 (9,8 %)                   | 4 (6,7 %)                    |
| Відстрочена функція ниркового трансплантата  | 37 (67,3 %)             | 21 (34,4 %)                 | 23 (38,3 %)                  |
| Середня доза в/в Мр на 1 хворого, мг         | 1500                    | 760                         | 650                          |
| Використання антилімфоцитарних препаратів    | 14 (25,5 %)             | 5 (8,2 %)                   | 6 (9,8 %)                    |
| Виживаємість реципієнтів                     | 47 (85,5 %)             | 56 (91,8 %)                 | 56 (93,3 %)                  |
| Виживаємість ниркових трансплантатів         | 41 (74,5 %)             | 51 (83,6 %)                 | 51 (85,0 %)                  |

*Примітка.* Показники достовірні по відношенню до значень у пацієнтів контрольної групи.

сліджуваної групи I та у 16 (26,6 %) з 60 пацієнтів досліджуваної групи II протягом 1 року після операції, тоді як у контрольній групі 36 (65,5 %) пацієнтів з 55 перенесли 1 епізод гострого відторгнення за той же період. При цьому розвиток повторних епізодів гострого відторгнення спостерігався в 3 (10,7 %) з 28 пацієнтів досліджуваної групи I, у 1 (7,1 %) з 14 пацієнтів досліджуваної групи II та у 8 (22,2 %) з 36 пацієнтів контрольної групи.

Таким чином, частота розвитку епізодів гострого відторгнення протягом 1 року після трансплантації в досліджуваних групах склала 28 (45,9 %) випадків у досліджуваній групі I, 16 (26,6 %) — у досліджуваній групі II і 36 (65,5 %) — у контрольній групі та була у досліджуваних групах приблизно у 2 рази нижче, ніж у контрольній ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, індукційна терапія у пацієнтів досліджуваних груп вірогідно знижує частоту гострого відторгнення в порівнянні з трьохкомпонентною імуносупресивною терапією, що складається з циклоспорину А, імурану і кортикостероїдів у пацієнтів контрольної групи.

Відповідно до стандартних схем, лікування першого або повторного епізодів гострого відторгнення починали з внутрішньовенного призначення пульс-терапії метилпреднізолоном.

В досліджуваній групі I 28 (45,9 %) пацієнтів одержали один повний курс пульс-терапії стероїдами, в досліджуваній групі II — 16 (26,6 %), в контрольній групі — 36 (65,5 %) пацієнтів ( $p < 0,05$ ). Два курси пульс-терапії метилпреднізолоном проводилося 3 (10,7 %) хворим із досліджуваної групи I, 1 (7,1 %) хворому із досліджуваної групи II, 8 (22,2 %) хворим з контрольної групи.

Усі пацієнти, які перенесли гострий криз відторгнення, одержали повний курс пульс-терапії кортикостероїдами. З урахуванням великої кількості побічних ефектів стероїдної терапії, таких як шлунково-кишкові кровотечі, артеріальна гіпертензія, стероїдний діабет і остеопороз, а також збільшення частоти розвитку інфекційних ускладнень зниження частоти використання внутрішньовенних кортикостероїдів у 2 рази в досліджуваних групах у порівнянні з такою у контрольній групі є особливо важливим.

Відсоток розвитку ускладнень у результаті застосування стероїдних гормонів залежить від їхньої дози. Тому зниження сумарних доз внутрішньовенного метилпреднізолону для лікування гострого відторгнення

є актуальним напрямком сучасної трансплантології.

Стероїдорезистентний характер мали 6 (9,8 %) епізодів гострих кризів відторгнення в досліджуваній групі I та 4 (6,7 %) — у досліджуваній групі II, що визначило необхідність призначення антилімфоцитарних препаратів, у той час як у контрольній групі частота стероїдорезистентних кризів гострого відторгнення була вірогідно вище і склала 16 (29,0 %),  $p < 0,05$ . При лікуванні стероїдорезистентних кризів гострого відторгнення розходжень у застосуванні різних антилімфоцитарних препаратів між досліджуваними і контрольною групами не спостерігалось. Для лікування стероїдорезистентних гострих кризів відторгнення використовувалися препарати поліклональних антитіл («Тимоглобулін», «АТГАМ»). У досліджуваних групах всі гострі кризи відторгнення мали зворотний характер. У контрольній групі було вилучено 3 (5,4 %) трансплантати у зв'язку з його розвитком на тлі незворотного відторгнення і застосування антилімфоцитарних препаратів. Таким чином, у досліджуваних групах спостерігалася 100 % зворотність епізодів гострого відторгнення, у той час як у контрольній групі — 94,6 %. Слід зазначити, що всі епізоди стероїдорезистентного відторгнення мали місце в ранньому післяопераційному періоді, не пізніше 3 місяців після АТТН.

Таким чином, у досліджуваних групах спостерігається зниження не тільки частоти розвитку епізодів гострого відторгнення, а й їхньої тяжкості в порівнянні з показниками контрольної групи, оскільки знижується частота епізодів гострого відторгнення, резистентного до стероїдів. При цьому частка стероїдорезистентного відторгнення в досліджуваних і контрольній групах складає 9,8; 6,7 і 29,0 % відповідно, що веде до значного зниження використання антикризової терапії та, відповідно, дози внутрішньовенних кортикостероїдів і антилімфоцитарних препаратів більш ніж у 2 рази.

Частота відстроченої функції ниркових трансплантатів у реципієнтів досліджуваної групи I дорівнює 34,4 %, у реципієнтів досліджуваної групи II — 38,3 %, тоді як у пацієнтів контрольної групи — 67,3 % (таблиця).

Дане розходження є статистично достовірним ( $p < 0,05$ ). Отримані дані можна пояснити зниженням нефротоксичності імуносупресивної терапії у пацієнтів і більш ефективною профілактикою субклінічних

форм гострого відторгнення в досліджуваних групах, особливо у пацієнтів з використанням зенапаксу.

Результати раніше проведених закордонних досліджень свідчать про більш високу ефективність комбінації зенапаксу і селл-септу в сполученні з циклоспорином А і стероїдами, ніж отримані нами дані.

Дана невідповідність пояснюється тим, що в наші досліджувані групи ввійшли як

10 (16,4 %) і 10 (16,7 %) пацієнтів високого імунологічного ризику (PRA>20 %), так і 12 (20 %) і 12 (19,7 %) пацієнтів із відстроченим призначенням циклосорину А на тлі тяжкого ішемічного ушкодження НТ. Це визначається величезним дефіцитом донорських органів у нашій країні і, як наслідок, використанням субоптимальних донорів і низьким ступенем гістосумісності пари донор–реципієнт.

#### Список літератури

1. Low toxicity regimens in renal transplantation: a country subset analysis of Symphony study / Alper Demirbas, Christian Hugo, Josep Grinyo [et al.] // European Society for Organ Transplantation. — 2009. — V. 22, issue 12. — P. 1172–1181.
2. Reduced exposure to calcinerium inhibitors in renal transplantation / H. Ekberg, H. Tedesco-Silva, A. Demirbas [et al.] // NEJM. — 2007. — V. 357 (25). — P. 2562–2575.
3. Transplant practice in Europe: selection of patents / T. Kafkia, J. Y. De Vos, M. Elseviers [et al.] // EDTNA/ERCA J. — 2006. — V. 32 (1). — P. 33–37.
4. Mortality after kidney transplantation: a comparison between the United States and Canada / S. J. Kim, D. E. Schaubel, S. S. Fenton [et al.] // Am. J. Transplant. — 2006. — V. 6 (1). — P. 109–114.

*V.V. Zakharov, S.A. Varibrus, O.V. Zakharova*

#### ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОТОКОЛОВ ИНДУКЦИОННОЙ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ ПОСЛЕ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ ТРУПНОЙ ПОЧКИ

Проанализированы результаты 176 аллотрансплантаций трупной почки, выполненных в трансплантационном центре ДОКТМО. Первая исследуемая группа состояла из 61 пациента, которые получали Cell-sept; вторая — из 60 пациентов, принимавших Zенаракс; третья — из 55 человек, получавших азатиоприн. Дана оценка эффективности протоколов индукционной иммуносупрессивной терапии после аллотрансплантации трупной почки.

*Ключевые слова:* трансплантация почки, иммуносупрессивная терапия, селл-септ, зенапакс.

*V.V. Zakharov, S.A. Varibrus, O.V. Zakharova*

#### EFFICIENCY OF THE NEW PROTOCOLS FOR INDUCTION IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY AFTER CADAVERIC KIDNEY TRANSPLANTATION

The results of 176 allotransplantations of a cadaveric kidney executed in the Donetsk transplantation centre is analyzed. The first investigated group consisted from 61 patients who received Cell-sept; the second group — from 60 patients accepting Zenapax; the third group — from 55 persons received Azatioprin. The estimation of efficiency of reports of induction therapy of immunosuppression after allotransplantation of a cadaveric kidney is given.

*Key words:* kidney transplantation, immunosuppression, Cell-Sept, Zenapax.

УДК 616.61-008.6-089.843

*Р.О. Зограб'ян, О.В. Закрутько, В.Ф. Закордонець, С.Є. Харченко,  
В.М. Торак, С.М. Бочарніков, В.В. Шелест*

*Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова  
НАМН України, м. Київ*

## **ДОДІАЛІЗНА ТРАНСПЛАНТАЦІЯ НИРКИ ВІД ЖИВОГО РОДИННОГО ДОНОРА: ПРИВАБЛИВА АЛЬТЕРНАТИВА**

Проведено аналіз результатів додіалісної трансплантації нирки від живого родинного донора. Показано, що така лікувальна тактика не тільки не поступається традиційній алотрансплантації нирки, яку виконують пацієнтам з хронічною нирковою недостатністю, які знаходяться на підтримуючому гемодіалізі, а й має ряд переваг. Останні можуть сприяти росту виживання ниркового алотрансплантата та реципієнтів. Крім того, такий підхід дозволить зберегти життя більшої кількості хворих з термінальною хронічною нирковою недостатністю за умов дефіциту діалітичних місць в Україні.

**Ключові слова:** трансплантація нирки, родинний донор.

З кожним роком в Україні спостерігається значне збільшення хворих на термінальну хронічну ниркову недостатність (ТХНН). У нефрологічній практиці при лікуванні хворих з ТХНН зазвичай комбінують різні методи замісної терапії, але частіше за все застосовують перитонеальний діаліз або гемодіаліз з подальшою алотрансплантацією нирки (АТН) [1, 2]. Однак уникнути прогресування хронічної ниркової недостатності (ХНН) та її ускладнень пацієнтам, що отримують сеанси гемодіалізу, не можливо. Відомо, що перебування на гемодіалізі призводить до характерних ускладнень з боку всіх органів та тканин, насамперед серцево-судинної системи (гіпертензія, анемія, ретенція натрію та води, атеросклероз). Поступово прогресують метаболічні порушення: фосфорно-кальцієвого обміну (вторинний гіперпаратиреоз), білкового обміну та ін. В процесі лікування існує ризик інфікування гепатитами В та С, а також сенсibiлізації пацієнта внаслідок переливання донорської крові: приблизно 40 % хворих, що очікують на трансплантацію нирки, мають високий рівень передіснуючих цитотоксичних антитіл, які перешкоджають підбору сумісного донорського органа та значно подовжують час його очікування. Відчуття залежності від апарату штучна нирка та косметичні дефекти А-В фістули, перитонеального катетера також погіршують якість життя хворих.

У США, країнах Європи та Азії з'явилась практика, коли при необхідності розпочати замісну терапію хворому пропонують додіалізну алотрансплантацію нирки (ДАТН). За статистикою, від 5 до 10 % трансплантацій виконується пацієнтам з вираженою ХНН, які ще не залежать від діалізу. Відмічено, що найбільші переваги такий підхід дає у хворих на цукровий діабет, оскільки дозволяє запобігти розвитку та прогресуванню у них діабетичних ускладнень. Такі хворі повинні направлятися у трансплантаційні центри при появі перших ознак ниркової недостатності [3–5].

Для України з її великим дефіцитом діалітичних місць ДАТН має ще й велике соціальне значення, тому що в змозі забезпечити спеціалізованою медичною допомогою додаткову кількість хворих.

**Матеріал і методи.** Проведена порівняльна оцінка результатів АТН у двох групах хворих. Досліджувану групу (I) склали 29 пацієнтів з ХНН IV–V ступенів, яким з січня 2006 року по липень 2011 року у відділенні трансплантації нирки Національного інституту хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова НАМН України виконано ДАТН від живого родинного донора. Рівень креатиніну на момент операції у них коливався у межах від 0,44 до 0,95 ммоль/л. За характером первинного захворювання нирок I група включала: хворих на цукровий діабет — 7 пацієнтів, хронічний гломе-

© Р.О. Зограб'ян, О.В. Закрутько, В.Ф. Закордонець та ін., 2011

рулонефрит — 22 пацієнти. Вік реципієнтів знаходився у межах від 17 до 52 років. Контрольну групу (II) склали 29 хворих на ТХНН, яким також була виконана АТН від живого родинного донора, якій передувала терапія гемодіалізом протягом 2 років та більше. За віковими ознаками та основному захворюванню нирок хворі обох груп не розрізнялися. Усім хворим в до- та післятрансплантаційному періоді проводилися інструментальні та лабораторні методи обстеження за загальноприйнятою методикою (загальний аналіз крові та сечі, біохімічний аналіз крові, ЕхоКГ, дуплексне сканування трансплантата і т. п.). В післятрансплантаційному періоді всі реципієнти отримували 4-компонентну імуносупресивну терапію (зенапакс, сандімум-неорал, селл-септ, метилпреднізолон). Критеріями порівняльної оцінки були характерні показники відновлення функції ниркового алотрансплантата (НАТ) за рівнем креатиніну крові, показниками кальцієво-фосфорного обміну, ліпідного спектра крові, епізодів гострого відторгнення нирки та інші ускладнення.

Обробка результатів дослідження проводилась з використанням методів варіаційної статистики. Статистична вірогідність оцінювалась критеріями  $\chi^2$  та Стьюдента.

**Результати та їх обговорення.** При порівнянні отриманих клініко-лабораторних результатів дотрансплантаційного статусу реципієнтів I групи та хворих II групи, які знаходились на лікуванні гемодіалізом більше 2 років, встановлено: гемоглобін менше 80 г/л відмічався лише у 6 реципієнтів I гру-

пи (20,6 %) та у 15 пацієнтів II групи (51 %),  $p < 0,05$ . Гіпокальціємія ( $Ca^{+} < 2,1$  ммоль/л) у реципієнтів II групи зустрічався частіше (у 21; 72,4 %), ніж у I групі (у 12; 41 %),  $p < 0,05$ . Гіперфосфатемія ( $P^{+} > 1,55$  ммоль/л) в II групі відмічалася частіше (у 19; 65,5 %) реципієнтів), ніж в I групі (у 5; 17,2 %),  $p < 0,01$ . Підвищення рівня загального холестерину більше 6,5 г/л спостерігалось у 11 (37,9 %) хворих II групи та у 3 (10,3 %) хворих I групи ( $p < 0,05$ ). Дані представлено в табл. 1.

Як видно із даних табл. 1, у реципієнтів НАТ I групи в дотрансплантаційному періоді значно рідше виявляли супутні захворювання. Так, виразкова хвороба шлунка та 12-палої кишки виявлена у 9 з 29 реципієнтів (31 %) II групи і лише у 3 (10,3 %) I групи. Також більше реципієнтів II групи були інфіковані вірусами гепатитів В і С. В I групі гепатит В виявлено у 3 (10,3 %), а гепатит С зафіксовано у 1 (3,4 %) реципієнта, в той час як у II групі гепатит В виявлено у 44,8 %, гепатит С — у 17,2 % реципієнтів. При порівнянні обох груп кількість сенсibilізованих хворих ( $PRA > 30$  %) була більше в II групі та складала 8 (27,5 %) та 3 (10,3 %) відповідно.

При порівнянні даних ЕхоКГ в дотрансплантаційному періоді відмічено, що у хворих I групи менше виражена гіпертрофія міокарда лівого шлуночка (ГМЛШ). Задня стінка лівого шлуночка (ЗСЛШ) мала розмір більше 1,1 см у 3 реципієнтів (10,3 %) в I групі і у 13 реципієнтів (44,8 %) в II групі. Товщина міжшлуночкової перегородки

Таблиця 1. Доопераційні клініко-лабораторні показники та супутня патологія у реципієнтів з ХНН

| Показник  | Досліджувана група (n=29) | Контрольна група (n=29)  |
|---|---------------------------|--------------------------|
| Hb < 80 г/л   | 6 (20,6 %)                | 15 (51,0 %)*             |
| Сечовина крові, ммоль/л                             | 19,9 ± 6,5                | 32,2 ± 6,2               |
| Креатинін крові, ммоль/л                            | 0,6480 ± 0,0492           | 0,6870 ± 0,0885          |
| Кальцій < 2,1 ммоль/л                               | 12 (41,0 %)               | 21 (72,0 %)*             |
| Фосфор > 1,55 ммоль/л                               | 5 (17,2 %)                | 19 (65,5 %) <sup>#</sup> |
| АТ на тлі гіпотензивної терапії > 140/80 мм рт. ст. | 11 (37,9 %)               | 16 (55,1 %)              |
| Холестерин > 6,5 г/л                                | 3 (10,3 %)                | 11 (37,9 %)*             |
| Виразкова хвороба 12-палої кишки                    | 3 (10,3 %)                | 9 (31,0 %)               |
| Хронічний гепатит В                                 | 3 (10,3 %)                | 13 (44,8 %) <sup>#</sup> |
| Хронічний гепатит С                                 | 1 (3,4 %)                 | 5 (17,2 %)               |
| Сенсibilізація (PRA > 30 %)                         | 3 (10,3 %)                | 8 (27,5 %)               |

\*  $p < 0,05$ ; <sup>#</sup>  $p < 0,01$ .

(ТМШП) більше 1,1 см спостерігалась у 3 реципієнтів (10,3 %) I групи, в той же час ця ознака спостерігалась у 15 реципієнтів (51,7 %) II групи ( $p < 0,01$ ). Фракція викиду (ФВ) менше 50 % виявлялась у 3 з 29 реципієнтів (10,3 %) I групи і у 5 реципієнтів (17,2 %) — II групи. Дані представлено в табл. 2.

Таблиця 2. Показники ЕхоКГ у хворих I та II групи до АТН

| Показник        | Досліджувана група (n=29) | Контрольна група (n=29)  |
|-----------------|---------------------------|--------------------------|
| ЗСЛШ > 1,1 см   | 3 (10,3 %)                | 13 (44,8 %)*             |
| Маса ЛШ > 250 г | 1 (3,4 %)                 | 11 (37,9 %) <sup>#</sup> |
| ТМШП > 1,1 см   | 3 (10,3 %)                | 15 (51,7 %)*             |
| ФВ < 50 %       | 3 (10,3 %)                | 5 (17,2 %)               |

\*  $p < 0,05$ ; <sup>#</sup>  $p < 0,01$ .

При аналізі показників ЕхоКГ через 6 місяців після АТН ми встановили, що маса ЛШ більше 250 г у реципієнтів I групи відмічалась у 1 реципієнта (3,4 %), а в II групі — у 7 (24,1 %). ТМШП та ЗСЛШ більше 1,1 см також відмічались у 1 реципієнта I групи (3,4 %), а в II групі спостерігались у 10 реципієнтів (34,4 %). ФВ < 50 % в II групі було виявлено у 2 реципієнтів (6,9 %), в I групі ФВ < 50 % не спостерігалась ( $p < 0,01$ ). Дані представлено в табл. 3.

Таблиця 3. Показники ЕхоКГ в динаміці через 6 місяців після АТН

| Показник        | Досліджувана група (n=29) | Контрольна група (n=29) |
|-----------------|---------------------------|-------------------------|
| Маса ЛШ > 250 г | 1 (3,4 %)                 | 7 (24,1 %)              |
| ТМШП > 1,1 см   | 1 (3,4 %)                 | 10 (34,4 %)*            |
| ЗСЛШ > 1,1 см   | 1 (3,4 %)                 | 10 (34,4 %)*            |
| ФВ < 50 %       | 0 (0 %)                   | 2 (6,9 %)               |

\*  $p < 0,01$ .

Таблиця 4. Показники ліпідів крові у реципієнтів обох груп через 6 місяців після АТН

| Показник                              | Досліджувана група (n=29) | Контрольна група (n=29)  |
|---------------------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Сечовина крові, ммоль/л               | 7,90±0,15                 | 8,30±0,35                |
| Креатинін крові, ммоль/л              | 0,099±0,045               | 0,127±0,015              |
| Кальцій < 2,1 ммоль/л                 | 0 (0 %)                   | 2 (6,9 %)                |
| Фосфор > 1,55 ммоль/л                 | 0 (0 %)                   | 3 (10,3 %)               |
| Холестерин > 6,5 г/л                  | 4 (13,7 %)                | 12 (41,3 %)*             |
| Коефіцієнт атерогенності більше норми | 4 (13,7 %)                | 14 (48,2 %) <sup>#</sup> |

\*  $p < 0,05$ ; <sup>#</sup>  $p < 0,025$ .

Дані показників креатиніну крові обох груп через 6 місяців після АТН знаходилися в межах норми, але у реципієнтів I групи креатинін крові був відносно нижче — в середньому (0,099±0,045) ммоль/л, ніж в групі II — (0,127±0,015) ммоль/л. Кальцій крові ( $\text{Ca}^{+} < 2,1$  ммоль/л) в біохімічних показниках через 6 місяців після АТН у реципієнтів I групи не зустрічався, а в II групі виявлено у 2 (6,9 %) реципієнтів. Гіперфосфатемія ( $\text{P}^{+} > 1,55$  ммоль/л) у II групі відмічалась у 3 реципієнтів (10,3 %), в той час як у всіх хворих I групи цей показник не перевищував норми.

Показники ліпідного спектра крові через 6 місяців після АТН у I групі були нижчі, ніж у II групі. Так, перевищення нормального рівня загального холестерину крові (більше 6,5 ммоль/л) спостерігалось у 4 реципієнтів (13,7 %) I групи та у 12 реципієнтів II групи (41,3 %). Коефіцієнт атерогенності через 6 місяців після АТН більше норми був у 3 реципієнтів I групи (10,3 %) та у 14 реципієнтів II групи (48,2 %),  $p < 0,05$ . Дані представлено в табл. 4.

Показники дуплексного сканування НАТ через 6 місяців після АТН у хворих обох груп були в межах норми.

Криз гострого відторгнення НАТ у післяопераційному періоді діагностовано у 6 реципієнтів II групи (20,6 %) та у 3 (10,3 %) реципієнтів I групи. Для лікування кризи відторгнення всі реципієнти отримали пульс-терапію за схемою (2000 мг солу-медролу), функцію НАТ було поновлено.

Таким чином, проведено дослідження результатів клінічного обстеження та лабораторних показників реципієнтів обох груп показало, що пацієнти, яким виконано трансплантацію нирки в додіалізованому періоді, не тільки не поступаються реципієнтам II групи, а мають певною мірою кращі показники. Це проявляється меншими проявами порушень з боку кальцієво-фосфор-

ного, ліпідного обмінів, а також ускладнень з боку серцево-судинної системи як у передтрансплантаційному періоді, так і в перші півроку після АТН. Відомо, що важливим прогностично несприятливим фактором за умов лікування гемодіалізом є ГМЛШ. Встановлено, що збільшення індексу маси міокарда ЛШ на  $1 \text{ г/м}^2$  призводить до підвищення відносного ризику смерті на 1 % у віддалені строки лікування ПГД. Тому той факт, що ГМЛШ у реципієнтів досліджуваної групи зустрічалась достовірно рідше, дозволяє прогнозувати у цих хворих меншу вірогідність смерті з функціонуючим трансплантатом та, як наслідок, зростання виживання НАТ та реципієнтів. Інфікованість гепатитами В та С також негативно позначається на результатах виживання НАТ.

#### Висновки

1. Хворі, яким виконана додіалізна алотрансплантація нирки, не тільки не поступались реципієнтам II групи, а мали певні

переваги перед хворими, які отримували замісну терапію гемодіалізом, що проявляється меншою вираженістю серцево-судинних захворювань (гіпертензія, анемія, гіпертрофія міокарда лівого шлуночка, атеросклероз), метаболічних порушень (дисліпідемія, фосфорно-кальцієвий обмін), інфікованості гепатитами В та С, сенсibiliзації до чужорідних антитіл (PRA).

2. Виконана в азотемічній стадії додіалізна алотрансплантація нирки дозволить зменшити ускладнення в післятрансплантаційному періоді за рахунок зниження ризику серцево-судинної патології та цим покращити прогноз виживання пацієнтів з функціонуючим нирковим алотрансплантатом.

3. За умов дефіциту діалізних місць додіалізна алотрансплантація нирки збільшить забезпеченість спеціалізованою медичною допомогою хворих на хронічну ниркову недостатність в термінальній стадії, життя яких залежить від замісної терапії.

#### Список літератури

1. Бикбов Б. Т. Выживаемость и факторы риска неблагоприятных исходов у больных на программном гемодиализе / Б. Т. Бикбов // Нефрология и диализ. — 2004. — Т. 6, № 4. — С. 280–296.
2. Данович Г. М. Руководство по трансплантации / Г. М. Данович ; пер. с англ. ; под ред. Я. Г. Мойсюка. — Тверь : Триада, 2004. — С. 169–170.
3. Пиминова Т. А. О сроках выполнения аллотрансплантации почки / Т. А. Пиминова // Проблемы медицины и биологии : материалы межрегионал. науч.-практ. конференции. — Кемерово, 2003. — С. 173–174.
4. Сальмайер А. А. Первый опыт додиализной аллотрансплантации почки / А. А. Сальмайер, Т. А. Пиминова // Настоящее и будущее технологической медицины : материалы Всерос. науч.-практ. конференции. — Ленинск-Кузнецкий, 2002. — С. 148–185.
5. National Kidney Foundation: DOQI Clinical Practice Guidelines for Hemodialysis Adequacy // Am. J. Kidney Dis. — 1997. — V. 30, supp. 1–2. — P. S15–S66.
6. Preemptive kidney transplantation: The advantage and the advantaged / B. L. Kasiske, J. J. Snyder, A. J. Matas [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. — 2002. — V. 13. — 1358–1364.
7. Why do preemptive kidney transplant recipients have an allograft survival advantage? / J. S. Gill, M. Tonelli, N. Johnson, B. J. Pereira // Transplantation. — 2004. — V. 78. — P. 873–879.
8. Preemptive transplantation for patients with diabetes-related kidney disease / B. N. Becker, S. H. Rush, D. M. Dykstra [et al.] // Arch. Intern. Med. — 2006. — V. 166. — P. 44–48.

*Р.О. Зограбян, А.В. Закрутько, В.Ф. Закордонец, С.Е. Харченко, В.М. Торак, С.Н. Бочарников, В.В. Шелест*

#### ДОДИАЛИЗНАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПОЧКИ ОТ ЖИВОГО РОДСТВЕННОГО ДОНОРА: ПРИВЛЕКАТЕЛЬНАЯ АЛЬТЕРНАТИВА

Приведен анализ результатов додиализной трансплантации почки от живого родственного донора. Показано, что такая лечебная тактика не только не уступает традиционной аллотрансплантации почки, которую выполняют пациентам с хронической почечной недостаточностью, находящимся на поддерживающем гемодиализе, но и имеет ряд преимуществ. Последние могут способствовать росту выживания почечного аллотрансплантата и реципиентов. Кроме того, такой подход позволит сохранить жизнь большему количеству больных с терминальной хронической почечной недостаточностью в условиях дефицита диализных мест в Украине.

**Ключевые слова:** трансплантация почки, семейный донор.

*R.O. Zograbyan, O.V. Zakrutko, V.F. Zakordonets, S.Ye. Harchenko, V.M. Torak, S.M. Bocharnikov, V.V. Shelest*

**PREDIALYSIS KIDNEY TRANSPLANTATION FROM A LIVING RELATED DONOR: AN ATTRACTIVE ALTERNATIVE**

The results of predialysis kidney transplantation from a living related donor was analyzed. It was shown, that this therapeutic tactics not only not inferior to traditional kidney allotransplantation, which performed in patients with chronic renal failure who are on hemodialysis supportive, but has several advantages. These advantages may promote the growth of renal allograft survival and recipients. It may beneficially effect patient and allograft survival as well as facilitate saving lives of ESRD patients in Ukraine.

*Key words: kidney transplantation, related donor.*

УДК 612.015:616.61-008.64-036.12+616

*Р.О. Зограб'ян*

*Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова  
НАМН України, м. Київ*

## **ПОПЕРЕДЖЕННЯ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРFUЗІЙНОГО ПОШКОДЖЕННЯ НИРКОВОГО АЛОТРАНСПЛАНТАТА**

З метою покращання віддалених результатів алотрансплантації нирки розроблена методика профілактики порушень ініціальної функції трансплантата, яка спрямована на попередження його ішемічно-реперфузійного пошкодження і передбачає введення препаратів антиоксидантної дії «Ліпін» та «Кверцетин» (корвітин) потенційному донору на етапі кондиціювання, реципієнту інтраопераційно і надалі в перші 3–5 діб після операції, та застосування консервуючого розчину з вираженими антиоксидантними властивостями «Кустодіол». Проведено аналіз ефективності запропонованої методики за її впливом на стан процесів вільнорадикального окиснення та систему антиоксидантного захисту донорів та реципієнтів ниркового алотрансплантата, а також за клінічними показниками, що відображають характер відновлення функції трансплантованої нирки в ранньому посттрансплантаційному періоді. Встановлено, що введення антиоксидантів ліпіну і корвітину істотно знижує ступінь активації перекисного окиснення ліпідів у сироватці крові та еритроцитах, підвищує активність і вміст компонентів антиоксидантної системи як у донорів, так і у реципієнтів ниркового алотрансплантата. Відмічено також достовірне зниження кількості первинно нефункціонуючих трансплантатів з 12,5 до 5,1 %, частоти відстроченої функції трансплантата з 32,5 до 15,4 %, зменшення періоду відновлення азотовидільної функції трансплантата з 17,9 до 8,4 дня і кількості сеансів гемодіалізу в посттрансплантаційному періоді з 9,7 до 4,5; покращання функції трансплантата на першому тижні і наприкінці першого місяця після операції.

**Ключові слова:** трансплантація нирки, ішемічно-реперфузійне пошкодження, вільні радикали кисню, антиоксиданти.

Незважаючи на значні успіхи трансплантології та досягнення високих показників короткострокового виживання ниркових алотрансплантатів (НАТ), боротьба за подовження терміну їх функціонування залишається актуальним завданням [1, 2]. Як свідчать дані літератури та результати власних досліджень, незадовільна початкова функція НАТ є одним з факторів ризику його втрати як в ранньому, так і у віддаленому післятрансплантаційному періодах, сприяючи розвитку як гострого відторгнення, так і хронічної дисфункції пересаженої нирки [3–6]. Причиною відстроченої функції НАТ (ВФТ) найчастіше є ішемічно-реперфузійне пошкодження (ІРП) донорського органа [7]. За часом виникнення цього пошкодження виділяють три етапи: 1-й — в організмі донора під час агонії та операції вилучення нирок; 2-й — період консервації та холодової ішемії; 3-й — реперфузійне по-

шкодження нирки в організмі реципієнта після включення органа в кровообіг.

За даними [8] і наших досліджень [9, 10], суттєву роль у механізмі ішемічного пошкодження НАТ в організмі донора та реперфузійного пошкодження в організмі реципієнта відіграє активація перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) на тлі пригнічення компонентів антиоксидантної системи (АОС). Тому блокування цього патогенетичного механізму повинно було б покращити показники функції трансплантованої нирки. В той же час існують як експериментальні, так і поодинокі клінічні дані про застосування антиоксидантів для зменшення ІРП НАТ [11, 12]. Однак думки різних авторів щодо ефективності використаних препаратів не співпадають.

Мета нашого дослідження — вдосконалити методику протиішемічного захисту ниркового алотрансплантата та оцінити ефективність запропонованих методів.

© Р.О. Зограб'ян, 2011

**Матеріал і методи.** Вилучення органів проводилося у трупних донорів після констатації смерті мозку. Під час кондиціонування донорів проводилася корекція водно-електролітного та кислотно-лужного балансу, показників центральної гемодинаміки (систоличний артеріальний тиск не менше 100 мм рт. ст., центральний венозний тиск не менше 100 мм водн. ст.) та сечовиділення (не менше 100 мл/год). Операція вилучення донорських нирок у всіх випадках виконувалась за стандартною методикою. Всі донорські органи підлягали безперфузійній холодовій консервації із застосуванням консервуючих розчинів.

Всі реципієнти на операційному столі перед включенням донорського органа в кровообіг отримували манітол в дозі 1 г/кг маси тіла, 60 мг фуросеміду, а також 500 мг метилпреднізолону. Увагу анестезіолога спеціально звертали на досягнення до цього моменту достатньо високого, більше 100 мм водн. ст., центрального венозного тиску, артеріального тиску не менше 140/80 мм рт. ст.

З метою попередження ішемічно-реперфузійного пошкодження нирки 22 донори та 39 реципієнтів отримали додатково до стандартного лікування антиоксиданти (АО): препарати «Ліпін» та «Кверцетин» (корвітин). АО вводили внутрішньовенно донору на етапі кондиціонування перед вилученням органів та реципієнту перший раз перед включенням нирки у кровообіг (за 30–60 хв) і далі протягом 3–5 днів. Ліпін у дозі 10–20 мг/кг і кверцетин у дозі 500 мг вводили 1 раз на добу. Дані препарати були запропоновані виходячи із їх властивостей: доведений їх антиоксидантний, антигіпоксичний, мембраностабілізуючий, антиагрегантний та антигіперліпідемічний ефекти, а також їх здатність покращувати гемореологію та мікроциркуляцію. Існують також дані про протизапальні властивості кверцетину, які реалізуються за рахунок зменшення продукції прозапальних цитокінів. Крім того, з метою зменшення ІРП для консервації органа ми застосовували замість розчину «Євро-Коллінз» розчин «Кустодіол» (ГТК — гістидин-триптофан-кетоглютарат), який на відміну від попереднього має виражені антиоксидантні властивості [13].

Донори досліджуваної групи — 15 чоловіків та 7 жінок — були віком від 22 до 53 років. У 14 осіб був встановлений діагноз черепно-мозкова травма та у 8 — гостре порушення мозкового кровообігу, у 12 осіб зберігалася стабільна гемодинаміка, а добовий

діурез і рівень креатиніну крові був у межах норми (1-ша група). У 10 осіб гемодинаміка була нестабільною, діурез був менш як 50 мл/год протягом 12 годин, а рівень креатиніну крові перевищував 0,15 ммоль/л (2-га група).

Реципієнти досліджуваної групи — 26 чоловіків та 14 жінок — були віком від 14 до 53 років. Причиною розвитку термінальної хронічної ниркової недостатності були: хронічний гломерулонефрит — у 24, хронічний пієлонефрит — у 8, аномалія розвитку нирок — у 5, полікістоз — у 2, діабетична нефропатія — у 1 пацієнта.

Групи порівняння склали 40 донорів і 40 реципієнтів, які були порівнянні з пацієнтами досліджуваних груп за статтю, віком та основним діагнозом. Пацієнти цих груп не отримували ліпін і кверцетин, а консервація донорських нирок проводилася розчином «Євро-Коллінз».

Контрольну групу склали 22 здорові донори.

Для біохімічного контролю за станом нирок, оцінки ступеня пошкодження паренхіми нирок використовували рівень креатиніну крові та показник активності специфічного для нирок ферменту — трансамінази (ТА). Підвищення активності ТА в крові може бути обумовлене лише руйнуванням клітин паренхіми нирок, зокрема епітелію каналців.

Активність процесів ПОЛ оцінювали за концентрацією кінцевого продукту малонового діальдегіду (МДА) в сироватці крові і еритроцитах. Про стан системи антиоксидантного захисту робили висновок за вмістом церулоплазміну (ЦП) та трансферину (Тр), активністю основних ферментів антирадикального та антиперекисного захисту: супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ), загальною пероксидазною активністю (ЗПА) еритроцитів та вмістом сульфгідрильних груп (SH).

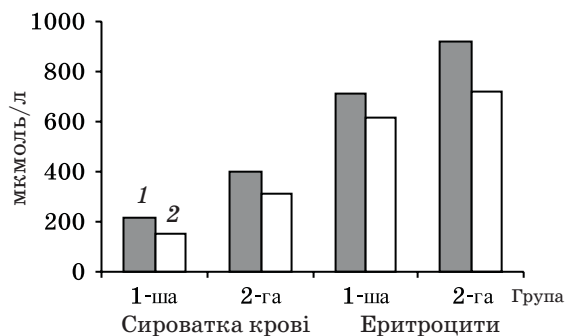
Клінічну оцінку ефективності терапії проводили за кількістю первинно нефункциюючих НАТ, частотою ВФТ, терміном відновлення азотовидільної функції НАТ, кількістю сеансів гемодіалізу після алотрансплантації нирки (АТН), вмістом реноспецифічної ТА в крові в перший тиждень після АТН та рівнем креатиніну наприкінці першого тижня та через 1 місяць після АТН.

**Результати та їх обговорення.** Показники ПОЛ та АОС у 22 донорів трупних ниркових трансплантатів визначали до та через 1 годину після введення антиоксидантів.

Нами констатовані позитивні зміни в системі ПОЛ та АОС, особливо в 2-й групі донорів (з нестабільною гемодинамікою): виявлене зменшення напруженості процесів ПОЛ як у сироватці крові, так і в мембранах еритроцитів в обох групах донорів (рисунок).

Статистично достовірне зниження рівня МДА мембран еритроцитів на 23 % констатовано у донорів 2-ї групи — з  $(923 \pm 58)$  до  $(711 \pm 34)$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ). Також визначені позитивні зміни в активності ферментів антирадикального та антиперекисного захисту у потенційних донорів обох груп (табл. 1): активність СОД збільшилася на 18 та 27 %, активність КТ зменшилася на 36,3 та 31 % у хворих 1-ї та 2-ї груп відповідно.

Після лікування АО вміст ЦП у донорів 2-ї групи істотно збільшився в порівнянні з



Динаміка рівня МДА сироватки та еритроцитів крові донорів нирок до (1) та після (2) введення антиоксидантів

його рівнем до введення (табл. 2). Відбулися позитивні зміни і у вмісті Тр, який наблизився до норми на 9 %. Динаміку до нормалізації констатовано і в концентрації

Таблиця 1. Активність ферментів антирадикального та антиперекисного захисту в крові потенційних донорів до та після введення антиоксидантів ( $M \pm m$ )

| Показник                              | Контрольна група (n=22) | Донори групних нирок |                     |
|---------------------------------------|-------------------------|----------------------|---------------------|
|                                       |                         | група 1 (n=12)       | група 2 (n=10)      |
| <i>Сироватка крові</i>                |                         |                      |                     |
| СОД, у. о./хв·мг білка до введення АО | $0,173 \pm 0,009$       | $0,139 \pm 0,016$    | $0,121 \pm 0,009$   |
| після введення АО                     |                         | $0,165 \pm 0,021^*$  | $0,154 \pm 0,011^*$ |
| КТ, мкат/л до введення АО             | $16,8 \pm 6,2$          | $39,5 \pm 4,7$       | $60,6 \pm 8,3$      |
| після введення АО                     |                         | $25,2 \pm 3,9^*$     | $42,2 \pm 6,8^*$    |
| <i>Еритроцити</i>                     |                         |                      |                     |
| ЗПА, мкмоль/хв·г Нь до введення АО    | $485 \pm 24$            | $64 \pm 64$          | $425 \pm 52$        |
| після введення АО                     |                         | $502 \pm 72$         | $432 \pm 39$        |

\*  $p < 0,05$ ; різниця між показником до та після введення АО достовірною. Тут і в табл. 2.

