

# НЕФРОЛОГИЯ

# NEPHROLOGY

---

*Журнал «Нефрология» входит в «Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук (редакция 01.12.2015 года)».*

*Журнал включен в базу данных лучших научных журналов России Russian Science Citation Index (RSCI) на платформе Web of Science*

*«Nephrology» medical journal is included in the list of russian peer-reviewed scientific journals in which the chief scientific results of doctoral and post doctoral (PhD) dissertations should be published (01.12.2015 year). The journal is included in the database Russian Science Citation Index (RSCI) on the platform Web of Science, consisting best scientific journals of Russia*

---

RUSSIAN FEDERATION ASSOCIATION OF NEPHROLOGIST  
PAVLOV FIRST SAINT-PETERSBURG STATE MEDICAL UNIVERSITY  
SPC "Nephron"

# NEPHROLOGY

## SCIENTIFIC PRACTICAL JOURNAL

ESTABLISHED IN NOVEMBER 1996

"NEPHROLOGY" MEDICAL JOURNAL IS INCLUDED IN THE LIST OF RUSSIAN PEER-REVIEWED SCIENTIFIC JOURNALS IN WHICH THE CHIEF SCIENTIFIC RESULTS OF DOCTORAL DISSERTATIONS SHOULD BE PUBLISHED (07.12.2015 YEAR)

### EDITOR-IN-CHIEF

Prof. A.V. SMIRNOV, MD, PhD, DSC (St-Petersburg)

### VICE EDITORS

Prof. E.M. SHILOV, MD, PhD, DSC (Moscow)

Prof. V.A. DOBRONRAVOV, MD, PhD, DSC (St-Petersburg)

Prof. A.Sh. RUMYANTSEV, MD, PhD, DSC (St-Petersburg)

**Executive Issue Editors Prof. V.A. Dobronravov, MD, PhD, DSC and  
Prof. A.V. Vatazin, MD, PhD, DSC**

### EDITORIAL BOARD

Prof. S.Kh. Al-Shukri, MD, PhD, DSC (St-Petersburg)

Prof. A.L. Arieiev, MD, PhD, DSC (St-Petersburg)

Prof. S.Ph. Bagnenko MD, PhD, DSC, member of the RAS (St-Petersburg)

Prof. M.M. Batyushin, MD, PhD, DSC (Rostov)

Prof. I.N. Bobkova, MD, PhD, DSC (Moscow)

Prof. V.M. Ermolenko, MD, PhD, DSC (Moscow)

Prof. A.M. Essaian, MD, PhD, DSC (St-Petersburg)

Prof. Ya.F. Zverev, MD, PhD, DSC (Barnaul)

Prof. I.G. Kayukov, MD, PhD, DSC (St-Petersburg)

Prof. N.A. Mukhin, MD, PhD, DSC, member of the RAS (Moscow)

Prof. A.V. Nabokov, PhD, professor (Germany)

Prof. N.D. Savenkova, MD, PhD, DSC (St-Petersburg)

Prof. E.M. Shilov, MD, PhD, DSC (Moscow)

Prof. A.N. Shishkin, MD, PhD, DSC (St-Petersburg)

Prof. A.M. Shutov, MD, PhD, DSC (Ulyanovsk)

Prof. A.A. Totolyan, MD, PhD, DSC, corresponding member of the RAS (St-Petersburg)

Prof. V.L. Emanuel, MD, PhD, DSC (St-Petersburg)

Prof. O.D. Yagmourov, MD, PhD, DSC (St-Petersburg)

### EXECUTIVE SECRETARY

I.I. Trofimenko, PhD, associate professor (St-Petersburg)

### EXECUTIVE MANAGING EDITOR

A.V. Karunnaya (St-Petersburg)

### EDITORIAL COUNCIL

Prof. A.I. Gozhenko, MD, PhD, DSC (Odessa, Ukraine), Prof. K.Ya. Gurevich, MD, PhD,

DSC (St.Petersburg, Russia), Prof. T.V. Zhdanova, MD, PhD, DSC (Ekaterinburg, Russia),

Prof. I.V. Zimin, MD, PhD, DSC (St.Petersburg, Russia), Prof. D.D. Ivanov, MD,

PhD, DSC (Kiev, Ukraine), Prof. A.J. Karabaeva, MD, PhD, DSC (Alma-Ata, Russia),

Prof. V. Kleim, MD, PhD (Hanover-Muenden, Germany), Prof. O.B. Kuzmin, MD, PhD,

DSC (Orenburg, Russia), Prof. S.V. Lapin, PhD, scientific staff (St.Petersburg, Russia),

Prof. B.G. Lukichev, MD, PhD, DSC (St.Petersburg, Russia), Prof. O.A. Nagibovich,

MD, PhD, DSC (St.Petersburg, Russia), Prof. Yu.V. Natochin, MD, PhD, member of

the RAS (Moscow), Prof. D.N. Pascalev, MD, PhD, DSC (Varna, Bulgaria), Prof. N.N.

Smirnova, MD, PhD, DSC (St.Petersburg, Russia), Prof. A.V. Sukaloo, MD, PhD, DSC

(Minsk, Byelorussia), Prof. D. Tsakiris, MD, PhD, DSC (Thessaloniki, Greece), Prof.

V.N. Tkachuk, MD, PhD, DSC (St.Petersburg, Russia), Prof. N.A. Tomilina, MD, PhD,

DSC (Moscow, Russia), Prof. A.F. Yampolsky, MD, PhD, DSC (Krasnodar, Russia)

### DIRECTOR OF ENLIGHTENING NON-COMMERCIAL INDEPENDENT ORGANIZATION "NEPHROLOGY"

Prof. A.G. KUCHER, MD, PhD, DSC (St-Petersburg)

Journal "Nephrology" is published since 2005 year by independent non-profit organisation "Nephrology", which was founded in First Pavlov State Medical University by Scientific and Production Association "Nephron" and North-West Nephrology and Dialysis Association in publishing office "Levsha".

**Volume 20 • № 6 • 2016**

«PUBLISHER  
«LEVSHA. ST.PETERSBURG»

ST.PETERSBURG • 2016

# НЕФРОЛОГИЯ

## НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

ОСНОВАН В НОЯБРЕ 1996 года

ЖУРНАЛ ВХОДИТ В «ПЕРЕЧЕНЬ РОССИЙСКИХ РЕЦЕНЗИРУЕМЫХ НАУЧНЫХ ЖУРНАЛОВ, В КОТОРЫХ ДОЛЖНЫ БЫТЬ ОПУБЛИКОВАНЫ ОСНОВНЫЕ НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ДИССЕРТАЦИЙ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ДОКТОРА И КАНДИДАТА НАУК (РЕДАКЦИЯ 07.12.2015 ГОДА)».

### ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

профессор доктор медицинских наук А.В. СМИРНОВ (Санкт-Петербург)

### ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

доктор медицинских наук профессор Е.М.ШИЛОВ (Москва),  
доктор медицинских наук профессор В.А. ДОБРОНРАВОВ (Санкт-Петербург),  
доктор медицинских наук профессор А.Ш. РУМЯНЦЕВ (Санкт-Петербург)

### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

С.Х. Аль-Шукри – доктор медицинских наук профессор (ответственный редактор рубрики «Актуальные проблемы урологии») (Санкт-Петербург), А.Л. Арьев – доктор медицинских наук профессор (ответственный редактор рубрики «Актуальные проблемы гериатрической нефрологии») (Санкт-Петербург), С.Ф. Багненко – доктор медицинских наук профессор, академик РАН (Санкт-Петербург), М.М. Батюшин – доктор медицинских наук профессор (ответственный редактор выпуска журнала работ специалистов Юга России) (Ростов-на-Дону), И.Н. Бобкова – доктор медицинских наук профессор (Москва), В.М. Ермоленко – доктор медицинских наук профессор (Москва), А.М. Есаян – доктор медицинских наук профессор (Санкт-Петербург), Я.Ф. Зверев – доктор медицинских наук профессор (Барнаул), Н.А. Мухин – доктор медицинских наук профессор, академик РАН (Москва), А.В. Набоков – доктор медицинских наук профессор (Германия), Н.Д. Савенкова – доктор медицинских наук профессор (ответственный редактор выпуска журнала специалистов по педиатрической нефрологии) (Санкт-Петербург), И.Г. Каюков – доктор медицинских наук профессор (Санкт-Петербург), А.А. Тотолян – доктор медицинских наук профессор, член-корреспондент РАН (Санкт-Петербург), А.Н. Шишкин – доктор медицинских наук профессор (Санкт-Петербург), А.М. Шутов – доктор медицинских наук профессор (Ульяновск), В.Л. Эмануэль – доктор медицинских наук профессор (Санкт-Петербург), О.Д. Ягмуров – доктор медицинских наук профессор (Санкт-Петербург).

**Выпускающие редакторы номера доктор медицинских наук профессор В.А. Добронравов и доктор медицинских наук профессор А.В. Ватазин**

### ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

И.И.Трофименко – кандидат медицинских наук доцент (Санкт-Петербург)

### ЗАВЕДУЮЩАЯ РЕДАКЦИЕЙ

А.В.Карунная (Санкт-Петербург)

### РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

А.И.Гоженко (Одесса, Украина) – доктор медицинских наук профессор; К.Я.Гуревич (Санкт-Петербург, Россия) – доктор медицинских наук профессор; Т.В.Жданова (Екатеринбург, Россия) – доктор медицинских наук профессор; И.В.Зимин (Санкт-Петербург, Россия) – доктор исторических наук профессор; Д.Д.Иванов (Киев, Украина) – доктор медицинских наук профессор; А.Ж.Карабаева (Алма-Ата, Казахстан) – доктор медицинских наук профессор; Ф.Клим (Ганновер-Мюнден, Германия) – доктор медицинских наук профессор; О.Б.Кузьмин (Оренбург, Россия) – доктор медицинских наук профессор; С.В.Лапин (Санкт-Петербург, Россия) – кандидат медицинских наук старший научный сотрудник; Б.Г.Лукичев (Санкт-Петербург, Россия) – доктор медицинских наук профессор; О.А.Нагибович (Санкт-Петербург, Россия) – доктор медицинских наук профессор; Ю.В.Наточин (Санкт-Петербург, Россия) – доктор медицинских наук профессор, академик РАН; Д.Н.Паскалев (Варна, Болгария) – доктор медицинских наук профессор; Н.Н.Смирнова (Санкт-Петербург, Россия) – доктор медицинских наук профессор; А.В.Сукало (Минск, Белоруссия) – доктор медицинских наук профессор, член-корреспондент НАН Беларуси; Д.Тзакирис (Фессалоники, Греция) – доктор медицинских наук профессор; В.Н.Ткачук (Санкт-Петербург, Россия) – доктор медицинских наук профессор; Н.А.Томилина (Москва, Россия) – доктор медицинских наук профессор; А.Ф.Ямпольский (Краснодар, Россия) – доктор медицинских наук профессор

Директор просветительской автономной некоммерческой организации  
«Нефрология» А.Г.КУЧЕР, доктор медицинских наук профессор  
(Санкт-Петербург)

## ВНИМАНИЮ ЧИТАТЕЛЕЙ

*Дорогие коллеги!*

Наш журнал выходит 6 раз в год.

Для подписки Вы можете пользоваться услугами не только Агентства «Роспечать», но и заказать журнал на почте по каталогу «Пресса России», подписной индекс **43280**, а также на сайте **www.akc.ru**.

Как и раньше, Вы можете оформить подписку на журнал в почтовых отделениях по каталогам «Роспечати».

*Подписные индексы:*

- для индивидуальных подписчиков: на полугодие индекс – 45860;
- для индивидуальных подписчиков: годовой индекс – 47959;
- для организаций: на полугодие индекс – 45861;
- для организаций: годовой индекс – 80256.

**По вопросам размещения рекламы обращаться по тел.: +7-921-392-34-34 или e-mail: orishack@nephron.ru Оришак Денис Константинович**

Корректор Л.Н. Агапова  
Переводчик К. Горбачёва  
Художественное оформление обложки А.И. Приймак  
Компьютерная верстка Н.В. Горожий

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия. Свидетельство ПИ № ФС77-21632 от 22.08.2005. Сдан в набор 16.10.2016. Подписан в печать 05.12.2016. Формат бумаги 60х90<sup>1/8</sup>. Бумага офсетная. Печать офсетная. Печ. л. 15,5. Тираж 800 экз. Цена свободная.

Адрес редакции: 197101, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, дом 17, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, корпус 54, редакция журнала «Нефрология»  
Телефон: (812) 338-69-01; факс (812) 338-69-15  
E-mail: journal@nephrolog.ru; интернет-сайт: <http://journal.nephrolog.ru>

Издатель: ООО «Издательство «Левша. Санкт-Петербург».  
197376, Санкт-Петербург, Аптекарский пр., д. 6,  
тел./факс: (812) 234-54-36, 234-13-00. E-mail: levsha@levshaprint.ru

Типография: ООО «Издательство «Левша. Санкт-Петербург».  
197376, Санкт-Петербург, Аптекарский пр., д. 6,  
тел./факс: (812) 234-54-36, 234-13-00. E-mail: levsha@levshaprint.ru

18+

© НЕФРОЛОГИЯ, 2016

Никакая часть настоящего издания ни в каких целях не может быть воспроизведена в какой бы то ни было форме и какими бы то ни было средствами, будь то электронные или механические, включая фотокопирование и запись на магнитный носитель, если на то нет письменного разрешения редакции. Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции. Редакция не несет ответственности за рекомендации по диагностике и лечению, данные авторами.

**УЧЕБНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ПЛАН НА 2017 ГОД****КАФЕДРА НЕФРОЛОГИИ И ДИАЛИЗА  
ФПО ПСПБГМУ им. акад. И.П. ПАВЛОВА**

№ п/п	Название цикла	Вид обучение	Контингент слушателей	Дата проведения цикла (начало–окончание)	Кол-во слушателей	Продолжительность обучения
1	«Избранные вопросы терапии с основами нефрологии»	ТУ	Терапевты	16.01.2017 – 11.02.2017	21	144 часа
2	«Клиническая нефрология и диализ»	ТУ	Нефрологи	16.01.2017 – 11.03.2017	15	288 часов
3	«Нефрология»	ПП	Терапевты, педиатры, хирурги, детские хирурги, урологи, анестезиологи-реаниматологи, врачи общей практики	16.01.2017 – 22.04.2017	6	504 часа
4	«Избранные вопросы терапии с основами нефрологии»	ТУ	Терапевты	13.03.2017 – 08.04.2017	21	144 часа
5	«Клиническая нефрология и диализ»	ТУ	Нефрологи	13.03.2017 – 06.05.2017	15	288 часов
6	«Нефрология»	ПП	Терапевты, педиатры, хирурги, детские хирурги, урологи, анестезиологи-реаниматологи, врачи общей практики	13.03.2017 – 17.06.2017	6	504 часа
7	«Сестринское дело в нефрологии и диализе»	ТУ	Медицинские сестры нефрологических и диализных отделений	15.05.2017 – 10.06.2017	15	144 часа
8	«Избранные вопросы терапии с основами нефрологии»	ТУ	Терапевты	11.09.2017 – 07.10.2017	21	144 часа
9	«Клиническая нефрология и диализ»	ТУ	Нефрологи	11.09.2017 – 04.11.2017	15	288 часов
10	«Нефрология»	ПП	Терапевты, педиатры, хирурги, детские хирурги, урологи, анестезиологи-реаниматологи, врачи общей практики	11.09.2017 – 16.12.2017	6	504 часа
11	«Сестринское дело в нефрологии и диализе»	ТУ	Медицинские сестры нефрологических и диализных отделений	13.11.2017 – 09.12.2017	15	144 часа

Заведующий кафедрой – профессор д-р мед. наук Есаян Ашот Мовсесович

Тел/факс: +7 (812) 234-91-91

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

Зав. учебной частью – доцент канд. мед. наук Яковенко Александр Александрович

E-mail: [leptin-rulit@mail.ru](mailto:leptin-rulit@mail.ru)

По всем вопросам оформления документов на циклы обращаться

к старшему лаборанту кафедры Нимгировой Айсе Николаевне

Тел: +7 (905) 209-93-73

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

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДИАТРИЧЕСКИЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
  
ФАКУЛЬТЕТ ПОСЛЕВУЗОВСКОГО И ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**ПЛАН на 2016 год**

сертификационных циклов повышения квалификации педиатров по нефрологии «Актуальные вопросы педиатрической нефрологии» и профессиональной переподготовки педиатров по нефрологии. Контингент слушателей: педиатры и педиатры-нефрологи поликлиник, нефрологических круглосуточных, дневных стационаров и центров. Профессиональная переподготовка педиатров по нефрологии проводится на базе педиатрического нефрологического отделения клиники ГБОУ ВПО СПбГПМУ Минздрава России.

Сроки проведения сертификационных циклов по педиатрической нефрологии
11.01 – 05.02.2016
11.01 – 29.04.2016 (профессиональная переподготовка)
15.02 – 11.03.2016
16.05 – 10.06.2016
05.09 – 30.09.2016
05.09 – 23.12.2016 (профессиональная переподготовка)
14.11 – 09.12.2016

Деканат факультета послевузовского и дополнительного профессионального образования ГБОУ ВПО СПбГПМУ,  
194100, Санкт Петербург, Литовская ул., дом 2.  
Тел./факс: (812) 542-94-80 и (812) 416-54-71  
E-mail: [gpmfprk@mail.ru](mailto:gpmfprk@mail.ru)

СЛОВО ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

9

FROM THE EDITOR

**ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ**

МОНТСЕРРАТ Н., ГАРРЕТА Е., БЕЛЬМОНТЕ Х.К.И.  
Регенеративные стратегии реконструирования почки

10

MONTSERRAT N., GARRETA E., BELMONTE J.C.I.  
Regenerative strategies for kidney engineering

**ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ**

ВАТАЗИН А.В., ЗУЛЬКАРНАЕВ А.Б.  
Эндотоксин и хроническое воспаление  
при хронической болезни почек

26

VATAZIN A.V., ZULKARNAEV A.B.  
Endotoxin and chronic inflammation in patients with  
chronic kidney disease

ВАТАЗИН А.В., КИЛЬДЮШЕВСКИЙ А.В.,  
ФЕДУЛКИНА В.А., ФАЕНКО А.П.  
Механизмы отторжения почечного аллотрансплантата  
и иммунологическая толерантность

33

VATAZIN A.V., KILDJUSHEVSKIY A.V., FEDULKINA V.A.,  
FAENKO A.P.  
Renal allograft rejection mechanisms and  
immunotolerance

ФАЕНКО А.П., ВАТАЗИН А.В., КИЛЬДЮШЕВСКИЙ А.В.,  
ФЕДУЛКИНА В.А.  
Фотоферез при трансплантации почек

42

FAENKO A.P., VATAZIN A.V., KILDJUSHEVSKIY A.V.,  
FEDULKINA V.A.  
Photopheresis during kidney transplantation

**ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ****Клинические исследования**

ВЕТЧИНИКОВА О.Н., ШЕСТЕРО Е.В., ЕГОРОВА Е.А.  
Минерально-костные нарушения у реципиентов  
почечного трансплантата

49

VETCHINNIKOVA O.N., SHESTERO E.V., EGOROVA E.A.  
Mineral and bone disorders in renal  
transplant recipients

ФЕДУЛКИНА В.А., ВАТАЗИН А.В.,  
КИЛЬДЮШЕВСКИЙ А.В., СТОЛЯРЕВИЧ Е.С.,  
КРУГЛОВ Е.Е., КАНТАРИЯ Р.О.  
Протокольная биопсия почечного аллотрансплантата  
как критерий эффективности экстракорпоральной  
фотохимиотерапии

57

FEDULKINA V.A., VATAZIN A.V., KILDJUSHEVSKIY A.V.,  
STOLYAREVICH E.S., KRUGLOV E.E.,  
KANTARIYA R.O.  
Protocol renal allograft biopsy as a criterion of  
extracorporeal photochemotherapy efficiency

СТОЛЯРЕВИЧ Е.С., АРТЮХИНА Л.Ю., ИВАНОВА Е.С.,  
ТОМИЛИНА Н.А.  
Использование комбинированной терапии  
плазмаферезом, внутривенным человеческим  
иммуноглобулином и ритуксимабом для лечения  
хронического отторжения трансплантированной почки

67

STOLYAREVICH E.S., ARTYUKHINA L.Yu., IVANOVA E.S.,  
TOMILINA N.A.  
Use of combined therapy by plasmapheresis, human  
intravenous immunoglobulin and rituximab for chronic  
renal allograft rejection

КААБАК М.М., ГОРЯЙНОВ В.А., ЗОКОЕВ А.К.,  
БАБЕНКО Н.Н., ВЬЮНКОВА Ю.Н., МОРОЗОВА М.М.,  
АГАНЕСОВ А.Г., ПЛАТОВА Е.Н., ДЫМОВА О.В.,  
ПАНИН В.В.  
Влияние раннего посттрансплантационного  
плазмафереза на отдалённые результаты пересадки  
почек у детей