Таблиця 2. Вміст ЦП, Тр та SH-груп компонентів АОС в сироватці крові донорів нирок до та після введення антиоксидантів ( $M \pm m$ )

| Показник                         | Контрольна група (n=22) | Донори групних нирок |                   |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------|-------------------|
|                                  |                         | група 1 (n=12)       | група 2 (n=10)    |
| ЦП, мкмоль/л до введення АО      | $2,55 \pm 0,14$         | $2,52 \pm 0,12$      | $1,57 \pm 0,14$   |
| після введення АО                |                         | $2,45 \pm 0,22$      | $2,11 \pm 0,09^*$ |
| Тр, г/л до введення АО           | $2,40 \pm 0,30$         | $2,11 \pm 0,13$      | $1,70 \pm 0,12$   |
| після введення АО                |                         | $2,24 \pm 0,12$      | $1,90 \pm 0,17$   |
| SH-групи, ммоль/л до введення АО | $2,22 \pm 0,07$         | $1,84 \pm 0,09$      | $2,03 \pm 0,11$   |
| після введення АО                |                         | $2,10 \pm 0,12^*$    | $2,12 \pm 0,11$   |

SH-груп у донорів обох груп. Позитивні зрушення відбулися в обміні  $Fe^{2+}$  (найсильніших оксидантів крові та ініціаторів процесів неферментативного та ферментативного ПОЛ) та його транспорті у середину клітини, особливо у донорів 2-ї групи.

Аналіз динаміки показників ПОЛ та АОС у реципієнтів НАТ показав (табл. 3), що застосування АО сприяє позитивній динаміці процесів ПОЛ (концентрація МДА у сироватці крові істотно знижувалася вже через 1 годину після введення АО, а на 3-тю-5-ту добу після операції вона була достовірно нижче, ніж у групі порівняння).

Таблиця 3. Концентрація МДА в крові реципієнтів НАТ до та після введення антиоксидантів, ( $M \pm m$ ) мкмоль/л

| Термін спостереження     | Дослідна група (n=28)  | Група порівняння (n=40) |
|--------------------------|------------------------|-------------------------|
|                          | <i>Сироватка крові</i> |                         |
| До введення АО           | 538±65                 | 584±60                  |
| Через 1 годину після АО  | 400±24*                |                         |
| Через 3-5 днів після АТН | 270±64*                | 430±77                  |
|                          | <i>Еритроцити</i>      |                         |
| До введення АО           | 818±45                 | 841±35                  |
| Через 1 годину після АО  | 700±37                 |                         |
| Через 3-5 днів після АТН | 569±27*                | 680±42                  |

Примітка.  $p < 0,05$ , достовірно при порівнянні з показником: \* до лікування; # групи порівняння.

Застосування АО сприяло статистично достовірному збільшенню активності СОД вже через 1 годину після його введення на операційному столі: з (0,111±0,005) до (0,135±0,005) у. о./хв-мг білка ( $p < 0,05$ ), а через 3-5 діб показники СОД наближалися до норми та істотно перевищували такі у групі порівняння: (0,163±0,005) та (0,121±0,014) у. о./хв-мг білка відповідно ( $p < 0,05$ ). Помітні позитивні зміни відбулися у реципієнтів досліджуваної групи і з активністю каталази: тенденція до нормалізації спостерігалася вже через 1 годину після введення АО, а через 3-5 діб лікування ці зміни були статистично достовірними: відповідно (80,3±22,6) та (55,5±12,2) мкат/л проти (122,3±27,2) мкат/л до лікування. У групі порівняння активність КТ змінювалася недостовірно та залишалася істотно вищою, ніж у дослідній групі: (80,2±13,6) та (55,5±10,2) мкат/л відповідно ( $p < 0,05$ ).

ЗПА еритроцитів відновлювалася поступово. Статистично достовірне збільшення ЗПА констатовано у реципієнтів досліджуваної групи на 3-5-й день лікування: (460±13) проти (402±22) мкмоль/хв-г Нб

( $p < 0,05$ ). У пацієнтів групи порівняння зміни цього показника були недостовірними і залишалися значно нижчими за норму: (410±10) мкмоль/хв-г Нб. Це може бути негативним фактором, оскільки недостатність ЗПА призводить до зниження утилізації перекису водню та до накопичення його в крові, що, в свою чергу, може ініціювати ПОЛ.

Застосування АО сприяло підвищенню рівня ЦП, Тр та SH-груп у реципієнтів досліджуваної групи і на 3-5-й день лікування їх показники статистично достовірно підвищилися: з (1,842±0,066) до (2,210±0,035) мкмоль/л ( $p < 0,05$ ); з (2,00±0,11) до

(2,35±0,08) г/л ( $p < 0,05$ ) та з (1,52±0,13) до (2,02±0,15) ммоль/л ( $p < 0,05$ ) відповідно і наблизились до нормальних значень. У пацієнтів групи порівняння вміст ЦП, Тр та SH-груп практично не змінювався.

Для оцінки клінічної ефективності розробленої нами методики протиішемічного захисту проведено порівняльний аналіз процесу відновлення функції НАТ у двох групах реципієнтів: 1-шу групу склали 40 хворих, у лікуванні яких АО не застосовувалися, а донорський орган консервували розчином «Євро-Коллінз»; 2-гу групу склали 39 хворих, у яких на донорському, операційному та післяопераційному етапах застосовувалися АО, а в якості консерванта використовували розчин «Кустодіол» (табл. 4).

Отримані дані свідчать про те, що застосування системної антиоксидантної терапії на різних етапах трансплантаційного процесу прискорює відновлення функції НАТ: зменшується кількість первинно нефункціонуючих НАТ з 12,5 до 5,1 % ( $p < 0,05$ ), частота ВФТ з 32,5 до 15,4 % ( $p < 0,05$ ), кількість днів до відновлення азототвірної функції НАТ з (17,9±6,2) до (8,4±3,5) дня,

Таблиця 4. Показники відновлення функції НАТ у пацієнтів порівнювальних груп

| Показник   | 1-ша група (n=40) | 2-га група (n=39) |
|--|-------------------|-------------------|
| Кількість первинно нефункціонуючих НАТ             | 5 (12,5 %)        | 2* (5,1 %)        |
| Частота ВФТ  | 13 (32,5 %)       | 6* (15,4 %)       |
| Термін відновлення азотовидільної функції НАТ, діб | 17,90±6,22        | 8,4±3,5           |
| Кількість сеансів гемодіалізу після АТН            | 9,7±3,2           | 4,5±3,4           |

\* p<0,05, достовірно відносно показника групи порівняння.

а також кількість сеансів ГД після АТН з (9,7±3,2) до (4,5±3,4).

Аналіз динаміки ТА та рівнів креатиніну (табл. 5) на першому тижні після АТН при застосуванні розробленої нами методики показав, що застосування антиоксидантів «Ліпін» та «Кверцетин» зменшує ступінь пошкодження ниркових клітин та покращує процес відновлення функції НАТ у ранньому післятрансплантаційному періоді: рівень ТА та креатиніну в крові у реципієнтів досліджуваної групи був достовірно нижчим, ніж у групі порівняння.

пошкодження НАТ, який включає введення антиоксидантів «Ліпін» і «Кверцетин» (корвітин) донору під час його кондиціонування та реципієнту під час АТН і надалі в перші 3–5 діб після неї, а також застосування консервуючого розчину з вираженими антиоксидантними властивостями «Кустодіол» пригнічує напруженість процесів вільнорадикального окиснення, підвищує активність антиоксидантної системи, що зменшує ішемічно-реперфузійне пошкодження трансплантата та прискорює відновлення його функції. У свою чергу, це буде

Таблиця 5. Вміст ТА в сироватці крові та креатиніну у пацієнтів порівнювальних груп, ммоль/л

| Показник   | Реципієнти НАТ після АТН |                |
|--|--------------------------|----------------|
|  | група 1 (n=40)           | група 2 (n=39) |
| ТА в сироватці крові на першому тижні після АТН        | 0,528±0,011*             | 0,250±0,010    |
| Креатинін в сироватці крові на першому тижні після АТН | 0,655±0,038*             | 0,312±0,052    |
| через 1 місяць   | 0,181±0,018*             | 0,121±0,028    |

\* Статистично достовірна різниця при порівнянні показників груп 1 та 2.

Таким чином, розроблений нами спосіб попередження ішемічно-реперфузійного

сприяти підвищенню довгострокового виживання ниркових алотрансплантатів.

### Список літератури

1. *Никоненко А. С.* Морфологический анализ причин поздней дисфункции почечного аллотрансплантата / А. С. Никоненко, Т. Н. Никоненко, А. В. Трайлин // Трансплантологія. — 2007. — Т. 9, № 1. — С. 185–187.
2. *Отдаленные результаты трансплантации почки: динамика за последние 20 лет* / Н. А. Томила, И. Г. Ким, Е. С. Столяревич [и др.] // IV Всероссийский съезд трансплантологов : тезисы докладов. — М., 2008. — С. 163–165.
3. *Зограб'ян Р. О.* Роль гострого канальцевого некрозу і гострого відторгнення в розвитку хронічної дисфункції ниркового алотрансплантату / Р. О. Зограб'ян // Трансплантологія. — 2002. — Т. 3, № 1. — С. 112–113.
4. *McLaren A. J.* Delayed graft function: risk factors and the relative effects of early function and acute rejection on long-term survival in cadaveric renal transplantation / A. J. McLaren, W. Jasssem, D. W. R. Gray // Clin. Transplant. — 2004. — V. 13. — P. 266–272.
5. *Predictive factors in chronic allograft nephropathy* / M. P. Scolari, M. L. Cappuccilli, N. Lanci [et al.] // Transplantation Proceedings. — 2005. — V. 37, № 6. — P. 2482–2484.
6. *Ischemia-reperfusion injury in cadaveric nonheart beating, cadaveric heart beating and live donor renal transplants* / M. A. Gok, B. K. Shenton, M. Pelsers [et al.] // J. of Urology. — 2006. — V. 175, № 2. — P. 641–647.
7. *Koo D. H.* Impact of ischemia/reperfusion injury and early inflammatory responses in kidney transplantation / D. H. Koo, S. V. Fuggle // Transplantation Reviews. — 2000. — V. 14, № 2. — P. 210–224.

8. The role of free radicals in ischaemia-reperfusion injury of the transplanted kidney — preliminary report / Z. Wlodarczyk, J. Kedziora, M. Masztalerz [et al.] // *Transplantation*. — 2004. — V. 78, № 2, suppl. 1. — P. 221.

9. Зограб'ян Р. О. Стан вільнорадикального окислення у реципієнтів ниркового алотрансплантату в ранньому післятрансплантаційному періоді та його роль в патогенезі реперфузійного пошкодження пересаженого органа / Р. О. Зограб'ян, Л. В. Король, В. П. Закордонєць // *Світ медицини та біології*. — 2007. — № 1. — С. 28–34.

10. Зограб'ян Р. О. Роль процесів вільнорадикального окислення в патогенезі ішемічного пошкодження нирок в організмі потенційного донора / Р. О. Зограб'ян, Л. В. Король, В. П. Закордонєць // *Український журнал нефрології та діалізу*. — 2007. — № 2 (14). — С. 18–22.

11. Гриценко С. М. Протиішемічний захист донорських органів під час анестезії та інтенсивної терапії при трансплантації нирки та печінки / С. М. Гриценко // *Трансплантологія*. — 2002. — Т. 3, № 1. — С. 111–112.

12. Delayed graft function in kidney transplantation / N. Perico, D. Cattaneo, M. H. Sayegh, G. Remuzzi // *Lancet*. — 2004. — V. 364, issue 9447. — P. 1814–1827.

13. Вплив консервуючих розчинів на функціональні показники та виживаемість алотрансплантованих нирок / Р. О. Зограб'ян, В. Є. Андрусак, В. Є. Баран [та ін.] // *Трансплантологія*. — 2004. — Т. 7, № 3. — С. 107–109.

### *Р.О. Зограб'ян*

#### **ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕЧНОГО АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА**

В целях улучшения отдаленных результатов аллотрансплантации почки разработана методика профилактики нарушений инициальной функции трансплантата, которая направлена на предупреждение его ишемически-реперфузионного повреждения и предусматривает введение препаратов антиоксидантного действия «Липин» и «Кверцетин» (корвитин) потенциальному донору на этапе кондиционирования, реципиенту интраоперационно и далее в первые 3–5 дней после операции, а также использование консервирующего раствора с выраженными антиоксидантными свойствами «Кустодиол». Проведен анализ эффективности предложенной методики по ее влиянию на состояние процессов свободнорадикального окисления и систему антиоксидантной защиты доноров и реципиентов почечного аллотрансплантата, а также по клиническим показателям, отображающим характер восстановления функции трансплантированной почки в раннем посттрансплантационном периоде. Установлено, что введение антиоксидантов липина и корвитина существенно снижает степень активации перекисного окисления липидов в сыворотке крови и эритроцитах, повышает активность и содержание компонентов антиоксидантной системы как у доноров, так и у реципиентов почечного трансплантата. Отмечено также достоверное снижение количества первично нефункционирующих трансплантатов с 12,5 до 5,1 %, частоты отсроченной функции трансплантата с 32,5 до 15,4 %, уменьшение периода восстановления азотовыделительной функции трансплантата с 17,9 до 8,4 дня и количества сеансов гемодиализа в посттрансплантационном периоде с 9,7 до 4,5; улучшение показателей функции трансплантата к концу первой недели и концу первого месяца после операции.

**Ключевые слова:** трансплантация почки, ишемически-реперфузионное повреждение, свободные кислородные радикалы, антиоксиданты.

### *Р.О. Zograban*

#### **PREVENTION OF RENAL ALLOGRAFT ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY**

A new method to prevent ischemia/reperfusion injury, delayed renal allograft function and to improve the long-term outcomes of renal transplantation is proposed. According to the method antioxidant treatment with lipin and quercetin (korvitin) is administered to the donor before kidney removal and to the recipient during surgery before reperfusion and 3–5 days after as well as custodiol solution with advanced antioxidant properties is used for organ preservation and storage. The impact of the method on peroxidation activity and antioxidant system of donors and recipients, the prevalence and duration of delayed graft function was analyzed. Lipin and quercetin were shown to inhibit significantly lipid peroxidation in serum and erythrocytes, increase antioxidant potential in kidney donors and recipients. It was shown as well a significant reduction under suggested therapy in the prevalence of primary non-function (from 12,5 to 5,1 %) and delayed graft function (from 32,5 to 15,4 %), the shortened period of renal function recovery from 17,9 to 7,4 days and reduction of the number of posttransplant haemodialysis sessions from 9,7 to 4,5; improvement of renal function at one week and one month posttransplant.

**Key words:** renal transplantation, ischemia/reperfusion injury, free oxygen species, antioxidants.

УДК 616.37-002-02:616-002.1

*А.Б. Кебкало, Р.В. Салютин, Г.С. Лобинцева*

*Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, м. Київ  
Координаційний центр трансплантації органів, тканин і клітин  
МОЗ України, м. Київ  
Інститут клітинної терапії, м. Київ*

### **БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ В ПЛАЗМІ КРОВІ ХВОРИХ НА НЕКРОТИЧНИЙ ПАНКРЕАТИТ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ СТОVBУРОВИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ**

Дослідження проведені у хворих на некротичний панкреатит, які отримували стандартне лікування (контрольна група — 56 пацієнтів) або терапію із застосуванням біомедичних технологій (основна група — 39 хворих) — внутрішньовенно вводили стовбурові клітини кордової крові. Отримані результати показали безпечність та ефективність використання препаратів кріоконсервованих клітин кордової крові в схемі лікування хворих на некротичний панкреатит. Трансплантація клітин кордової крові протягом 3 тижнів сприяє суттєвому зниженню ступеня анемізації хворих на некротичний панкреатит, проте співвідношення клітинної і рідкої фаз крові контрольного рівня не досягає. Внутрішньовенне введення кордової крові сприяє зменшенню ступеня інтоксикації хворих на некротичний панкреатит, проте впродовж 3 тижнів спостереження нормалізація таких маркерів інтоксикаційного синдрому як лейкоцитарний індекс інтоксикації, індекс ядерного зсуву та швидкості осідання еритроцитів не відбувається. Застосування трансплантації стовбурових клітин кордової крові у комплексному лікуванні хворих на некротичний панкреатит сприяє нормалізації вмісту в крові глюкози, відбувається помірне підвищення рівня у крові загального білка і відносної кількості альбумінів. Вміст у плазмі крові креатиніну і сечовини залишається сталим і не відрізняється від контрольних показників. На 8-му–14-ту добу після початку лікування зникають прояви цитолітичного синдрому, які характеризуються підвищенням активності в крові аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази і гамма-глутамілтранспептидази. Активність лактатдегідрогенази також нормалізується, але пізніше — на 14-ту–21-шу добу спостереження. Звертає на себе увагу факт прогресивного підвищення активності в крові лужної фосфатази, що є непрямом ознакою приживлення стовбурових клітин в організмі хворих на некротичний панкреатит.

*Ключові слова: некротичний панкреатит, кордова кров, стовбурові клітини, біохімічні показники.*

Актуальність проблеми лікування некротичного панкреатиту (НП) зумовлена високою летальністю, яка становить, за даними різних авторів, від 30 до 60 %, та розвитком ускладнень, що викликають інвалідизацію населення працездатного віку [1]. Незважаючи на помітні успіхи в лікуванні НП, тенденції до зниження або стабілізації захворюваності не спостерігається [2–4]. Водночас залишаються невирішеними питання вибору адекватної консервативної терапії, термінів операційних втручань, способів їх здійснення, методів стимуляції процесів репаративної регенерації.

Останнім часом у лікуванні різноманітних захворювань людини застосовується кордова кров, яка містить більше стовбурових гемопоетичних клітин, ніж дорослий кістковий мозок [5], і є доступним джерелом стовбурових клітин, які мають високий проліферативний потенціал та ефективно використовуються для лікування ряду захворювань без підбору HLA-ідентичного донора [6]. Проте в лікуванні НП стовбурові клітини кордової крові (СККК) до цього часу не використовувались.

Мета роботи — визначити вплив внутрішньовенного введення стовбурових клі-

© А.Б. Кебкало, Р.В. Салютин, Г.С. Лобинцева, 2011

тин кордової крові на біохімічні зміни в крові хворих на некротичний панкреатит.

**Матеріал і методи.** Для комплексної оцінки впливу стовбурових клітин на основні параметри гомеостазу досліджували динаміку показників червоної і білої крові із визначенням індексу ядерного зсуву Савельєва–Боброва та лейкоцитарного індексу інтоксикації (ЛІІ) Кальф–Каліфа і швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ). Інкреторну функцію підшлункової залози оцінювали за інтегральним показником — концентрацією в плазмі крові глюкози. Функціональний стан печінки аналізували за вмістом у крові загального білка, альбумінів і сечовини, екскреторну функцію нирок — за плазмовим рівнем креатиніну. Ступінь цитолітичного синдрому оцінювали за активністю в крові аспартатамінотрансферази (АСТ), аланінамінотрансферази (АЛТ), гамма-глутамілтрансептидази (ГГТП) і лактатдегідрогенази (ЛДГ). Оскільки стовбурові клітини характеризуються дуже високою активністю лужної фосфатази (ЛФ), використання цього показника для оцінки синдрому цитолізу є некоректним. Водночас за динамікою активності в плазмі крові ЛФ можна опосередковано оцінювати тривалість виживання стовбурових клітин кордової крові (СККК) в організмі хворого на панкреонекроз. Саме з цією метою в роботі досліджувалась плазмова активність ЛФ. Біохімічні дослідження крові виконано на аналізаторі «Ultra» з використанням каліб-

раторів і наборів реактивів фірми «Коне» (Фінляндія). Білкові фракції крові визначали методом електрофорезу на апараті «Pagaon» із використанням денситометра «Argraise» фірми «Beckman» (США). Загальний аналіз крові проводили на гематологічному аналізаторі «Eltrac-11» фірми «AER» (Австрія). Усі хворі обстежені до початку лікування та на 2-гу–3-тю, 4-ту–7-му, 8-му–14-ту, 15-ту–21-шу доби після малоінвазивного втручання (МІВ). Після виконання МІВ хворим основної групи на 2-гу–3-тю добу трансплантували СККК.

Дослідження проведені у 39 хворих, які отримували лікування із застосуванням біомедичних технологій: основна група — пацієнти, яким внутрішньовенно вводили СККК. Основна група мала свою репрезентативну контрольну групу — 56 хворих. В якості показників норми брали дані здорових донорів крові (25 чоловік).

Динаміку показників крові у хворих на панкреонекроз контрольної групи наведено у табл. 1. На початку лікування кількість еритроцитів у пацієнтів із некрозом підшлункової залози була меншою за контроль на 18,0 %, на 1-шу добу лікування — на 23,1 %, на 2-гу–3-тю — на 23,6 %, на 4-ту–7-му — на 33,9 %, на 8-му–14-ту — на 39,4 %, на 15-ту–21-шу — на 41,6 %. У відповідні строки спостереження вміст у крові гемоглобіну був нижчим за контрольні показники на 18,9; 20,9; 23,1; 29,1; 32,5 і 36,3 %. Водночас змін з боку кольорового

Таблиця 1. Динаміка показників крові у хворих на некротичний

| Показник  | Контроль (n=25)   | Доби після                      |   |
|---|-------------------|---------------------------------|---|
|   |                   | 0 (вихідний рівень)             | 1-ша (МІВ)                                    |
| Еритроцити, $\times 10^{12}/л$                      | 4,16 $\pm$ 0,27   | 3,41 $\pm$ 0,19; $p_k < 0,01$   | 3,20 $\pm$ 0,15<br>$p > 0,3$ ; $p_k < 0,01$   |
| Гемоглобін, г/л                                     | 128,92 $\pm$ 3,45 | 104,6 $\pm$ 4,9; $p_k < 0,001$  | 102,0 $\pm$ 5,0<br>$p > 0,7$ ; $p_k < 0,001$  |
| Кольоровий показник, од.                            | 0,92 $\pm$ 0,03   | 0,92 $\pm$ 0,02; $p_k > 0,9$    | 0,96 $\pm$ 0,01<br>$p > 0,07$ ; $p_k > 0,3$   |
| Гематокрит, %                                       | 42,80 $\pm$ 2,12  | 29,03 $\pm$ 1,42; $p_k < 0,001$ | 30,71 $\pm$ 1,50<br>$p > 0,4$ ; $p_k < 0,001$ |
| Лейкоцитарний індекс інтоксикації Кальф–Каліфа, од. | —                 | 5,78 $\pm$ 0,52                 | 7,49 $\pm$ 0,80<br>$p < 0,05$                 |
| Індекс ядерного зсуву Савельєва–Боброва, од.        | 0,070 $\pm$ 0,012 | 0,44 $\pm$ 0,04; $p_k < 0,001$  | 0,45 $\pm$ 0,06<br>$p > 0,8$ ; $p_k < 0,001$  |
| ШОЕ, мм/год   | 9,17 $\pm$ 1,05   | 43,17 $\pm$ 4,10; $p_k < 0,001$ | 42,96 $\pm$ 3,74<br>$p > 0,9$ ; $p_k < 0,001$ |

Примітки: 1. МІВ — мініінвазивне втручання.

2. Різниця показників достовірною:  $p$  — щодо вихідного рівня;  $p_1$  — щодо даних у день МІВ;  $p_k$  —

показника практично не було, за винятком 8–14-ї діб спостереження, коли відбувалося його незначне підвищення, що можна пояснити несправньою гіперхромією внаслідок помірного гемолізу еритроцитів. Еритроцитопенія призводила до зниження гематокриту, який упродовж усього періоду спостереження був меншим за контроль: до початку лікування — на 13,8 %, на 1-шу добу лікування — на 12,1 %, на 2-гу–3-тю — на 14,1 %, на 4-ту–7-му — на 16,9 %, на 8-му–14-ту — на 20,1 %, на 15-ту–21-шу — на 15,8 %.

ЛПІ Кальф–Каліфа досягав дуже високих величин і не змінювався протягом усього періоду спостереження так само, як і індекс ядерного зсуву Савельєва–Боброва, який був вищим за контроль до початку лікування — в 6,3 разу, на 1-шу добу лікування — в 6,4 разу, на 2-гу–3-тю — в 6,0 разів, на 4-ту–7-му — в 5,6 разу, на 8-му–14-ту — у 5,0 разів, на 15-ту–21-шу — у 5,1 разу. У відповідні строки спостереження ШОЕ перевищувала контрольні показники в 4,7; 4,7; 4,4; 4,3; 4,5 і 4,2 разу.

Таким чином, упродовж усього спостереження у хворих на панкреонекроз прогресує нормохромна анемія, що свідчить про значне пригнічення еритроїдного ростка кісткового мозку, котре зумовлено синдромом ендогенної інтоксикації і викликає суттєве зниження гематокриту. Значне збільшення індексу ядерного зсуву Савельєва–Боброва вліво свідчить про тяжкий стан

хворих, що підтверджується високими показниками ЛПІ Кальф–Каліфа та ШОЕ, котрі залишаються сталими протягом усього періоду спостереження.

Динаміку біохімічних показників крові у хворих на панкреонекроз контрольної групи наведено у табл. 2.

Концентрація глюкози в плазмі крові збільшувалася з 2–3-ї доби лікування на 35,1 % і надалі залишалася вищою за контрольні величини: на 4-ту–7-му добу — на 38,0 %, на 8-му–14-ту — на 27,9 %, на 15-ту–21-шу — на 19,5 %. Плазмовий рівень загального білка був суттєво меншим, ніж у практично здорових осіб, протягом усього періоду спостереження: до початку лікування — на 29,0 %, на 1-шу добу — на 27,6 %, на 2-гу–3-тю — на 31,9 %, на 4-ту–7-му — на 30,3 %, на 8-му–14-ту — на 32,4 %, на 15-ту–21-шу — на 29,7 %. У відповідні строки вміст у плазмі крові альбумінів був нижчим за контроль у 2,6; 2,7; 2,6; 2,5; 2,5 і 2,2 разу. Концентрація креатиніну в плазмі крові виявилася більшою за контрольні показники на 1-шу, 2-гу–3-тю і 4-ту–7-му доби періоду спостереження відповідно на 28,9; 39,5 і 41,8 %. Надалі відбувалося зменшення плазмового вмісту креатиніну до контрольного рівня. Водночас концентрація сечовини в плазмі крові достовірних змін не зазнавала і відповідала контролю впродовж усього спостереження.

Таким чином, у хворих на некротичний панкреатит спостерігається порушення

*панкреатит (n=56) контрольної групи (x±Sx)*

| початку лікування  |  |   |   |
|--|--|---|---|
| 2-га–3-тя  | 4-та–7-ма  | 8-ма–14-та  | 15-та–21-ша   |
| 3,18±0,16; p>0,3;<br>p <sub>1</sub> >0,9; p <sub>к</sub> <0,01   | 2,75±0,17; p<0,02;<br>p <sub>1</sub> <0,05; p <sub>к</sub> <0,001  | 2,52±0,14; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,01; p <sub>к</sub> <0,001  | 2,43±0,13; p<0,01;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> <0,001  |
| 99,17±4,68; p>0,4;<br>p <sub>1</sub> >0,8; p <sub>к</sub> <0,001 | 91,40±4,26; p<0,05;<br>p <sub>1</sub> <0,05; p <sub>к</sub> <0,001 | 87,02±3,93; p<0,01;<br>p <sub>1</sub> <0,05; p <sub>к</sub> <0,001  | 82,11±3,10; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,01; p <sub>к</sub> <0,001 |
| 0,94±0,02; p>0,4;<br>p <sub>1</sub> >0,3; p <sub>к</sub> >0,6    | 1,00±0,03; p>0,09;<br>p <sub>1</sub> >0,2; p <sub>к</sub> >0,07    | 1,04±0,02; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,01; p <sub>к</sub> <0,01   | 1,01±0,03; p<0,02;<br>p <sub>1</sub> >0,1; p <sub>к</sub> <0,05     |
| 28,74±1,86; p>0,9;<br>p <sub>1</sub> >0,4; p <sub>к</sub> <0,001 | 25,92±1,41; p>0,1;<br>p <sub>1</sub> <0,05; p <sub>к</sub> <0,001  | 22,74±1,30; p<0,01;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> <0,001 | 26,98±1,45; p>0,3;<br>p <sub>1</sub> >0,07; p <sub>к</sub> <0,001   |
| 7,66±0,83; p<0,05;<br>p <sub>1</sub> >0,8                        | 6,75±0,59; p>0,2;<br>p <sub>1</sub> >0,4                           | 6,62±0,57; p>0,2;<br>p <sub>1</sub> >0,3                            | 6,05±0,58; p>0,7;<br>p <sub>1</sub> >0,1                            |
| 0,42±0,03; p>0,6;<br>p <sub>1</sub> >0,6; p <sub>к</sub> <0,001  | 0,39±0,05; p>0,4;<br>p <sub>1</sub> >0,4; p <sub>к</sub> <0,001    | 0,35±0,04; p>0,1;<br>p <sub>1</sub> >0,1; p <sub>к</sub> <0,001     | 0,36±0,02; p>0,07;<br>p <sub>1</sub> >0,1; p <sub>к</sub> <0,001    |
| 40,71±3,83; p>0,6;<br>p <sub>1</sub> >0,6; p <sub>к</sub> <0,001 | 39,12±3,18; p>0,4;<br>p <sub>1</sub> >0,4; p <sub>к</sub> <0,001   | 41,66±3,59; p>0,7;<br>p <sub>1</sub> >0,8; p <sub>к</sub> <0,001    | 38,91±3,37; p>0,4;<br>p <sub>1</sub> >0,4; p <sub>к</sub> <0,001    |

щодо контролю. Тут і в табл. 2–4.

Таблиця 2. Динаміка біохімічних показників крові у хворих

| Показник  | Контроль<br>(n=25) | Доби після                          |  |
|---|--------------------|-------------------------------------|--|
|   |                    | 0 (вихідний рівень)                 | 1-ша (МІВ)                                   |
| Концентрація глюкози в плазмі крові, ммоль/л      | 6,19±0,45          | 6,61±0,40; p <sub>к</sub> >0,5      | 7,32±0,43<br>p>0,2; p <sub>к</sub> >0,08     |
| Концентрація загального білка в плазмі крові, г/л | 79,83±3,41         | 56,70±2,13; p <sub>к</sub> <0,001   | 57,81±2,30<br>p>0,7; p <sub>к</sub> <0,001   |
| Вміст альбумінів у плазмі крові, %                | 68,97±3,09         | 26,14±1,92; p <sub>к</sub> <0,001   | 25,39±2,24<br>p>0,8; p <sub>к</sub> <0,001   |
| Концентрація креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л  | 81,62±4,75         | 89,26±9,75; p <sub>к</sub> >0,4     | 105,17±10,96<br>p>0,2; p <sub>к</sub> <0,05  |
| Концентрація сечовини в плазмі крові, ммоль/л     | 6,90±0,58          | 7,20±2,41; p <sub>к</sub> >0,8      | 10,33±3,57<br>p>0,4; p <sub>к</sub> >0,3     |
| Активність аспартатаміно-трансферази, од.         | 23,18±3,90         | 91,82±10,08; p <sub>к</sub> <0,001  | 85,17±9,23<br>p>0,6; p <sub>к</sub> <0,001   |
| Активність аланінаміно-трансферази, од.           | 29,46±2,77         | 69,35±7,93; p <sub>к</sub> <0,001   | 74,92±8,80<br>p>0,6; p <sub>к</sub> <0,001   |
| Активність гамма-глутаміл-транспептидази, од.     | 41,23±3,50         | 163,10±28,01; p <sub>к</sub> <0,001 | 155,70±27,92<br>p>0,8; p <sub>к</sub> <0,001 |
| Активність лактатдегідрогенази, од.               | 304,85±11,63       | 1623,0±307,1; p <sub>к</sub> <0,001 | 1497,0±217,0<br>p>0,7; p <sub>к</sub> <0,001 |
| Активність лужної фосфатази, од.                  | 297,69±25,92       | 503,70±49,72; p <sub>к</sub> <0,001 | 498,20±50,03<br>p>0,9; p <sub>к</sub> <0,001 |

інкреторної функції підшлункової залози, що викликає помірну гіперглікемію. Зниження плазмової концентрації загального білка і особливо вмісту в крові альбумінів пов'язано з порушенням білоксинтезуючої функції печінки. Протягом першого тижня відбувається тимчасове пригнічення екскреторної діяльності нирок, а відсутність при цьому підвищення рівня в крові сечовини зумовлено зменшенням сечовиноутворювальної здатності гепатоцитів унаслідок синдрому паренхіматозної недостатності.

Активність АСТ при госпіталізації хворих на панкреонекроз була більшою за контроль у 4,0 рази, на 1-шу добу після початку лікування — у 3,7 разу, на 2-гу–3-тю — у 4,0 рази, на 4-ту–7-му — у 4,5 разу, на 8-му–14-ту — у 3,8 разу, на 15-ту–21-шу — у 3,6 разу. Активність АЛТ перевищувала таку у практично здорових осіб відповідно у 2,4; 2,5; 2,8; 3,3; 2,6 і 2,4 разу, активність ГГТП — у 4,0; 3,8; 4,1; 4,2; 3,6 і 3,3 разу, активність ЛДГ — у 5,3; 4,9; 5,1; 4,5; 4,6 і 4,2 разу. Активність ЛФ зростала меншою мірою, проте також була більшою за контрольні показники впродовж усього періоду спостереження: до початку лікування — на 69,2 %, на 1-шу добу лікування — на 67,4 %, на 2-гу–3-тю — на 73,7 %, на 4-ту–7-му —

на 59,7 %, на 8-му–14-ту — на 57,8 %, на 15-ту–21-шу — на 44,0 %.

Отже, у хворих із некрозом підшлункової залози протягом усього періоду лікування характерним є значне і стале підвищення активності в крові як мембранозв'язаних ферментів, так і внутрішньоклітинних і мітохондріальних ензимів, що вказує на високий ступінь цитолітичного синдрому, який охоплює паренхіматозні тканини життєво важливих внутрішніх органів.

У хворих на НП, котрим внутрішньовенно вводили СККК, при госпіталізації кількість еритроцитів крові була меншою, ніж у практично здорових осіб, на 18,5 %, на 4-ту–7-му після початку лікування (2-га–4-та доба після введення СККК) — на 25,0 %, на 8-му–14-ту — на 18,8 % (табл. 3). На 15-ту–21-шу добу вміст у крові еритроцитів підвищувався і не відрізнявся від контрольного рівня.

Подібних змін зазнавала і концентрація гемоглобіну: у відповідні строки спостереження вміст у крові гемоглобіну виявився меншим за контроль на 19,5; 23,4 і 16,8 %. Наприкінці лікування кількість гемоглобіну була лише на 9,1 % нижчою за таку у практично здорових осіб. Кольоровий показник упродовж усього періоду спостере-

на некротичний панкреатит ( $n=56$ ) контрольної групи ( $x \pm Sx$ )

| початку лікування  |  |  |  |
|--|--|--|--|
| 2-га-3-тя  | 4-та-7-ма  | 8-ма-14-та   | 15-та-21-ша  |
| 8,36±0,55; $p < 0,01$ ;<br>$p_1 > 0,1$ ; $p_k < 0,01$    | 8,54±0,66; $p < 0,01$ ;<br>$p_1 > 0,1$ ; $p_k < 0,01$    | 7,92±0,38; $p < 0,02$ ;<br>$p_1 > 0,3$ ; $p_k < 0,01$      | 7,40±0,37; $p > 0,1$ ;<br>$p_1 > 0,8$ ; $p_k < 0,05$     |
| 54,38±2,44; $p > 0,5$ ;<br>$p_1 > 0,3$ ; $p_k < 0,001$   | 55,62±2,06; $p > 0,7$ ;<br>$p_1 > 0,5$ ; $p_k < 0,001$   | 53,94±1,97; $p > 0,3$ ;<br>$p_1 > 0,2$ ; $p_k < 0,001$     | 56,13±2,09; $p < 0,8$ ;<br>$p_1 < 0,5$ ; $p_k < 0,001$   |
| 26,50±1,39; $p > 0,8$ ;<br>$p_1 > 0,7$ ; $p_k < 0,001$   | 27,80±1,53; $p > 0,5$ ;<br>$p_1 > 0,4$ ; $p_k < 0,001$   | 28,10±1,46; $p < 0,4$ ;<br>$p_1 < 0,3$ ; $p_k < 0,001$     | 30,75±1,30; $p < 0,05$ ;<br>$p_1 < 0,04$ ; $p_k < 0,001$ |
| 113,88±12,21; $p > 0,1$ ;<br>$p_1 > 0,5$ ; $p_k < 0,01$  | 115,74±13,95; $p > 0,1$ ;<br>$p_1 > 0,5$ ; $p_k < 0,02$  | 101,54±10,38; $p > 0,4$ ;<br>$p_1 > 0,8$ ; $p_k > 0,06$    | 97,16±9,39; $p > 0,5$ ;<br>$p_1 > 0,5$ ; $p_k > 0,1$     |
| 15,82±6,43; $p > 0,2$ ;<br>$p_1 > 0,5$ ; $p_k < 0,01$    | 14,39±7,02; $p > 0,3$ ;<br>$p_1 > 0,6$ ; $p_k > 0,2$     | 16,80±5,97; $p < 0,05$ ;<br>$p_1 > 0,3$ ; $p_k < 0,01$     | 13,74±5,46; $p > 0,2$ ;<br>$p_1 > 0,6$ ; $p_k > 0,08$    |
| 91,66±7,57; $p > 0,9$ ;<br>$p_1 > 0,5$ ; $p_k < 0,001$   | 103,2±9,6; $p > 0,4$ ;<br>$p_1 > 0,1$ ; $p_k < 0,001$    | 87,50±6,12; $p > 0,7$ ;<br>$p_1 > 0,8$ ; $p_k < 0,001$     | 84,06±4,31; $p > 0,4$ ;<br>$p_1 > 0,9$ ; $p_k < 0,001$   |
| 82,19±7,34; $p > 0,2$ ;<br>$p_1 > 0,5$ ; $p_k < 0,001$   | 96,41±8,00; $p < 0,01$ ;<br>$p_1 > 0,07$ ; $p_k < 0,001$ | 75,39±5,71; $p > 0,5$ ;<br>$p_1 > 0,9$ ; $p_k < 0,001$     | 70,02±4,60; $p > 0,9$ ;<br>$p_1 > 0,6$ ; $p_k < 0,001$   |
| 168,2±23,1; $p > 0,8$ ;<br>$p_1 > 0,7$ ; $p_k < 0,001$   | 174,50±30,24; $p > 0,8$ ;<br>$p_1 > 0,6$ ; $p_k < 0,001$ | 149,0±25,6; $p > 0,7$ ;<br>$p_1 > 0,8$ ; $p_k < 0,001$     | 136,50±21,32; $p > 0,4$ ;<br>$p_1 > 0,6$ ; $p_k < 0,001$ |
| 1540,0±239,8; $p > 0,8$ ;<br>$p_1 > 0,7$ ; $p_k < 0,001$ | 1358,0±196,7; $p > 0,4$ ;<br>$p_1 > 0,6$ ; $p_k < 0,001$ | 1406,0±205,5; $p < 0,001$ ;<br>$p_1 > 0,7$ ; $p_k < 0,001$ | 1293,0±172,6; $p > 0,3$ ;<br>$p_1 > 0,5$ ; $p_k < 0,001$ |
| 517,00±44,35; $p > 0,8$ ;<br>$p_1 > 0,8$ ; $p_k < 0,001$ | 475,3±42,0; $p > 0,6$ ;<br>$p_1 > 0,7$ ; $p_k < 0,001$   | 469,80±41,16; $p > 0,6$ ;<br>$p_1 > 0,6$ ; $p_k < 0,001$   | 428,60±39,85; $p > 0,2$ ;<br>$p_1 > 0,3$ ; $p_k < 0,001$ |

ження відповідав контрольним величинам. Водночас гематокрит достовірно підвищувався лише на 15-ту–21-шу добу після початку лікування, залишаючись при цьому в 1,2 разу меншим за контрольний рівень.

Отже, трансплантація СККК протягом 3 тижнів сприяє суттєвому зниженню ступеня анемізації хворих на некротичний панкреатит, проте співвідношення клітинної і рідкої фаз крові контрольного рівня не досягає.

ЛПІ, який досягав максимальних величин на 1-шу добу після початку лікування, надалі після введення нативних СККК значно (у 2,0–4,1 разу) зменшувався. Індекс ядерного зсуву також прогресивно знижувався і досягав контрольного рівня на 15-ту–21-шу добу спостереження. ШОЕ перевищувала контроль при госпіталізації в 4,6 разу, на 4-ту–7-му добу після початку лікування (2-га–4-та доба після введення СККК) — у 2,9 разу, на 8-му–14-ту — у 2,2 разу, на 15-ту–21-шу — у 2,4 разу.

Отже, трансплантація СККК сприяє зменшенню ступеня інтоксикації хворих на НП, проте впродовж 3 тижнів спостереження нормалізація таких маркерів інтоксикаційного синдрому, як ЛПІ, індекс ядерного зсуву Савельєва–Боброва та ШОЕ, не відбувається.

Динаміку біохімічних показників крові після введення СККК наведено у табл. 4. Вміст у крові глюкози, який перевищував контрольні показники лише на 2-гу–3-тю добу після початку лікування, після введення СККК не відрізнявся від контролю.

Плазмозна концентрація загального білка у хворих даної групи поступово зростала, однак контрольного рівня не досягала, залишаючись наприкінці лікування на 17,1 % меншою за таку у практично здорових осіб. Вміст альбумінів у плазмі крові при госпіталізації був меншим за контроль у 2,7 разу, на 4-ту–7-му добу після початку лікування (2-га–4-та доба після введення СККК) — у 1,9 разу, на 8-му–14-ту — у 1,9 разу, на 15-ту–21-шу — у 1,4 разу.

Концентрація креатиніну в плазмі крові в усі періоди спостереження не відрізнялась від контрольних величин, так само, як і вміст у крові сечовини.

Активність у крові АСТ при госпіталізації пацієнтів цієї групи була більшою за контроль у 3,8 разу, на 4-ту–7-му добу після початку лікування (2-га–4-та доба після введення СККК) — на 82,6 %. Надалі відбувалося зменшення активності АСТ до контрольного рівня. Активність АЛТ до початку лікування перевищувала контрольні показ-

Таблиця 3. Динаміка показників крові після введення хворим на некротичний

| Показник  | Контроль<br>(n=25) | Доби після                       |  |
|---|--------------------|----------------------------------|--|
|   |                    | 0 (вихідний рівень)              | 1-ша (МІВ)                                     |
| Еритроцити, $\times 10^{12}/л$                      | 4,16 $\pm$ 0,27    | 3,39 $\pm$ 0,18; $p_k < 0,05$    | 3,23 $\pm$ 0,16<br>$p > 0,5$ ; $p_k < 0,01$    |
| Гемоглобін, г/л                                     | 128,92 $\pm$ 3,45  | 103,80 $\pm$ 5,29; $p_k < 0,001$ | 101,80 $\pm$ 5,04<br>$p > 0,7$ ; $p_k < 0,001$ |
| Кольоровий показник, од.                            | 0,92 $\pm$ 0,03    | 0,93 $\pm$ 0,02; $p_k > 0,7$     | 0,96 $\pm$ 0,01<br>$p > 0,1$ ; $p_k > 0,2$     |
| Гематокрит, %                                       | 42,80 $\pm$ 2,12   | 28,05 $\pm$ 1,33; $p_k < 0,001$  | 30,27 $\pm$ 1,33<br>$p > 0,2$ ; $p_k < 0,001$  |
| Лейкоцитарний індекс інтоксикації Кальф-Каліфа, од. |                    | 5,84 $\pm$ 0,49                  | 6,96 $\pm$ 0,85<br>$p > 0,1$                   |
| Індекс ядерного зсуву Савельєва-Боброва, од.        | 0,070 $\pm$ 0,012  | 0,43 $\pm$ 0,05; $p_k < 0,001$   | 0,44 $\pm$ 0,06<br>$p > 0,8$ ; $p_k < 0,001$   |
| ШОЕ, мм/год   | 9,17 $\pm$ 1,05    | 42,59 $\pm$ 3,66; $p_k < 0,001$  | 43,77 $\pm$ 3,24<br>$p > 0,8$ ; $p_k < 0,001$  |

Таблиця 4. Динаміка біохімічних показників крові після введення хворим

| Показник  | Контроль<br>(n=25) | Доби після                        |   |
|---|--------------------|-----------------------------------|---|
|   |                    | 0 (вихідний рівень)               | 1-ша (МІВ)                                      |
| Концентрація глюкози в плазмі крові, ммоль/л      | 6,19 $\pm$ 0,45    | 6,53 $\pm$ 0,54; $p_k > 0,6$      | 7,28 $\pm$ 0,51<br>$p > 0,3$ ; $p_k > 0,1$      |
| Концентрація загального білка в плазмі крові, г/л | 79,83 $\pm$ 3,41   | 55,57 $\pm$ 2,54; $p_k < 0,001$   | 56,35 $\pm$ 2,61<br>$p > 0,8$ ; $p_k < 0,001$   |
| Вміст альбумінів у плазмі крові, %                | 68,97 $\pm$ 3,09   | 25,91 $\pm$ 1,83; $p_k < 0,001$   | 28,05 $\pm$ 1,90<br>$p > 0,4$ ; $p_k < 0,001$   |
| Концентрація креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л  | 81,62 $\pm$ 4,75   | 90,50 $\pm$ 9,83; $p_k > 0,4$     | 102,50 $\pm$ 11,22<br>$p > 0,4$ ; $p_k > 0,1$   |
| Концентрація сечовини в плазмі крові, ммоль/л     | 6,90 $\pm$ 0,58    | 6,94 $\pm$ 1,84; $p_k > 0,9$      | 9,76 $\pm$ 3,34<br>$p > 0,4$ ; $p_k > 0,4$      |
| Активність аспартатаміно-трансферази, од.         | 23,18 $\pm$ 3,90   | 88,48 $\pm$ 9,77; $p_k < 0,001$   | 79,23 $\pm$ 7,75<br>$p > 0,4$ ; $p_k < 0,001$   |
| Активність аланінаміно-трансферази, од.           | 29,46 $\pm$ 2,77   | 71,28 $\pm$ 8,82; $p_k < 0,001$   | 70,55 $\pm$ 9,66<br>$p > 0,9$ ; $p_k < 0,001$   |
| Активність гамма-глутаміл-транспептидази, од.     | 41,23 $\pm$ 3,50   | 158,90 $\pm$ 26,23; $p_k < 0,001$ | 147,0 $\pm$ 26,4<br>$p > 0,7$ ; $p_k < 0,001$   |
| Активність лактатдегідрогенази, од.               | 304,85 $\pm$ 11,63 | 1586,0 $\pm$ 316,6; $p_k < 0,001$ | 1262,0 $\pm$ 246,5<br>$p > 0,4$ ; $p_k < 0,001$ |
| Активність лужної фосфатази, од.                  | 297,69 $\pm$ 25,92 | 456,0 $\pm$ 53,4; $p_k < 0,01$    | 453,4 $\pm$ 51,6<br>$p > 0,3$ ; $p_k < 0,01$    |

ники у 2,4 разу, проте вже з 4–7-ї доби лікування (2-га–4-та доба після введення СКЖК) суттєво знижувалася і відповідала контролю. Подібних змін зазнавала й активність у крові ГГТП, яка в зазначений період була більшою за таку у практично здорових осіб у 3,9 разу та нормалізувалася починаючи з 4–7-ї доби лікування (2-га–4-та

доба після введення СКЖК). Деяко інша динаміка була характерною для активності ЛДГ: до початку лікування цей показник був вищим за контроль у 5,2 разу, на 4-ту–7-му добу лікування (2-га–4-та доба після введення СКЖК) — у 3,5 разу, на 8-му–14-ту — у 2,3 разу і на 15-ту–21-шу — не відрізнявся від контрольних величин. Актив-

панкреатит (n=39) стовбурових клітин кордової крові (x±Sx)

| початку лікування  |   |  |  |
|--|---|--|--|
| 2-га-3-тя  | 4-га-7-ма   | 8-ма-14-та   | 8-ма-14-та   |
| 3,22±0,13; p>0,4;<br>p <sub>1</sub> >0,9; p <sub>к</sub> <0,01     | 3,12±0,14; p>0,2;<br>p <sub>1</sub> >0,6; p <sub>к</sub> <0,001     | 3,38±0,16; p>0,9;<br>p <sub>1</sub> >0,5; p <sub>к</sub> <0,02       | 3,70±0,12; p>0,1;<br>p <sub>1</sub> <0,05; p <sub>к</sub> <0,05      |
| 106,10±4,75; p>0,7;<br>p <sub>1</sub> >0,5; p <sub>к</sub> <0,001  | 98,77±4,75; p>0,4;<br>p <sub>1</sub> >0,6; p <sub>к</sub> <0,001    | 107,20±5,89; p>0,6;<br>p <sub>1</sub> >0,4; p <sub>к</sub> <0,01     | 117,20±4,74; p<0,05;<br>p <sub>1</sub> <0,05; p <sub>к</sub> <0,05   |
| 0,97±0,01; p>0,08;<br>p <sub>1</sub> >0,4; p <sub>к</sub> >0,1     | 0,96±0,02; p>0,2;<br>p <sub>1</sub> >0,9; p <sub>к</sub> >0,3       | 0,96±0,02; p>0,2;<br>p <sub>1</sub> >0,9; p <sub>к</sub> >0,3        | 0,95±0,02; p>0,4;<br>p <sub>1</sub> >0,9; p <sub>к</sub> >0,4        |
| 30,32±1,20; p>0,2;<br>p <sub>1</sub> >0,9; p <sub>к</sub> <0,001   | 31,05±1,17; p>0,09;<br>p <sub>1</sub> >0,6; p <sub>к</sub> <0,001   | 31,91±1,67; p>0,07;<br>p <sub>1</sub> >0,4; p <sub>к</sub> <0,001    | 36,5±1,5; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,01; p <sub>к</sub> <0,02     |
| 3,47±0,36; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001                       | 1,71±0,20; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001                        | 1,93±0,22; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001                         | 2,32±0,24; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001                         |
| 0,29±0,03; p<0,05;<br>p <sub>1</sub> <0,05; p <sub>к</sub> <0,001  | 0,22±0,02; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> <0,001 | 0,16±0,01; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> <0,001  | 0,10±0,02; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> >0,06   |
| 25,5±2,3; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> <0,001 | 26,82±2,97; p<0,01;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> <0,001 | 20,59±2,32; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> <0,001 | 21,77±3,65; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> <0,001 |

на некротичний панкреатит (n=39) стовбурових клітин кордової крові (x±Sx)

| початку лікування   |   |  |  |
|---|---|--|--|
| 2-га-3-тя   | 4-га-7-ма   | 8-ма-14-та   | 15-та-21-ша  |
| 8,17±0,76; p>0,08;<br>p <sub>1</sub> >0,3; p <sub>к</sub> <0,05     | 6,37±0,48; p>0,8;<br>p <sub>1</sub> >0,2; p <sub>к</sub> >0,8       | 6,86±0,96; p>0,7;<br>p <sub>1</sub> >0,7; p <sub>к</sub> >0,5        | 6,20±0,47; p>0,6;<br>p <sub>1</sub> >0,1; p <sub>к</sub> >0,9        |
| 55,51±2,40; p>0,9;<br>p <sub>1</sub> >0,9; p <sub>к</sub> <0,001    | 59,49±2,08; p>0,2;<br>p <sub>1</sub> >0,3; p <sub>к</sub> <0,001    | 58,65±2,69; p>0,4;<br>p <sub>1</sub> >0,5; p <sub>к</sub> <0,001     | 66,18±2,31; p<0,01;<br>p <sub>1</sub> <0,01; p <sub>к</sub> <0,01    |
| 29,86±2,43; p>0,2;<br>p <sub>1</sub> >0,5; p <sub>к</sub> <0,001    | 35,77±2,31; p<0,01;<br>p <sub>1</sub> <0,02; p <sub>к</sub> <0,001  | 37,14±2,85; p<0,01;<br>p <sub>1</sub> <0,02; p <sub>к</sub> <0,001   | 48,32±2,42; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> <0,001 |
| 91,18±10,07; p>0,9;<br>p <sub>1</sub> >0,4; p <sub>к</sub> >0,4     | 98,64±18,71; p>0,7;<br>p <sub>1</sub> >0,7; p <sub>к</sub> >0,4     | 87,95±9,82; p>0,8;<br>p <sub>1</sub> >0,3; p <sub>к</sub> >0,6       | 77,05±8,25; p>0,3;<br>p <sub>1</sub> >0,09; p <sub>к</sub> >0,6      |
| 14,34±7,52; p>0,3;<br>p <sub>1</sub> >0,5; p <sub>к</sub> >0,3      | 10,06±3,21; p>0,05;<br>p <sub>1</sub> >0,9; p <sub>к</sub> >0,4     | 7,26±1,20; p>0,8;<br>p <sub>1</sub> >0,4; p <sub>к</sub> >0,8        | 6,74±0,49; p>0,9;<br>p <sub>1</sub> >0,3; p <sub>к</sub> >0,8        |
| 47,50±5,39; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,01; p <sub>к</sub> <0,001 | 42,32±6,42; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> <0,02 | 34,64±5,55; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> >0,1   | 23,54±2,27; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> >0,9   |
| 44,32±5,53; p<0,02;<br>p <sub>1</sub> <0,05; p <sub>к</sub> <0,001  | 39,14±5,13; p<0,01;<br>p <sub>1</sub> <0,01; p <sub>к</sub> <0,01   | 28,45±2,83; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> >0,8   | 25,70±3,71; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> >0,4   |
| 80,82±15,52; p<0,02;<br>p <sub>1</sub> <0,05; p <sub>к</sub> <0,05  | 107,50±32,02; p>0,2;<br>p <sub>1</sub> >0,3; p <sub>к</sub> >0,06   | 41,86±8,03; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> >0,9   | 38,41±8,47; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> >0,7   |
| 873,0±194,1; p<0,05;<br>p <sub>1</sub> >0,2; p <sub>к</sub> <0,001  | 1067,0±259,8; p>0,2;<br>p <sub>1</sub> >0,5; p <sub>к</sub> <0,001  | 712,7±164,9; p<0,02;<br>p <sub>1</sub> <0,05; p <sub>к</sub> <0,001  | 490,5±221,3; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> >0,1  |
| 568,2±75,7; p>0,7;<br>p <sub>1</sub> >0,1; p <sub>к</sub> <0,001    | 501,7±58,2; p>0,5;<br>p <sub>1</sub> >0,5; p <sub>к</sub> <0,001    | 627,2±42,5; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> <0,001 | 800,1±89,6; p<0,001;<br>p <sub>1</sub> <0,001; p <sub>к</sub> <0,001 |

ність ЛФ, навпаки, поступово збільшувалася: на початку спостереження перевищувала контроль у 1,5 разу, на 4-ту-7-му добу лікування (2-га-4-та доба після введення СККК) — у 1,7 разу, на 8-му-14-ту — у 2,1 разу, на 15-ту-21-шу — у 2,7 разу.

Таким чином, застосування трансплантації СККК в комплексному лікуванні хво-

рих на НП сприяє нормалізації вмісту в крові глюкози, відбувається помірне підвищення рівня у крові загального білка і відносної кількості альбумінів. Вміст у плазмі крові креатиніну і сечовини залишається сталим і не відрізняється від контрольних показників. На 8-му-14-ту добу зникають прояви цитолітичного синдрому, які характеризу-

валися підвищенням активності в крові АСТ, АЛТ і ГГТП. Активність ЛДГ також нормалізується, але пізніше — на 14-ту–21-шу добу спостереження. Звертає на себе увагу факт прогресивного підвищення активності в крові ЛФ, що є непрямим ознакою приживлення СККК в організмі хворих на НП.

#### Висновки

1. Упродовж усього періоду спостереження у хворих на панкреонекроз контрольної групи прогресує нормохромна анемія, що свідчить про значне пригнічення еритроїдного ростка кісткового мозку, котре зумовлено синдромом ендогенної інтоксикації і викликає суттєве зниження гематокриту. Значне збільшення індексу ядерного зсуву вліво свідчить про тяжкий стан хворих, що підтверджується високими показниками лейкоцитарного індексу інтоксикації та швидкістю осідання еритроцитів, котрі залишаються сталими протягом усього періоду лікування. На початку лікування порушується інкреторна функція підшлункової залози, що викликає помірну гіперглікемію. Зниження плазмової концентрації загального білка і особливо вмісту в крові альбумінів пов'язано з порушенням білоксинтезуючої функції печінки. Протягом першого тижня відбувається тимчасове

пригнічення екскреторної діяльності нирок на тлі зменшення сечовиноутворювальної здатності гепатоцитів. Значне і стало підвищення активності в крові мембранозв'язаних ферментів поєднується зі збільшенням активності внутрішньоклітинних і мітохондріальних ензимів, що вказує на високий ступінь цитолітичного синдрому.

2. Застосування трансплантації стовбуровими клітинами кордової крові у комплексному лікуванні хворих на некротичний панкреатит сприяє нормалізації вмісту в крові глюкози, відбувається помірне підвищення рівня у крові загального білка і відносної кількості альбумінів. Вміст у плазмі крові креатиніну і сечовини залишається сталим і не відрізняється від контрольних показників. На 8-му–14-ту добу після початку лікування зникають прояви цитолітичного синдрому, які характеризуються підвищенням активності в крові аспартатамінотрансферази, аланінаміно-трансферази і гамма-глутамілтранспептидази. Активність лактатдегідрогенази також нормалізується, але пізніше — на 14-ту–21-шу добу спостереження. Звертає на себе увагу факт прогресивного підвищення активності в крові лужної фосфатази, що є непрямим ознакою приживлення стовбурових клітин в організмі хворих на некротичний панкреатит.

#### Список літератури

1. Острый панкреатит. Патофизиология и лечение / [Бойко В. В., Криворучко И. Л., Шевченко Р. С. и др.] — Харьков : Торнадо, 2002. — 258 с.
2. Иванов Ю. В. Современные аспекты диагностики и лечения панкреонекроза / Ю. В. Иванов, А. В. Алехнович // *Анналы хирургии*. — 2004. — № 2. — С. 48–52.
3. Филин В. И. Неотложная панкреатология / В. И. Филин, А. Л. Костюченко. — СПб. : Деан, 2000. — 480 с.
4. Шалімов О. О. Лікування гострого панкреатиту / О. О. Шалімов, У. В. Кричевський, М. Ю. Ничитайло // *Клінічна хірургія*. — 2000. — № 4. — С. 5–9.
5. Абдулкадыров К. М. Заготовка плацентарной крови. Особенности ее клеточного состава и гемопотенциального потенциала / К. М. Абдулкадыров, Н. А. Романенко // *Трансфузиология*. — 2003. — Т. 4, № 1. — С. 15–33.
6. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. Тема выпуска: Пуповинная кровь. — 2006. — Т. 3, № 1. — 111 с.

*А.Б. Кебало, Р.В. Салютин, Г.С. Лобинцева*

#### БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НЕКРОТИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОРДОВОЙ КРОВИ

Исследования проведены у больных с некротическим панкреатитом, получавших стандартное лечение (контрольная группа — 56 пациентов) или терапию с применением биомедицинских технологий (основная группа — 39 больных) — внутривенное введение стволовых клеток кордовой крови. Полученные результаты показали безопасность и эффективность использования препаратов криоконсервированных клеток кордовой крови. Трансплантация клеток кордовой крови на протяжении 3 недель приводит к снижению степени анемизации больных некротическим панкреатитом, тем не менее соотношение клеточной и жидкостной фаз крови контрольного уровня не достигает. Внутривенное введение кордовой крови способствует уменьшению степени

интоксикации больных некротическим панкреатитом, однако в течение 3 недель наблюдения нормализации таких маркеров интоксикационного синдрома, как лейкоцитарный индекс интоксикации, индекс ядерного сдвига и скорость оседания эритроцитов не наблюдается. Использование трансплантации стволовых клеток кордовой крови в комплексном лечении больных некротическим панкреатитом приводит к нормализации содержания в крови глюкозы, происходит умеренное повышение уровня общего белка и относительного содержания альбуминов. Содержание в плазме крови креатинина и мочевины остается постоянным и не отличается от контрольных показателей. На 8–14-е сутки после начала лечения проходят проявления цитолитического синдрома, которые характеризуются повышением активности в крови аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы и гамма-глутамилтранспептидазы. Активность лактатдегидрогеназы также нормализуется, но позднее — на 14–21-е сутки наблюдения. Обращает на себя внимание факт прогрессивного повышения активности в крови щелочной фосфатазы, что есть непрямым признаком приживления стволовых клеток в организме больных некротическим панкреатитом.

**Ключевые слова:** некротический панкреатит, кордовая кровь, стволовые клетки, биохимические показатели.

*A.B. Kebkalo, R.V. Salyutin, G.S. Lobintseva*

#### BIOCHEMICAL CHANGES IN THE BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH PANCREATITIS NECROTIZING TRANSPLANTATION OF STEM CELLS CORD BLOOD

The studies were conducted in patients with necrotizing pancreatitis treated with standard therapy (control group — 56 patients) or treatment with the use of biomedical technologies (core group — 39 patients) — intravenous introduction of stem cell cord blood. The results showed the safety and efficacy of drug use of cryopreserved cord blood cells. Transplantation of cord blood cells for 3 weeks leads to a decrease in the degree of necrotic pancreatitis patients anemia, however, the ratio of cellular and liquid phases of blood does not reach the control level. Intravenous administration of cord blood helps to reduce the degree of intoxication patients necrotizing pancreatitis, however, within 3 weeks of observation, the normalization of these markers of intoxication syndrome as leukocyte index of intoxication, the index of the nuclear shift and erythrocyte sedimentation rate was observed. The use of stem cell transplantation of cord blood in complex treatment of patients with necrotizing pancreatitis leads to normalization of blood glucose, there is a moderate increase in total protein and relative content of albumin. Plasma creatinine level and urea remains level and does not differ from the benchmarks. At 8–14<sup>th</sup> days after initiation of treatment are manifestations of cytolytic syndrome, characterized by increased activity in the blood aspartateaminotransferase, alanineaminotransferase and gamma-glutamyltranspeptidase. Lactatedehydrogenase as normal, but later — in the 14<sup>th</sup>–21<sup>st</sup> day follow-up. Attention is drawn to the fact of the progressive increase in activity in the blood alkaline phosphatase, which is an indirect sign of engraftment of stem cells in the body of patients necrotizing pancreatitis.

**Key words:** necrotizing pancreatitis, cord blood stem cells, biochemical indices.

УДК 616.146.2-089:616-089.843

*І.І. Кобза, Р.А. Жук, Ю.Г. Орел, О.І. Русин\*, Д.Є. Федорів\*,  
Л.З. Любінецька\*, І.Г. Яковлев\*, Я.І. Ярема\**

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького  
\* Львівська обласна клінічна лікарня*

## **АЛЬТЕРНАТИВНІ ШЛЯХИ РЕКОНСТРУКЦІЇ «КОРОТКОЇ» НИРКОВОЇ ВЕНИ В ТРАНСПЛАНТАЦІЙНІЙ ХІРУРГІЇ**

Проблема «короткої» вени трансплантата нирки може бути вирішена шляхом застосування різних методик і матеріалів залежно від клінічної ситуації. Описано 4 клінічні випадки використання поверхневої стегнової та внутрішньої клубової вен реципієнта для формування венозних анастомозів у трансплантаційній хірургії нирки з добрими ранніми та віддаленими результатами. Поверхнева стегнова та внутрішня клубова вени реципієнта становлять ефективну та безпечну альтернативу за необхідності реконструкції «короткої» вени трансплантата при пересаджуванні нирки від живого донора, а також ауто трансплантації з екстракорпоральною реконструкцією судин.

**Ключові слова:** трансплантація нирки, «коротка» ниркова вена трансплантата, реконструкція, поверхнева стегнова вена, внутрішня клубова вена.

Техніка формування судинних анастомозів при трансплантації нирки в більшості випадків труднощів не викликає. Проте при «короткій» вені трансплантата постає проблема забезпечення достатньої її довжини для формування венозного анастомозу [1, 2]. Транспозиція клубових вен чи інверсія трансплантата не завжди позбавляють венозну реконструкцію від надмірного натягу, а використання сегмента нижньої порожнистої вени є доступним тільки при трупній пересадці [1, 3, 4]. При трансплантації від живого донора описане застосування гонадної чи великої підшкірної вен, а також синтетичних протезів для видовження вени трансплантата нирки. Проте внаслідок невідповідності діаметрів зазначених вен зростає ризик тромбозу, а використання синтетичного матеріалу небезпечно ймовірним інфікуванням на тлі імуносупресії [5–7]. Таким чином, актуальним є пошук нових шляхів реконструкції «короткої» вени трансплантата при пересадці нирки від живого донора чи ауто трансплантації.

Мета роботи — оцінка ефективності та безпечності використання поверхневої стегнової та внутрішньої клубової вен реципієнта для формування венозного анастомозу в трансплантаційній хірургії нирки.

**Матеріал і методи.** З листопада 2008 р. у Центрі трансплантації органів та інших анатомічних матеріалів Львівської обласної клінічної лікарні виконано 26 трансплантацій нирки від живого родинного донора, 5 ауто трансплантацій з екстракорпоральною реконструкцією судин. Необхідність видовження та реконструкції «короткої» вени трансплантата правої нирки постала в 4 випадках.

*Хвора К.*, 1979 року народження, поступила з діагнозом ХХН 5 ст.: гломерулонефрит, артеріальна гіпертензія, анемія тяжкого ступеня. Хворіє з червня 2008 р., а в січні 2009 р. розпочато замісну ниркову терапію методом програмного гемодіалізу. 03.02.09 виконано трансплантацію нирки від родинного донора (донор — мама, забирання правої нирки, холодова консервація — кустодіол; імуносупресія: даклізумаб, метилпреднізолон, циклоспорин А, мофетилу мікофенолат). Інтраопераційно з латерального доступу у в/3 лівого стегна виділено і забрано сегмент поверхневої стегнової вени до 5 см одразу нижче впадіння глибокої (рис. 1); накладено прямий анастомоз з веною трансплантата для подовження останньої (рис. 2); сформовано анастомози венозного кондуїту в бік зовнішньої клубової ве-

© І.І. Кобза, Р.А. Жук, Ю.Г. Орел та ін., 2011

ни, ниркової артерії в кінець внутрішньої клубової артерії; після відновлення кровопостачання нирки відмічено виділення сечі по сечоводу.

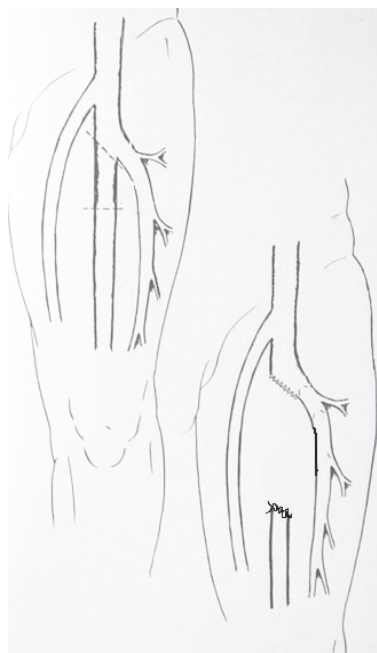


Рис. 1. Схема забирання сегмента поверхньої стегнової вени

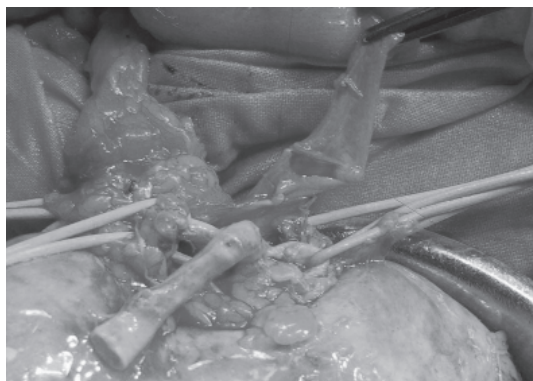


Рис. 2. Видовження «короткої» вени трансплантата сегментом поверхньої стегнової вени реципієнта

*Хворий Р.*, 1973 року народження, поступив з діагнозом вазоренальної гіпертензії на тлі фібром'язової дисплазії, критичного стенозу та аневризми правої ниркової артерії у воротах нирки. Хворіє протягом 2 років, консервативна терапія малоефективна. Діагноз підтверджено при дуплексному УЗО та рентгенконтрастній ангиографії. 22.04.09 виконано аутотрансплантацію нирки з екстракорпоральною реконструкцією судин. Інтраопераційно виявлено подвоєння ниркової вени, стенозовані основна та додаткова нижньочасткова ниркові арте-

рії, мішкоподібну аневризму біфуркації основної ниркової артерії. З доступу у в/3 лівого стегна виділено і забрано сегмент поверхньої стегнової вени до 5 см одразу нижче впадіння глибокої; накладено прямий анастомоз з основною веною трансплантата для подовження останньої; додаткову нижньочасткову вену вшито в бік аутовенозної вставки (рис. 3), сформовано анастомози венозного кондуїту в бік зовнішньої клубової вени, виконано резекцію аневризми, реконструкцію ниркових артерій з використанням внутрішньої клубової артерії.



Рис. 3. Реконструкція «короткої» вени трансплантата сегментом поверхньої стегнової вени з реімплантацією додаткової нижньочасткової вени

*Хвора С.*, 1977 року народження, поступила з діагнозом ХХН 5 ст.: гломерулонефрит, артеріальна гіпертензія, анемія тяжкого ступеня. Хворіє з дитинства, прогресування ниркової недостатності після пологів, в грудні 2001 р. розпочато замісну ниркову терапію методом програмного гемодіалізу. 23.12.09 виконано трансплантацію нирки від родинного донора (донор — батько, забирання правої нирки, холодова консервація — кустодіол; імуносупресія: метилпреднізолон, такролімус, натрію мікофенолат). Для видовження «короткої» вени трансплантата мобілізовано та резековано внутрішню клубову вену протягом 3 см до розгалуження (рис. 4), устя та дистальний кінець ушито; інтерпозиція аутовенозної вставки в кінець вени трансплантата та в бік зовнішньої клубової вени (рис. 5); сформовано анастомоз ниркової артерії трансплантата в кінець внутрішньої клубової артерії; після відновлення кровопостачання нирки відмічено виділення сечі по сечоводу.

*Хворий Ч.*, 1952 року народження, поступив з діагнозом ХХН 5 ст.: гломерулонефрит, артеріальна гіпертензія, анемія тяжкого ступеня. З 2008 р. отримує замісну



Рис. 4. Забирання внутрішньої клубової вени



Рис. 5. Видовження «короткої» вени трансплантата внутрішньою клубовою веною реципієнта

ниркову терапію методом постійного перитонеального діалізу. 14.10.10 виконано трансплантацію нирки від родинного донора (донор — дружина, забирання правої нирки, холодова консервація — кустодіол; імуносупресія: базиліксимаб, метилпреднізолон, такролімус, натрію мікофенолат). Для збереження відтоку по обох венах трансплантата (рис. 6) мобілізовано до розгалуження та відсічено дистально внутріш-



Рис. 6. Подвоєні ниркові вени трансплантата

ню клубову вену реципієнта. Ниркові вени трансплантата анастомозовано в кінець внутрішньої та в бік зовнішньої клубової вен (рис. 7); сформовано анастомоз ниркової артерії трансплантата в кінець внутрішньої клубової артерії реципієнта; після відновлення кровопостачання нирки відмічено виділення сечі по сечоводу.



Рис. 7. Ниркові вени трансплантата анастомозовано в бік зовнішньої та в кінець внутрішньої клубової вен реципієнта

**Результати та їх обговорення.** Добрі результати отримані у всіх описаних випадках реконструкції «короткої» ниркової вени трансплантата. При подальшому спостереженні протягом 10–26 місяців функція трансплантатів збережена, при дуплексному ультразвуковому контролі в динаміці всі венозні анастомози прохідні, без порушень кровотоку. В 1 випадку на 10-ту добу після трансплантації наступив флеботромбоз ноги дистальніше місця забирання поверхневої стегнової вени, незважаючи на адекватну антитромботичну профілактику. Після відповідного лікування (еластична компресія, антикоагулянтна терапія, венотоніки) явища гострої венозної недостатності ліквідовано. У подальшому ознак хронічної венозної недостатності не спостерігали.

Поверхнева стегнова та внутрішня клубова вени в більшості випадків геометрично співпадають з нирковою веною трансплантата, що дозволяє забезпечити необхідні параметри венозного відтоку. Технічно забирання поверхневої стегнової вени чи мобілізація внутрішньої клубової вени не становитимуть складнощів для досвідченого хірурга. Вибір методу видовження та «короткої» ниркової вени трансплантата повинен базуватися на інтраопераційній оцінці хірургом, доцільне порівняння віддалених результатів прохідності реконструкцій залежно від використаного аутовенозного матеріалу.

**Висновки**

Поверхнева стегнова та внутрішня клубова вени реципієнта становлять ефективну та безпечну альтернативу за необхідності ре-

конструкції «короткої» вени трансплантата при пересаджуванні нирки від живого донора чи аутотрансплантації з екстракорпоральною реконструкцією судин.

**Список літератури**

1. Трансплантологія : руководство для врачей / [под ред. В. И. Шумакова]. — М. : МИА, 2006. — 579 с.
2. Alcocer F. The superficial femoral vein: a valuable conduit for a short renal vein in kidney transplantation / F. Alcocer, E. Zazueta, Montes de Oca J. // Transplantation Proceedings. — 2009. — V. 41. — P. 1963–1965.
3. Right laparoscopic donor nephrectomy and the use of inverted kidney transplantation: an alternative technique / N. Simforoosh, A. Aminsharifi, A. Tabibi [et al.] // BJU International. — 2007. — V. 100. — P. 1347–1350.
4. Renal transplantation with iliac vein transposition / E. P. Molmenti, I. M. Varkarakis, P. Pinto [et al.] // Transplantation Proceedings. — 2004. — V. 36. — P. 2643–2649.
5. Gonadal vein reconstruction for extension of the renal vein in living renal transplantation: two case reports / D. Mikhalski, A. D. Hoang, R. Bollens [et al.] // Transplantation Proceedings. — 2007. — V. 39. — P. 2681–2684.
6. Saphenous vein interposition as a salvage technique for complex vascular situations during renal transplantation / A. J. Oertl, D. Jonas, G. M. Oremek [et al.] // Transplantation Proceedings. — 2007. — V. 39. — P. 140–146.
7. Renal vessel reconstruction in kidney transplantation using a polytetrafluoroethylene (PTFE) vascular graft / M. H. Kamel, A. A. Thomas, P. Mohan [et al.] // Nephrology, Dialysis, Transplantation. — 2007. — V. 22. — P. 1030–1034.

*И.И. Кобза, Р.А. Жук, Ю.Г. Орел, О.И. Русин, Д.Е. Федорив, Л.З. Любинецкая, И.Г. Яковлев, Я.И. Ярема*

**АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ПУТИ РЕКОНСТРУКЦИИ «КОРОТКОЙ» ПОЧЕЧНОЙ ВЕНЫ В ТРАНСПЛАНТАЦИОННОЙ ХИРУРГИИ**

Проблема «короткой» вены трансплантата почки может быть решена путем применения различных методов и материалов в зависимости от клинической ситуации. Описаны 4 клинических случая использования поверхностной бедренной и внутренней подвздошной вен реципиента для формирования венозных анастомозов в трансплантационной хирургии почки с хорошими ранними и отдаленными результатами. Поверхностная бедренная и внутренняя подвздошная вены реципиента могут составить эффективную и безопасную альтернативу при необходимости реконструкции «короткой» вены трансплантата при пересадке почки от живого донора, а также аутотрансплантации с экстракорпоральной реконструкцией сосудов.

**Ключевые слова:** трансплантация почки, «короткая» почечная вена трансплантата, реконструкция, поверхностная бедренная вена, внутренняя подвздошная вена.

*I.I. Kobza, R.A. Zhuk, Yu.G. Orel, O.I. Rusyn, D.Ye. Fedoriv, L.Z. Ljubinetska, I.G. Yakovlev, Ya.I. Yarema*

**ALTERNATIVE WAYS OF «SHORT» RENAL VEIN RECONSTRUCTION IN TRANSPLANT SURGERY**

The problem of «short» renal vein in kidney transplantation can be resolved in different ways depending on clinical situation. We described 4 clinical cases of renal transplant vein reconstruction with recipient superficial femoral and internal iliac veins with good early and late results. The superficial femoral and internal iliac veins can be useful and safe alternative for «short» renal vein reconstruction in living donor kidney transplantation or autotransplantation with extracorporeal vascular reconstruction.

**Key words:** kidney transplantation, «short» transplant renal vein, reconstruction, superficial femoral vein, internal iliac vein.

УДК 616.136.7-007.271-02:616.61-008.64-036.11-089.843]-089.86

*І.І. Кобза, Р.А. Жук, О.І. Русин\*, П.П. Поваляшко\*,  
Р.Б. Савронь\*, О.А. Зубенко\*, І.Д. Бойків\**

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького  
\*Львівська обласна клінічна лікарня*

### **УСПІШНА ЕНДОВАСКУЛЯРНА КОРЕКЦІЯ КРИТИЧНОГО СТЕНОЗУ НИРКОВОЇ АРТЕРІЇ З ГОСТРИМ ПОШКОДЖЕННЯМ ТРАНСПЛАНТАТА НИРКИ**

Методом вибору в лікуванні стенозу ниркової артерії (НА) трансплантата вважають ендovasкулярну корекцію, ефективну у 81,0–86,7 % при низькій частоті ускладнень і летальності. Описано клінічний випадок критичного стенозу НА через 8 років після пересаджування з розвитком гострого пошкодження трансплантата. Стеноз ліквідовано шляхом перкутанної транслюмінальної ангіопластики зі стентуванням, функцію трансплантата відновлено. При подальшому спостереженні протягом 18 місяців контрольні УЗО не виявили порушень кровопостачання трансплантата. Ендovasкулярну корекцію стенозу НА можна вважати ефективною та безпечною навіть при розвитку гострого пошкодження трансплантата нирки.