75

KAABAK M.M., GORYAJNOV V.A., ZOKOJEV A.K.,  
BABENKO N.N., VJYUNKOVA Y.N., MOROZOVA M.M.,  
AGANESOV A.G., PLATOVA E.N., DYMOVA O.V.,  
PANIN V.V.  
The effect of early posttransplant plasmapheresis on  
late results of kidneys grafting in children

ДОБРОНРАВОВ В.А., ХРАБРОВА М.С.,  
МУХАМЕТДИНОВА А.О., СИПОВСКИЙ В.Г.  
Частота выявления и прогноз  
антительно-опосредованного отторжения  
при аллотрансплантации почки

82

DOBRONRAVOV V.A., KHRABROVA M.S.,  
MUKHAMETDINOVA A.O., SIPOVSKIY V.G.  
Incidence and prognosis of antibody-mediated rejection  
in kidney allografts

<p>СКВОРЦОВ А.Е., ЛОГИНОВ И.В., КУКУШКИН А.А., АНАНЬЕВ А.Н., КУТЕНКОВ А.А., КУЗЬМИН Д.О., ДАЙНЕКО В.С., УЛЬЯНКИНА И.В., ШИГАНОВ М.Ю., РЕЗНИК О.Н. Доноры с необратимой остановкой сердца: полноценный ресурс ренальной трансплантации</p>	90	<p>SKVORTSOV A.E., LOGINOV I.V., KUKUSHKIN A.A., ANANIEV A.N., KUTENKOV A.A., KUZMIN D.O., DAIKNEKO V.S., ULJANKINA I.V., SHIGANOV M.Y., REZNIK O.N. Donors with cardiac death: full resource of kidney transplantation</p>
<b>НАБЛЮДЕНИЯ ИЗ ПРАКТИКИ</b>		<b>PRACTICAL NOTES</b>
<p>АНИКОНОВА Л.И., РЯСНЯНСКИЙ В.Ю., МАКАРЬЕВА Е.Ю., ВОРОБЬЕВА О.А. Фокально-сегментарный гломерулосклероз, ассоциированный с хроническим лимфолейкозом: клинический случай и литературный обзор</p>	101	<p>ANIKONOVA L.I., RYASNYANSKIY V.U., MAKARJEVA E.U., VOROBYEVA O.A. Focal segmental glomerulosclerosis associated with chronic lymphocytic leukaemia: case report and literature review</p>
<b>ПРОГРАММА НЕПРЕРЫВНОГО ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ ПО НЕФРОЛОГИИ</b>		<b>PROGRAM ON CONTINUOUS POSTGRADUATE EDUCATION ON NEPHROLOGY</b>
<p>ПРОКОПЕНКО Е.И., ВАТАЗИН А.В., ЩЕРБАКОВА Е.О. Трансплантация почки у пациентов с атипичным гемолитико-уремическим синдромом (лекция)</p>	111	<p>PROKOPENKO E.I., VATAZIN A.V., SHCHERBAKOVA E.O. Kidney transplantation in patients with atypical haemolytic uraemic syndrome (lection)</p>
<b>ЮБИЛЕЙ</b>		<b>JUBILEE</b>
К 80-летию академика РАН Н.А. Мухина	119	To the 80th anniversary of academician of the russian academy of sciences N.A.Mukhin
<b>УКАЗАТЕЛИ</b>		<b>POINTERS</b>
Систематизированный порядковый указатель статей, опубликованных в т. 20 журнала «Нефрология» в 2016 г.	122	A systematic checklist articles published in vol. 20 of the journal "Nephrology" in 2016
Именной указатель	125	Author index
ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ	130	GUIDELINES FOR AUTHORS

*Глубокоуважаемый читатели!*

*В статье В.А. Добронравов «Фосфат, почки, кости и сердечно-сосудистая система» Нефрология 2016; 20(4) допущена опечатка.*

*Вместо «Кальцитриол/РТН – опосредованные и, возможно, другие механизмы фосфатурии не могут быть более существенными в поддержании нейтрального баланса Рi почками [38].»*

*Читать следует «Кальцитриол/РТН – опосредованные и, возможно, другие механизмы фосфатурии могут быть более существенными в поддержании нейтрального баланса Рi почками [38].»*

*Автор статьи приносит читателям свои извинения.*

---

## СЛОВО ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

---

*Дорогие читатели!*

Журнал «Нефрология» регулярно публикует статьи, посвященные проблемам трансплантации почки. Интенсивное развитие данного направления в РФ способствовало накоплению ценного практического и научного опыта. Один из известных законов Мерфи гласит: «Все легкие проблемы уже решены», поэтому мы стараемся обращать Ваше внимание на нерешенные проблемы и возможные пути их преодоления. Понимая то, что узкому специалисту неудобно разыскивать публикацию по интересующей его теме в отдельных номерах «нехирургического» издания, редколлекцией было принято решение о формировании специализированного выпуска журнала, который призван осветить разнообразные нефрологические проблемы трансплантологии. С ними сталкиваются не только хирурги, но и нефрологи, которые по сложившейся в России практике наблюдают больных с трансплантированными почками в амбулаторных условиях и должны обеспечивать достаточный уровень диагностики и лечение нехирургических осложнений пострансплантационного периода.

Расширение понимания современных тенденций развития является критическим для врачей, практикующих в данной междисциплинарной области медицины. Неслучайно Ассоциация нефрологов ежегодно проводит научно-практическую конференцию, посвященную нефрологическим проблемам в трансплантологии, которая пользуется заслуженным вниманием специалистов. Важным дополнением к таким образовательным мероприятиям могут быть тематические выпуски журналов, подобные представляемому.

Одним из наиболее трудных вопросов трансплантологии является недостаточное количество и качество донорских органов. Поэтому мы публикуем в качестве передовой статью, которая, на первый взгляд, может показаться несколько футуристической. Тем не менее, это одно из направлений, призванных решить описанную проблему.

Надеюсь, что предлагаемый специализированный выпуск журнала будет способствовать формированию новых исследовательских гипотез и улучшению ведения реципиентов аллографта почки в повседневной практике.