**Ключові слова:** *стеноз ниркової артерії трансплантата, гостре пошкодження трансплантата нирки, ендovasкулярна корекція.*

Стеноз ниркової артерії (НА) трансплантата виявляють у 7–23 % пацієнтів у різні терміни після пересаджування нирки. У розвитку стенозичного ураження бере участь ряд механізмів: передіснюючі атеросклеротичні чи фібромускулярні зміни артерій, техніка судинного шва, травми-зація артерій донора та реципієнта під час забирання чи пересаджування, а у віддаленому періоді не виключений вплив інфекційного чинника [1–4].

Клінічно стеноз НА трансплантата проявляється передусім артеріальною гіпертензією вазоренального генезу з розвитком дисфункції трансплантата різної тяжкості. Селективна артеріографія трансплантата залишається золотим стандартом діагностики, проте може супроводжуватися нефротоксичністю та гіперчутливістю внаслідок дії контрасту. Спіральна комп'ютерна ангіографія дозволяє отримати тривимірну реконструкцію судинної анатомії, дозволяє уникнути пункції артерії і потребує меншої кількості контрасту, який вводиться до вено. Магнітно-резонансна ангіографія менш чутлива: з належною точністю можна оцінити лише початкові 3 см артерії трансплантата. Дуплексне ультразвукове скану-

вання неінвазивне, широкодоступне, але супроводжується певною кількістю артефактів [3, 4].

Донедавна хірургічне лікування було єдиним методом корекції стенозу НА трансплантата з позитивним результатом у 63–82 % хворих, проте з втратою трансплантата — у 15–20 %, ушкодженнями сечоводу — в 14 %, необхідністю повторних втручань — у 13 % при летальності до 5 %. Сьогодні методом вибору при стенозі НА трансплантата вважають ендovasкулярну корекцію, ефективність якої складає 81,0–86,7 % при низькій частоті ускладнень і летальності [5, 6].

Мета роботи — на прикладі клінічного випадку описати успішну ендovasкулярну корекцію критичного стенозу НА з гострим пошкодженням трансплантата нирки.

**Матеріал і методи.** *Хвора Р.*, 1985 року народження, знаходилася на амбулаторному спостереженні у Центрі трансплантації органів та інших анатомічних матеріалів Львівської обласної клінічної лікарні з діагнозом ХХН V ст.: вроджена вада сечовидної системи: нейрогенний сечовий міхур, двобічний уретерогідронекроз, двобічна нефректомія (2007 р.), термінальна ниркова недостатність, пролонгована транспланта-

© *І.І. Кобза, Р.А. Жук, О.І. Русин та ін., 2011*

цією донорської нирки (12.11.02). Хворіє з народження, перенесла повторні урологічні втручання з приводу вродженої вади сечовивідної системи. У 2001 р. розпочато замісну ниркову терапію методом гемодіалізу. 12.11.02 проведено трансплантацію донорської нирки від матері. Імуносупресійна терапія включала метилпреднізолон, циклоспорин А, мофетилу мікофенолат.

Погіршення стану відбулося 12.02.10, коли АТ збільшився до 200/130 мм рт. ст. і знизився діурез. У Центр трансплантації звернулася о 22<sup>40</sup> 22.02.10, госпіталізована у тяжкому стані з проявами гострого пошкодження трансплантата нирки. При госпіталізації скарги на слабкість, нудоту, блювання шлунковим вмістом, загальний стан тяжкий, млява, сонлива, шкірні покриви блідо-рожеві, без набряків, аускультативно дихання везикулярне — 24 за хвилину, АТ — 180/120 мм рт. ст., ЧСС — 62 за хвилину, зниження діурезу до 200 мл за останню добу. Трансплантат у правій клубовій ділянці, болючий при пальпації, аускультативно в проекції правих клубових артерій вислуховується систолічний шум. Після катеризації сечового міхура отримано 100 мл геморагічної сечі. Параклінічно: анемія (гемоглобін — 94 г/л, еритроцити —  $3,0 \cdot 10^{12}/л$ ), зсув формули вліво; підвищення рівня  $K^+$  до 6,3 ммоль/л,  $Na^+$  — до 156 ммоль/л, креатиніну — до 0,864 ммоль/л, сечовини — до 38 ммоль/л; питома вага сечі — 1009, протеїнурія — 3,3 г/л, еритроцити покривають поле зору. При УЗО трансплантат нирки 104×46 мм, паренхіма 16 мм, у чашечках скупчення кристалів солей, чашково-мискова система не розширена, стеноз НА трансплантата 90 % у місці анастомозу, при доплерографії резистивний індекс (RI) = 0,36–0,4. Сечовий міхур не наповнений, у черевній порожнині велика кількість рідини. Катетеризовано праву внутрішню яремну вену двопротівним катетером, проведено сеанс бікарбонатного гемодіалізу тривалістю 2,5 години, ультрафільтрація — 500 мл.

23.02.10 в умовах рентгеноопераційної під місцевою анестезією пунктовано праву аксиллярну артерію, провідниковий катетер проведено в праву клубову артерію до біфуркації та встановлено у вічко правої внутрішньої клубової артерії, введено 5 000 Од гепарину. Виконано артеріографію та виявлено звуження до 90 % внутрішньої клубової артерії в проксимальній ділянці та субоклюзію в місці анастомозу з НА трансплантата

(рис. 1). Виконано перкутанну транслюмінальну ангіопластику та стентування (Cordis  $\varnothing 5,4$  мм; 1–14 мм), рис. 2.

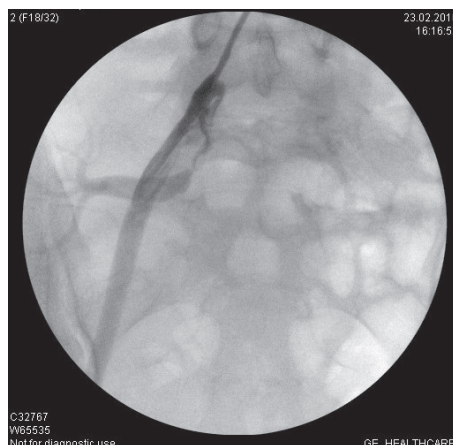


Рис. 1. Критичний стеноз НА трансплантата

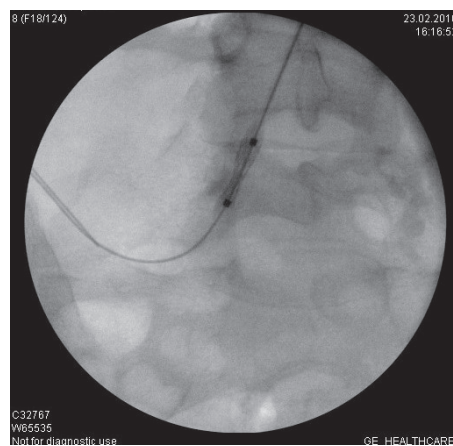


Рис. 2. Ангіопластика та стентування стенозу НА трансплантата

При контролі після пластики виявлено розшарування в дистальному напрямку (рис. 3), просвіт артерії відновлено стентуванням (Cordis  $\varnothing 5,4$  мм; 1–23 мм), рис. 4.

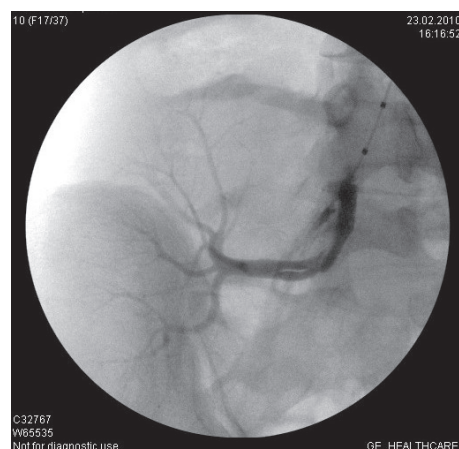


Рис. 3. Розшарування НА трансплантата в дистальному напрямку

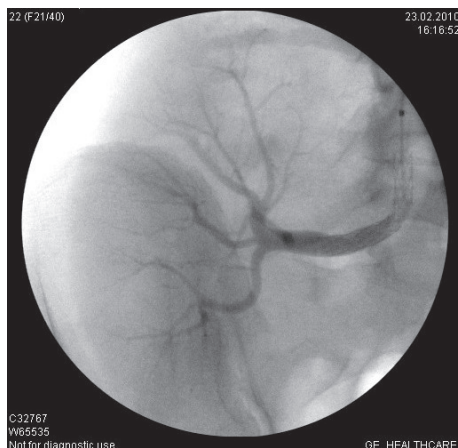


Рис. 4. Ліквідація розшарування  
НА трансплантата

**Результати та їх обговорення.** Після ендovasкулярної корекції стенозу НА трансплантата відновився діурез до 300 мл/год. У подальшому повторно проведено сеанс бікарбонатного гемодіалізу тривалістю 3 години з ультрафільтрацією 800 мл, стандартну консервативну терапію. Діурез утриму-

вався на рівні 3,5–4 л на добу, поступово нормалізувалися лабораторні показники. При контрольному УЗО на наступну добу трансплантат 112×46 мм, паренхіма 12 мм, центральний пієловаскулярний комплекс не розширений, без конкрементів та об'ємних утворів, навколо анастомозу, по ходу судин та у воротах нирки вільної рідини та об'ємних утворів немає. При доплерографії НА трансплантата гемодинамічно вагомих порушень кровотоку не виявлено,  $RI=0,69$ , при доплерографії сегментарних та дугоподібних артерій  $RI=0,68$ .

При подальшому спостереженні протягом 18 місяців функція трансплантата збережена, контрольні УЗО не виявили порушень кровотоку в зоні проведеної ангіопластики та стентування.

#### Висновки

Ендovasкулярну корекцію стенозу ниркової артерії можна вважати ефективною та безпечною навіть при розвитку гострого пошкодження трансплантата нирки.

#### Список літератури

1. Трансплантология : руководство для врачей / [под ред. В. И. Шумакова]. — М. : МИА, 2006. — 579 с.
2. Bruno S. Transplant Renal Artery Stenosis / S. Bruno, G. Remuzzi, P. Ruggenenti // J. of American Society of Nephrology. — 2004. — V. 15. — P. 134–141.
3. Руководство по трансплантации почки / [под ред. Г. Дановича]. — Тверь : Триада-М, 2004. — 472 с.
4. Gang S. Vascular complications following renal transplantation / S. Gang, M. Rajapurkar // JNRT. — 2009. — V. 2 (1). — P. 122–132.
5. Transplant renal artery stenosis: outcome after percutaneous intervention / J. R. Beecroft, D. K. Rajan, T. W. Clark [et al.] // J. of Vascular Interventional Radiology. — 2004. — V. 15. — P. 1407–1413.
6. Interventional radiologic management of renal transplant dysfunction: indications, limitations, and technical considerations / K. Kobayashi, M. L. Censullo, L. L. Rossman [et al.] // Radiographics. — 2007. — V. 27. — P. 1109–1130.

#### **И.И. Кобза, Р.А. Жук, О.И. Русин, П.П. Поваляшко, Р.Б. Савронь, О.А. Зубенко, И.Д. Бойкив** **УСПЕШНАЯ ЭНДОВАСКУЛЯРНАЯ КОРРЕКЦИЯ КРИТИЧЕСКОГО СТЕНОЗА ПОЧЕЧНОЙ АРТЕРИИ** **С ОСТРЫМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ ТРАНСПЛАНТАТА ПОЧКИ**

Методом выбора в лечении стеноза почечной артерии (ПА) трансплантата является эндovasкулярная коррекция, эффективная в 81,0–86,7 % при низкой частоте осложнений и летальности. Описан клинический случай критического стеноза ПА через 8 лет после пересадки с развитием острого повреждения трансплантата. Стеноз ликвидирован путем перкутанной транслюминальной ангиопластики со стентированием, функцию трансплантата восстановлено. При дальнейшем наблюдении в течение 18 месяцев контрольные УЗИ не выявили нарушений кровоснабжения трансплантата. Эндovasкулярную коррекцию стеноза ПА можно считать эффективной и безопасной даже при развитии острого повреждения трансплантата.

**Ключевые слова:** стеноз почечной артерии трансплантата, острое повреждение трансплантата почки, эндovasкулярная коррекция.

*I.I. Kobza, R.A. Zhuk, O.I. Rusyn, P.P. Povaljashko, R.B. Savron, O.A. Zubenko, I.D. Boykiv*  
SUCCESSFUL ENDOVASCULAR CORRECTION OF CRITICAL TRANSPLANT RENAL ARTERY STENOSIS  
WITH ACUTE KIDNEY GRAFT FAILURE

Endovascular correction is the method of choice in the treatment of transplant renal artery (RA) stenosis, effective in 81,0–86,7 % with low rate of complications and mortality. The clinical case of a critical RA stenosis 8 years after kidney transplantation with the development of acute graft failure was described. Percutaneous transluminal angioplasty with stenting was performed, transplant function restored. After 18 months follow-up ultrasound monitoring revealed no circulatory disorders of kidney transplant. Endovascular correction of transplant RA stenosis can be considered as effective and safe even in the development of acute kidney graft failure.

*Key words: transplant renal artery stenosis, acute kidney graft failure, endovascular correction.*

УДК 616.36-089.843

*А.Э. Королёв, А.А. Костенко, А.П. Мазур, Н.Ю. Дыховичная,  
С.М. Спасский, А.В. Шарпов*

*Национальный институт хирургии и трансплантологии им. А.А. Шалимова  
НАМН Украины, г. Киев*

### **ПОДДЕРЖАНИЕ СТАБИЛЬНЫХ ИНТРАОПЕРАЦИОННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОДИНАМИКИ У ПАЦИЕНТОВ С ОБШИРНЫМИ РЕЗЕКЦИЯМИ ПЕЧЕНИ**

Анестезиологическое обеспечение обширных резекций печени с использованием трансплантационных методик составляет важную проблему в связи с необходимостью соблюдения безопасности пациента и снижения осложнений оперативного вмешательства. На основе проведенных 91 операции анализируется гемодинамика на этапах анестезии. Предложен план необходимого обследования больных, а также как метод выбора предлагается эпидуральная анестезия в сочетании с ингаляционной анестезией изофлюраном и севофлюраном, что приводит к сокращению количества внутривенных анестетиков. Это способствует ранней экстубации и активизации пациентов.

**Ключевые слова:** гемодинамика, анестезиологическое обеспечение, обширные резекции печени, печеночная недостаточность, интенсивная терапия, эпидуральная анестезия.

Обширные резекции печени являются сложной проблемой современной хирургии и требуют повышенной сосредоточенности, большого опыта и внимания со стороны анестезиологов для успешного лечения данной тяжелой категории больных [1–4]. Выполняются резекции на фоне новообразований (аденокарциномы, холангиокарциномы, тератомы, гемангиосаркомы, гемангиомы, метастатические поражения печени), кист различной этиологии, абсцессов, гематом [1, 2, 5].

Пациенты вследствие таких операций теряют от 20 до 80 % массы печени в зависимости от типа резекции. Такая процедура не может не навредить здоровью исходно тяжелой группы больных с нарушенными белково-синтетической, коагуляционной, дезинтоксикационной функциями. Такое состояние влияет на метаболизм многих медикаментозных средств, поэтому анестезия у данной категории больных должна нести минимальную метаболическую нагрузку на печень. Также она должна протекать в условиях стабильной центральной гемодинамики и адекватного кровообращения в спланхической зоне [6–8]. Выполнение этих условий будет способствовать быстрей-

шему восстановлению функционального состояния печени после резекции.

T. Nonami et al. [9] изучали влияние гипердинамического типа кровообращения на печеночную гемодинамику и кислородный баланс печени после массивных ее резекций у собак. Обнаружилось, что гипердинамический тип центральной гемодинамики после массивной резекции печени способствует увеличению печеночного кровотока, что влечет за собой более быструю нормализацию потребления печенью кислорода и поглощения ею лактата. Был сделан вывод о том, что искусственное поддержание гипердинамического типа кровообращения с помощью добутамина либо дофамина после обширной резекции улучшает показатели метаболизма в оставшейся части печени.

Актуальным и малоизученным является выбор анестезиологического обеспечения при столь травматичных операциях, нередко сопровождающихся массивной кровопотерей. Современное анестезиологическое обеспечение обширных и травматичных операций на печени, помимо сбалансированной внутривенной анестезии, включает широкое использование ингаляционных анестетиков изофлюрана и севофлюрана и

© А.Э. Королёв, А.А. Костенко, А.П. Мазур и др., 2011

торакальной эпидуральной анестезии (ТЭА) [3, 5, 8, 10–12].

Цель настоящего исследования — разработка оптимальной методики анестезии и интенсивной терапии при обширных операциях на печени для обеспечения стабильной гемодинамики на этапах резекции.

**Материал и методы.** Проанализированы гемодинамические показатели у 91 пациента, у которых были выполнены обширные резекции печени при различной ее патологии с сохранением 20–60 % объема паренхимы в период 2009–2010 годов.

Все больные в зависимости от вида обезболивания были распределены на две группы.

1. Многокомпонентная внутривенная анестезия (фентанил — 1,5–2,0 мкг/кг·ч + пропофол — 6–8 мг/кг·ч + норкурон — 0,03–0,04 мг/кг·ч) в сочетании с ТЭА (инфузия 1,5 % лидокаина — 60–90 мг/ч с добавлением опиоидов, предпочтительнее омнопона — 6 мг одноразово) — группа I (ВА), 21 пациент; 23,1 %.

2. Эндотрахеальный наркоз изофлюраном (ИФ) либо севофлюраном (СФ) в объемной доле 0,8–2,0 % (МАК 0,6–1,2) при потоке

свежей газовой смеси 1,0–2,5 л/мин по закрытому контуру с использованием натральной извести в сочетании с ТЭА (инфузия 1,5 % лидокаина — 60–90 мг/ч с добавлением опиоидов, предпочтительнее омнопона — 6 мг одноразово) и внутривенным введением малых доз фентанила (0,6–1,0 мкг/кг·ч) и норкурона (0,015–0,020 мг/кг·ч) при содержании кислорода в дыхательной смеси — 40–50 % и N<sub>2</sub>O — 45–50 % либо без нее — группа II (ГА), 70 пациентов; 76,9 %.

Распределение пациентов исследуемых групп по возрасту, полу, индексу массы тела (ИМТ), объему выполненных резекций, длительности операций и времени васкуляриной эксклюзии печени показано в табл. 1.

На операционном столе осуществляли мониторинг частоты сердечных сокращений (ЧСС), артериального давления инвазивным методом путем пункции лучевой артерии, центрального венозного давления (ЦВД), пульсоксиметрии, почасового диуреза, температуры тела, капнометрии — парциального давления углекислоты во выдыхаемой и вдыхаемой газовой смеси, процентного содержания и минимальной аль-

*Таблица 1. Распределение групп пациентов с различными вариантами обезболивания по демографическим показателям и типу выполненных резекций, длительности и количеству васкуляриных эксклюзий (взрослые с ТЭА; n=91)*

| Показатель                               | Группа больных |                       |
|--|----------------|-----------------------|
|  | I (ВА)         | II (ГА)               |
| Количество пациентов                     | 21             | 70 (ИФ – 55; СФ – 15) |
| мужчин                                   | 13             | 30                    |
| женщин                                   | 8              | 40                    |
| Возраст, лет                             |                |                       |
| средний                                  | 51,6±12,8      | 50,6±13,3             |
| колебания                                | 32–73          | 17–74                 |
| ИМТ, кг/м <sup>2</sup>                   | 25,6±4,4       | 26,0±4,2              |
| Объем резекции печени, %                 | 0,42±0,21      | 0,46±0,19             |
| Объем резекции печени, кол-во чел.       |                |                       |
| <60 % (А)                                | 15 (71,0 %)    | 44 (63,0 %)           |
| ≥60 % (В)                                | 6 (29,0 %)     | 26 (37,0 %)           |
| Длительность операции, мин               | 345,2±141,9    | 339,7±127,4           |
| Количество отжати                        |                |                       |
| <60 % (А)                                | 2,6±0,3        | 3,5±0,4               |
| ≥60 % (В)                                | 3,3±0,3        | 3,9±0,4               |
| Длительность васкуляриной эксклюзии, мин |                |                       |
| <60 % (А)                                | 44,7±4,6       | 59,7±5,9              |
| ≥60 % (В)                                | 56,2±5,7       | 61,6±6,2              |

веолярной концентрации наркотических и оксиметрии — инспираторной и экспираторной фракций кислорода. Через каждые 1,5–2,0 часа и на важнейших этапах операции контролировали гематокрит, содержание гемоглобина, электролитов в плазме, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, уровень гликемии, протеинемии, билирубинемии, азотемии, коагулограмму, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) с использованием унифицированных методик; кислотно-основное состояние и газовый состав артериальной и венозной крови, на этапе резекции — лактат крови, печеночные ферменты, амилазу. Десяти пациентам термодилуционным либо ультрасонографическим (чрезпищеводно) методами измеряли давление в легочной артерии, давление заклинивания легочных капилляров (ДЗЛК), сердечный индекс (СИ), ударный индекс (УИ), доставку ( $DO_2$ ) и потребление ( $VO_2$ ) кислорода.

СИ — сердечный выброс на единицу площади поверхности тела, (л/мин·м<sup>2</sup>) — рассчитывали по уравнению Фика

$$СИ = VO_2 / 1,3 \times Hb \times (SaO_2 - SvO_2),$$

где  $VO_2$  — потребление кислорода; Hb — гемоглобин крови;  $SaO_2$  и  $SvO_2$  — насыщение кислородом гемоглобина артериальной и смешанной венозной крови соответственно.

Потребление кислорода тканями ( $VO_2$ , мл/мин) рассчитывали по данным его содержания во вдыхаемой и выдыхаемой дыхательной смеси, а также минутного объема дыхания (МОД, мл/мин):

$$VO_2 = [O_{2ins} (\%) - O_{2exp} (\%)] \times МОД / 100.$$

Необходимым условием успешного окончания длительной операции являлось согревание пациента на операционном столе: водяной матрац с баней фирмы «Jostra» (Германия), электрическое одеяло, укутывание конечностей ватой, подогрев дыхательной смеси, переливаемых растворов, поддув теплого воздуха при необходимости до температуры 36–37 °С.

Назначение лекарственных средств после операции строго ограничивали. Обезболивание в течение 2–3 суток после операции проводили через эпидуральный катетер, использовали инфузию 1,5 % лидокаина — 30–45 мг/ч с добавлением омнопона — 10 мг/сут. На 2-е–3-и сутки начинали энтеральное питание с малым содержанием животных белков. Количество парентерально введенной глюкозы за сутки увеличивали с 40 г (5 %) после операции до 200 г (12,5 %) на 4–5-е сутки.

**Результаты и их обсуждение.** Все пациенты в группах, оперированных с многокомпонентной внутривенной анестезией и газовым наркозом, были сходны по возрасту и полу, ИМТ, длительности операции и объему резекции печени, количеству и времени васкулярной эксклюзии ( $p > 0,05$ ).

Оперативное вмешательство разделили на 4 этапа: I — от начала операции до этапа резекции печени; II — этап резекции печени; III — конец резекции печени; IV — завершающий этап операции. Период от момента доставки пациента в операционную до момента начала операции мы выделили как этап 0. На протяжении операции фиксировали следующие показатели гемодинамики: среднее артериальное давление (САД) в мм рт. ст. (измерение прямым методом), ЧСС в уд./мин, центральное венозное давление (ЦВД) в мм рт. ст., СИ в л/мин·м<sup>2</sup>. САД и ЧСС фиксировали ежечасно.

Динамика САД во время операции в каждой из исследуемых групп приведена в табл. 2.

Таблица 2. САД у пациентов с обширными резекциями печени на этапах операции

| Этап операции | Группа I (ВА)<br>(n=21) | Группа II (ГА)<br>(n=70) |
|---------------|-------------------------|--------------------------|
| 0             | 106,8±9,7               | 102,3±8,9                |
| I             | 71,7±7,0 <sup>#</sup>   | 72,8±6,9 <sup>#</sup>    |
| II            | 79,3±5,6 <sup>*</sup>   | 79,2±7,7 <sup>*</sup>    |
| III           | 72,0±6,7 <sup>#@</sup>  | 67,5±4,2 <sup>#</sup>    |
| IV            | 65,5±5,7 <sup>#</sup>   | 69,4±6,3 <sup>#</sup>    |

*Примечание.* Различия достоверны по сравнению: с исходными значениями в этой же группе: \*  $p < 0,01$ ; #  $p < 0,001$ ; @  $p < 0,05$ ; с показателем в этот же период в группе II (ГА).

Исходные значения САД у всех пациентов были повышенными. Такое повышение САД мы связывали с эмоциональными реакциями на прибытие в операционную. Эти реакции блокировались введением 100 мкг фентанила перед постановкой эпидурального катетера. После введения в наркоз и интубации трахеи САД умеренно снижалось в обеих группах, что свидетельствовало об адекватно подобранной дозе препаратов для вводного наркоза. Снижение САД после интубации трахеи в обеих группах находилось в пределах 25–27 % от исходных значений, что говорило об адекватной волемии на момент введения в наркоз. Еще до его начала проводили быструю инфузию кристаллоидов и коллоидов (10–15 мл/кг), что позволяло

избежать значительного снижения показателей гемодинамики при эпидуральной анестезии и вводимом наркозе. Быстрая инфузия позволяла достичь ЦВД 5–7 мм рт. ст. Начало операции происходило в условиях полного проявления эффекта торакального эпидурального блока, поэтому в обеих группах наблюдалось дальнейшее снижение САД. На протяжении выделения структур и рассечения паренхимы печени САД оставалось стабильным с колебаниями в пределах 10 % от значений на момент начала операции. Минимальные значения САД наблюдались на завершающем этапе операции (этап IV), но и они были в пределах 65–70 % от значений на момент ее старта, что было обусловлено уменьшением объема хирургического вмешательства и сохранением уровня анестезии, несмотря на увеличение темпа инфузионной терапии. Уровень миметической поддержки на заключительном этапе операции стремились уменьшить для выявления истинного необходимого объема инфузионно-трансфузионной терапии.

На этапе завершения резекции печени (этап III) наблюдались достоверные различия между группами II и I по показателю САД. Более низкие значения САД в группе II наблюдались вследствие суммарного влияния на гемодинамику газового наркоза и торакального эпидурального блока. На следующих этапах эта разница компенсировалась большим объемом инфузии и более значимой симпатомиметической поддержкой у пациентов группы II.

Динамика ЧСС у пациентов на этапах оперативного вмешательства представлена в табл. 3.

Таблица 3. ЧСС при резекции печени на этапах операции

| Этап операции | Группа I (ВА)         | Группа II (ГА)         |
|---------------|-----------------------|------------------------|
| 0             | 79,1±12,7             | 81,7±15,7              |
| I             | 65,1±9,0 <sup>#</sup> | 64,7±11,2 <sup>#</sup> |
| II            | 76,1±11,6             | 73,1±13,5*             |
| III           | 80,9±18,3             | 80,0±18,8              |
| IV            | 65,2±6,9 <sup>#</sup> | 71,3±13,0 <sup>#</sup> |

*Примечание.* Различия достоверны по сравнению с исходными показателями в этой же группе: \* p<0,05; # p<0,01.

Динамика этого показателя была в целом синхронной в обеих группах. На этапах 0–I происходило постепенное снижение ЧСС за счет введения пациентов в наркоз и развития эффекта ТЭА. Во время выделения

структур и рассечения паренхимы печени ЧСС была стабильной. К моменту окончания операции ЧСС принимала тенденцию к достоверному снижению относительно исходных значений, что было обусловлено уменьшением объема хирургического вмешательства и сохранением уровня анестезии, а также увеличением объема инфузионной терапии.

Изменения ЦВД у пациентов с резекциями печени на этапах оперативного вмешательства представлены в табл. 4.

Таблица 4. ЦВД у пациентов с резекциями печени на этапах операции

| Этап операции | Группа I (ВА)        | Группа II (ГА)       |
|---------------|----------------------|----------------------|
| 0             | 7,6±1,6              | 9,0±3,0              |
| I             | 7,3±2,1              | 8,1±3,0              |
| II            | 4,1±1,9 <sup>#</sup> | 4,3±2,1 <sup>#</sup> |
| III           | 4,0±1,4 <sup>#</sup> | 4,4±1,8 <sup>#</sup> |
| IV            | 5,1±2,8*             | 5,9±2,3*             |

*Примечание.* Различия достоверны по сравнению с исходными показателями в той же группе: \* p<0,05; # p<0,01.

В обеих группах наблюдалось достоверное снижение ЦВД относительно исходных значений во время рассечения паренхимы печени (этапы II–III), обусловленное уменьшением возврата крови в правый желудочек во время пережатия печеночно-дуоденальной связки, увеличением объема кровопотери на данном этапе операции, а также меньшим объемом инфузии для сохранения значений ЦВД во время резекции на уровне 3–5 мм рт. ст. в целях снижения кровотока из вен портальной системы. В дальнейшем ЦВД постепенно повышалось на завершающих этапах операции (этап IV), поскольку объем циркулирующей крови требовалось восполнить после окончания этапа резекции печеночной паренхимы.

Различий в показателях ЦВД между двумя группами на этапах операции не наблюдалось, что было обусловлено, на наш взгляд, адекватной тактикой инфузионной терапии на протяжении всего оперативного вмешательства. Во время резекции паренхимы печени снижение ЦВД путем ограничения инфузии было нашей целью, так как давало возможность уменьшить объем кровопотери.

Кровопотеря во время операций составляла от 200 до 5000 мл, т. е. от 3,3 до 95 мл/кг, или от 7 до 130 % объема циркулирующей крови. В целях уменьшения кровопотери при резекции печени применяли нормово-

лемическую гемодилюцию до гематокрита 30–35 % (исходная дооперационная воле- мия — 10–15 мл/кг), а также снижали уро- вень ЦВД до 3–4 мм рт. ст. путем уменьше- ния дыхательного объема, изменением на- клона операционного стола и темпа инфу- зионной терапии. Объем инфузионной те- рапии составлял 5–15 мл/(кг·ч) под контро- лем показателей гемодинамики, гематокри- та, ЦВД, темпа диуреза и зависел от вели- чины кровопотери и этапа операции. Как правило, почасовой положительный баланс составлял 5–10 мл/кг у взрослых, что было обусловлено значительными перспирацион- ными потерями при большой площади ране- вой поверхности. Качественный состав пе- реливаемых растворов определяли величи- ной кровопотери и асцита.

Свежезамороженную плазму перелива- ли только при нарушении показателей коа- гулограммы (протромбиновое время более 20 с, АЧТВ более 80 с). У всех пациентов на этапе резекции печени при пережатии сосу- дов гепатодуоденальной связки и возникно- вении гипоксии печеночных клеток отмечали ухудшение показателей системной гемодина- мики, что требовало постоянной инфузии до- фамина в дозе 2–10 мкг/(кг·мин), на некото- рых этапах болюсного введения взрослым мезатона по 50–100 мкг либо норадрена-

лина и адреналина по 10–20 мкг, в отдель- ных случаях — инфузии норадреналина — 50–300 нг/кг·мин.

Мы сопоставили данные про волемиче- скую нагрузку, очевидные потери жидкости, водный баланс, потребление кислорода и СИ (табл. 5) с данными об уровне симпатомиме- тической поддержки, которую получали па- циенты каждой группы во время операции.

Как видно из данных табл. 5, на протя- жении II и III этапов больные группы II по- лучали больший объем инфузии (достовер- ными были только различия на этапе III). Соответственно, на этих этапах они имели и более высокие значения ЦВД ( $p > 0,05$ ). Пациенты группы II имели также недо- стоверно меньший объем кровопотери по срав- нению с пациентами группы I на III этапе. Водный баланс у больных группы II на II и III этапах операции был большим (статисти- чески незначимы). Потребление кислорода у всех больных на всех этапах операций бы- ло на приемлемом уровне и достоверно не отличалось между группами. СИ во II груп- пе был немного ниже на всех этапах опера- ции ( $p > 0,05$ ) в связи с отрицательным ино- тропным действием газовой анестезии, не- смотря на большую инотропную поддержку при этом, хотя на уровень кислородного ба- ланса это не имело существенного влияния.

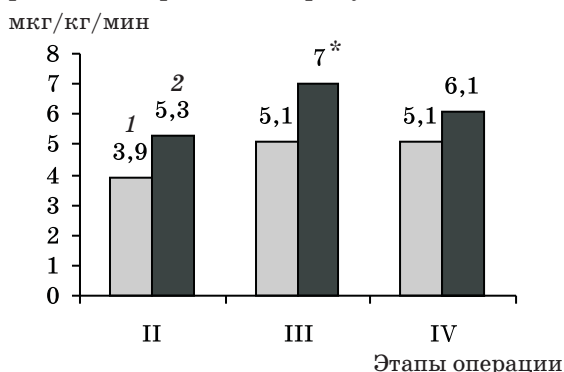
Таблица 5. Объем инфузии, диуреза и кровопотери, водный баланс, ЦВД, СИ и потребление кислорода тканями на этапах операции у пациентов с резекциями печени

| Показатель               | Группа  | Этап операции |              |             |
|--------------------------|---------|---------------|--------------|-------------|
|                          |         | II            | III          | IV          |
| Инфузия, мл/кг·ч         | I (ВА)  | 7,02±1,85     | 7,4±1,8      | 9,60±2,81   |
|                          | II (ГА) | 7,35±2,00     | 10,28±1,96*  | 10,20±1,29  |
| Диурез, мл/кг·ч          | I (ВА)  | 3,70±1,52     | 3,35±1,14    | 3,56±1,54   |
|                          | II (ГА) | 3,88±1,12     | 2,88±0,98    | 4,12±1,25   |
| Кровопотеря, мл          | I (ВА)  | 79,86±25,40   | 960,5±669,9  | 90,5±35,5   |
|                          | II (ГА) | 112,65±34,44* | 729,5±568,6  | 74,80±36,61 |
| Водный баланс, мл/кг·ч   | I (ВА)  | 3,12±2,02     | 1,75±2,24    | 8,13±2,30   |
|                          | II (ГА) | 3,51±2,14     | 2,05±1,05    | 6,05±1,21   |
| ЦВД, мм рт. ст.          | I (ВА)  | 4,1±1,9       | 4,0±1,4      | 5,1±2,8     |
|                          | II (ГА) | 4,3±2,1       | 4,4±1,8      | 5,9±2,3     |
| VO <sub>2</sub> , мл/мин | I (ВА)  | 272,3±74,1    | 279,3±90,1   | 323,7±107,9 |
|                          | II (ГА) | 243,00±74,05  | 267,02±74,51 | 415,9±33,8  |
| СИ, л/мин·м <sup>2</sup> | I (ВА)  | 5,6±1,7       | 6,7±2,1      | 8,6±1,5     |
|                          | II (ГА) | 4,9±1,3       | 5,8±1,6      | 8,2±1,9     |

Примечания: 1. VO<sub>2</sub> и СИ даны на момент завершения этапа.

2. \*  $p < 0,05$ ; достоверно по сравнению с показателем пациентов группы I (ВА).

Максимальные дозы дофамина, примененные у больных на различных этапах операции, отображены на рисунке.



Максимальные дозы дофамина на этапах операции у пациентов с резекциями печени: 1 — группа I (ВА); 2 — группа II (ГА); \*  $p < 0,05$ ; достоверно при сравнении с показателем группы I

Как видно из данных рисунка, больших доз дофамина требовали больные, находившиеся в условиях газового наркоза, — пациенты группы II на протяжении всей операции. Пациенты, находившиеся в условиях внутривенного наркоза пропофолом, нуждались в достоверно меньшей симпатомиметической поддержке.

Количество пациентов обеих групп, нуждавшихся в применении препаратов  $\alpha$ -адреномиметического действия на различных этапах операции, отображено в табл. 6.

Таблица 6. Применение препаратов  $\alpha$ -адреномиметического действия у пациентов с резекциями печени на этапах оперативного вмешательства

| Группа  | Кол-во больных | Кол-во больных, которым вводили $\alpha$ -адреномиметики на этапах операции |              |             |              |
|---------|----------------|---|--------------|-------------|--------------|
|         |                | II этап   | III этап     | IV этап     | вся операция |
| I (ВА)  | 21             | 2 (9,5 %)   | 8 (38,1 %)   | 4 (19,0 %)  | 10 (47,6 %)  |
| II (ГА) | 70             | 4 (5,7 %)   | 45 (64,3 %)* | 13 (18,6 %) | 47 (67,1 %)* |

\*  $p < 0,05$ , достоверно при сравнении с группой I.

В препаратах преимущественно  $\alpha$ -адреномиметического действия больше нуждались пациенты, получавшие газовую анестезию. Они требовали введения  $\alpha$ -адреномиметиков на всех этапах операции в более высоких дозах.

**Список литературы**

1. Саенко В. Ф. Трансплантация печени / В. Ф. Саенко, О. Г. Котенко // Трансплантологія. — 2004. — Т. 5, № 1. — С. 44–49.
2. Саенко В. Ф. Трансплантація печінки. Шлях до життя / В. Ф. Саенко, А. А. Костенко, О. Г. Котенко. — К.: Ніка Центр, 2004. — 64 с.
3. Adachi T. Anesthetic principles in living donor liver transplantation at Kyoto University Hospital: experiences of 760 cases / T. Adachi // J. of Anesthesia. — 2003. — V. 17. — P. 116–124.

В послеоперационном периоде обезболивание через эпидуральный катетер в течение 2–3 суток способствовало более ранней активизации пациентов, восстановлению перистальтики и позволило отказаться от парентерального введения наркотических анальгетиков.

**Выводы**

1. Стабильная гемодинамика при выполнении операций на печени обеспечивается выбором адекватного метода обезболивания, темпа инфузионно-трансфузионной терапии, симпатомиметической поддержкой.

2. Оптимальными видами обезболивания являются газовый наркоз изофлюраном или севофлюраном (МАК 0,6–1,2) с торакальной эпидуральной анестезией (Th7–Th9) либо ТВА с торакальной эпидуральной анестезией.

3. Поддержка устойчивой гемодинамики (САД > 60 мм рт. ст., СИ > 2,5 л/мин·м<sup>2</sup>) на всех этапах операции обеспечивается темпом инфузионной терапии 5–15 мл/кг/ч и использованием симпатомиметической стимуляции  $\alpha$ -адреномиметиками (мезатон, адреналин, норадреналин).

4. Стабильная гемодинамика обеспечивает диурез более 1 мл/кг/ч,  $VO_2$  свыше 180 мл/мин.

5. Для поддержания стабильной гемодинамики в группе пациентов с газовой анестезией необходимость симпатомиметической терапии является достоверно большей.

6. Центральное венозное давление на уровне 3–5 мм рт. ст. на этапе рассечения печеночной паренхимы обеспечивается достижением положительного водного баланса 5–10 мл/кг/ч, что способствует достоверному уменьшению объема кровопотери.