© Н.Монтсеррат, Е.Гаррета, Х.К.И.Бельмонте, 2016  
УДК 616.61- 003.93

*Н. Монтсеррат<sup>1,2</sup>, Е. Гаррета<sup>1</sup>, Х.К.И. Бельмонте<sup>3</sup>*

## РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ СТРАТЕГИИ РЕКОНСТРУИРОВАНИЯ ПОЧКИ

<sup>1</sup>Программы по плюрипотентным стволовым клеткам и активации эндогенной ткани для регенерации органов (PR Lab), Институт Биоинжиниринга Каталонии (IBEC), г. Барселона, Испания; <sup>2</sup>Сетевой биомедицинский исследовательский центр биоинжиниринга, биоматериалов и наномедицины (CIBER-BBN), г. Мадрид, Испания; <sup>3</sup>лаборатория экспрессии гена, Институт биологических исследований Солка, г. Ла-Холья, Калифорния, США

*N. Montserrat<sup>1,2</sup>, E. Garreta<sup>1</sup>, J.C.I. Belmonte<sup>3</sup>*

## REGENERATIVE STRATEGIES FOR KIDNEY ENGINEERING

<sup>1</sup>Pluripotent Stem Cells and Activation of Endogenous Tissue Programs for Organ Regeneration (PR Lab), Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona, Spain, <sup>2</sup>Networking Biomedical Research Center in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Madrid, Spain, <sup>3</sup>Gene Expression Laboratory, Salk Institute for Biological Studies, La Jolla, CA, USA

### РЕФЕРАТ

Почка является важнейшим органом водного гомеостаза и экскреции токсических субстанций. Она выполняет несколько важных физиологических функций для обеспечения гомеостаза: удаляет циркулирующие продукты метаболизма, регулирует баланс жидкости в организме и действует как иммунный регулятор, а также модулятор нормального функционирования сердечно-сосудистой системы. В самое последнее время появились и активно развиваются модели почечных заболеваний *in vitro* с плюрипотентными стволовыми клетками (как стволовыми клетками человеческого эмбриона, так и индуцированными плюрипотентными стволовыми клетками), а также разрабатываются надежные протоколы по получению *in vitro* клеток, подобных специфичным ренальным, из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациента. В данном обзоре мы приводим главные открытия в области регенерации почки с основным фокусом на развитие пошаговых протоколов по созданию почечных клеток из человеческих плюрипотентных стволовых клеток и самые последние достижения в области биоинжиниринга почки (т.е. децеллюляризованного почечного остова и биопринтинга). Возможность создания трехмерной структуры, подобной почке, с последующим наполнением ее индуцированными плюрипотентными стволовыми клетками почечного происхождения может открыть новые перспективы для создания функционирующего по требованию почечного трансплантата.

**Ключевые слова:** индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, заболевания почек, реконструкция почек, плюрипотентные стволовые клетки, почечно-клеточная дифференциация.

### ABSTRACT

The kidney is the most important organ for water homeostasis and waste excretion. It performs several important physiological functions for homeostasis: it filters the metabolic waste out of circulation, regulates body fluid balances, and acts as an immune regulator and modulator of cardiovascular physiology. The development of *in vitro* renal disease models with pluripotent stem cells (both human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells) and the generation of robust protocols for *in vitro* derivation of renal-specific-like cells from patient induced pluripotent stem cells have just emerged. Here we review major findings in the field of kidney regeneration with a major focus on the development of stepwise protocols for kidney cell production from human pluripotent stem cells and the latest advances in kidney bioengineering (i.e. decellularized kidney scaffolds and bioprinting). The possibility of generating renal-like three-dimensional structures to be recellularized with renal-derived induced pluripotent stem cells may offer new avenues to develop functional kidney grafts on-demand.

**Key words:** induced pluripotent stem cells; kidney disease; kidney engineering; pluripotent stem cells; renal differentiation.

### Список сокращений

BMP4, (bone morphogenetic protein 4) – костный морфогенетический белок 4  
CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeat) – короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами  
FGF, (fibroblast growth factor) – фактор роста фибробластов  
GDNF (glial-cell-derived neurotrophic factor) – глиальный нейротрофический фактор  
OSR-1 (Odd-skipped related 1) – транскрипционный фактор OSR1

иПСК – индуцированная плюрипотентная стволовая клетка  
МЗ – мочеточниковый зачаток  
ММ – метанефральная мезенхима  
ПМ – промежуточная мезодерма,  
ПСК – плюрипотентная стволовая клетка  
СКПН – стволовая клетка-предшественник нефрона  
ТПН – терминальная почечная недостаточность  
ХБП – хроническая болезнь почек  
чиПСК – человеческая индуцированная плюрипотентная стволовая клетка  
чПСК – человеческая плюрипотентная стволовая клетка  
чЭСК – человеческая эмбриональная стволовая клетка  
ЭСК – эмбриональная стволовая клетка  
ЭЦМ – экстрацеллюлярный матрикс

N. Montserrat, Pluripotent Stem Cells and Activation of Endogenous Tissue Programs for Organ Regeneration (PR Lab), Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), c/Baldiri Reixac 15-21, 08028 Barcelona, Spain. Fax: +34 93 402 02 84, Tel: +34 93 403 13 91, E-mail: nmontserrat@ibecbarcelona.eu

## ВВЕДЕНИЕ

Болезни почек представляют собой одну из основных проблем здравоохранения в современном обществе. Хроническая болезнь почек (ХБП) является ведущей причиной смертности и заболеваемости в западных странах, где её распространенность составляет до 11% взрослого населения. ХБП может прогрессировать до неизлечимой стадии терминальной почечной недостаточности (ТПН), требующей проведения диализа или трансплантации почки, что предпочтительно. К слову, затраты только на диализ составляют около 2% от национальных бюджетов здравоохранения, и в течение нескольких лет этот параметр удвоится. Если эта тенденция продолжится, национальные правительства будут вынуждены тратить от 3 до 5% своего годового бюджета здравоохранения на заместительную почечную терапию, без учета огромной стоимости дополнительных медицинских расходов.

В настоящее время в США 122 403 человека ожидают жизнесохраняющую органную трансплантацию, из которых 101 189 ожидают трансплантацию почки [1, 2]. Среднее время ожидания первого почечного трансплантата составляет 3,6 года и может варьировать в зависимости от различных параметров, таких как коморбидность, совместимость и доступность органа [2]. Заслуживает внимания то, что в 2014 году в США было выполнено 17 105 трансплантаций почки. Из них 11 570 были трупные и 5535 – от живого донора [1, 2]. Отдел здравоохранения и служба обеспечения органами и планирования трансплантаций США установил, что более 3000 новых пациентов ежемесячно добавляются в лист ожидания почечного трансплантата, и что в 2014 году 4270 пациентов умерли, ожидая пересадку. Таким образом, существует серьезная потребность развития новых терапевтических стратегий, которые позволили бы преодолеть данные проблемы.

Прогресс, достигнутый за последнее время в методологических подходах, основанных на стволовых клетках и достижениях тканевого инжиниринга, привел к появлению новой стратегии регенеративной медицины с целью лечения болезней почек.

Во-первых, возможность имитировать важные этапы развития почки в культивирующей среде показывает, что при некоторых условиях человеческие плюрипотентные стволовые клетки (чПСК) могут дифференцироваться *in vitro* в основные типы почечных клеток, повреждающихся при патологии почек (например, подоциты

и тубулярные клетки, и др.) [3, 4]. Во-вторых, появляющиеся технологии, включающие децеллюляризацию/рецеллюляризацию и биопринтинг, стали революционными в области тканевого инжиниринга, открывая возможность создания такого комплексного трехмерного (3D) органа, как почка [5, 6].

В данном обзоре мы освещаем текущие достижения в стратегии регенеративной медицины по воссозданию почечной функции с основным фокусом на (а) направленную дифференцировку чПСК в клетки, подобные почечным, которые можно использовать для инжиниринга почки и (б) применение децеллюляризации/рецеллюляризации и технологии биопринтинга. Видится, что все эти методики являются многообещающими стратегиями тканевого конструирования для биоинжиниринга почки, и здесь мы обсуждаем основные проблемы будущего осуществления этих многообещающих технологий в клинической практике (рисунок).

## ЛЕЧЕНИЕ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОЧКИ: ПРОБЛЕМЫ И ТЕКУЩЕЕ ПОЛОЖЕНИЕ ДЕЛ

Болезни почек являются значимой проблемой здравоохранения во всем мире [7–9]. Распространенность и плохой прогноз болезней почек и ассоциированных патологий показывают срочную необходимость не только развития терапевтических подходов, но и расширения нашего понимания потенциала почки к развитию и восстановлению, особенно, генерации нефрона, его дифференцировки и способности к самовосстановлению. Интересно, что почка взрослого млекопитающего имеет способность после повреждения восстанавливать некоторые типы клеток, включая клеточные элементы тубулярных и эпителиальных клеток, но не структуры клубочка [10–12]. Вероятно, это происходит путем пролиферации резидентных клеток при отсутствии популяции предшественников или вновь сформировавшихся мультилинейных структур – процесс, называемый «клеточной регенерацией» [13]. До сих пор клеточную регенерацию традиционно оценивают путем проследования точного клеточного происхождения этих пролиферирующих клеток [12–14], в то время как популяция клеток-предшественников может быть идентифицирована по способности предполагаемых клеток-кандидатов дифференцироваться во многих направлениях [15].

В отличие от других организмов, таких как аквариумная рыбка Данио рерио и насекомые, у

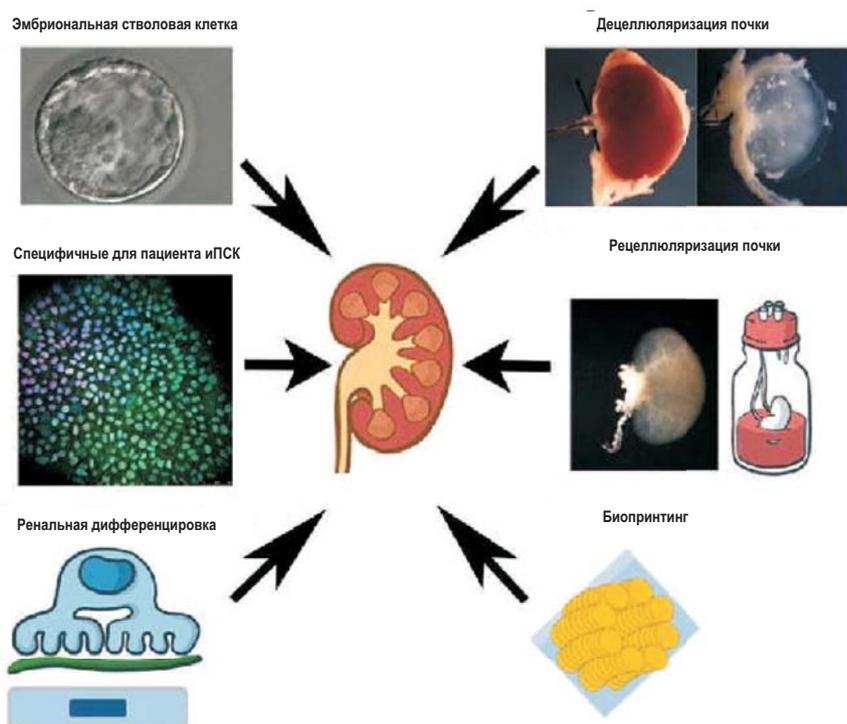


Рисунок. Применение ПСК (как ЭСК, так и iPСК) открывает перспективы для точной оценки необходимых условий, обеспечивающих существование почечных клеток взрослого для клеточной терапии. Также биоинжиниринг почки преследует цель использовать почечный остов как биологическую основу для дальнейшей рецеллюляризации, а появление биопринтинга в последнее время обеспечило реализацию главной стратегии по созданию орган-подобных структур в трехмерном разрешении. ПСК – плюрипотентная стволовая клетка; ЭСК – эмбриональная стволовая клетка; iPСК – индуцированная плюрипотентная стволовая клетка.

которых формирование новых нефронов возникает за счет регенерации поврежденных, у млекопитающих формирование новых нефронов ограничено эмбриогенезом и заканчивается к моменту рождения [16].

#### **ПЛУРИПОТЕНТНЫЕ СТЕВЛОВЫЕ КЛЕТКИ (ПСК): ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ИСТОЧНИК ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ**

Уже в 1998 году было продемонстрировано, что плюрипотентные стволовые клетки (ПСК) могут происходить из внутренней клеточной массы бластоциста эмбриона, превращаясь в эмбриональную стволовую клетку (ЭСК) [17]. Человеческие ЭСК (чЭСК) стали новым объектом для изучения тканевого развития и моделирования заболеваний *in vitro*. С этого момента интенсивные исследования были посвящены разработке надежного протокола по дифференцировке чПСК с целью создания функционирующих клеток, способных восстанавливать утраченную в результате прогрессирования дегенеративных болезней функцию. Тем не менее, молекулярные механизмы, вовлеченные в ограничение линий дифференцировки чПСК при формировании специализированных типов клеток, до сих пор находятся на стадии исследования. Важно, что самым критичным препятствием для использования чПСК в клинической практике являются потребность в человеческих эмбрионах, что затрагивает этические вопросы, и отторжение тканей после трансплантации.

Существуют другие методы создания ПСК (чПСК) из соматических донорских клеток. Они включают различные способы клеточного репрограммирования, в том числе перенос ядра соматической клетки в энуклеированную яйцеклетку [18], слияние с ПСК [19], воздействие низкомолекулярных химических веществ [20] и трансдукция факторов репрограммирования [21]. В случаях переноса ядра соматической клетки и репрограммирования, опосредованного слиянием клеток, ядра соматических клеток помещают в тотипотентное или плюрипотентное окружение, соответственно [22].

С другой стороны – трансдукция факторов репрограммирования POU5F1 (POU домен класс 5 фактор транскрипции 1; также известный как октамер-связывающий протеин 3 или октамер-связывающий протеин 4, OCT3/4), SRY (sex determining region Y, определяющий пол, регион хромосомы Y), box 2 (SOX2), Круппель (Kruppel)-подобный фактор 4 (KLF4) и онкоген миеломатоза (с-MYC) [вместе относящиеся к OSKM (по первым буквам в названии факторов) или факторам Яманака] приводит к генерации ауто-совместимых индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iПСК), которые совмещают потенциальные способности к самовосстановлению и дифференцировке при сравнении с чЭСК. Большинство первоначальных исследований по созданию iPСК пациента были основаны на использовании интегративных систем, чрезмерно

экспрессирующих *c-MYC* и *KLF4*, два хорошо известных онкогена [23, 24].