4. Обширные анатомические резекции в лечении очаговых поражений печени / С. В. Готье, А. В. Филин, О. М. Цирульникова [и др.] // *Анналы РНЦХ РАМН*. — 2000. — Вып. 9. — С. 12–18.
5. Анестезиологическое обеспечение родственной трансплантации печени / А. А. Вабищевич, В. А. Кожевников, А. В. Мещеряков [и др.] // *Анналы РНЦХ РАМН*. — 2002. — Вып. 11. — С. 37–47.
6. *Matot I.* Effectiveness of acute normovolemic hemodilution to minimize allogenic blood transfusion in major liver resections / I. Matot, O. Scheinin, O. Jurim // *Anesthesiology*. — 2002. — V. 97. — P. 794–800.
7. Effectiveness of acute normovolemic hemodilution to minimize allogenic blood transfusion in maior liver resections / I. Matot, O. Scheinin, A. Eid [et al.] // *Anesthesiology*. — 2002. — V. 97. — P. 794–800.
8. *Hendrickx Jan F. A.* Isoflurane and desflurane uptake during liver resection and transplantation / Jan F. A. Hendrickx, Michael K. Dishart, Andre M. De Wolf // *Anesth. and Analg.* — 2003. — V. 96. — P. 356–362.
9. Effect of hyperdynamic circulatory support on hepatic hemodynamics, oxygen supply and demand after massive hepatectomy / T. Nonami, K. Asahi, A. Harada [et al.] // *Surgery*. — 1991. — V. 109, № 3, pt 1. — P. 277–283.
10. *Ishida H.* Comparison between sevoflurane and isoflurane anesthesia in pig hepatic ischemia — reperfusion injury / H. Ishida, Y. Kadota // *J. Anesthesia*. — 2002. — V. 16. — P. 44–50.
11. Anaesthesia for living — donor liver transplantation / T. Adachi, H. Segawa, H. Furutani, K. Fukuda // *Current Anaesthesia & Critical Care*. — 2000. — V. 11. — P. 320–325.
12. Epidural anesthesia and analgesia in liver resection / I. Matot, O. Scheinin, A. Eid [et al.] // *Anesth. Analg.* — 2002. — V. 95. — P. 1179–1181.

***А.Е. Корольов, А.А. Костенко, А.П. Мазур, Н.Ю. Диховічна, С.М. Спасський, О.В. Шарпов***  
**ПІДТРИМКА СТАБІЛЬНИХ ІНТРАОПЕРАЦІЙНИХ ПОКАЗНИКІВ ГЕМОДИНАМІКИ У ПАЦІЄНТІВ З ВЕЛИКИМИ РЕЗЕКЦІЯМИ ПЕЧІНКИ**

Анестезіологічне забезпечення великих резекцій печінки з використанням трансплантаційних методик складають важливу проблему у зв'язку з необхідністю дотримання безпеки пацієнта і зниження ускладнень оперативного втручання. На основі проведених 91 операції аналізується гемодинаміка на етапах анестезії. Запропонований план необхідного обстеження хворих, а також як метод вибору пропонується епідуральна анестезія в поєднанні з ізофлюрановою чи севофлюрановою інгаляційною анестезією, що скорочує кількість внутрішньовенних анестетиків. Це сприяє ранній екстубації й активізації пацієнтів.

**Ключові слова:** гемодинаміка, анестезіологічне забезпечення, великі резекції печінки, печінкова недостатність, інтенсивна терапія, епідуральна анестезія.

***A.E. Korolov, A.A. Kostenko, A.P. Mazur, N.I. Dykhovichnaya, S.M. Spasskiy A.V. Sharapov***  
**MAINTENANCE OF STABLE INTRAOPERATION INDEXES OF HEMODYNAMICS FOR PATIENTS WITH THE EXTENSIVE LIVER RESECTIONS**

The anaesthesiological management providing of extensive liver resections with the use of methods of transplantations is made important problem in connection with the necessity of observance of his safety and to the decline of complications of operative interference. On the basis of conducted to 91 patients is analysed hemodynamic on the stages of anaesthesia. The plan of necessary inspection of patients is offered, and also as a method of choice is offered epidural anaesthesia in combination with inhalation anaesthesia of isofluran and sevofluran, that results in reduction of amount of intravenous anesthetic medicine. It promotes early ekstubation and activation of patients.

**Key words:** hemodynamics, anesthesiological management, extensive liver resection, liver insufficiency, intensive care, epidural anesthesia.

УДК 616.36-089.843

*О.Г. Котенко, Д.А. Федоров, А.О. Попов,  
А.А. Коршак, А.В. Гриненко, А.В. Гусев*

*Национальный институт хирургии и трансплантологии и м. А.А. Шалимова  
НАМН Украины, г. Киев*

## 10-ЛЕТНИЙ ОПЫТ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ ОТ ЖИВОГО РОДСТВЕННОГО ДОНОРА В УКРАИНЕ

Изучены результаты трансплантации печени от живого родственного донора в Украине за 10-летний период (2001–2011 годы).

**Ключевые слова:** донор, трансплантация печени, выживаемость реципиентов.

Хронические заболевания печени в терминальной стадии широко распространены как в Украине, так и в мире. Трансплантация печени является единственным радикальным методом для лечения таких больных. Родственная трансплантация печени является одним из эффективных способов увеличения количества донорских органов в странах с развитой системой трупного донорства и позволяет существенно снизить смертность больных, находящихся в листе ожидания. В частности, трансплантация печени стала успешным методом лечения терминальных стадий различных заболеваний печени. Так, по данным американского координационного центра UNOS, одно-, трех- и пятилетняя выживаемость после ортотопической трансплантации печени со-

ставляет 87,2; 78,7 и 71,5 % соответственно [1, 2]. Данные о выживаемости после трупной и живой трансплантации печени в зависимости от этиологии заболевания представлены в табл. 1.

Количество выполняемых в мире трансплантаций печени увеличивается с каждым годом: по данным Европейской координационной организации «Евротрансплант», этот показатель вырос с 715 операций в 1991 году до 1749 — в 2009-м. Однако, как видно из данных рис. 1, параллельно увеличивается количество реципиентов, находящихся в листе ожидания, тем самым увеличивая дефицит донорских органов.

Частично эта проблема может быть решена за счет развития трансплантации печени от живого донора. Трансплантация

*Таблица 1. Выживаемость после трансплантации печени (UNOS Data report, 2011), %*

| Причина постановки в лист ожидания | 1-летняя    | 3-летняя     | 5-летняя     |
|------------------------------------|-------------|--------------|--------------|
| Муковисцидоз                       | 94,9        | 82,3         | 78,1         |
| Острая печеночная недостаточность  | 81,6        | 72,7         | 69,7         |
| Доброкачественные опухоли          | 86,0        | 81,6         | 69,6         |
| Билиарная атрезия                  | 93,5        | 89,4         | 85,1         |
| Холестатические заболевания        | 89,8        | 85,0         | 79,7         |
| Злокачественные опухоли            | 86,1        | 68,6         | 54,1         |
| Метаболические расстройства        | 89,3        | 84,0         | 80,8         |
| Нехолестатические циррозы          | 85,9        | 77,0         | 70,0         |
| Другие болезни печени              | 81,2        | 72,0         | 63,8         |
| Другие заболевания                 | 83,7        | 74,7         | 64,6         |
| <b>Среднее</b>                     | <b>87,2</b> | <b>78,73</b> | <b>71,55</b> |

© О.Г. Котенко, Д.А. Федоров, А.О. Попов и др., 2011

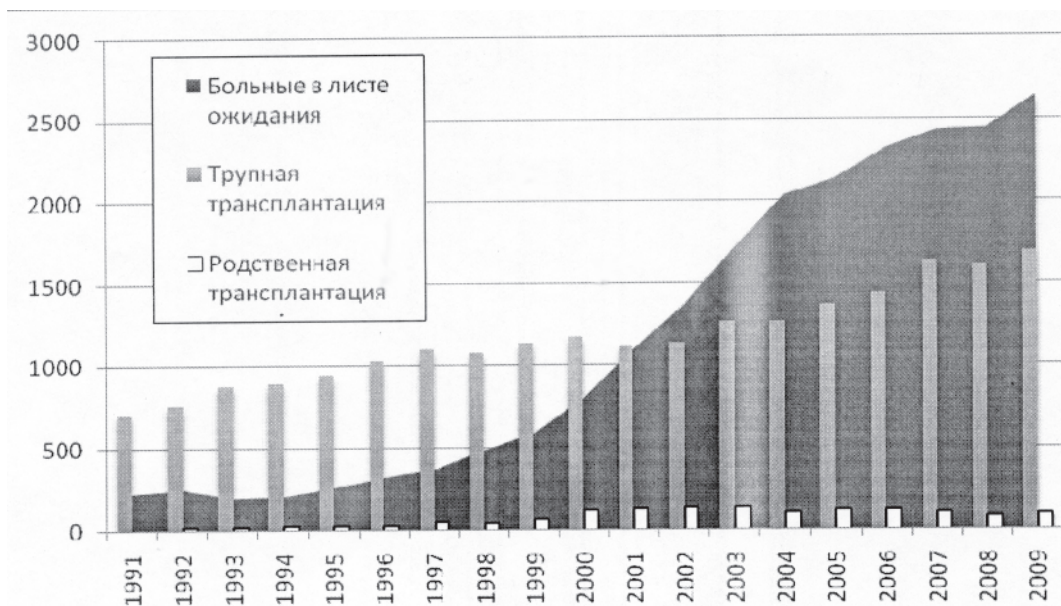


Рис. 1. Количество выполняемых в странах «Евротрансплант» трансплантаций печени и необходимость в них (Eurotransplant annual report, 2009)

печени от живого родственного донора сегодня получила широкое распространение во многих развитых странах мира [3, 4]. Являясь одним из эффективных способов увеличения количества донорских органов, в странах с развитой системой трупного донорства она позволяет существенно снизить смертность больных, находящихся в листе ожидания [5].

Изучение опыта ведущих клиник мира по использованию живого донорства в трансплантации послужило весомым аргументом для разработки программы трансплантации печени от живого родственного донора в Украине. С 2001 года эта программа реализуется в Институте хирургии и трансплантологии им. А.А. Шалимова НАМН Украины.

Целью настоящего исследования явилось изучение результатов трансплантации печени от живого родственного донора в Украине за 10-летний период (2001–2011 годы).

**Материал и методы.** В исследование включены 90 реципиентов, находившихся в листе ожидания в период с 2001 по 2011 г. Все реципиенты были поставлены в лист ожидания трансплантации печени согласно критериям UNOS. Показанием к трансплантации печени явилась терминальная стадия хронического заболевания печени — цирроз. Причины постановки реципиентов в лист ожидания представлены в табл. 2.

Средний возраст реципиентов составил  $(20,2 \pm 8,0)$  года — от 7 мес до 58 лет, масса —

$(60,5 \pm 7,0)$  кг среди взрослых и  $(8,6 \pm 2,4)$  кг среди детей, 47 (52,2 %) реципиентов были женского пола, 43 (47,8) — мужского пола.

Средний показатель интегрального функционального состояния печени составил  $(12,5 \pm 1,2)$  балла. Резистентный асцит отмечался у 42 больных, в 8 случаях наблюдались рецидивирующие эпизоды спонтанного бактериального перитонита, у 4 больных имел место гепаторенальный синдром 2-го типа. У 2 больных отмечен правосторонний асцитоторакс, у 1 — левосторонний асцитоторакс. Варикозное расширение вен пищевода и желудка выявлено в 47 случаях, в 12 из них в анамнезе имело место рецидивирующее кровотечение из варикозных вен пищевода. У 7 больных выявлена портальная гастропатия 2-й степени. В 8 случаях отмечалась клиническая энцефалопатия. Средняя продолжительность болезни с момента установления диагноза цирроз печени до обращения в ИХТ АМН Украины составила  $(2,5 \pm 0,5)$  года.

В основе трансплантации части печени от живого родственного донора лежит принцип первостепенного значения здоровья донора, поэтому важным этапом трансплантации является подбор и обследование донора, которое проводили в соответствии с разработанным протоколом, включающим этапы диагностики с нарастающей инвазивностью методов. При подготовке к трансплантации нами обследован 101 потенциальный донор для 90 реципиентов. Из них в 8 случаях

Таблица 2. Причины постановки 90 реципиентов в лист ожидания

| Заболевание                                    | Кол-во реципиентов |            |
|--|--------------------|------------|
|  | абс.               | %          |
| Билиарная атрезия                              | 32                 | 35,6       |
| Криптогенный цирроз                            | 14                 | 15,6       |
| Аутоиммунный цирроз                            | 11                 | 12,2       |
| Вирусный цирроз (HBV)                          | 10                 | 11,1       |
| Первичный билиарный цирроз                     | 3                  | 3,3        |
| Алкогольный цирроз печени                      | 2                  | 2,2        |
| Болезнь Вильсона                               | 2                  | 2,2        |
| Вирусный цирроз (HBV, HBC)                     | 2                  | 2,2        |
| Вирусный цирроз (HBV, HDV)                     | 2                  | 2,2        |
| Вирусный цирроз (HCV)                          | 2                  | 2,2        |
| Гепатобластома                                 | 2                  | 2,2        |
| Синдром Бада–Киари                             | 2                  | 2,2        |
| Билиарная атрезия (Синдром Аллажиля)           | 1                  | 1,1        |
| Болезнь Кароли, тромбоз воротной вены HBV, HCV | 1                  | 1,1        |
| Болезнь Клацкина                               | 1                  | 1,1        |
| Первичный рак печени                           | 1                  | 1,1        |
| Первичный склерозирующий холангит              | 1                  | 1,1        |
| Рабдомиосаркома печени                         | 1                  | 1,1        |
| <b>Всего</b>                                   | <b>90</b>          | <b>100</b> |

выявлены противопоказания к донорству в виде анатомических особенностей строения артериального русла печени, наличия выраженного стеатоза печени, хронического гепатита, гипертонической болезни, недостаточной расчетной массы трансплантата. Средний возраст доноров составил (37,3±17,0) лет (20–56 лет), масса — (62,5±7,0) кг. Отклонения от нормы биохимических показателей крови и данные компьютерной томографии, указывающие на изменение структуры печени, являлись показанием к биопсии печени. При пограничных показателях уровня глюкозы в крови и изменениях в электрокардиограмме выполняли глюкозотолерантный тест и кардиальный стресс-тест. Объем трансплантата рассчитывали с помощью обработки срезов компьютерной томографии печени донора, а также математическим методом по известным формулам. Считали, что достаточным является соотношение массы трансплантата к массе тела взрослого реципиента (GRBW) 0,8 и более [5–7]. Уровень стеатоза, установленный по результатам пункционной биопсии печени, сопоставляли с GRBW. Если

стеатоз превышал 30 %, пациент исключался из потенциальных доноров. Спиральную компьютерную томографию с внутривенным контрастированием выполняли для изучения анатомических особенностей строения артериального, портального и печеночного венозного русла планируемых к забору частей печени. Абсолютными противопоказаниями к донорству считали высокий риск развития осложнений (наличие диабета, сердечно-легочных заболеваний, нарушение функции почек и т. д.), онкологические заболевания, несовместимость по группе крови, положительные результаты серологических исследований по гепатиту, активные инфекционные заболевания, заболевания печени, а также неадекватные размеры трансплантата, значительный стеатоз печени, который сопровождается неприемлемо низким GRBW [8–10]. Исследование реципиента проводили в соответствии с аналогичным протоколом.

**Результаты.** С 2001 по 2011 г. в отделении трансплантации и хирургии печени ИХТ АМН Украины выполнено 92 трансплантации печени 90 реципиентам от

93 живых родственных доноров (в том числе 2 ретрансплантации и 1 одномоментная трансплантация от 2 живых доноров). Из них в 47 (51,6 %) случаях выполнена трансплантация правой полупечени, в 7 (7,7 %) — левой полупечени и в 36 (39,6 %) — левой латеральной секции.

Средняя кровопотеря во время операции составила  $(8,5 \pm 7,0)$  л. Операция продолжалась в среднем  $(19 \pm 6)$  ч. Длительность холодовой ишемии составила  $(50 \pm 15)$  мин, тепловой ишемии —  $(45 \pm 10)$  мин.

Средняя продолжительность послеоперационного периода у реципиентов составила  $(43 \pm 14)$  дней. Иммуносупрессия проводилась в соответствии с протоколом, включающим пероральное применение циклоспорина А либо такролимуса, микофенолата мофетила, преднизолона по схеме.

В раннем послеоперационном периоде возникли осложнения у 49 реципиентов. В 5 случаях развился тромбоз артериального анастомоза на 5, 8, 14, 17 и 18-е сутки после трансплантации с последующим некрозом графта и печеночной недостаточностью. В 2 случаях в экстренном порядке была выполнена ретрансплантация, а в других 2 при отсутствии второго родственного донора — релапаратомия, тромбэктомия и реанастомоз. В 1 случае была проведена тромболитическая терапия стрептокиназой. Стеноз печеночной артерии развился в 3 случаях и был успешно корригирован ангиографиче-

ской баллонной дилатацией. Тромбоз воротной вены трансплантата развился в 1 случае с развитием очагов деструкции в паренхиме трансплантата у ребенка 9 мес, была применена консервативная тактика, давшая позитивный результат. В 2 случаях на 14-е и 16-е сутки после трансплантации развился спонтанный разрыв трансплантата с последующим внутрибрюшинным кровотечением, геморрагическим шоком. Инфекционные осложнения были представлены гнойно-септическими — в 63 случаях и вирусными — в 13 случаях. Острый ранний криз отторжения трансплантата развился в 74 случаях, из них в 14 — стероидорезистентный. Ранняя послеоперационная летальность в серии из 92 трансплантаций составила 23 случая (25,5 %). Одно-, трех- и пятилетняя выживаемость составили соответственно 58; 49 и 46 %. Расчетная кривая выживаемости по Каплану–Мейеру представлена на рис. 2.

Средняя интраоперационная кровопотеря при донорской операции составила  $(680 \pm 530)$  мл (от 220 до 1950 мл). Время операции у донора было в среднем  $(8,0 \pm 2,7)$  ч, масса графта правой полупечени —  $(870 \pm 370)$  г (диапазон 230–1220 г). Перед забором трансплантата всем донорам стандартно внутривенно вводили 1000 мг метилпреднизолона. Длительность пребывания донора в стационаре в послеоперационном периоде составила  $(14 \pm 3)$  дня. Ни в 1 случае

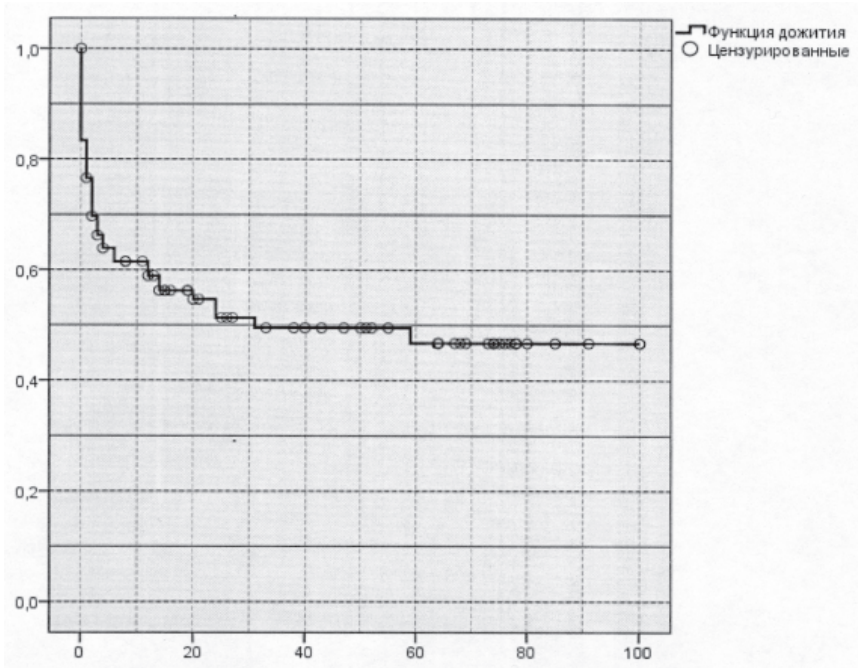


Рис. 2. Кривая выживаемости 90 реципиентов после трансплантации печени

у доноров не отмечено тяжелых осложнений в послеоперационном периоде. У одного донора имел место реактивный правосторонний плеврит, корригированный плевральной пункцией, у другого — флебит, разрешенный консервативными мероприятиями.

**Обсуждение.** Несмотря на значительные достижения современной трансплантологии и большое количество выполняемых операций, основной проблемой остается нехватка донорских органов. При высоком уровне государственных программ трансплантации в развитых странах мира количество трансплантаций печени с использованием органов трупных доноров остается стабильно одинаковым, что указывает на ограниченные возможности трупного донорства. Одним из способов увеличения количества донорских органов является трансплантация разделенной печени (split liver transplantation) [3, 9, 11]. При этом донорская печень разделяется на 2 части, которые имплантируются 2 реципиентам. Чаще всего ими являются взрослый и ребенок. Другим способом, позволяющим существенно расширить пул донорских органов, является трансплантация части печени от живого донора. Потенциальные живые доноры для взрослых имеют высокий процент исключающих факторов в сравнении с донорами для педиатрических реципиентов. Учитывая опыт резекций печени, выполненных по поводу онкологических заболеваний, и особенности работы со взрослым контингентом больных, мы начали реализацию программы в ИХТ АМН Украины с трансплантации правой полупечени. По мере накопления опыта работы с детьми в возрасте до 1 года в 2004 году была открыта программа трансплантации части печени детям грудного возраста.

Самый молодой возраст донора в нашей популяции составил 18 лет, самый зрелый — 55 лет. Верхний возрастной лимит донора определен 55 годами, так как именно этот возраст является независимым прогностическим фактором развития осложнений после обширных резекций печени. При принятии решения о заборе части печени основным является обеспечение безопасности донора, оцениваемой согласно данным протокола обследования. На другой чаше весов всегда находится степень нужды реципиента в трансплантации.

Известно, что ахиллесовой пятой трансплантации печени являются осложнения со стороны билиарного тракта. Интраоперационная холангиография позволяет выявить

наличие атипичных вариантов анатомии, нераспознавание которых может закончиться тяжелыми последствиями как для донора, так и для реципиента [12]. Следует помнить, что часто встречаются варианты впадения желчных протоков левой полупечени в билиарную систему правой полупечени. Их лигирование сопровождается атрофией соответствующих сегментов печени донора. Наш опыт показывает, что интраоперационная холангиография является высокоинформативным методом выявления особенностей анатомического строения билиарного дерева донорской печени. Правильная интерпретация полученных данных позволяет выбрать оптимальный уровень пересечения желчных протоков, при котором главным принципом служит обеспечение максимальной безопасности донору. Билиарную реконструкцию у реципиента выполняли с учетом основного заболевания печени, наличия предшествующих операций и анатомических условий. В 47 случаях отток желчи восстанавливали с помощью билиобилиарного анастомоза, в 31 — билиодигестивного соустья. Во всех случаях производили стентирование желчных протоков на управляемом наружном дренаже.

Вопрос о возможности трансплантации печени с умеренным или выраженным стеатозом остается спорным, однако в случаях с трупной донорской печенью, где имеется большая масса графта, пересадка стеатозной печени считается приемлемой в отдельных, избирательных случаях. Однако в случаях трансплантации от живого донора наличие выраженного стеатоза является исключающим фактором. Стеатозный трансплантат высоко чувствителен к холодовым ишемическим повреждениям, сопровождающимся деструкцией клеточной мембраны, что приводит к нарушению функции трансплантата в раннем послеоперационном периоде. При трансплантации от живого донора период холодовой ишемии является, как правило, коротким, в связи с чем дисфункция трансплантата при его сопутствующем стеатозе теоретически должна быть минимальной. Влияние стеатоза на функцию трансплантата является доказанным фактом. Степень стеатоза влияет на результат операции и определяет исход трансплантации. Однако еще более важным является значение стеатоза донорской печени для самого донора. Умеренный или выраженный стеатоз печени может служить отражением

заболевания, сопровождающегося нарушением метаболизма, такого как неалкогольный стеатоз печени (NASH). Стеатоз также служит дополнительным фактором риска для донора, так как значительно повышает кровопотерю во время рассечения паренхимы печени, провоцирует развитие печеночной недостаточности или длительной гипербилирубинемии. Таким образом, считаем, что пациенты с выраженным стеатозом печени невыясненной этиологии не должны рассматриваться в качестве доноров.

Сосудистые осложнения являются одной из главных причин смертности и morbidity после ортотопической трансплантации печени. Наиболее часто встречается тромбоз печеночной артерии. У взрослых реципиентов тромбоз печеночной артерии развивается в 2,6–20,0 %, у детей — в 9,0–14,9 %, наиболее часто — у детей до 1 года — в 30 %. Обычно тромбоз печеночной артерии возникает в течение 1 месяца после трансплантации. Ранний тромбоз печеночной артерии (до 14 дней) сопровождается развитием фульминантной печеночной недостаточности вследствие некроза печени, что приводит к потере графта [13–16]. Диагноз устанавливают по данным доплерографии, подтверждают ангиографией. Тромбоз печеночной артерии служит показанием к ретрансплантации печени. Летальность при тромбозе печеночной артерии варьирует от 30 до 70 %. К факторам риска относят малую массу реципиента, малый объем трансплантата, ретрансплантацию, способ артериальной реконструкции, анатомический вариант строения артериальной системы графта. Риск артериального тромбоза существенно возрастает у детей, особенно в возрасте до 1 года. Ретрансплантация увеличивает вероятность артериального тромбоза вследствие использования более сложных методик артериальной реконструкции. Применение артериального трансплантата повышает риск тромбоза до 23,8 % в сравнении с обычными методами реконструкции — 5,4 %. Реакция отторжения трансплантата является предрасполагающим фактором вследствие возрастающего сопротивления артериальному кровотоку через отечный трансплантат. Цитомегаловирусная инфекция также влияет на возникновение тромбоза печеночной артерии, так как вирус поражает эндотелий, что сопровождается быстрой активацией свертывающей системы крови. Низкий кровоток по печеночной артерии способствует ее тром-

бозу. При трансплантации трупной печени кровотоков ниже 400 мл/мин сопряжен с пятикратным риском развития тромбоза печеночной артерии в раннем послеоперационном периоде. В связи с этим интраоперационная регистрация объемного кровотока в печеночной артерии позволяет прогнозировать и предупредить развитие раннего артериального тромбоза. В нашем случае тромбоз печеночной артерии развился в 5 случаях. В 2 из них нами в срочном порядке была выполнена ретрансплантация.

Увеличение портального кровотока имеет более весомое значение при трансплантации части печени от живого донора в сравнении с целой трупной печенью, так как в последнем случае возможностей для компенсации гемодинамических изменений значительно больше. Наблюдения за результатами трансплантации детской печени взрослому показали, что в послеоперационном периоде быстро развивается дисфункция графта, сопровождающаяся острой портальной гипертензией. Негативно влияющей также является тяжесть состояния больного, этиология цирроза и исходное функциональное состояние печени (класс В и С по Child–Pugh), когда GRWR менее 0,8 % [17]. Влияние портальной гемодинамики подтверждается тем, что после перевязки портосистемных коллатералей отмечено значительное увеличение портального кровотока в трансплантате [18]. Таким образом, увеличение портального притока может повреждать трансплантат печени, что особенно проявляется при синдроме печени недостаточного размера (small for size syndrome).

#### Выводы

1. Трансплантация печени от живого родственного донора значительно сокращает время пребывания реципиента в листе ожидания и улучшает послеоперационную выживаемость.
2. Главным принципом родственной трансплантации является сохранение здоровья донора, поэтому первостепенное значение имеет его всестороннее обследование перед постановкой в лист ожидания.
3. На количество и характер послеоперационных осложнений значительно влияет исходное состояние реципиента.
4. Совершенствование хирургической техники трансплантации печени от живого родственного донора позволило получить результаты, соответствующие мировым достижениям.

**Список литературы**

1. Living donor liver transplantation for acute liver failure: a single center experience / L. P. Carrius, L. F. Pacheco-Moreira, E. Balbi [et al.] // *Transplantation Proceedings*. — 2009. — V. 41 (3). — P. 895–897.
2. Living donor liver transplantations in HIV- and hepatitis C virus-coinfected hemophiliacs / K. Tsukada, Y. Sugawara, J. Kaneko [et al.] // *Experience in a Single Center. Transplantation*, — 2011. — V. 91 (11). — P. 1261–1264.
3. Living donor liver transplantation in adults in the MELD era in Germany — a multi-center retrospective analysis / U. Settmacher, M. Götz, A. Rahmel [et al.] // *Transpl. Int.* — 2011. — Sep. — V. 24 (9). — P. 904–911.
4. Predictors of patient survival following living donor liver transplantation / Chuan Li, Tian-Fu Wen, Lu-Nan Yan [et al.] // *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* — 2011. — V. 10 (3). — P. 248–253.
5. *Sobhonslidsuk A.* Evaluation of donors for living donor liver transplantation (LDLT) / A. Sobhonslidsuk, P. Intaraprasong, S. Tongprasert // *J. Med. Assoc. Thai.* — 2010. — V. 93 (5). — P. 637–641.
6. Outcomes for adult living donor liver transplantation: Comparison of A2ALL and national experience / K. M. Olthoff, M. M. Abecassis, J. C. Emond [et al.] // *Liver Transpl.* — 2011. — Jul. — V. 17 (7). — P. 789–797.
7. Living donor liver transplantation in patients older than 60 years / T. Yoshizumi, K. Shirabe, Y. Soejima [et al.] // *Transplantation*. — 2010. — V. 90 (4). — P. 433–437.
8. Living-donor liver transplantation for progressive familial intrahepatic cholestasis / T. Hori, H. Egawa, A. Miyagawa-Hayashino [et al.] // *World J. Surg.* — 2011. — V. 35 (2). — P. 393–402.
9. Prospective evaluation of intraoperative hemodynamics in liver transplantation with whole, partial and DCD grafts / M. Sainz-Barriga, K. Reyntjens, M. G. Costa [et al.] // *Am. J. Transplant.* — 2010. — V. 10 (8). — P. 1850–1860.
10. Expansion of hepatic progenitor cell in fatty liver graft after living donor liver transplantation / J. Y. Cho, K. S. Suh, W. Y. Shin [et al.] // *Transpl. Int.* — 2010. — V. 23 (5). — P. 530–537.
11. *Bartlett A.* Progress in surgical techniques in pediatric liver transplantation / A. Bartlett, M. Rela // *Pediatr. Transplant.* — 2010. — V. 14 (1). — P. 33–40.
12. *Duailibi D. F.* Biliary complications following deceased and living donor liver transplantation: a review // D. F. Duailibi, M. A. Ribeiro // *Transplant. Proc.* — 2010. — V. 42 (2). — P. 517–520.
13. Vascular complications after living donor liver transplantation: a Brazilian, single-center experience / K. Steinbrück, M. Enne, R. Fernandes [et al.] // *Transplant Proc.* — 2011. — V. 43 (1). — P. 196–198.
14. Hepatic artery reconstruction with the jejunal artery of the Roux-en-Y limb in pediatric living donor liver re-transplantation / T. Wakiya, Y. Sanada, K. Mizuta [et al.] // *Pediatr. Transplant.* — 2010. — Dec. 23.
15. Hepatic artery reconstruction in pediatric living donor liver transplantation under 10 kg, without microscope use / M. Enne, L. Pacheco-Moreira, E. Balbi [et al.] // *Pediatr. Transplan.* — 2010. — V. 14 (1). — P. 48–51.
16. Successful outcomes following living donor liver transplantation for portopulmonary hypertension / M. Bandara, F. D. Gordon, A. Sarwar [et al.] // *Liver Transplant.* — 2010. — V. 16 (8). — P. 983–989.
17. Risk factors for portal vein complications after pediatric living donor liver transplantation with left-sided grafts / J. I. Moon, G. O. Jung, G. S. Choi [et al.] // *Transplant. Proc.* — 2010. — V. 42 (3). — P. 871–875.
18. *Botha J. F.* Left lobe adult-to-adult living donor liver transplantation: small grafts and hemiportocaval shunts in the prevention of small-for-size syndrome / J. F. Botha, A. N. Langnas, B. D. Campos // *Liver Transplant.* — 2010. — V. 16 (5). — P. 649–657.

*О.Г. Котенко, Д.О. Федоров, О.О. Попов, О.О. Коршак, О.В. Гриненко, А.В. Гусев*

**10-РІЧНИЙ ДОСВІД ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ПЕЧІНКИ ВІД ЖИВОГО СПОРІДНЕНОГО ДОНОРА В УКРАЇНІ**

Вивчено результати трансплантації печінки від живого спорідненого донора в Україні за 10-річний період (2001–2011 роки).

*Ключові слова:* донор, трансплантація печінки, виживаємість реципієнтів.

*O.G. Kotenko, D.A. Fedorov, A.O. Popov, A.A. Korshak, A.V. Grinenko, A.V. Gusev*

**10-YEAR EXPERIENCE OF LIVER TRANSPLANTATION FROM LIVING RELATED DONOR IN UKRAINE**

The results of the liver transplantation from living related donor in Ukraine were studied in 10-year period (2001–2011 years).

*Key words:* donor, liver transplantation, recipient survival rate.

УДК 615.451.35:612.43.014.43:615.014.41

*Е.И. Легач, Ю.И. Боднар, Г.А. Божок*

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков*

## **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРНОГО СОСТОЯНИЯ ФРАГМЕНТОВ ТКАНИ ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗ ПРИ ОРГАНОТИПИЧЕСКОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ИЛИ ГИПОТЕРМИЧЕСКОМ ХРАНЕНИИ В КУСТОДИОЛЕ И ТУРУСОЛЕ**

Проведен сравнительный анализ состояния фрагментов ткани эндокринных желез (поджелудочной и щитовидной желез, надпочечников, семенников) при органотипическом культивировании или гипотермическом хранении в Кустодиоле и Турусоле в течение 24 ч. Органотипическое культивирование в целом позволяет сохранять структурно-функциональные свойства ткани эндокринных желез, однако в центре фрагмента ткани наблюдается активация дистрофических процессов, что может ухудшить ее выживаемость после трансплантации. Гипотермическое хранение в течение 24 ч в растворе «Кустодиол» сохраняет нативную структуру ткани эндокринных желез. Использование раствора «Турусол» было неэффективно в этом случае.

**Ключевые слова:** *поджелудочная железа, щитовидная железа, надпочечники, семенники, гипотермическое хранение, кустодиол, турусол.*

На современном этапе развития медицины становится понятным, что заместительная гормональная терапия, хотя и является терапией выбора при лечении гормональной недостаточности, не может предотвратить развитие осложнений и сама может быть причиной их возникновения. Трансплантация культуры клеток либо фрагментов ткани эндокринных желез является альтернативным методом лечения гормональной недостаточности, при котором сохраняется физиологическая нейроэндокринная регуляция. Результаты трансплантации зависят от многих факторов, главным из которых является функциональное состояние трансплантата.

При получении материала для трансплантации возникает необходимость в хранении фрагментов ткани эндокринных желез в специальных растворах, из которых чаще всего используют растворы Университета Висконсина (UW solution) и Евроколлинз. Однако известно, что при хранении поджелудочной железы в растворе Университета Висконсина жизнеспособность и количество получаемых островков уменьшается уже после 6 часов [1]. В связи с этим актуальным является апробация новых защитных растворов для гипотермического хранения фрагментов ткани эндокринных желез.

Кустодиол (Custodiol®, Dr. F. Kohler Chemie GmbH, Германия) — ирригационный маннитолсодержащий раствор, разрешенный в том числе для консервации органов при трансплантации [2–4]. Турусол («Юрия-фарм», Украина) также относится к маннитолсодержащим ирригационным средствам, однако его применение для гипотермического хранения органов/тканей не описано.

Маннитол — шестиатомный спирт, который используется в криобиологии в качестве защитного агента при замораживании биобъектов [5]. Растворы, содержащие криопротекторы, защищают клетки от негативных факторов криоконсервирования, однако могут оказать и токсическое действие.

Целью данной работы явилось изучение структурного состояния фрагментов ткани эндокринных желез (поджелудочной и щитовидной желез, надпочечников, семенников) при краткосрочном органотипическом культивировании или гипотермическом хранении в маннитолсодержащих растворах «Кустодиол» и «Турусол».

**Материал и методы.** Источником фрагментов ткани поджелудочной и щитовидной желез, надпочечников, семенников являлись железы однодневных поросят, извлеченные в среднем через 10–15 минут пос-

© *Е.И. Легач, Ю.И. Боднар, Г.А. Божок, 2011*

ле забоя животного. Сразу после извлечения железы помещали в охлажденную среду 199, затем измельчали эндокринную ткань на фрагменты размером 0,5–1,0 мм<sup>3</sup>. Отмывали 3–4 раза от крови средой 199 с антибиотиками (пенициллин — 200 ЕД/мл и канамицин — 150 мкг/мл).

Фрагменты ткани эндокринных желез на 24 часа помещали в: 1) среду для культивирования; 2) кустодиол; 3) турусол. Органотипическое культивирование фрагментов ткани эндокринных желез проводили в среде 199 с добавлением 10 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки и антибиотиков при 37 °С. Инкубацию фрагментов ткани эндокринных желез в кустодиоле и турусоле проводили при 8 °С.

Через сутки после культивирования или гипотермического хранения фрагменты ткани эндокринных желез фиксировали в 10 % формалине и заливали в парафин. Серийные срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

**Результаты и их обсуждение.** В трансплантологии часто является необходимым сохранение ткани в функциональном состоянии некоторое время до трансплантации. Такими способами претрансплантационного хранения ткани эндокринных желез могут быть краткосрочное культивирование, гипотермическое хранение и низкотемпературное криоконсервирование.

Нами была проведена сравнительная оценка состояния фрагментов ткани эндокринных желез (поджелудочной и щитовидной желез, надпочечников, семенников) при использовании двух из этих способов — культивирования и гипотермического хранения. Нужно отметить, что эти два подхода являются принципиально разными по спектру воздействия на природу биохимических процессов, происходящих в ткани. Культивирование фрагментов ткани предполагает создание условий, максимально приближенных к физиологическим (осмолярность и рН среды, температура, наличие питательных веществ), в результате чего можно ожидать сохранения нормального метаболизма клеток. Гипотермическое хранение, напротив, имеет своей целью замедление всех метаболических процессов, происходящих в ткани, путем понижения температуры внешней среды. Оба подхода имеют свои недостатки, к которым относится возможность активации перекисных процессов при культивировании, а также самоотравления клеток при плохом оттоке метабо-

литов [6]. При гипотермическом хранении возможен распад энергетических субстратов, изменение активности окислительно-восстановительных процессов, изменение рН, вне- и внутриклеточный отек [7].

Результаты гистологического исследования образцов ткани эндокринных желез представлены ниже.

Микроскопически паренхима нативной щитовидной железы новорожденного поросенка представлена высокодифференцированной тканью, состоящей, главным образом, из четко сформированных фолликулярных структур, полость которых выстлана однослойным кубическим эпителием. Фолликулы заполнены яркоокрашенным коллоидом плотной консистенции, с выраженными участками резорбции. Через сутки культивирования фрагменты ткани щитовидной железы сохраняли нормофолликулярное строение в периферической зоне фрагмента, однако в центральной зоне наблюдались деструктивные изменения. Фолликулы значительно уменьшены в размерах, в большинстве из них коллоид отсутствует или видны остатки бледноокрашенного секрета, подвергшегося значительной резорбции. Характерны признаки десквамации тиреоидного эпителия. Межфолликулярные пространства расширены и заполнены тироцитами и секретом разрушенных фолликулов. Заметны скопления дезинтегрированных фолликулярных клеток.

После культивирования фрагментов семенников сохраняется нативная морфологическая структура ткани, которая представляет собой семенные каналцы и расположенные между ними скопления интерстициальных клеток. В интерстиции семенника различаются кровеносные капилляры. Клетки внутри каналцев располагаются правильными концентрическими слоями, снаружки от базальной мембраны различаются миоидные клетки. В базальной области каналцев клеточный компонент представлен двумя типами клеток: гоноцитами и клетками Сертоли, имеющими небольшие ядра неправильной формы. В интерстиции определяются многочисленные клетки Лейдига со сферическими или овальными базофильными ядрами, содержащими более темно-окрашенные ядрышки, и вакуолизированной эозинофильной цитоплазмой. Однако в центре фрагмента отмечается разволокнение базальной мембраны и истончение ее отдельных участков. В некоторых семенных каналцах на-

блюдается отслоение спермоэпителиального пласта от базальной мембраны.

При органотипическом культивировании фрагментов ткани надпочечных желез структура кортекса и медуллы в целом сохраняется. В основном присутствуют клетки с темными и мелкими ядрами, относящиеся к клубочковой зоне кортекса, и клетки с крупными светлыми ядрами и крупнопенистой цитоплазмой, принадлежащие к пучковой зоне кортекса. Клетки сетчатой зоны незначительны. Однако наряду с нормальной гистологической организацией в центре фрагмента встречаются небольшие участки ткани с начинающимся некрозом и распадом клеток.

Нативная поджелудочная железа новорожденного поросенка имеет типичное альвеолярно-трубчатое строение и состоит преимущественно из экзокринной ткани. Ацинусы представляют собой радиально расположенные скопления пирамидальных клеток, разделенные на дольки тонкими соединительнотканными междольковыми перегородками, отходящими от капсулы. Ациноциты имеют круглое ядро, расположенное в базальной части клетки. Цитоплазма вокруг ядра ациноцита базофильна, в апикальной части находится большое количество ацидофильных гранул. Эндокринная часть поджелудочной железы состоит из множественных небольших островков, которые отделены от ацинусов прослойками соединительной ткани. Относительное количество островков в ткани поджелудочной железы новорожденного поросенка больше, чем у взрослой особи, что связано с небольшим объемом экзокринного компонента поджелудочной железы и некоторой недоразвитостью органов пищеварительной системы свиней в первый месяц жизни.

При гистологическом анализе фрагментов поджелудочной железы после суточного культивирования определялись значительные зоны аутолизиса ацинарных клеток, хотя ткань сохраняла альвеолярно-трубчатое строение. Между ацинусами наблюдались скопления островковых клеток. Обнаружено характерное увеличение междолькового пространства, указывавшее на развитие дистрофических изменений в ткани поджелудочной железы, в центре фрагмента выявлены очаги некроза.

Таким образом, на основе гистологических исследований фрагментов ткани эндокринных желез, подвергнутых органотипическому культивированию в течение 24 ча-

сов, можно заключить, что даже на таком небольшом сроке культивирования во всех изученных видах ткани наблюдается активация дистрофических процессов. Известно, что при органотипическом культивировании ткани способны переживать в течение небольшого промежутка времени [8], поскольку в процессе культивирования постепенно происходит дедифференцировка ткани с утратой ее специфической функции. Это связано с тем, что благоприятные условия существования ткани в среде культивирования — газообмен и обмен веществ — могут обеспечиваться лишь в зоне краевой локализации, где имеется свободный доступ трофических и ростовых факторов. В центральной части фрагмента при этом в связи с недостатком обмена веществ будут наблюдаться процессы апоптоза и некроза ткани.

В наших исследованиях мы также наблюдали появление дистрофических зон в центре культивируемых фрагментов. Использование такой органотипической культуры ткани эндокринных желез снижает «качество трансплантата» и может негативно сказаться на результатах трансплантации.

В связи с этим нами были проведены исследования состояния фрагментов ткани эндокринных желез, подвергшихся гипотермическому хранению в маннитолсодержащих растворах «Кустодиол» и «Турусол».

Во фрагментах ткани эндокринных желез, хранившихся в турусоле, наблюдалось нарастание процессов деструкции ткани, пикнотичность ядер клеток, отек. При изучении образцов, хранившихся в кустодиоле, не наблюдалось видимых изменений нативной структуры ткани.

#### **Выводы**

При сравнении образцов фрагментов ткани эндокринных желез (поджелудочной и щитовидной желез, надпочечников, семенников), пребывавших в течение 24 ч в условиях органотипического культивирования либо гипотермии, установлено следующее. Органотипическое культивирование в целом позволяет сохранять структурно-функциональные свойства ткани эндокринных желез в течение суток, однако активация дистрофических процессов в центре фрагмента ткани может ухудшить ее выживаемость после трансплантации. Гипотермическое хранение в течение 24 ч в растворе «Кустодиол» сохраняет нативную структуру ткани эндокринных желез. Использование раствора «Турусол» неэффективно для этой цели.

**Список литературы**

1. Human pancreas preservation prior to islet isolation — cold ischaemic tolerance / J. R. T. Lakey, R. V. Rajotte, G. L. Warnock [et al.] // *Transplantation*. — 1995. — V. 59. — P. 689–694.
2. *Никоненко А. С.* Опыт применения кардиоплегического раствора «Кустодиол» / А. С. Никоненко, В. И. Ступаков, В. А. Собокаръ // *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия*. — 1996. — № 6. — С. 275–276.
3. Liver transplantation in Medellin, Colombia: initial experience / J. Gutierrez, C. Guzman, G. Correa [et al.] // *Transplant. Proc.* — 2004. — V. 36, № 6. — P. 1677–1680.
4. Effects of Custodiol-N, a novel organ preservation solution, on ischemia/reperfusion injury / S. Loganathan, T. Radovits, K. Hirschberg [et al.] // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* — 2010. — V. 139, № 4. — P. 1048–1056.
5. *Brodthagen U. A.* Platelet cryopreservation with glycerol, dextran, and mannitol: recovery of 5-hydroxytryptamine uptake and hypotonic stress response / U. A. Brodthagen, W. J. Armitage, N. Parmar // *Cryobiology*. — 1985. — V. 22, № 1. — P. 1–9.
6. *Адамс Р.* Методы культуры клеток для биохимиков / Р. Адамс. — М.: Мир, 1983. — 263 с.
7. *Fuller B.* Storage of cells and tissues at hypothermia for clinical use / B. Fuller ; ed. by K. Bowler. — N.Y.: Cambridge, 1987. — P. 341–362.
8. *Гаврилюк Б. К.* Органотипическое культивирование тканей / Б. К. Гаврилюк, В. П. Сафонов — М.: Наука, 1983. — 128 с.

*Є.І. Легач, Ю.І. Боднар, Г.А. Божок*

**ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ СТРУКТУРНОГО СТАНУ ФРАГМЕНТІВ ТКАНИНИ ЕНДОКРИННИХ ЗАЛОЗ ПРИ ОРГАНОТИПОВОМУ КУЛЬТИВУВАННІ АБО ГІПОТЕРМІЧНОМУ ЗБЕРІГАННІ В КУСТОДІОЛІ ТА ТУРУСОЛІ**

Проведено порівняльний аналіз стану фрагментів тканини ендокринних залоз (підшлункової та щитовидної, надниркових залоз, сім'яників) при органотиповому культивуванні або гіпотермічному зберіганні в кустодіолі і турусолі протягом 24 год. Органотипове культивування в цілому дозволяє зберігати структурно-функціональні властивості тканини ендокринних залоз, однак у центрі фрагментів тканини спостерігається активація дистрофічних процесів, що може погіршити її виживання після трансплантації. Гіпотермічне зберігання протягом 24 год в розчині «Кустодіол» залишає нативну структуру тканини ендокринних залоз. Використання розчину «Турусол» в цьому випадку неефективно.

**Ключові слова:** підшлункова залоза, щитовидна залоза, надниркові залози, сім'яники, гіпотермічне зберігання, кустодіол, турусол.

*E. I. Legach, Yu. I. Bodnar, G. A. Bozhok*

**COMPARATIVE ANALYSIS OF THE STRUCTURE OF THE ENDOCRINE GLANDS TISSUE FRAGMENTS AT ORGANOTYPIC CULTURE OR HYPOTHERMIC STORAGE IN THE CUSTODIOLE AND TURUSOLE**

The comparative analysis of the structure of the tissue fragments of the endocrine glands (pancreas, thyroid glands, adrenal glands, testes) at organotypic culture or hypothermic storage in the Custodiole and Turusole within 24 hours was done. Organotypic culture generally allows to save the structural and functional properties of the tissue of the endocrine glands, but in the center of tissue fragment an activation of degenerative processes is observed that can affect survival of tissue after transplantation. Hypothermic storage for 24 h in a Custodiol preserves the native structure of tissue of the endocrine glands. Turusol was ineffective in this case.

**Key words:** pancreas, thyroid glands, adrenal glands, testes, hypothermic storage, Custodiol, Turusol.

УДК 616-018

*В.Н. Лесовой, Н.М. Андоньева, И.М. Антонян\*,  
Ю.Б. Ларьяновская\*\*, С.А. Кешишян*

*Областной клинический центр урологии и нефрологии им. В.И. Шاپовала, г. Харьков*

*\* Харьковская медицинская академия последипломного образования*

*\*\* Национальный фармацевтический университет, г. Харьков*

### **ПРИМЕНЕНИЕ СТРОМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОГОНАДИЗМЕ**

Приведены результаты изучения влияния клеток стромы костного мозга (КСКМ) на модельную патологию андрогенного дефицита (АД) у половозрелых крыс. В результате экспериментов доказано, что применение  $CdCl_2$  в дозе 150 мкг/100 г массы тела животного приводит к воспроизведению стойкого АД. Применение КСКМ в количестве 200 000 в оба яичка является наиболее эффективным способом коррекции данной патологии и альтернативой медикаментозной терапии. Применение КСКМ не увеличивает риск развития злокачественных новообразований.

**Ключевые слова:** клетки стромы костного мозга, андрогенный дефицит.

За последнее время все больше супружеских пар репродуктивного возраста обращаются к врачам в связи с бесплодием [1]. Явление это часто носит вторичный характер, что может быть обусловлено как эндогенными факторами, так и экзогенными: стрессы, травмы, перенесенные заболевания и связанный с ними прием лекарственных препаратов и т. д. [2, 3].

Наши наблюдения показали, что все чаще причиной возникновения нарушений, влекущих за собой мужское бесплодие, является недостаточная секреция эндогенного тестостерона. Этот симптомокомплекс имеет множество названий — андрогенный дефицит (АД), вторичный гипогонадизм, частичный андрогенный дефицит, возрастной андрогенный дефицит и т. д. [4, 5]. Снижение уровня тестостерона имеет определенные клинические проявления: прогрессирующее увеличение массы тела, снижение либидо, эректильная дисфункция, патоспермия, повышенная потливость, снижение работоспособности, слабость, сонливость, утомляемость, депрессивные реакции.

Для восстановления уровня тестостерона существует два основных пути: проведение заместительной гормональной терапии (ЗГТ) и/или стимуляции активности клеток Лейдига для увеличения выработки эндогенного тестостерона [6–8]. Для этой цели,

как правило, используется хорионический гонадотропин, эффективность которого у взрослых невысока.

ЗГТ доказала свою эффективность в ходе многих исследований. Однако любой специалист отлично знает и о ее недостатках [9, 10]:

- необходимости постоянного применения препаратов;
- осуществлении постоянного мониторинга на наличие новообразований;
- контроле уровня гематокрита;
- побочных эффектах в результате применения лекарственного средства.

Многие ученые все чаще обращаются к поиску альтернативных методов лечения различных заболеваний с помощью клеток стромы костного мозга (КСКМ) [11, 12].

Определенные успехи достигнуты в экспериментальном изучении свойств стволовых клеток и внедрены в лечебную практику травматологов, кардиологов, комбустологов, нейрохирургов. Ксенотрансплантация для коррекции гормонального обмена в настоящее время используется и в Украине [13, 14].

Современные биотехнологии, внедренные в клеточную и тканевую терапию, основаны на репаративном потенциале стволовых клеток, а именно: их повышенной способности к пролиферации и регенерации. При этом восстановление функцио-

© В.Н. Лесовой, Н.М. Андоньева, И.М. Антонян и др., 2011

нальной активности органов и тканей рас- считано на:

- трансплантацию клеток для формиро- вания новых тканей в месте их введения;
- имплантацию новых тканей, конструи- руемых *in vitro*;
- индукцию регенерации *in vivo* здоро- выми тканями вблизи очага поражения.

Таким образом, учитывая рост числа па- циентов с АД, возникает необходимость поиска патогенетически обоснованных и безопасных методик восстановления уровня тестостерона.

Нами был проведен ряд экспериментов, в ходе которых изучались эффективность и безопасность применения трансплантации КСКМ в яички самцов крыс для лечения модельного гипогонадизма.

**Материал и методы.** Нами проведены эксперименты на половозрелых самцах бе- лых крыс в возрасте 12–14 недель. Исследо- вание проводилось в три этапа, на каждом из которых решались определенные задачи, а именно:

- подбор эффективной дозы токсина для создания стойкой (не способной к самоизле- чению) модели АД;
- подбор способа введения и эффектив- ной дозы КСКМ для коррекции эксперимен- тального АД;
- оценка отдаленных результатов интра- тестикулярной трансплантации КСКМ и риска развития новообразований.

Для получения максимально достовер- ных данных в ходе эксперимента мы оцени- вали влияние токсина и КСКМ на зависи- мые от тестостерона органы-мишени живот- ных (семенники, придатки яичек, семенные пузырьки, вентральная часть предстатель- ной железы — ВЧПЖ), морфологические характеристики яичек и ВЧПЖ. Оценка этих показателей проводилась на 28-е сутки после введения КСКМ.

Кроме того, нами были изучены отда- ленные последствия введения КСКМ в яич-

ки подопытных животных, достигших пре- дельного возраста и погибших естественной смертью.

**Результаты и их обсуждение.** В ходе экспериментов по подбору токсичной кон- центрации CdCl<sub>2</sub> (55, 100, 150, 200 мкг/100 г массы тела) нами была выбрана доза 150 мкг/ 100 г массы тела животного, которая вызы- вает стойкие гормональные изменения у животных, соответствующих АД (таблица). При введении животным максимальной дозы — 200 мкг/100 г массы тела до оконча- ния эксперимента (28-е сутки) не дожило ни одно животное.

Световая микроскопия морфоструктуры семенников животных в интактной группе представлена срезамы семенных канальцев в поперечном или косом направлении оваль- ной или округлой формы. Белковая и сосу- дистая оболочки соответствовали норме. В базальном отделе содержатся спермато- гонии. Среди них различаются клетки с хро- матином в ядре конденсированного и не- конденсированного вида. В промежуточном отделе стенки канальца расположены спер- матоциты. Большая часть сперматоцитов I порядка находилась в третьей стадии про- фазы, в пахитене. В части канальцев хоро- шо прослеживались метафазы первого и второго делений и анафазы этих делений. В адлюминальном отделе семенных каналь- цев видны многочисленные сперматиды и сформированные сперматозоиды. Половые клетки разных этапов развития размещены концентрическими слоями согласно ста- диям сперматогенного цикла. Лента спер- матогенного эпителия содержала не менее 4–6 рядов клеток. Между сперматогониями на базальной мембране расположены много- численные клетки Сертоли. В межканаль- цевых локусах видны кровеносные сосуды, вокруг которых находятся немногочислен- ные фибробласты и клетки Лейдига. Кле- точные мембраны последних часто плохо различались, ядра клеток овальной формы,

*Изменения массы органов-мишеней в зависимости от дозы CdCl<sub>2</sub>, мг*

| Доза CdCl <sub>2</sub>   | m семенников | m ВЧПЖ      | m семенных пузырьков | m придатков яичек |
|--------------------------|--------------|-------------|----------------------|-------------------|
| Интактная группа         | 3489,2±21,5  | 981,7±17,1  | 950,4±15,5           | 1069,5±15,2       |
| 55 мкг/100 г массы тела  | 3497,9±16,6  | 932,3±13,7  | 941,8±15,2           | 1031,4±13,1       |
| 100 мкг/100 г массы тела | 3489,1±18,2  | 978,8±16,8  | 963,0±17,1           | 1039,9±16,0       |
| 150 мкг/100 г массы тела | 3127,7±16,3* | 634,9±18,0* | 877,5±16,6*          | 886,3±15,7*       |
| 200 мкг/100 г массы тела | 2735,9±17,7* | 644,6±16,3* | 623,3±16,5*          | 654,6±17,3*       |

\* Достоверное отличие от интактной группы.

в основном нормохромные, в них видно четкую россыпь хроматиновой зернистости (рис. 1).

Введение токсина приводит к тяжелому повреждению семенников крыс. Была отмечена отчетливая деструкция большинства

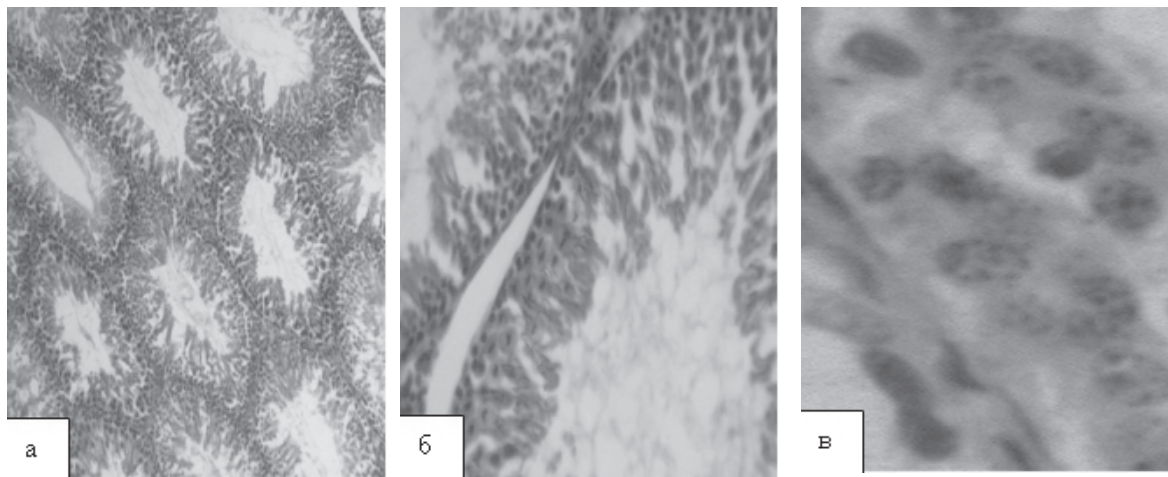


Рис. 1. Яичко intactных крыс, окраска гематоксилин-эозином:

а — в семенных канальцах виден полный пул половых клеток от сперматогоний до сперматозоидов,  $\times 100$ ; б — в стенке канальца видны сперматоциты в метафазе I и II деления,  $\times 250$ ; в — нормохромные клетки Лейдига в межканальцевом локусе,  $\times 400$

Микроскопическое исследование предстательной железы intactных крыс показало, что паренхима железистой ткани представлена многочисленными поперечными профилями конечных отделов (ацинусы) простатических железок, которые умеренно варьируют по размеру. Ацинусы имели округло-овальную форму, контуры их четкие, тургор стенок хороший. Плотность расположения относительно друг друга высокая. Эпителиальные клетки, выстилающие стенку ацинусов, имели кубическую или высокую кубическую форму. Клетки расположены одним слоем, ядро содержится в базальной части, цитоплазма равномерно окрашена. Межацинарная строма представлена скудно (рис. 2).

семенных канальцев с атрофией сперматогенного эпителия. Канальцы уменьшены в размере, контуры их часто извилистые, некоторые канальцы в стадии падения. Вокруг деструктивно измененных канальцев образуется молодая соединительная ткань, которая вытесняет интерстициальную ткань. Половые клетки как ранних, так и поздних этапов развития атрофированы или обнаруживаются очень немногочисленные сперматогонии неопределенного типа и индифферентные половые клетки; клетки Сертоли часто деструктивного вида, немногочисленные, с пробелами в расположении. В межканальцевых локусах клетки Лейдига пролиферируют, ядра клеток мелкие, гиперхромные (рис. 3). Все эти изменения

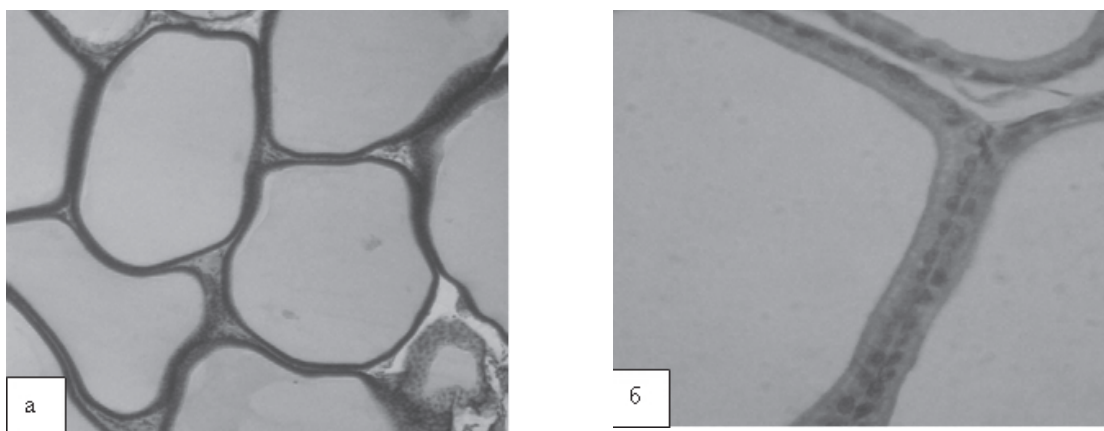


Рис. 2. ВЧПЖ крыс, окраска гематоксилин-эозином: а — ацинусы простатических железок нормальные,  $\times 200$ ; б — кубический эпителий, выстилающий ацинусы, не изменен,  $\times 400$

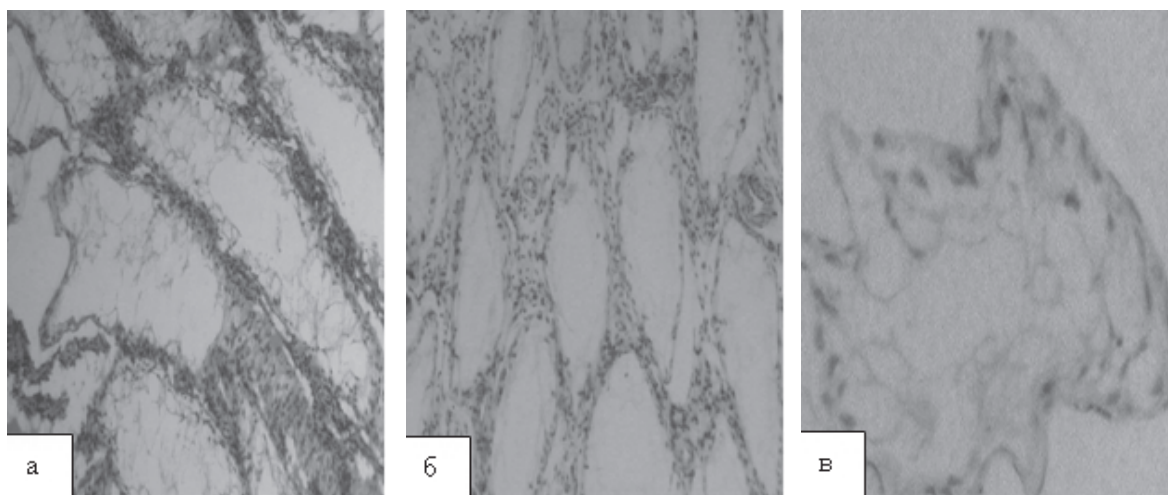


Рис. 3. Яичко крыс на 7-й день после введения  $CdCl_2$  в дозе 150 мкг, окраска гематоксилин-эозином: а — атрофия семенных канальцев, нарушение сперматогенеза, пролиферация клеток Лейдига в межканальцевом локусе,  $\times 200$ ; б — молодая соединительная ткань между атрофированными канальцами,  $\times 200$ ; в — в семенных канальцах видны единичные клетки Сертоли и сперматогонии, индифферентные половые клетки  $\times 400$

подтверждают развитие у крыс данной группы АД.

В предстательной железе часто наблюдается кистозное расширение ацинусов, иногда уплощение клеток. Во многих ацинусах видна отчетливая вакуолизация цитоплазмы эпителиальных клеток. Эпителий становится многоядным. Эти признаки свидетельствуют о функциональной недостаточности, снижении функциональной активности предстательной железы (рис. 4).

стигнут не был. После введения КСКМ в количестве 200 000 клеток только в одно яичко существенных отличий в морфологической картине семенных желез по сравнению с группой экспериментальной патологии отмечено не было. Многие семенные канальцы были опустошены, часть из них заполнена клеточным эозинофильным детритом. Вокруг некоторых канальцев в виде муфт развивается нежная фиброзная ткань. В отдельных канальцах сохранены клетки

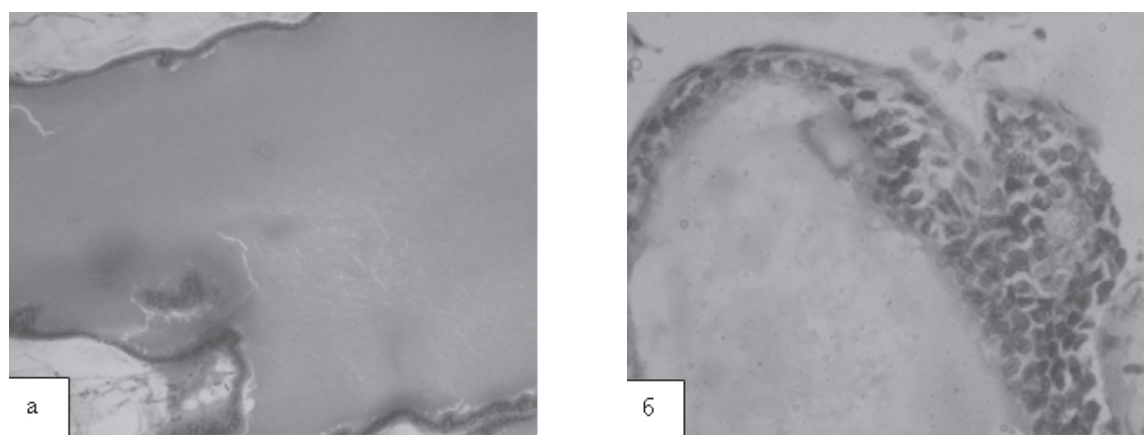


Рис. 4. ВЧПЖ крыс на 28-й день после введения  $CdCl_2$  в дозе 150 мкг, окраска гематоксилин-эозином: а — кистозное расширение ацинуса,  $\times 100$ ; б — вакуолизация и пролиферация эпителиальных клеток,  $\times 400$

На следующем этапе наших исследований проводился подбор эффективного количества КСКМ и пути их введения. Нами были выбраны количества клеток 80 000, 100 000 и 200 000. Клетки вводили в одно или в оба яичка. В случае, когда клетки вводили только в одно яичко, вне зависимости от их количества, необходимый эффект до-

Сертоли, видны сперматогонии и сперматоциты, но расположение их хаотичное. В части канальцев видно восстановление ранних фаз сперматогенеза (фазы размножения и фазы роста). Клетки Лейдига в межканальцевых локусах незрелого типа, с мелкими ядрами, без хроматиновой зернистости, местами явно увеличены в количестве (рис. 5).

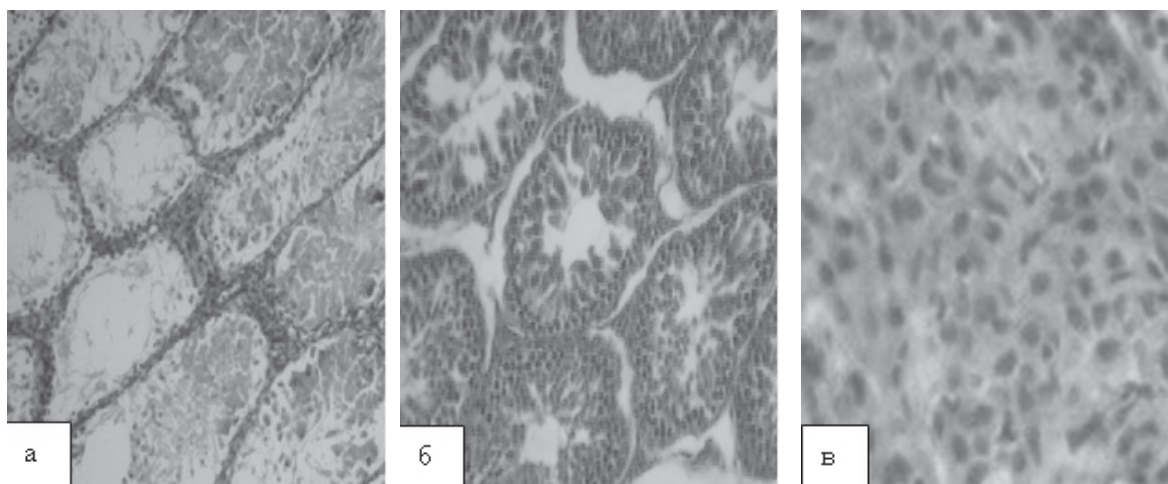


Рис. 5. Яичко крыс, после трансплантации КСКМ в дозе 200 000 клеток в одно яичко, окраска гематоксилин-эозином: а — опустошение семенных канальцев, клеточный детрит в просвете части канальцев,  $\times 100$ ; б — семенные канальцы заполнены сперматогониями, сперматоцитами и ранними сперматидами,  $\times 200$ ; в — пролифераты незрелых клеток Лейдига,  $\times 400$

В ВЧПЖ ацинусы простатических железок часто были увеличены в размере. Эпителий, выстилавший стенки ацинусов, вакуолизирован. Выраженность вакуолизации эпителия несколько уменьшалась по сравнению с таковой у животных экспериментальной группы (рис. 6). Приведенные признаки свидетельствуют об определенном снижении функциональной активности предстательной железы у животных, которым КСКМ вводили только в одно яичко.

вые клетки расположены правильными рядами. Прослеживается разделение на сперматоциты I и II порядка, наличие различных этапов дифференцировки сперматид. Многие канальцы содержали и сперматозоиды. В межканальцевой строме вокруг кровеносных сосудов находятся нормохромные клетки Лейдига с заметной хроматиновой зернистостью в ядре (рис. 7).

Исследование тестикул интактных крыс предельного возраста (33–36 месяцев) пока-

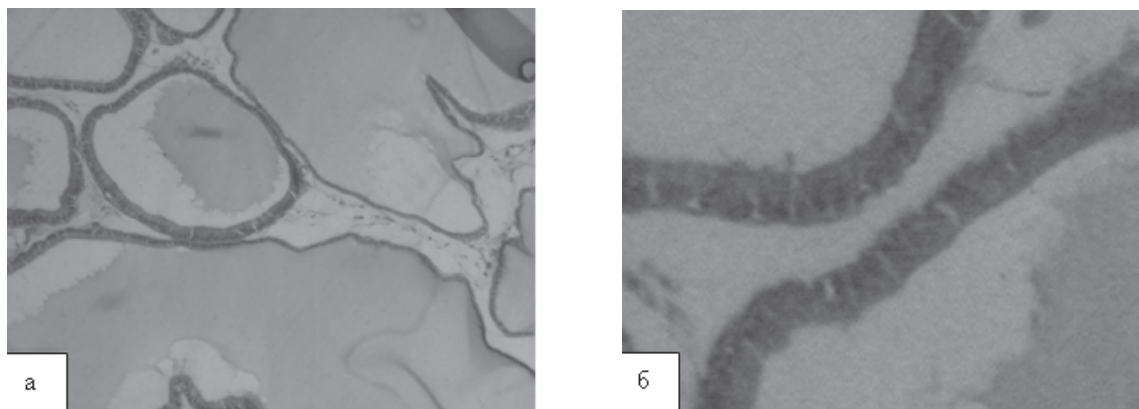


Рис. 6. ВЧПЖ крыс после трансплантации КСКМ в количестве 200 000 клеток только в одно яичко. Ацинусы простатических железок увеличены в размере, выраженная вакуолизация эпителиальных клеток, выстилающих стенки ацинусов, окраска гематоксилин-эозином,  $\times 250$

Введение КСКМ в количестве по 200 000 одновременно в оба яичка обеспечивает репарацию семенных канальцев с полноценным восстановлением процесса сперматогенеза. Семенные канальцы нормального размера. В подавляющем большинстве их в стенке обнаружено 3–4 слоя сперматогенного эпителия, много клеток Сертоли. Поло-

зало, что у большинства животных на фоне семенных канальцев с визуально незаметными изменениями в состоянии сперматогенного эпителия отмечены канальцы с «пробелами» в ленте и уменьшением рядов половых клеток, увеличение канальцев с отсутствием зрелых сперматозоидов. Кроме того, замечено расширение межканаль-

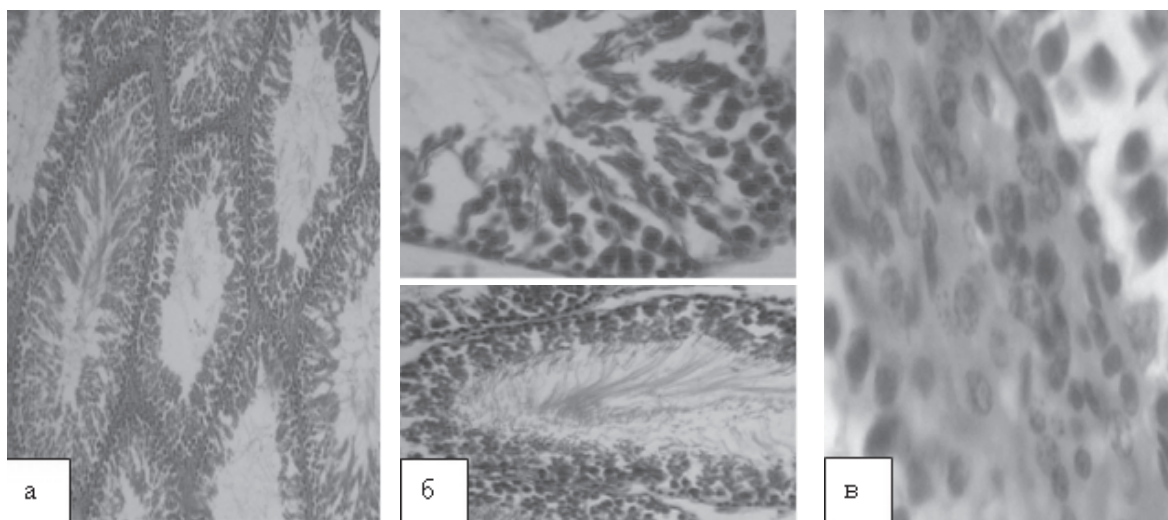


Рис. 7. Яичко крысы после трансплантации КСКМ в количестве по 200 000 одновременно в оба яичка, окраска гематоксилин-эозином: а — нормальное состояние семенных канальцев,  $\times 100$ ; б — разделение на сперматоциты I и II порядка, у ленты сперматогенного эпителия видны все генерации половых клеток,  $\times 250$ ; в — нормохромные клетки Лейдига в межканальцевом локусе,  $\times 400$

цевых пространств, особенно во внутренних областях яичка. В части канальцев обращала на себя внимание очаговая отслойка половых клеток от базальной мембраны, обнаруживались канальцы с шелушением половых клеток в просвете. Клетки Лейдига в межканальцевых локусах в большинстве немногочисленны, в то же время отчетливо видна гипертрофия части из них, что, возможно, свидетельствует об их напряженном состоянии (рис. 8). Следует отметить, что среди интактных крыс старческого возраста выявлены и отдельные случаи очагового или диффузного асперматогенеза (рис. 9). Перечисленные признаки свидетельствуют о появлении у крыс предельного возраста признаков определенного угнетения, а в редких случаях — полного прекращения сперматогенеза. Признаков опухолевых процессов не обнаружено.

В паренхиме ВЧПЖ интактных крыс этого возраста наблюдали отчетливые колебания размера ацинусов простатических желез, часто извилистость их контуров, уплощение эпителиальных клеток. Секрет в просвете части ацинусов был мощно окрашен, в просвете отдельных ацинусов обнаружены конкременты — сгустки секрета с той или иной степенью пропитывания минеральными солями. Увеличение межацинарной стромы железы не наблюдалось (рис. 10). Описанное состояние простатических железок свидетельствует о снижении функциональной активности секреторных единиц, что связано со старением организма, развитием компенсаторных проявлений (увеличением извилистости контуров ацинусов для увеличения площади желез и количества функционирующих клеток).

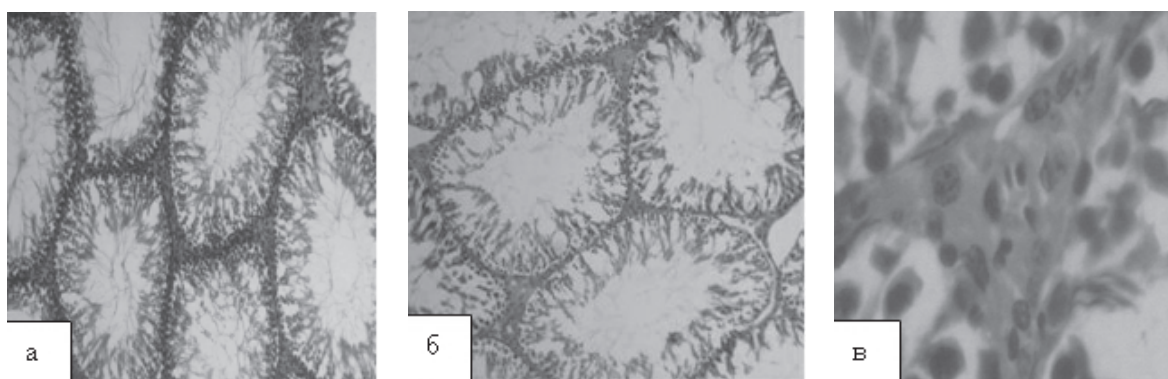


Рис. 8. Яичко крысы, окраска гематоксилин-эозином: а — нормальное состояние семенных канальцев,  $\times 100$ ; б — «пробелы» в ленте сперматогенного эпителия и уменьшение рядов половых клеток,  $\times 200$ ; в — гипертрофия клеток Лейдига,  $\times 400$

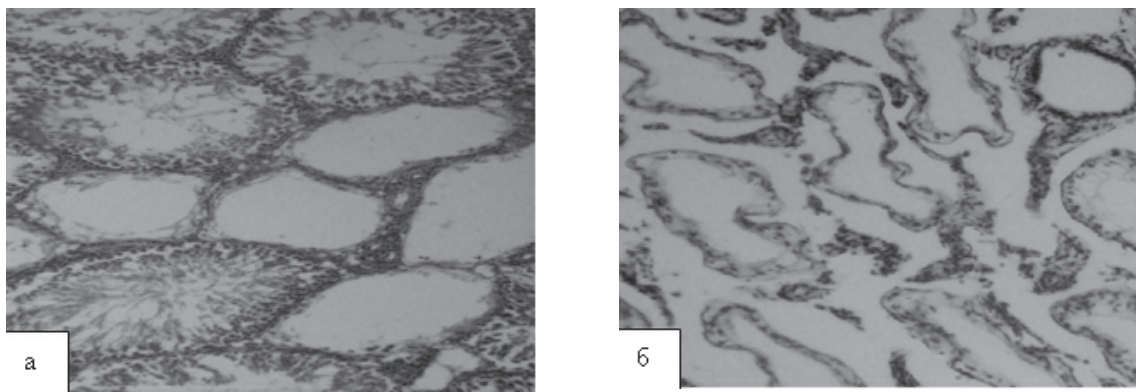


Рис. 9. Яичко крысы, окраска гематоксилин-эозином: а — очаговый асперматогенез,  $\times 200$ ; б — диффузный асперматогенез, оболочки канальцев сморщенные,  $\times 100$

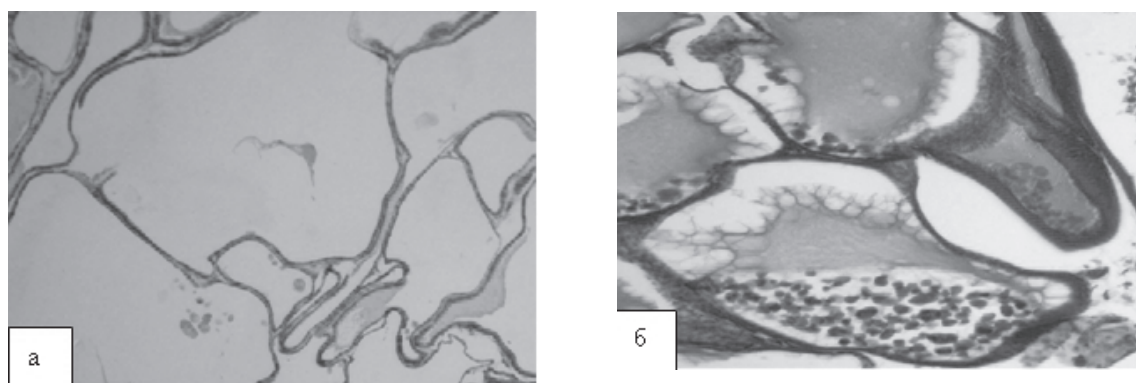


Рис. 10. ВЧПЖ крысы, окраска гематоксилин-эозином  $\times 100$ : а — колебания размера ацинусов простатических железок; б — конкременты в просвете ацинусов, мощная эозинофильная окраска секрета

При изучении морфоструктуры семенников крыс, которые в возрасте 20–22 недель на фоне поражения  $\text{CdCl}_2$  получили КСКМ в количестве по 200 000 в каждое яичко и умерли естественной смертью в 33–36-месячном возрасте, не выявлено существенных различий в состоянии паренхимы по сравнению с интактными животными соответ-

ствующего возраста. И у этих животных видна была гипертрофия части клеток Лейдига в межканальцевых локусах (рис. 11). Никаких признаков опухолевого роста отмечено не было.