Для решения этих проблем разные лаборатории, включая нашу, проводили поиски различных типов клеток, которые могли бы быть репрограммированы при отсутствии двух онкогенных факторов, но при использовании преимуществ внутренних свойств выбранных донорских клеток (например, клетки, экспрессирующие относительно высокий уровень любого из факторов Яманака, могут быть репрограммированы при отсутствии этих специальных генов, так, например, невральные стволовые клетки при отсутствии *SOX2*). Исходя из этого, иПСК были успешно генерированы при отсутствии *KLF4* и/или *c-MYC* из кератиноцитов [24], стволовых клеток пуповины [25] и даже невральных стволовых клеток [26]. Хотя эти открытия показали возможность сокращения числа факторов для генерации иПСК, они по-прежнему были основаны на применении интегративных систем, приводящих к нежелательным эффектам, касающимся случайной трансгенной инсерции (например, риск трансгенной индукции после дифференцировки, неполное репрограммирование и др.). Очень быстро разные лаборатории по всему миру разработали новые методы для создания свободных от трансгенов иПСК [27–32], также внесли важные изменения в клеточные культуры (например матрицы/среды) для получения фидер-независимых человеческих иПСК (чиПСК) [33–35] и идентифицировали растворимые вещества, замещающие факторы Яманака для создания иПСК [20].

Вместе с этими важными трудностями в области получения иПСК были опубликованы результаты интенсивных исследований по созданию специфичных для пациента иПСК с последующей дифференцировкой в определенные виды ткани, поврежденные в результате прогрессирования болезни, обеспечивая уникальный сценарий для моделирования болезни [36–41] и даже для подбора специфичных для пациента лекарств [42, 43].

Еще одна область, привлекающая большой интерес, это коррекция генетических заболеваний в пациент-специфичных иПСК в аспекте персонализированной медицины.

ПСК могут быть источником для исправления генома, так как они могут быть подвержены обширному спектру манипуляций с тканевой культурой (например выбор лекарства и экспансия клонов) с сохранением их плюрипотентности и стабильности генома [44]. Разными исследовательскими группами продемонстрированы гене-

рирование и коррекция пациент-специфичных чиПСК [38, 39, 45–49]. Эти исследования показали функциональную коррекцию болезнью-ассоциированного фенотипа при дифференцировке пациент-специфичных чиПСК и даже открыли перспективы для скрининга элементов, восстанавливающих фенотип болезни [49, 50] – достижение, которое, как представляется, является первым применением потенциала чиПСК в регенеративной медицине и здравоохранении [51].

#### **ГЕНЕРИРОВАНИЕ ПОЧЕЧНЫХ КЛЕТОК ИЗ ПСК: МЕТОДОЛОГИИ, ОСНОВАННЫЕ НА ПСК, МОДЕЛИРУЮТ РАЗВИТИЕ ПОЧКИ И ЕЁ ЗАБОЛЕВАНИЯ**

Почка состоит из тысяч нефронов, образующихся в ходе развития в результате реципрокного индуктивного взаимодействия между двумя разными клеточными типами: клетками метанефральной мезенхимы (ММ) и мочеточникового зачатка (МЗ) [16]. ММ дифференцируется в различные типы эпителиальных клеток почки (от клубочка до сегмента собирательных трубочек), а МЗ генерирует систему чашечек.

За последние несколько десятилетий во многих работах определены условия культивирования для изоляции и распространения *in vitro* этих клеточных популяций, правда, с ограниченным успехом (обзор в [13, 14, 52]). Альтернативной методологией для создания неограниченного количества клеток почечного типа является дифференцировка ПСК. В последние несколько лет независимые исследовательские группы, включая нашу, впервые описали возможность создания различных почечных популяций из ПСК. Song и соавт. были первыми, кто сообщил о получении предшественников подоцитов из чиПСК, которые были функциональными и эффективно интегрированы в ткань мышечного метанефрия. Однако вопрос о том, какие из эмбриональных клеток-предшественников в ходе развития эквивалентны иПСК-незрелым подоцитам Song'a, остается открытым [3].

Позднее в 2013 г. S.I. Mae и соавт. впервые дифференцировали монослой чЭСК в промежуточную мезодерму (ПМ), эмбриональную ткань, которая дает происхождение как ММ, так и МЗ [53]. С этой целью авторы создали разные репортерные линии чиПСК, в которых GFP был направлен в ген *OSR-1* (*Odd-skipped related 1* – ген, транзиторно экспрессируемый в промежуточной мезодерме в ходе эмбриогенеза). При специальных условиях клеточной культуры иПСК, дифференцированные из ПМ, показали свойства других типов зрелых

почечных клеток и ограниченных канальцевых структур. Интересно, что те же авторы добились получения химически определенной среды для получения иПСК из ПМ и недавно описали идентификацию двух ретиноид-подобных молекул, индуцирующих образование ПМ из иПСК. Именно в этих опытах авторы продемонстрировали, что в результате полученные из ПМ иПСК проявляли способность дифференцироваться во множество типов почечных клеток, также образуя 3D-структуру, подобную почечным канальцам в образцах органных культур *ex vivo* [54].

Аналогично наша группа впервые сообщила о возможности создания предшественников МЗ из клеток ПМ из чПСК и чиПСК, полученных от пациентов с поликистозной болезнью почек. Спустя 4 дня предшественники МЗ экспрессировали *HOXB7*, *RET* и *GFRA1* в большей степени, чем маркеры ММ. Более того, когда МЗ-подобные чиПСК-клетки были культивированы совместно с диссоциированными клетками мышинового метанефрия E11-5, образованные клетки включались только в цитокератин 8 позитивные (+) МЗ-подобные структуры, предполагая индукцию коммитированных ПМ клеток МЗ линии *ex vivo* [55].

С другой стороны – группа Little'a разработала протокол по созданию хорошо изученных предшественников почечных клеток как из чПСК, так и чиПСК в ПМ через заднюю первичную полосу, из которой ПМ образуется в ходе развития. Авторы использовали собственную линию чПСК для мониторинга экспрессии *MIXL1* (гена, транзиторно экспрессируемого в первичной полоске в ходе эмбриогенеза) путем включения GFP в локус *MIXL1*. Группа Little'a создала два разных протокола: один – для одновременной генерации дериватов ММ и МЗ и другой – для МЗ-клеток только из ПСК. Примечательно, что в этой работе использовали повторную агрегацию проб для определения потенциала дифференцировки почечно-подобных генерированных клеток, показывая, что повторно агрегированные дифференцированные ПСК могут одни организовать и генерировать нефрон-подобные структуры [56].