Состояние простатических железок ВЧПЖ таких крыс также практически соответствовало интактному контролю (рис. 12).

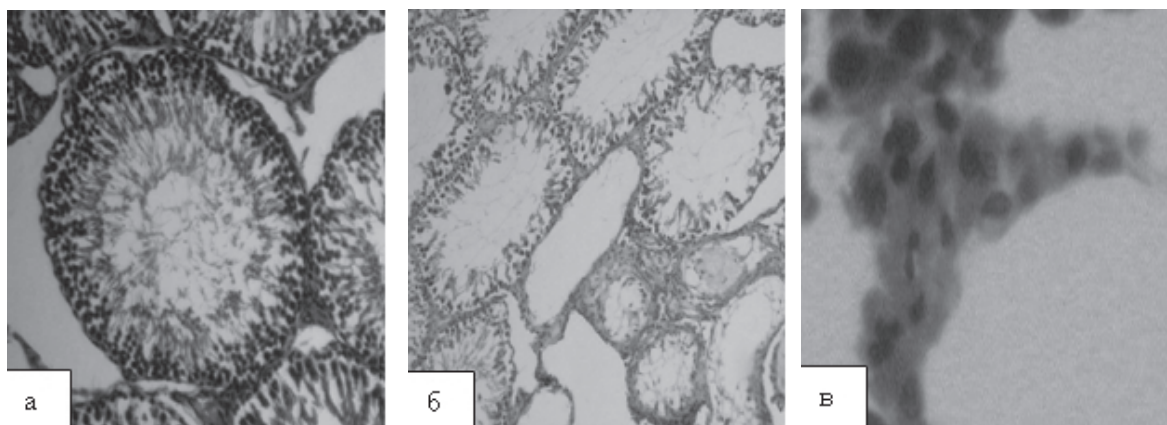


Рис. 11. Яички крыс, которым на фоне поражения  $\text{CdCl}_2$  трансплантировали КСКМ в количестве по 200 000 в каждое яичко, окраска гематоксилин-эозином: а — семенные канальцы с полноценным сперматогенезом,  $\times 200$ ; б — уменьшение рядов половых клеток в ряде канальцев, опустошение отдельных канальцев,  $\times 100$ ; в — появление гипертрофированных клеток Лейдига в межканальцевом локусе,  $\times 400$

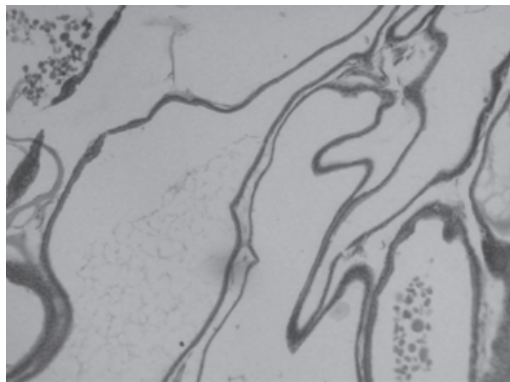


Рис. 12. ВЧПЖ крысы, которая на фоне поражения  $CdCl_2$  получила КСКМ в количестве по 200 000 в каждое яичко. Увеличение размера, извилистость контура ацинусов простатических железок, конкременты в части ацинусов. Окраска гематоксилин-эозином,  $\times 100$

Таким образом, интраабдоминальное введение 150 мг/100 г массы тела  $CdCl_2$

позволяет создать устойчивую модель АД у самцов белых крыс, что проявляется характерными изменениями морфоструктуры семенников и ВЧПЖ. Трансплантация КСКМ в дозе по 200 000 в каждое яичко является наиболее эффективным способом коррекции экспериментального гипогонадизма. У животных, получавших лечение КСКМ, достигших предельного возраста и умерших естественной смертью, наблюдались характерные возрастные изменения морфоструктуры ткани семенников и ВЧПЖ. Новообразований органов половой системы у данных животных не наблюдалось. Регенеративные свойства КСКМ при их интратестикальном введении способствуют восстановлению секреторной и экскреторной функций яичек, не увеличивают риск развития злокачественных новообразований, являются альтернативой медикаментозной терапии.

### Список литературы

1. Нікітін О.Д. Соціально-медичні аспекти безплідного шлюбу / О. Д. Нікітін // Вісник Вінницького національного медичного університету. — 2009. — № 13, т. 2. — С. 571–586.
2. Аляев Ю. Г. Нарушение половой и репродуктивной функции у мужчин / Ю. Г. Аляев, В. А. Григорян, М. Е. Чалый. — М. : Литера, 2006. — 188 с.
3. Зачепило А. В. Особенности этиологии и патогенеза нарушений функции мужской репродуктивной системы, обусловленных экологическими факторами / А. В. Зачепило, С. Б. Аргифексов // Проблемы репродукции. — 2007. — Т. 13, № 4. — С. 76.
4. Arver S. Current guidelines for the diagnosis of testosterone deficiency / S. Arver, M. Lehtihet // Advances in the Management of Testosterone Deficiency. Front Horm Res. — Basel, Karger, 2009. — V. 37. — P. 5–20.
5. Щепелев П. А. Андропоуза — актуальная проблема современной андрологии / П. А. Щепелев, Н. Н. Гарин // Міжнародний ендокринологічний журнал. — 2008. — № 4. — С. 93–96.
6. Shabsigh R. The use of testosterone preparations for erectile dysfunction / R. Shabsigh // The Aging Male. — 2004 — V. 7. — P. 312–318.
7. Testosterone use in men with sexual dysfunction: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials / E. R. Boloca, M. V. Uruga, R. M. Haddad [et al.] // Mayo Clin. Proc. — 2007. — V. 82, № 1. — P. 20–28.
8. Diagnosis and treatment of erectile dysfunction / A. Tsertsvadze, F. Yazdi, A. H. Fink [et al.] // Evidence Report/Technology Assessment, № 171. — Ottawa, Canada : University of Ottawa Evidence-based Practice Center, 2009. — 230 p.
9. Rhoden E. L. Medical progress: Risks of Testosterone replacement therapy and recommendations for monitoring / E. L. Rhoden, A. Morgentaler // NEJM. — 2004. — V. 350. — P. 482–492.
10. Prostate cancer in men using testosterone supplementation / F. D. Gaylis, D. W. Lin, J. M. Ignatoff [et al.] // J. Urol. — 2005. — V. 174. — P. 534–538.
11. Мірошников Я. О. Трансплантација пуповинної крові у лікуванні порушень сперматогенезу при чоловічому безплідді // Я. О. Мірошников // Медична психологія. — 2010. — № 4. — С. 91–93.
12. Охоботов Д. А. Влияние культур, обогащенных стволовыми клетками, на сперматогенез при экспериментальном двухстороннем крипторхизме : автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. наук. : спец. 14.00.40 / Д. А. Охоботов. — М., 2008. — 36 с.
13. Легач Є. І. Ксенотрансплантација органної культури надниркових залоз. Досвід клінічного застосування при ревматоїдному артриті та бронхіальній астмі / Є. І. Легач, В. В. Сирота // Трансплантологія. — 2004. — Т. 6, № 2. — С. 39–41.
14. Дроздович І. І. Морфологічна характеристика ксенотрансплантата органної культури сім'яників у щурів з експериментальним гіпогонадизмом різних форм / І. І. Дроздович, І. С. Турчин, О. П. Потіха // Трансплантологія. — 2005. — Т. 8, № 1. — С. 53–58.

**В.М. Лісовий, Н.М. Андон'єва, І.М. Антонян, Ю.Б. Ларьяновська, С.А. Кешишян**  
**ЗАСТОСУВАННЯ СТРОМАЛЬНИХ СТВОЛОВИХ КЛІТИН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ**  
**ГІПОГОНАДИЗМІ**

Наведені результати вивчення впливу клітин строми кісткового мозку (КСКМ) на модельну патологію андрогенного дефіциту (АД) у статевозрілих щурів. У результаті експерименту доведено, що застосування  $\text{CdCl}_2$  в дозі 150 мкг/100 г маси тіла тварин приводить до відтворення стійкого АД. Застосування КСКМ у кількості 200 000 в обидва яєчки є найбільш ефективним способом корекції даної патології та альтернативою медикаментозній терапії. Застосування КСКМ не приводить до підвищення ризику розвитку злоякісних новоутворень.

**Ключові слова:** клітини строми кісткового мозку, андрогенний дефіцит.

**V.N. Lesovoy, N.M. Andonyeva, I.M. Antonyan, Yu.B. Laryanovskaja, S.A. Keshyshyan**  
**APPLICATION OF STROMAL STEM CELLS IN EXPERIMENTAL HYPOGONADISM**

The results of bone marrow stromal cells (BMSC) impacting to the model pathology of the androgenic deficiency (AD) of sexually mature rats. In the result of the experiment was show, that  $\text{CdCl}_2$  with dose 150  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  of animal mass hade made the stable model of the AD. The BMSC using in the quantity 200 000 in the both testicle is the most effective correction way of the AD. This way is the alternative to the medicamental treatment. The BMSC using don't result to the risk growth of tumors.

**Key words:** bone marrow stromal cells, androgenic deficiency.

УДК 616.61-089.843-031:616.616:616-022

*В.Н. Лесовой, Н.М. Андоньева, В.В. Бублик, О.В. Нечипоренко,  
В.Л. Лисаченко, И.Н. Лященко, С.А. Кешишян, А.В. Бублик,  
А.В. Лесовая, Е.А. Гуц, М.Я. Дубовик*

*Харьковский национальный медицинский университет  
Областной клинический центр урологии и нефрологии и.м. В.И. Шаповала, г. Харьков*

### **СЛУЧАЙ ЦМВ-ИНФЕКЦИИ У РЕЦИПИЕНТКИ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА В ПОЗДНЕМ ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ**

Описан случай цитомегаловирусной инфекции в позднем посттрансплантационном периоде у реципиентки почечного трансплантата. Наблюдение демонстрирует, что своевременная диагностика и адекватная противовирусная терапия позволяют сохранить нормальную функцию трансплантата.

*Ключевые слова:* цитомегаловирусная инфекция, трансплантация почки, иммуносупрессия.

Цитомегаловирусная (ЦМВ) инфекция остается одной из наиболее актуальных проблем трансплантологии [1]. Заболевания, вызываемые цитомегаловирусом, относятся к антропонозным вирусным инфекциям, широко распространены в популяции и характеризуются многообразием клинических проявлений (от латентного течения до генерализованных форм) [2, 3].

Лица с иммуносупрессией составляют группу высокого риска по заболеваемости цитомегалией [4]. У данного контингента больных ЦМВ-инфекция представляет серьезную угрозу жизни, так как практически каждый орган может подвергаться инфицированию и заболевание нередко заканчивается летально [5]. У 20–60 % всех реципиентов трансплантированной почки имеются проявления ЦМВ-инфекции.

Нами представлено клиническое наблюдение пациентки, перенесшей трансплантацию почки, у которой поздний посттрансплантационный период осложнился ЦМВ-инфекцией [6, 7].

*Клинический случай.* Больная О., с 2003 г. страдает хроническим гломерулонефритом. В декабре 2007 года в связи с развитием терминальной хронической почечной недостаточности больная начала получать заместительную терапию методом постоянного амбулаторного перитонеального диализа. В апреле 2008 года больной была произведена

трансплантация родственной донорской почки от матери. Функция трансплантата немедленная, время холодовой ишемии составило 1 ч. 35 мин. Производилась индукционная терапия зенапаксом (Daclizumab) в дозе 1 мг/кг, 5 доз. В дальнейшем пациентка получала поддерживающую иммуносупрессивную терапию: програф 7 мг/сут, мифортин 1440 мг/сут, метипред 4 мг/сут.

На протяжении 3 лет функция трансплантата почки оставалась удовлетворительной. Уровень креатинина сохранялся в пределах 70–120 мкмоль/л, уровень мочевины — 6,6–8,3 ммоль/л. В клиническом анализе мочи протеинурия не определялась. Скорость клубочковой фильтрации составляла 88 мл/мин.

Однако в апреле 2011 года у пациентки повысилась температура тела до 38 °С, появилась выраженная общая слабость, головные боли. При обследовании в клиническом анализе крови: гемоглобин — 107 г/л, эритроциты —  $3,4 \cdot 10^{12}$ /л, лейкоциты —  $5,0 \cdot 10^9$ /л, СОЭ — 35 мм/ч, палочкоядерные нейтрофилы — 14 %, сегментоядерные — 63 %, лимфоциты — 20 %, моноциты — 3 %. В анализе мочи: удельный вес — 1010, белок — 1,47 г/л, эритроциты — 35–50 в поле зрения, лейкоциты — 8–12 в поле зрения, эпителий переходный и почечный — местами, цилиндры гиалиновые и зернистые — 4–6 в поле зрения. В биохимическом анализе

© В.Н. Лесовой, Н.М. Андоньева, В.В. Бублик и др., 2011

крови: мочеви́на — 15,0 ммоль/л, креатинин — 279 мкмоль/л, общий белок — 65 г/л, альбумин — 34 г/л, калий — 4,42 ммоль/л, натрий — 132 ммоль/л, кальций общий — 2,14 ммоль/л, хлор — 96 ммоль/л, АлАТ — 21 е/л, АсАТ — 33 е/л, общий билирубин — 11,7 мкмоль/л. При ультразвуковом исследовании почечный трансплантат располагается в правой подвздошной области, размерами 12,5×7,0 см, паренхима 1,8 см. Чашечно-лоханочная система не расширена, несколько уплотнена. При рентгенологическом исследовании органов грудной клетки: легочные поля без очаговых и инфильтративных теней. Корни структурны. Синусы свободны. Сердце — без видимых патологических изменений.

С учетом клинических проявлений больная была обследована на наличие маркеров ЦМВ-инфекции. Методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови пациентки определялся повышенный титр IgM- и IgG-антител к ЦМВ, а также методом полимеразной цепной реакции было обнаружено ДНК ЦМВ в мононуклеарах периферической крови.

Пациентке был назначен ганцикловир (цимевен) в дозе 5 мг/кг с постоянной скоростью в течение часа, каждые 12 ч на протяжении 14 дней в сочетании с антибакте-

риальными и противогрибковыми препаратами. На фоне назначенной терапии общее состояние пациентки значительно улучшилось — температура тела нормализовалась, симптомы интоксикации регрессировали. Через 2 недели от начала терапии в клиническом анализе крови: гемоглобин — 120 г/л, эритроциты —  $3,9 \cdot 10^{12}$  /л, лейкоциты —  $8,5 \cdot 10^9$  /л, СОЭ — 8 мм/ч, палочкоядерные — 3 %, сегментоядерные — 66 %, лимфоциты — 23 %, моноциты — 7 %. В клиническом анализе мочи: удельный вес — 1011, белок — 0,045 г/л, лейкоциты — 3–5 в поле зрения, эритроциты — 2–3 в поле зрения, цилиндры гиалиновые — 1–2 в поле зрения. В биохимическом анализе крови уровень креатинина снизился до 137 мкмоль/л, мочевины — до 7,6 ммоль/л. При исследовании крови методом полимеразной цепной реакции ДНК ЦМВ-инфекции в крови пациентки не обнаруживалась.

Таким образом, представленное наблюдение свидетельствует об эффективности своевременной диагностики ЦМВ-инфекции, что позволяет вовремя и адекватно провести противовирусную терапию и тем самым предотвратить тяжелые осложнения и сохранить функционирующий трансплантат и жизнь пациента.

#### Список литературы

1. Stosor V. Infections in transplant recipients / V. Stosor // Organ Transplantation / [ed. by F. P. Stuart, M. M. Abecassis, D. B. Kaufman]. — [2<sup>nd</sup> ed.]. — Georgetown, Tex: Landes Bioscience, 2003. — P. 399–425.
2. Ершов Ф. И. Цитомегаловирусная инфекция: эпидемиология, клиника, диагностика, лечение [Электронный ресурс] / Ф. И. Ершов, Н. В. Касьянова. — Режим доступа : [www.medica.allergy-online.ru/magazine/2003/04/index.html](http://www.medica.allergy-online.ru/magazine/2003/04/index.html).
3. Скворцов В. В. Цитомегаловирусная инфекция в клинике внутренних болезней / В. В. Скворцов, Р. Г. Мязин, Д. Н. Емельянов // Лечащий врач. — 2004. — № 9. — С. 8–11.
4. Valacyclovir for the prevention of cytomegalovirus disease after renal transplantation. International valacyclovir cytomegalovirus prophylaxis transplantation study group / D. Lowance, H. H. Neumayer, C. M. Legendre [et al.] // N. Engl. J. Med. — 1999. — V. 340. — P. 1462–1470.
5. Limaye A. P. Ganciclovir-resistant cytomegalovirus in organ transplant recipients / A. P. Limaye // Clin. Infect. Dis. — 2002. — V. 35. — P. 866–872.
6. Monitoring of viral load by quantitative plasma PCR during active Cytomegalovirus infection of individual liver transplant patients / H. Piiparinen, K. Hockerstedt, M. Lappalainen [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2002. — V. 40. — P. 2945–2952.
7. Singh N. Preemptive therapy versus universal prophylaxis with ganciclovir for cytomegalovirus in solid organ transplant recipients / N. Singh // Clin. Infect. Dis. — 2001. — V. 32 (5). — P. 742–751.

**В.М. Лісовий, Н.М. Андон'єва, В.В. Бублик, О.В. Нечипоренко, В.Л. Лисаченко, І.М. Лященко, С.А. Кешішян, А.В. Бублик, Г.В. Лісова, О.А. Гуц, М.Я. Дубовик**  
**ВИПАДОК ЦМВ-ІНФЕКЦІЇ У РЕЦИПІЕНТКИ НИРКОВОГО ТРАНСПЛАНТАТА В ПІЗНЬОМУ ПОСТТРАНСПЛАНТАЦІЙНОМУ ПЕРІОДІ**

Описано випадок цитомегаловірусної інфекції у пізньому посттрансплантаційному періоді в реципієнтки ниркового трансплантата. Спостереження демонструє, що своєчасна діагностика і адекватна протівірусна терапія дозволяють зберегти нормальну функцію трансплантата.

**Ключові слова:** цитомегаловірусна інфекція, трансплантація нирки, імуносупресія.

---

*V.N. Lesovoy, N.M. Andonyeva, V.V. Bublik, O.V. Nechiporenko, V.L. Lisachenko, I.N. Ljashchenko, S.A. Keshishyan, A.V. Bublik, A.V. Lesovaya, E.A. Guts, M.Y. Dubovik*

**CASE OF CMV-INFECTION AT RECIPIENT OF KIDNEY TRANSPLANT IN LATE POST-TRANSPLANTATION PERIOD**

The cytomegalovirus infections in late post-transplantation period at recipient of kidney transplant is described. Supervision shows, that timely diagnostics and adequate antivirus therapy allow to keep normal function of a transplant.

**Key words:** *cytomegalovirus infection, kidney transplantation, immunosuppression.*

УДК 616.61-008.64-089.843-031:611.611

*В.М. Лісовий, Н.М. Андон'єва, В.В. Бублик, О.А. Гуц, М.Я. Дубовик,  
М.А. Грушка, Г.В. Лісова, О.В. Нечипоренко*

*Харківський національний медичний університет  
Обласний клінічний центр урології і нефрології ім. В.І. Шаповала, м. Харків*

## **ДОСВІД ТРАНСПЛАНТАЦІЇ НИРКИ ВІД ЖИВОГО РОДИННОГО ДОНОРА**

Представлений 4-річний досвід трансплантації нирки від живого родинного донора, який підтверджує переваги родинного донорства. Описані короткострокові і віддалені результати трансплантації, які демонструють, що трансплантація нирки від живого родинного донора є самостійним і найбільш ефективним методом замісної ниркової терапії, що має пріоритетне значення за умов наростаючого дефіциту донорських органів.

**Ключові слова:** *хронічна ниркова недостатність, трансплантація нирки, живий родинний донор.*

Збільшення списку кандидатів на трансплантацію нирки постійно випереджає кількість виконуваних операцій, тому поряд з посмертним донорством, особливо після виходу Закону України «Про трансплантацію органів та інших анатомічних матеріалів людини» в 1999 році, відмічено значне збільшення частки родинного донорства в порівнянні з посмертним донорством. Лише протягом 2007–2010 рр. питома вага хворих з трансплантатом нирки від живого донора в Україні зросла з 38,5 до 64,0 % [1, 2].

Сьогодні відмічається збільшення невідповідності між потребою в донорському матеріалі і його наявністю (у зв'язку з нестачею трупних органів, що підходять для трансплантації). Проте кількість трансплантацій органів живих донорів збільшується. У США спостерігається паритет між показниками частоти трансплантації органів живих і померлих донорів [3]. Усі релігійні конфесії вважають припустимим як живе, так і посмертне органне донорство заради порятунку життя іншої людини, а згода на вилучення органів розцінюється як прояв любові та жалю до ближнього [4]. Однак незважаючи на відносний ріст родинного донорства, воно не отримало ще достатнього поширення і не в змозі вирішити проблему дефіциту органів в Україні.

Перевагою родинного донорства є краща імунологічна сумісність і можливість пла-

нувати дату трансплантації, у більш повному обсязі обстежити донора, проводити передопераційну імуносупресивну терапію, що дозволяє поліпшити результати трансплантації органів. Виживаність трансплантатів і пацієнтів як у короткострокові, так і у віддалені терміни значно вище, а функція пересаженої нирки більш стабільна при пересадженні від родинного донора [5, 6]. У порівнянні з періодом напівжиття трупного трансплантата, що, за даними різних досліджень, становить від 8 до 14 років, для нирок, отриманих від живого родинного донора, цей показник становить 17–30 років залежно від ступеня сумісності [5, 7]. Істотне скорочення часу очікування трансплантата при родинному донорстві та зменшення термінів діалізу також позитивно впливає на результати трансплантації.

Трансплантація в м. Харкові почалась у 2006 році, коли відповідно до Постанови Кабінету Міністрів України від 18 лютого 2006 р. № 164 «Про внесення змін до Переліку державних та комунальних закладів охорони здоров'я і державних наукових установ, які мають право проводити діяльність, пов'язану з трансплантацією органів та інших анатомічних матеріалів людини» Харківському обласному клінічному центру урології і нефрології ім. В.І. Шаповала було дозволено проводити трансплантацію нирки. Виходячи з медичних переваг ро-

© В.М. Лісовий, Н.М. Андон'єва, В.В. Бублик та ін., 2011

динної трансплантації, а також юридичних та морально-психологічних проблем, що супроводжують проведення трупної трансплантації, пріоритетним напрямком було обрано розвиток трансплантації від живого родинного донора.

**Матеріал і методи.** За період з лютого 2006-го до червня 2011 року в Центрі виконано 28 трансплантацій від живого родинного донора. В дослідженні проведена оцінка короткострокових та віддалених результатів трансплантацій і впливу різноманітних факторів на виживаність. Терміни спостереження знаходилися в межах від 3 до 54 місяців, в середньому —  $(20,0 \pm 11,6)$  міс ( $M \pm \sigma$ ). Донорами в більшості випадків були жінки — 24 спостереження (85,7 %). Середній вік донорів склав  $(54,9 \pm 8,6)$  року і коливався в межах від 41 до 72 років. 10 донорів (35,7 %) мали вік більше 60 років. Моделі «батьки-дитина» відповідали 25 випадків, у 3 випадках донорами були сестри хворих, в 1 — чоловік.

Причинами розвитку хронічної ниркової недостатності були хронічний гломерулонефрит (ХГН) — 19 пацієнтів (67,9 %), 7 реципієнтів (25,0 %) мали вроджену та спадкову патологію нирок, 1 реципієнт (3,6 %) страждав на хронічний пієлонефрит, 1 (3,6 %) — на цукровий діабет I типу. Усі хворі перенесли первинну трансплантацію нирки. Вік пацієнтів склав  $(32,6 \pm 7,5)$  року (від 21 до 50 років). Більшість реципієнтів склали чоловіки — 16 (57,1 %), жінок було 12 (42,9 %). У 13 хворих (46,4 %) трансплантація нирки була проведена після гемодіалізу, 12 пацієнтів (42,9 %) знаходилися на лікуванні перитонеальним діалізом, у 3 пацієнтів (10,7 %) у дотрансплантаційному періоді методи діалізного лікування змінювали. Термін проведення замісної ниркової терапії перед трансплантацією склав від 2 місяців до 8 років. 15 пацієнтам трансплантація була проведена протягом першого року діалізу.

Основні характеристики реципієнтів і донорів представлені в табл. 1.

Обов'язковою умовою для донорства була оптимальна імунологічна сумісність донора і реципієнта за системою АВО, резус-фактором, за HLA-A і HLA-B сублокусами, за HLA-DR-системою, а також у лімфоцитотоксичному тесті.

До протоколу обстеження донора були включені такі методи дослідження, як динамічна ангіосцинтиграфія нирок, магнітно-резонансна ангіографія або спіральна

комп'ютерна томографія, що дозволяли відмовитися від інвазивного ангіографічного дослідження й визначити анатомо-функціональний стан нирок. Поряд з рутинним лабораторним обстеженням проводилася серологічна діагностика вірусу Епштейна-Барр (EBV), простого герпесу, цитомегаловірусу, ВІЛ, а також гепатитів В і С (HBV, HCV).

Деякі вимоги, які пред'являються до потенційного донора [3], були знижені на користь донорства, що дозволило збільшити кількість операцій. Насамперед це стосувалося вікового цензу донора, що зріс до 70 років. Застосовувався індивідуальний підхід до можливості донорства у випадку наявності в донора підвищеного артеріального тиску, що вимагав мінімальної медикаментозної корекції.

Скорочення часу консервації ниркового трансплантата забезпечувалося одночасним виконанням нефректомії і трансплантації. Час холодової ішемії складав від 2 до 3,5 години.

У всіх випадках нирка була трансплантована екстраперитонеально в гетеротопічну позицію на клубові судини з відновленням безперервності сечових шляхів за допомогою уретероцистоанастомозу. Артерію донорської нирки анастомозували із внутрішньою клубовою артерією «кінець у кінець», а вену — із зовнішньою клубовою веною «кінець у бік».

У післятрансплантаційному періоді всім хворим призначали мультипрепаратний терапевтичний режим, що включав інгібітори кальциневрину, мікофенолат та кортикостероїдні препарати, в поєднанні з індукційною терапією (табл. 2).

Щомісячне обстеження реципієнтів включало оцінку функціонального стану нирок, вираженості імуносупресії та побічних ефектів. Проводився контроль показників артеріального тиску, глікемії, холестеринемії з метою мінімізації впливу відповідних факторів ризику на розвиток серцево-судинної патології. До моніторингу стану реципієнтів ниркового трансплантата входило дослідження протеїнурії та діагностика рецидивів основного захворювання, онкологічної, інфекційної, кісткової патології, анемії.

**Результати та їх обговорення.** У всіх хворих відмічалася негайна функція трансплантата, яка передбачає відсутність необхідності проведення діалізу протягом першого тижня після трансплантації.

Таблиця 1. Характеристика пацієнтів та донорів

| Хворий | Стать | Вік на момент трансплантації, років | Діагноз реципієнта                | Донор/вік, років  | Тривалість діалізу до трансплантації | Час холодової ішемії |
|--------|-------|-------------------------------------|-----------------------------------|-------------------|--------------------------------------|----------------------|
| 1      | Чол.  | 23                                  | ХГН                               | Мати, 48 років    | 1 рік (ПД)                           | 2 год 30 хв          |
| 2      | Чол.  | 29                                  | ХГН                               | Мати, 47 років    | 1 рік 8 міс (ПД)                     | 2 год 45 хв          |
| 3      | Чол.  | 26                                  | ХГН                               | Батько, 51 рік    | 7 міс (ПД)                           | 2 год 10 хв          |
| 4      | Жін.  | 34                                  | ХГН                               | Мати, 67 років    | 1 рік 4 міс (ПД)                     | 2 год 45 хв          |
| 5      | Жін.  | 33                                  | ХГН                               | Мати, 58 років    | 5 років (ГД)                         | 2 год 35 хв          |
| 6      | Жін.  | 36                                  | ХГН                               | Мати, 62 роки     | 8 років (ГД)                         | 2 год 20 хв          |
| 7      | Жін.  | 30                                  | ХГН                               | Мати, 51 рік      | 1 рік (ПД)                           | 2 год                |
| 8      | Жін.  | 30                                  | ХГН                               | Мати, 54 роки     | 1 рік (ПД)                           | 2 год 40 хв          |
| 9      | Чол.  | 35                                  | ХГН                               | Мати, 56 років    | 3 роки (ПД)                          | 2 год 10 хв          |
| 10     | Жін.  | 21                                  | ХГН                               | Мати, 56 років    | 5 років (ГД)                         | 2 год 25 хв          |
| 11     | Чол.  | 29                                  | ХГН                               | Мати, 65 років    | 3 міс (ГД)                           | 2 год 30 хв          |
| 12     | Чол.  | 23                                  | ХГН                               | Мати, 41 рік      | 8 міс (ПД + ГД)                      | 2 год 50 хв          |
| 13     | Чол.  | 45                                  | ХГН                               | Сестра, 54 роки   | 6 міс (ПД)                           | 2 год 40 хв          |
| 14     | Чол.  | 38                                  | ХГН                               | Мати, 65 років    | 4 міс (ГД)                           | 2 год 20 хв          |
| 15     | Чол.  | 32                                  | ХГН                               | Мати, 60 років    | 6 років (ПД+ГД)                      | 2 год 35 хв          |
| 16     | Жін.  | 37                                  | ХГН                               | Чоловік, 48 років | 5 років (ГД)                         | 2 год 40 хв          |
| 17     | Чол.  | 36                                  | ХГН                               | Мати, 61 рік      | 1 рік (ГД)                           | 2 год 25 хв          |
| 18     | Чол.  | 50                                  | ХГН                               | Мати, 72 роки     | 2 міс (ГД)                           | 2 год                |
| 19     | Жін.  | 39                                  | ХГН                               | Мати, 60 років    | 5 років (ГД)                         | 2 год                |
| 20     | Жін.  | 24                                  | Двобічний МСР                     | Мати, 49 років    | 1 рік (ПД)                           | 2 год 40 хв          |
| 21     | Чол.  | 31                                  | Двобічний МСР                     | Мати, 60 років    | 2 міс (ГД + ПД)                      | 2 год 20 хв          |
| 22     | Жін.  | 30                                  | Аплазія нирки                     | Батько, 54 роки   | 10 міс (ГД)                          | 3 год 30 хв          |
| 23     | Чол.  | 40                                  | Ахалазія нижньої третини сечоводу | Мати, 67 років    | 1 рік (ПД)                           | 2 год                |
| 24     | Чол.  | 21                                  | Синдром Альпорта                  | Мати, 42 роки     | 2 роки (ПД)                          | 3 год 10 хв          |
| 25     | Чол.  | 30                                  | Полікістоз нирок                  | Сестра, 35 років  | 1 рік (ПД)                           | 2 год 20 хв          |
| 26     | Жін.  | 48                                  | Полікістоз нирок                  | Сестра, 42 роки   | 4 міс (ГД)                           | 2 год 45 хв          |
| 27     | Жін.  | 32                                  | Хронічний пієлонефрит             | Батько 54 роки    | 5 років (ГД)                         | 2 год 20 хв          |
| 28     | Чол.  | 31                                  | Діабетична нефропатія             | Мати, 52 роки     | 2 роки (ГД)                          | 2 год 45 хв          |

Зниження рівня креатиніну сироватки крові до 150 мкмоль/л відбувалося в термін від 2 до 10 діб, в середньому — (5,5±2,2) доби.

Гостре відторгнення трансплантата протягом перших 3 місяців зафіксовано в 3 спостереженнях (10,7 %), що в 2 пацієнтів призвело до переведення на гемодіаліз, 1 хвора померла. Гостре відторгнення діагностувалося на підставі клінічних, лабораторних та

інструментальних методів дослідження: скорочення діурезу, підвищення рівня креатиніну, підвищення периферичного опору при доплерівському моніторингу, а також підтверджувалося морфологічно.

Протягом періоду спостереження померли 4 хворих (14,3 %). Причинами смерті були у 2 хворих — інфекційні ускладнення (цитомегаловірусна пневмонія, блискавичний сепсис), 1 пацієнт помер від гострої

Таблиця 2. Імуносупресивна терапія хворих у післятрансплантаційному періоді

| Хворий | Індукція, кількість уведень (сумарна доза) | Базова імуносупресія   | Мікофенолати     | Метипред |
|--------|--|------------------------|------------------|----------|
| 1      | Зенапакс, 2 (100 мг)                       | Програф 8 мг           | Міфортик 720 мг  | 4 мг     |
| 2      | Зенапакс, 3 (150 мг)                       | Сандіmun-Неорал 150 мг | Міфортик 1440 мг | 4 мг     |
| 3      | Зенапакс, 2 (150 мг)                       | Програф 5 мг           | Міфортик 1080 мг | 4 мг     |
| 4      | Зенапакс, 2 (150 мг)                       | Сандіmun-Неорал 225 мг | Селлсепт 2 г     | 4 мг     |
| 5      | Зенапакс, 2 (200 мг)                       | Програф 10 мг          | Міфортик 1440 мг | 4 мг     |
| 6      | Зенапакс, 2 (200 мг)                       | Сандіmun-Неорал 175 мг | Міфортик 1440 мг | 4 мг     |
| 7      | Зенапакс, 2 (150 мг)                       | Сандіmun-Неорал 250 мг | Міфортик 1440 мг | 4 мг     |
| 8      | Зенапакс, 2 (150 мг)                       | Програф 6 мг           | Міфортик 1080 мг | 4 мг     |
| 9      | Зенапакс, 2 (100 мг)                       | Програф 7 мг           | Міфортик 720 мг  | 4 мг     |
| 10     | Зенапакс, 2 (100 мг)                       | Програф 4 мг           | Міфортик 720 мг  | 4 мг     |
| 11     | Зенапакс, 3 (225 мг)                       | Сандіmun-Неорал 150 мг | Міфортик 1440 мг | 4 мг     |
| 12     | Зенапакс, 3 (150 мг)                       | Сандіmun-Неорал 325 мг | Міфортик 1440 мг | 4 мг     |
| 13     | Зенапакс, 2 (150 мг)                       | Сандіmun-Неорал 75 мг  | Селлсепт 2 г     | 4 мг     |
| 14     | Зенапакс, 3 (150 мг)                       | Сандіmun-Неорал 175 мг | Селлсепт 2 г     | 4 мг     |
| 15     | Зенапакс, 3 (225 мг)                       | Сандіmun-Неорал 225 мг | Селлсепт 1 г     | 4 мг     |
| 16     | Симулект, 2 (40 мг)                        | Програф 4 мг           | Селлсепт 2 г     | 4 мг     |
| 17     | Симулект, 2 (40 мг)                        | Програф 4 мг           | Міфортик 720 мг  | 4 мг     |
| 18     | Симулект, 2 (40 мг)                        | Сандіmun-Неорал 275 мг | Селлсепт 2 г     | 4 мг     |
| 19     | Симулект, 2 (40 мг)                        | Сандіmun-Неорал 325 мг | Міфортик 1440 мг | 4 мг     |
| 20     | Симулект, 2 (40 мг)                        | Сандіmun-Неорал 325 мг | Міфортик 1440 мг | 4 мг     |
| 21     | Симулект, 2 (40 мг)                        | Сандіmun-Неорал 325 мг | Селлсепт 2 г     | 4 мг     |
| 22     | Симулект, 2 (40 мг)                        | Сандіmun-Неорал 250 мг | Селлсепт 2 г     | 8 мг     |
| 23     | Зенапакс, 1 (50 мг)                        | Сандіmun-Неорал 250 мг | Селлсепт 2 г     | 28 мг    |
| 24     | Зенапакс, 3 (225 мг)                       | Програф 7 мг           | Селлсепт 2 г     | 4 мг     |
| 25     | Зенапакс, 3 (225 мг)                       | Сандіmun-Неорал 300 мг | Селлсепт 2 г     | 12 мг    |
| 26     | Зенапакс, 2 (100 мг)                       | Сандіmun-Неорал 350 мг | Селлсепт 2 г     | 30 мг    |
| 27     | Зенапакс, 1 (50 мг)                        | Сандіmun-Неорал 300 мг | Селлсепт 2 г     | 12 мг    |
| 28     | Симулект, 2 (40 мг)                        | Сандіmun-Неорал 350 мг | Селлсепт 2 г     | 28 мг    |

шлунково-кишкової кровотечі, 1 — внаслідок гострого кризу відторгнення.

Таким чином, за період спостереження втрачені 6 трансплантатів (21,4 %). Хронічну дисфункцію трансплантата нирки в діагностовано у 1 хворого: рівень креатиніну 340 мкмоль/л, сечовини — 15 ммоль/л.

4-річна виживаність реципієнтів склала 85,7 %, трансплантатів — 78,6 %, що відповідає клінічним рекомендаціям Європейської асоціації урологів з трансплантації нирки [3].

Вживаність ниркових трансплантатів у нашому дослідженні не залежала від причини розвитку ниркової недостатності, віку

хворого, методу та термінів попередньої діалітичної терапії, віку донора, часу холодової ішемії нирки, режиму імуносупресії. Слід вказати, що в групі хворих, що втратили трансплантат, був пацієнт, донор якого мав вік 72 роки.

21 реципієнт ренального трансплантата зараз мають стабільну задовільну функцію трансплантата, отримують індивідуально підбрану імуносупресію і мають високу якість життя. Протягом періоду спостереження у хворих не спостерігалися інфекційні ускладнення, пухлини, серцево-судинні ускладнення. Відмічена позитивна динаміка в стані хворих, регрес клінічних і лабора-

торних проявів уремичного синдрому. Наприкінці спостереження рівень креатиніну у реципієнтів нирки від живого родинного донора складає  $(141,0 \pm 51,6)$  мкмоль/л, сечовини —  $(9,6 \pm 1,8)$  ммоль/л. У більшості хворих рівень гемоглобіну досяг цільового рівня (120 г/л) і в середньому склав  $(132,7 \pm 16,2)$  г/л. Анемія збереглася у 2 хворих, 1 з них має хронічне відторгнення трансплантата. В усіх хворих скоригована артеріальна гіпертензія. Мінімальні значення протеїнурії виявлені у 13 хворих (59,1 %), у 8 хворих (36,4 %) протеїнурія не спостерігалася, у 1 хворого з хронічною дисфункцією трансплантата рівень протеїнурії складає 1,44 г/добу.

#### Висновки

Трансплантація нирки від живого родинного донора має значні переваги, а саме: негайна функція трансплантата, низька частота кризи відторгнення, більш м'який режим імуносупресії, висока виживаність трансплантатів і пацієнтів.

Розроблені діагностичні алгоритми оцінки придатності донора з урахуванням

абсолютних і відносних протипоказань зводять до мінімуму ризик операції для здоров'я донора.

Розширення групи живих донорів за рахунок використання осіб з обмеженими медичними відхиленнями (літні донори, донори з надлишковою масою тіла, з артеріальною гіпертензією) не погіршує результатів трансплантації і не позначається негативно на стані здоров'я донорів.

Низька частота виникнення онкологічних захворювань, інфекційних та серцево-судинних ускладнень у пацієнтів з трансплантатом від живого родинного донора пов'язана з мінімальною імуносупресією, що потребує цей вид трансплантації.

Трансплантація нирки від живого родинного донора є пріоритетним напрямком замісної ниркової терапії в умовах нарастаючого дефіциту донорських органів. Результати родинної трансплантації безперечно краще за результати групних трансплантацій. Метод заслуговує на більш широке визнання й поширення в трансплантаційних центрах України.

#### Список літератури

1. Національний реєстр хворих на хронічну хворобу нирок : 2007 рік / [уклад. Н. О. Сайдакова, Г. С. Владзієвська, Н. І. Козлюк, Є. С. Самусева ; Академія медичних наук України, Міністерство охорони здоров'я України, Державна установа «Інститут нефрології АМН України» ; гол. ред. М. О. Колесник]. — К., 2008. — 185 с.
2. Національний реєстр хворих на хронічну хворобу нирок : 2010 рік / [уклад. Н. І. Козлюк, Г. С. Владзієвська, М. В. Кулизький ; Державна установа «Інститут нефрології НАМН України» ; гол. ред. М. О. Колесник]. — К., 2011. — 89 с.
3. Трансплантація почки: Клинические рекомендации ЕАУ 2010 / [Т. Kalble, А. Alcaraz, К. Budde и др.] ; пер. М. Ю. Федянин. — М. : Издат. дом «АБВ-пресс», 2010. — 99 с.
4. *Mueller P. S. Responding to offers of altruistic living unrelated kidney donation by group associations: an ethical analysis / P. S. Mueller, E. J. Case, C. C. Hook // Transplant Rev. (Orlando). — 2008. — V. 22 (3). — P. 200–205.*
5. CTS Collaborative Transplant Study [Електронний ресурс]. — Режим доступу : <http://ctstransplant.org>.
6. *Шаршаткин А. В.* Анализ отдаленных результатов трансплантации почки от живого родственного донора / А. В. Шаршаткин, О. В. Азаренкова, Я. Г. Мойсюк // Медицинский альманах : спецвыпуск : материалы конф. «Высокие технологии в медицине». — 2008. — С. 34–36.
7. UNOS United Network for Organ Sharing [Електронний ресурс]. — Режим доступу : <http://www.unos.org>.

**В.Н. Лесовой, Н.М. Андоньева, В.В. Бублик, Е.А. Гуц, М.Я. Дубовик, М.А. Грушка, А.В. Лесовая, О.В. Нечипоренко**

#### ОПЫТ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ ОТ ЖИВОГО РОДСТВЕННОГО ДОНОРА

Представлен 4-летний опыт трансплантации почки от живого родственного донора, который подтверждает преимущества родственного донорства. Описаны ближайшие и отдаленные результаты трансплантации, которые демонстрируют, что трансплантация почки от живого родственного донора является самостоятельным и наиболее эффективным методом заместительной почечной терапии, которая имеет приоритетное значение в условиях нарастающего дефицита донорских органов.

**Ключевые слова:** хроническая почечная недостаточность, трансплантация почки, живой родственный донор.

---

*V.N. Lesovoy, N.M. Andon'eva, V.V. Bublik, E.A. Guts, M.Y. Dubovik, M.A. Grushka, A.V. Lesovaya, O.V. Nechiporenko*

**EXPERIENCE OF KIDNEY TRANSPLANTATION FROM LIVING RELATED DONOR**

The 4-year-old experience of kidney transplantation from the living related donor who confirms advantages of a related donor is presented. Early and long-term results of transplantation which show are described, that kidney transplantation from living related donor is an independent and most effective method of replaceable renal therapy which has priority value in the conditions of accruing deficiency of donor bodies.

***Key words:** chronic renal insufficiency, kidney transplantation, living related donor.*

УДК 616.61-008.64-089.843-031:611.611:616-056.76

**В.М. Лісовий, Н.М. Андон'єва, В.В. Бублик, О.А. Гуц, М.Я. Дубовик,  
М.А. Грушка, Г.В. Лісова, О.В. Нечипоренко**

*Харківський національний медичний університет  
Обласний клінічний центр урології і нефрології ім. В.І. Шаповала, м. Харків*

### **РОДИННА ТРАНСПЛАНТАЦІЯ НИРКИ У ПАЦІЄНТА З СИНДРОМОМ АЛЬПОРТА**

Описано випадок трансплантації нирки від живого родинного донора у хворого із синдромом Альпорта в термінальній стадії хронічної ниркової недостатності. Спостереження свідчать, що трансплантація нирки є єдиним способом збереження життя хворих із спадковим нефритом, а використання родинного трансплантата дає можливість проведення трансплантації в найближчі терміни з кращими результатами.  
**Ключові слова:** синдром Альпорта, спадковий нефрит, хронічна ниркова недостатність, трансплантація нирки, живий родинний донор.

Синдром Альпорта, або отоокулоренальний синдром, описаний англійським лікарем Alport в 1927 році. Синдром Альпорта розглядається як генетично детермінована неімунна нефропатія, що проявляється гематурією та/або протеїнурією, прогресуючим зниженням ниркових функцій і нерідко сполучається з патологією слуху і зору [1].

Про поширеність захворювання існують різні думки: одні дослідники вважають його рідким [2], інші [3] вважають, що воно зустрічається порівняно часто. В Європі близько 1 % випадків хронічної ниркової недостатності пов'язано зі спадковим нефритом, 2,3 % трансплантацій нирок проводиться хворим із синдромом Альпорта [4].

Захворювання зумовлено передачею мутантного гена, пов'язаного з X-хромосомою [5]. В основі ниркової патології лежить дефект нефібрилярного колагену IV типу базальної мембрани клубочків [6]. Гематурія, зумовлена цією патологією, супроводжується нейросенсорною приглухуватістю й конусоподібною деформацією кришталика (лентиконус). Захворювання складно виявляється, тому що відсутні характерні для нефриту екстраренальні симптоми. Виявленню захворювання сприяють інтеркурентні інфекції або супутні захворювання. Синдром Альпорта тяжче протікає у чоловіків, і вони гинуть від прогресуючого нефросклерозу до 30-літнього віку [7]. Замісна ниркова терапія є єдиним способом продов-

ження життя цим хворим. У цьому плані заслуговує на увагу наше спостереження.

*Клінічний випадок.* Хворий Б., 20 років, надійшов у нефрологічне відділення ОКЦУН ім. В.І. Шаповала в жовтні 2008 року з діагнозом хронічна хвороба нирок V стадії, синдром Альпорта (хронічний гломеруло-нефрит, неврит слухового нерва), симптоматична артеріальна гіпертензія, кардіопатія, СН ІІБ, ДЕП ІІ ст. змішаного генезу, анемія.

З дитинства страждає на приглухуватість. Хронічний гломерулонефрит виявлений у віці 2 років. Неодноразово був обстежений в обласній дитячій клінічній лікарні, де встановлений діагноз синдром Альпорта. Явища хронічної ниркової недостатності виникли у 2005 році. Стан погіршився в останні 4 місяці у зв'язку з прогресуванням хронічної ниркової недостатності. Госпіталізований за ургентними показаннями для замісної ниркової терапії.

При надходженні стан хворого тяжкий. Шкіра і видимі слизові бліді, на нижніх кінцівках виражені набряки. Перкуторно над легеньми ясний легеневий звук, аускультативно — ослаблене везикулярне дихання. Границі серця розширені вліво до *l. axilaris anterior*. Діяльність серця ритмічна, тони приглушені, тахікардія, систолічний шум на верхівці. Частота серцевих скорочень 100 уд./хв. Артеріальний тиск — 170/100 мм рт. ст. Живіт м'який, безболісний. Печінка та селезінка не збільшені.

© В.М. Лісовий, Н.М. Андон'єва, В.В. Бублик та ін., 2011

Загальний аналіз крові: еритроцити —  $1,8 \cdot 10^{12}$ /л, гемоглобін — 43 г/л, кольоровий показник — 0,8, лейкоцити —  $5,0 \cdot 10^9$ /л, еозинофіли — 1 %, палочкоядерні — 3 %, сегментоядерні — 71 %, лімфоцити — 19 %, моноцити — 6 %, ШОЕ — 10 мм/год. В сечі: білок — 0,37 г/л, питома вага — 1008, рН — 6,0, лейкоцити — 14–16 у полі зору, еритроцити — 4–6 у полі зору, циліндри гіалінові, зернисті.

Інші показники такі: сечовина — 35,1 ммоль/л, креатинін — 1253,7 мкмоль/л, швидкість клубочкової фільтрації — 9 мл/хв, кальцій сироватки — 1,7 ммоль/л, калій — 6,5 ммоль/л, фосфор — 2,3 ммоль/л, холестерин — 8,0 ммоль/л, сечова кислота — 0,71 ммоль/л, сироваткове залізо — 20,8 мкмоль/л, С-реактивний білок — 2, паратиреоїдний гормон — 937,5 пг/мл, гематокрит — 29 %.

На рентгенограмі органів грудної клітки — легеневі поля прозорі, серце розширене в поперекинику, синуси вільні.

УЗД нирок: в типових місцях, права  $9,2 \times 4,2$  см, ліва  $9,6 \times 4,7$  см, паренхіма 12 мм гіперехогенна. Чашково-мискова система не розширена. Висновок: ознаки дифузійної патології паренхіми нирок.

На ЕКГ — гіпертрофія міокарда лівого шлуночка.

Консультація сурдолога: двобічна нейросенсорна приглухуватість.

04.11.08 хворому в черевну порожнину імплантований катетер Тенкхоффа і розпочата замісна ниркова терапія методом перитонеального діалізу.

Надалі в ході проведення перитонеального діалізу пацієнт став розглядатися як потенційний реципієнт родинної нирки від

матері, що за результатами проведеної перекресної проби підходила в якості донора.

12.02.10 проведена трансплантація нирки від матері. Операція пройшла успішно, час холодової ішемії склав 30 хв, крововтрата мінімальна. Функція трансплантата негайна.

У післяопераційному періоді хворий отримувал трикомпонентну імуносупресивну терапію (циклоспорин, селлсепт, метипред). Імуносупресивна терапія призначалася в мінімально припустимих дозуваннях під постійним контролем концентрації циклоспорину А в крові.

Зараз у хворого нормальна функція трансплантата, рівень креатиніну — 120 мкмоль/л, сечовини — 7,6 ммоль/л, артеріальний тиск — 120/80 мм рт. ст., частота серцевих скорочень — 68 уд./хв, протеїнурія відсутня.

Лікування синдрому Альпорта має синдромологічний та замісний характер. Рання діагностика ураження нирок, постійний нагляд нефролога в нашому спостереженні дали можливість своєчасно призначити хворому замісну ниркову терапію. Наявність умов для реалізації концепції інтегрованого підходу до замісної ниркової терапії, що створені в Обласному клінічному центрі урології і нефрології ім. В.І. Шаповала, дозволили забезпечити підготовчий етап до трансплантації нирки шляхом проведення перитонеального діалізу та в максимально короткий термін провести трансплантацію нирки від живого родинного донора. Враховуючи, що наразі не відомі випадки рецидиву цього захворювання після трансплантації, хворий має сприятливий прогноз для життя і соціальної реабілітації.

### Список літератури

1. Kashtan C. Alport syndromes: phenotypical heterogeneity of progressive hereditary nephritis / C. Kashtan // *Pediatr. Nephrol.* — 2000. — V. 16. — P. 502–512.
2. Gubler M. Alport syndrome and other familial haematurias / M. Gubler, F. Tcalicova // *ESPN Handbook.* — 2002. — P. 208–212.
3. Игнатова М. С. Наследственные и врожденные нефропатии у детей / М. С. Игнатова, Ю. Е. Вельтищев. — Л.: Медицина, 1978. — 252 с.
4. Wang Y. Y. The epidemiology of thin basement membrane nephropathy / Y. Y. Wang, J. Savage // *Semin. Nephrol.* — 2005. — V. 25 (3). — P. 136–139.
5. The genetics of thin basement membrane nephropathy / K. Rana, Y. Y. Wang, M. Buzza [et al.] // *Semin. Nephrol.* — 2005. — V. 25 (3). — P. 163–170.
6. Autosomal recessive Alport's syndrome and benign familial hematuria are collagen type IV disease / B. Tazon Vega, C. Badenas, E. Ars [et al.] // *Am. J. Kidney Dis.* — 2003. — V. 42 (5). — P. 952–959.
7. Chronology of renal scarring in males with Alport syndrome / C. Kashtan, M. Gubler, S. Sisson-Ross [et al.] // *Pediatr. Nephrol.* — 1998. — V. 12. — P. 269–274.

*В.Н. Лесовой, Н.М. Андоньева, В.В. Бублик, Е.А. Гуц, М.Я. Дубовик, М.А. Грушка, А.В. Лесовая, О.В. Нечипоренко*

**РОДСТВЕННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПОЧКИ У ПАЦИЕНТА С СИНДРОМОМ АЛЬПОРТА**

Описан случай трансплантации почки от живого родственного донора у больного с синдромом Альпорта в терминальной стадии хронической почечной недостаточности. Наблюдение свидетельствует, что трансплантация почки является единственным способом спасения жизни больных с наследственным нефритом, а использование родственного трансплантата дает возможность проведения трансплантации в ближайшие сроки и с лучшими результатами.

**Ключевые слова:** синдром Альпорта, наследственный нефрит, хроническая почечная недостаточность, трансплантация почки, живой родственный донор.

*V.N. Lesovoy, N.M. Andon'eva, V.V. Bublik, E.A. Guts, M.Y. Dubovik, M.A. Grushka, A.V. Lesovaya, O.V. Nechiporenko*

**RELATED KIDNEY TRANSPLANTATION AT THE PATIENT WITH ALPORT SYNDROME**

The case of kidney transplantation from the living related donor at the patient with Alport syndrome in a terminal stage of chronic renal insufficiency is described. Supervision testifies, that kidney transplantation is unique way of rescue of a life of patients with a hereditary nephrite, and use of a related transplant gives the chance transplantation carrying out in the nearest terms and with the best results.

**Key words:** Alport syndrome, hereditary nephrite, chronic renal insufficiency, kidney transplantation, living related donor.

УДК 611.651.15.08:616-089.843:541.1

*Е.А. Мединец, В.В. Кирошка, Ю.О. Тищенко, Т.П. Бондаренко*

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков*

## **АНАЛИЗ МОРФОЛОГИИ ТРАНСПЛАНТАТОВ ОВАРИАЛЬНОЙ ТКАНИ ПОСЛЕ ГИПОТЕРМИЧЕСКОГО ХРАНЕНИЯ**

Проведен сравнительный анализ изменения морфологических характеристик фрагментов и трансплантатов овариальной ткани в условиях гипотермического хранения в электролитных и неэлектролитных средах. Установлено, что при 24-часовом гипотермическом хранении в электролитных средах сохраняется морфологическая структура фрагментов овариальной ткани, а также наблюдается высокий уровень жизнеспособных фолликулов после их трансплантации.

**Ключевые слова:** гипотермическое хранение, овариальная ткань, электролит, неэлектролит, трансплантация.

В настоящее время клеточная и тканевая трансплантология является одним из методов коррекции различных заболеваний, в том числе и эндокринных. В современной медицине трансплантация овариальной ткани применяется для восстановления эндокринной и репродуктивной функций у женщин детородного возраста при патологиях яичников различного генеза, а также после курсов химио- и радиотерапии [1]. При этом одной из основных задач остается разработка оптимальных методов хранения ткани яичников в целях увеличения пула жизнеспособных фолликулов в трансплантационном материале. Особенно это актуально в случаях, когда время транспортировки материала довольно продолжительное (до 24 часов), что является критическим для жизнеспособности ткани, поскольку фолликулы подвержены воздействию ишемии [2]. В настоящее время для хранения овариальной ткани в основном используются такие среды, как физиологический раствор (для хранения яичников крупного рогатого скота, коз, овец [3] и собак [4]), среда 199 (для коров, коз и овец), фосфатно-солевой буфер — PBS (для собак) [5]. В [6] показано, что при гипотермическом хранении (+4 °С) наблюдается увеличение количества жизнеспособных фолликулов по сравнению с их количеством при нормотермическом хранении (+37 °С).

Однако несмотря на достигнутые успехи в этой области метод хранения овариальной ткани до сих пор не является оптимальным.

Это связано с тем, что овариальная ткань представлена комплексом разных типов клеток, которые неоднородно распределены в объеме ткани, а также содержит фолликулы разных стадий фолликулогенеза.

В связи с изложенным целью данной работы явился сравнительный анализ морфологических характеристик трансплантатов овариальной ткани в зависимости от электролитного состава среды гипотермического хранения (ГХ).

**Материал и методы.** Объектом исследования служили фрагменты овариальной ткани половозрелых крыс линии Вистар, которые содержались в стандартных условиях вивария ИПКиК НАН Украины. Содержание и использование лабораторных животных соответствовало положениям «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, которые используются с экспериментальной и иной научной целью» (г. Страсбург, 1985) и общепринятым Национальным нормам биоэтики [7]. Для получения фрагментов овариальной ткани в процессе овариоэктомии крыс выделяли яичники, которые фрагментировали (0,5–1 мм<sup>3</sup>) в чашке Петри в физиологическом растворе, содержащем пенициллин и стрептомицин (100 ед на 100 мл). После этого для ГХ данные фрагменты помещали в инкубационные среды различного состава: среда 1 – 250 мМ маннита, 10 мМ NaCl, 20 мМ KCl, 20 мМ фосфатного буфера при pH=7; среда 2 – 130 мМ NaCl, 20 мМ KCl, 20 мМ фосфатного буфера при pH=7,4. ГХ осуществляли

© Е.А. Мединец, В.В. Кирошка, Ю.О. Тищенко, Т.П. Бондаренко, 2011

в холодильной камере при температуре +4 °С. Время ГХ составляло 1 и 5 суток. Для морфологических исследований осуществляли фиксацию фрагментов овариальной ткани после ГХ 2 % раствором глутарового альдегида на 150 мМ фосфатном буфере. Готовили полутонкие срезы по стандартной методике [8].

Жизнеспособность овариальной ткани после ГХ изучали методом гетеротопической трансплантации. Для проведения экспериментальной работы животные были разделены на следующие группы: группа 1 — контрольная (животные с трансплантатами половозрелой овариальной ткани), группа 2 — животные с трансплантатами половозрелой овариальной ткани после ГХ в неэлектролитной среде (раствор 1), группа 3 — с трансплантатами половозрелой овариальной ткани после ГХ в электролитной среде (раствор 2). Трансплантацию овариальной ткани во всех группах осуществляли одновременно с двухсторонней овариоэктомией. Операции животным проводили в стерильных условиях под комбинированным наркозом (0,1 мг кетамина, 0,25 мг ксилазина на 100 г массы тела животного). Сайтом гетеротопической трансплантации служила капсула левой почки. Время проведения трансплантации составляло 20 мин.

Для анализа морфологии трансплантатов половозрелой овариальной ткани на 30-е сутки после трансплантации проводили эвтаназию животных эфирным наркозом. Для морфологических исследований выделяли почку с трансплантатом. Производили их фиксацию в 10 % растворе формалина в течение 48 часов, дегидратировали и заключали в парафиновые блоки [9]. С каждого образца делали серийные срезы всего трансплантата толщиной 10 мкм. Каждый третий срез окрашивали гематоксилин-эозином. Анализировали гистологические срезы, изучая только фолликулы с видимым ядром для исключения повторного счета одного и того же фолликула в анализируемом срезе. Развитие овариальной ткани после трансплантации оценивали по изменению его объема (длина × ширина × толщина × 0,523) [10].

Идентифицировали стадии развития фолликулов согласно классификации К. Октау [11], модифицированной по Gougeon [12]: примордиальный — ооцит окружен одним слоем уплощенных гранулезных клеток; первичный — ооцит окружен одиночным слоем кубических клеток гранулезы; преантральный — ооцит окружен более

чем двумя слоями гранулезных клеток, расположенных на базальной мембране, вокруг которой находятся единичные тека-клетки; антральный — ооцит увеличен в объеме, окружен несколькими слоями гранулезных клеток, формируется полость, содержащая фолликулярную жидкость.

Исследование полутонких и гистологических препаратов осуществляли с помощью светового микроскопа при увеличениях объектива ×20 и ×40. Микрофотосъемку осуществляли с помощью микроскопа Carl Zeiss Axio Observer Z1 и пакета прикладных программ для обработки изображения.

**Результаты и их обсуждение.** Данные об изменении структуры фолликулов при ГХ в средах различного электролитного состава представлены на рис. 1. В норме (рис. 1, а) фолликулы имеют круглый или сферический ооцит с крупным ядром круглой или цилиндрической формы. К ооциту плотно прилегают организованные между собой клетки гранулезы (рис. 1, а). Видно (рис. 1, б), что после 24 часов ГХ в неэлектролитной среде наблюдаются начальные этапы сжатия ооцита, что проявляется в изменении формы ядра ооцита. При этом отмечается также сжатие клеток гранулезы, которые уже менее плотно прилегают к ооциту и разобщены между собой. При ГХ в электролитной среде фолликулы сохраняют четко очерченную форму. При этом наблюдаются округлые ооциты с плотно прилегающими клетками гранулезы (рис. 1, в).

При увеличении сроков ГХ до 5 суток наблюдается дальнейшая динамика структуры овариальной ткани. Так, в неэлектролитных средах происходит деформация ооцита до «грибовидной» формы, дезорганизация клеток гранулезы, что проявляется в их разобщении между собой (рис. 1, в). В электролитных средах (рис. 1, д) отмечается набухание фолликулов, увеличение межклеточного пространства между клетками гранулезы и теки. При этом мембрана ооцита не имеет четко выраженных границ.

Для выявления обратимости наблюдаемых нами морфологических изменений, а также степени сохранения жизнеспособности фолликулов мы считали целесообразным трансплантировать овариоэктомизированным животным фрагменты овариальной ткани после 24 часов ГХ в различных средах. В трансплантатах овариальной ткани у животных всех исследованных групп имеют место фолликулы различной степени зрелости (рис. 2). Следует отметить, что в отли-

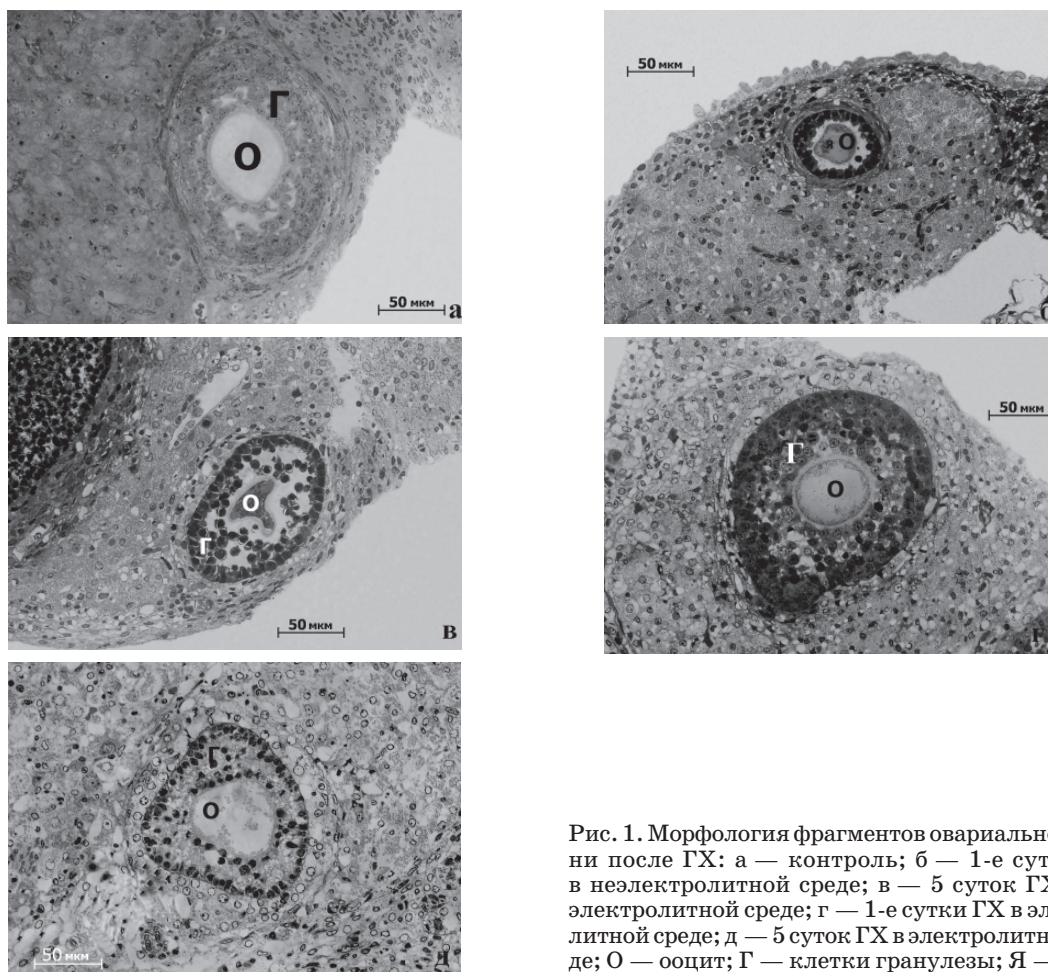


Рис. 1. Морфология фрагментов овариальной ткани после ГХ: а — контроль; б — 1-е сутки ГХ в неэлектролитной среде; в — 5 суток ГХ в неэлектролитной среде; г — 1-е сутки ГХ в электролитной среде; д — 5 суток ГХ в электролитной среде; О — ооцит; Г — клетки гранулезы; Я — ядро

чие от контрольной группы трансплантаты овариальной ткани у животных групп 2 и 3 имеют зональный характер, который может свидетельствовать о повреждении поверхностного слоя фрагментов овариальной ткани при ГХ.

Помимо этого у животных группы 2 (рис. 2, б) наблюдается фиброз около 5–10 % ткани трансплантата, что, очевидно, связано с меньшей степенью сохранности клеток овариальной ткани при ГХ в неэлектролитных средах. При этом количество созревающих фолликулов в трансплантатах у животных группы 2 значительно ниже, чем у животных групп 1 и 3 (таблица).

Сравнительный анализ фолликулярной плотности в трансплантатах овариальной ткани показал, что количество фолликулов на единицу объема в трансплантатах у животных группы 3 сравнимо с контрольной группой, тогда как у животных группы 2 этот показатель достоверно снижался (рис. 3).

Экспериментальные данные, приведенные в этой работе, однозначно указывают на

то, что изменение структуры овариальной ткани и дальнейшее функционирование трансплантата зависит от электролитного состава среды инкубации в условиях ГХ. Видно (рис. 1), что в неэлектролитных средах наблюдается сжатие ооцитов и дегидратация клеток гранулезы в первые 24 часа ГХ, тогда как при инкубации овариальной ткани в электролитных средах не происходит изменения структуры фолликулов в данный временной период ГХ. При увеличении сроков ГХ до 5 суток выявляются качественные отличия изменения морфологии овариальной ткани (рис. 1). Следовательно, можно предположить, что одним из основных механизмов повреждения овариальной ткани в условиях ГХ является нарушение ионной проницаемости ооцита, а также клеток гранулезы и теки. Трансплантация овариоэктомированным животным фрагментов овариальной ткани через 24 часа после ГХ (рис. 2) приводила к развитию морфологических структур, соответствующих физиологической норме, при использо-

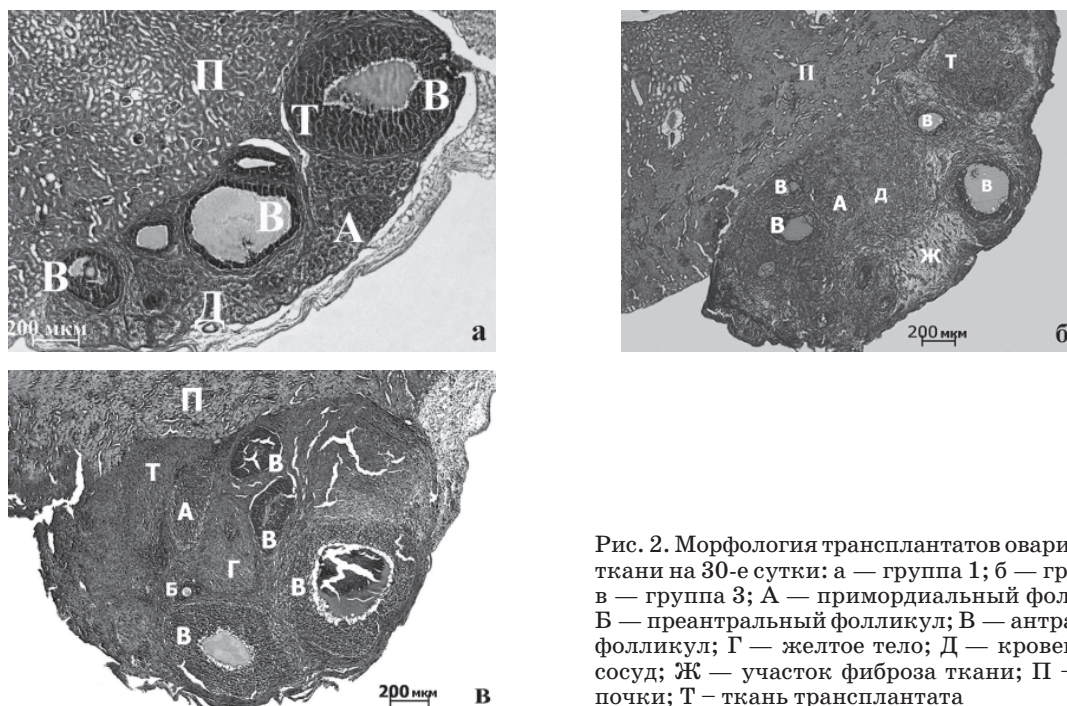


Рис. 2. Морфология трансплантатов овариальной ткани на 30-е сутки: а — группа 1; б — группа 2; в — группа 3; А — примордиальный фолликул; Б — преантральный фолликул; В — антральный фолликул; Г — желтое тело; Д — кровеносный сосуд; Ж — участок фиброза ткани; П — ткань почки; Т — ткань трансплантата

Объем и количество фолликулов различной степени зрелости в трансплантатах овариальной ткани

| Группа | Объем трансплантата, мм <sup>3</sup> | Количество фолликулов |                |               |            |
|--------|--------------------------------------|-----------------------|----------------|---------------|------------|
|        |                                      | всего                 | примордиальные | преантральные | антральные |
| 1      | 12,55±2,80                           | 616±89                | 605±87         | 5±2           | 5±2        |
| 2      | 13,0±2,6                             | 497±312               | 490±167        | 3,5±2,1       | 2,3±0,6    |
| 3      | 18,04±3,30                           | 657±110               | 648±110        | 4,7±2,5       | 4,3±0,6    |

Кол-во фол-лов на 1 мм<sup>3</sup>

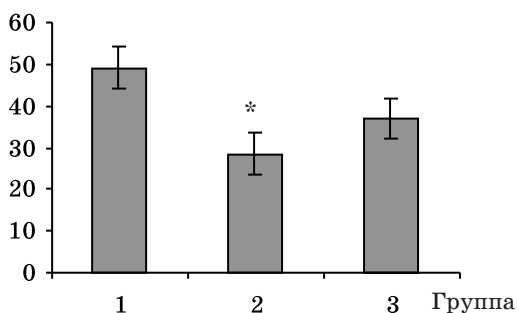


Рис. 3. Фолликулярная плотность в трансплантатах овариальной ткани: \*  $p < 0,05$  относительно контроля

вании как неэлектролитной, так и электролитной среды инкубации. Однако следует отметить, что фолликулярная плотность в трансплантатах овариальной ткани, подвергнутой ГХ в неэлектролитных средах, практически в 2 раза ниже, чем в контрольной группе (рис. 2). Следовательно, эти данные подтверждают тот факт, что неэлектро-

литная среда инкубации оказывает более выраженное повреждающее действие на овариальную ткань в процессе ГХ, чем электролитная. Это, по всей видимости, связано с необратимым повреждением значительного количества клеток гранулезы в первые сутки ГХ в неэлектролитной среде (рис. 1), что обусловлено нарушением проницаемости плазматической мембраны (выход ионов  $K^+$ ), изменением величины трансмембранного потенциала [13] и функционированием ионных каналов. В [14] на культуре гранулезных клеток показано, что электрофизиологические свойства клеток овариальной ткани определяются молекулярной структурой таких ионных каналов, как  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  и  $Cl^-$ , которые, в свою очередь, направленно регулируются стероидными гормонами. Следовательно, можно предположить, что при ГХ овариальной ткани в неэлектролитных средах происходит нарушение проницаемости мембраны, связанное с изменением мембранного потенциала этих

клеток [13], що внаслідок викликає порушення їх гормонпродуцуючої функції, приводящої до гормональному дисба-

лансу, а також зменшенню розвиваючих фолликулів в трансплантованій овариальній тканині.

### Список літератури

1. Orthotopic and heterotopic autografts of frozen-thawed ovarian cortex in cheap / Y. Aubard, P. Piver, Y. Cognle [et al.] // Hum. Reprod. — 1999. — V. 14. — P. 2149–2154.
2. Short-term preservation of canine preantral follicles: effects of temperature, medium and time / C. A. Lopesa, R. R. Santos, J. J. Celestino [et al.] // Animal Reprod. Science. — 2009. — V. 115. — P. 201–214.
3. Effects of lowered temperatures and media on short-term preservation of zebu (*Bos indicus*) preantral ovarian follicles / C. M. Lucci, M. A. Kacinski, R. Rump, S. N. Bao // Theriogenology. — 2004. — V. 61. — P. 461–472.
4. Preservation of goat preantral follicles enclosed in ovarian tissue in saline or TCM 199 solutions / S. H. Costa, E. R. Andrade, J. R. Silva [et al.] // Small Ruminant Research. — 2005. — V. 58. — P. 189–193.
5. Short term maintenance of sheep preantral follicles in situ in 0,9 % saline and Braun-Collins solution / E. R. Andrade, P. R. Rodrigues, C. A. Amorim [et al.] // Small Ruminant Research. — 2001. — V. 41. — P. 141–149.
6. Short-term storage of canine preantral ovarian follicles using a powdered coconut water (ACP)-based medium / G. L. Lima, L. L. Costa, D. M. Cavalcanti [et al.] // Theriogenology. — 2010. — V. 74. — P. 146–152.
7. Protocol of amendment to the european convention for the protection of vertebrate animals used for the experimentation and other scientific purposes. — Strasbourg, 1998.
8. Уикли Б. Електронна мікроскопія для починаючих / Б. Уикли. — М.: Мир, 1975. — 324 с.
9. Лилли Р. Патогістологічна техніка і практична гістохімія / Р. Лилли. — М., 1969. — 645 с.
10. Татарчук Т. Ф. Ендокринна гінекологія (клінічнісні очерки) / Т. Ф. Татарчук, Я. П. Сольський. — К.: Заповіт, 2003. — 303 с.
11. Oktay K. Development of human primordial follicles to antral stages in SCID/hpg mice stimulated with follicle stimulating hormone / K. Oktay, H. Newton, J. Mullan // Hum. Reprod. — 1998. — V. 13, № 5. — P. 1133–1138.
12. Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results / A. Gougeon // Hum. Reprod. — 1986. — №. 1. — P. 81–87.
13. Emery B. R. Hamster oocyte membrane potential and ion permeability vary with preantral cumulus cell attachment and developmental stage / B. R. Emery, R. L. Miller, D. T. Carrell // BMC Dev. Biol. — 2001. — V. 1, № 14.
14. Activation of Cl<sup>-</sup> channels by human chorionic gonadotropin in luteinized granulosa cells of the human ovary modulates progesterone biosynthesis / P. Olivero, E. Leiva-Salcedo, L. Devoto, A. Stutzin // Endocrinology. — 2008. — V. 149, № 9. — P. 4680–4687.

**К.О. Мединець, В.В. Кірошка, Ю.О. Тищенко, Т.П. Бондаренко**

### АНАЛІЗ МОРФОЛОГІЇ ТРАНСПЛАНТАТІВ ОВАРІАЛЬНОЇ ТКАНИНИ ПІСЛЯ ГІПОТЕРМІЧНОГО ЗБЕРІГАННЯ

Проведено порівняльний аналіз зміни морфологічних характеристик фрагментів і трансплантатів овариальної тканини за умов гіпотермічного зберігання в електролітних та неелектролітних середовищах. Встановлено, що при 24-годинному гіпотермічному зберіганні в електролітних середовищах зберігається морфологічна структура фрагментів овариальної тканини, а також спостерігається високий рівень життєздатних фолікулів після їх трансплантації.

**Ключові слова:** гіпотермічне зберігання, овариальна тканина, електроліт, неелектроліт, трансплантація.

**К.О. Medynets, V.V. Kiroshka, J.O. Tischenko, T.P. Bondarenko**

### MORPHOLOGY OF TRANSPLANT OVARIAN TISSUE AFTER HYPOTHERMIC STORAGE

The comparative analysis of changes in morphological characteristics of the fragments and transplant of the ovarian tissue under condition the hypothermic storage in the electrolyte and nonelectrolyte solutions was carried out. It was established, that at 24-hour hypothermic storage in electrolytic solutions was preserved morphological structure of the fragments of ovarian tissue as well as the high level of viability follicles after transplantation was found.

**Key words:** hypothermic storage, ovarian tissue, electrolyte, nonelectrolyte transplantation.