Ранее Lam и соавт. опубликовали быстрый и эффективный протокол дифференцировки для получения *PAX2+LHX1+* ПМ-клеток из чПСК, которые спонтанно формировали каналец-подобные структуры. Интересно, что Lam удалось показать, что *PAX2+LHX1+* ПМ-клетки из чПСК интегрировались в мышиную культуру метанефрия и дифференцировались в мультипотентные стволовые клетки-предшественники нефрона (СКПН)

мезенхимы, экспрессируя маркеры *SIX2*, *SALL1* и *WT1* [57]. Таким же образом Taguchi и соавт. также показали, что возможно получать СКПН, которые обладают потенциалом реконструирования 3D-нефрон-подобной структуры, содержащей как гломеруло-, так и тубуло-подобные структуры при совместном культивировании *in vitro* с эмбриональным спинным мозгом из мышинных ЭСК и чиПСК [58]. В этой же работе Taguchi и соавт. использовали модели мышинных линий *in vivo* и изучали разные стадии развития СКПН у мышей с геном-репортером *OSR-1-GFP* и выявили, что популяция *OSR-1-GFP-Integrin+PDGFRa* имеет самый высокий потенциал формирования нефронов *in vitro*. Таким образом, авторы пересмотрели пространственную и временную локализацию предшественников нефрона метанефрия *in vivo*, демонстрируя, что ПМ содержит, по крайней мере, две субпопуляции предшественников метанефрия – передний и задний домены, и что ПМ, расположенный сзади, дает рост линиям ММ [58]. Интересно, что эта последняя работа продемонстрировала, в какой момент времени зарождающаяся мезодерма становится ПМ и как она становится специфичной для ММ- и МЗ-линий [58].

Интересно, что Imberti и соавт. получили почечные клетки-предшественники из чиПСК, следуя двухэтапному протоколу, где сначала чиПСК подвергают воздействию ретиноевой кислотой, ингибиторами в *RhpA* и *PI3K* и активинном А, индуцируя развитие ПМ. Далее чиПСК, полученные из ПМ, в течение следующих 13 дней были подвергнуты воздействию *FGF2*, *BMP7* и глиального нейротрофического фактора (*GDNF*) для создания чиПСК из ММ. Хотя другие авторы уже продемонстрировали возможность генерации чПСК из ММ, в этой работе Imberti и соавт. впервые показали, что чиПСК – предшественники почечных клеток – надежно внедряются в поврежденные канальцы, восстанавливая почечную функцию [59].

Недавно Morizane и соавт. показали возможность развития СКПН из чПСК. Работа Morizane элегантно демонстрирует, что возможно воспроизвести ММ почку *in vitro* и генерировать *SIX2+ SALL1+WT1+PAX2+* СКПН с 90% эффективностью через 9 дней. Более важно, что авторы доказали, что СКПН формируют почечный органоид как в 2D-, так и в 3D-образцах после 21–28 дней, содержащий эпителиальные нефрон-подобные структуры, экспрессирующие маркеры подоцитов (*PODXL*, *NPHS1*), проксимальных канальцев (*CDH2*, *LTL*), петли Генле (*CDH1*, *UMOD*) и дистальных канальцев (*CDH1*, *BRN1*), копи-

руя развитие нефрона. Важно, что для изучения механизмов токсичности проксимальных и/или дистальных канальцев при воздействии на почечный органоид химических агентов, рутинно применяемым на животных моделях *in vivo*, была использована система культуры органоидов [60]. Подобным же образом Fredman и соавт. показали, что почечные стволовые клетки, полученные из чПСК- сфероидов, легко могут произвести почечные органоиды, воспроизводя ткань-специфичную эпителиальную физиологию. В частности, авторы смогли выключить гены подокаликсина, PKD1 (полицистин-1) или PKD2 (полицистин-2) с помощью технологии коротких палиндромных повторов, регулярно расположенных группами (CRISPR)/CAS9 с направляющей РНК CRISPR/Cas9, впервые доказав осуществимость создания 3D-почечной структуры для моделирования болезней почек человека [61]. Совсем недавно Takasato и соавт. [62] сделали еще один шаг для создания почечного органоида, содержащего индивидуальные нефроны, далее разделяющиеся на дистальные и проксимальные канальцы, начальную петлю Генле и клубочки, содержащие подоциты с развивающимися ножковыми отростками и проходящие васкуляризацию. Также как Freedman и соавт. [61], Takasato и соавт. показали, что проксимальные канальцы аккумулялировали декстран и дифференцированно подвергались апоптозу в ответ на цисплатину [62].

Хотя эти работы показали возможность создания различных почечных популяций из чПСК, они до сих пор различаются в отношении применяемых реагентов, их концентраций и времени выдерживания (табл. 1). Важно отметить, что разные данные по дифференцировке ПСК в клетки почечных линий демонстрируют, что мы еще далеки от выделения генов маркеров или поверхностных протеинов, определяющих разные ПМ популяции, выявленные у мышей [58].

#### ТЕХНОЛОГИИ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМА

Зв последнее время появились как потенциальные средства для редактирования генома в чПСК пациента вместе с CRISPR/Cas9, разные платформы по редактированию гена для увеличения гомологичной рекомбинантной эффективности, в частности ДНК-нуклеазы (цинк-содержащие нуклеазы, TAL эффекторные нуклеазы и мегануклеазы) [44]. В общем, ДНК-нуклеазы и CRISPR/Cas9-технологии позволяют выполнять различные манипуляции с геномом сайт-специфичным способом, например, активацию /инактивацию

гена, удаление последовательности, замену элементов и хромосомную перестройку [44, 63]. В контексте моделирования заболеваний почек CRISPR/Cas9-технология была использована для получения 3D-почечных структур из чПСК для выключения генов PKD1 (полицистин-1) и PKD2 (полицистин-2), приводя к возможности моделирования поликистозной болезни почек в 3D-образце, похожей на компартмент почечного эпителия [61].

Помимо огромного влияния на моделирование заболеваний человека платформ геномного редактирования, недавно исследованы другие аспекты, включая использование таких технологий для генерации ПСК репортерных клеточных линий [64–67]. Недавно группа Little'a разработала новый протокол по созданию самоорганизующихся почечных органоидов из чПСК, эквивалентных почкам человеческого плода в течение первого триместра гестации [62]. Эти результаты выявили, что мы, с одной стороны, до сих пор далеки от развития зрелых почечных клеток, имеющих терапевтический потенциал, подразумевая, что новые стратегии должны быть приняты во внимание для развития зрелых почечных клеток для клинического применения (например, использование кондиционированной культуры меди из почечных эмбриональных клеток, использование систем агрегации совмещенных культур с клетками плода человека и пр.). С другой стороны – профиль экспрессии мРНК в работе Little и соавт. происходит из различных клеточных типов, самоорганизующихся в почечную 3D-структуру, затрудняя анализ молекулярных путей, обеспечивающих почечную дифференцировку из различных индивидуальных клеточных типов, составляющих почечный органоид. С этой точки зрения технологии редактирования генома, в частности система CRISPR/Cas, могут помочь создать линии человеческих репортерных ПСК для детального выявления молекулярных сигналов почечной дифференцировки и, таким образом, пригодных для выявления зрелости генерированных клеток в сравнении с их двойниками *in vitro* из развивающихся эмбрионов.

До сих пор почечные линии репортерных ПСК генерировали путем искусственной бактериальной векторной хромосомы [53] и лентивируса [56]. Эти плодотворные исследования открыли пригодность линий репортерных клеток для идентификации и размножения требуемых типов почечных клеток (т.е. ПМ-клетки и клетки примитивной полоски) в ходе начала дифференциров-

### Последние литературные данные по ренальной дифференцировке из человеческих плюрипотентных стволовых клеток\*

Авторы и год	Происхождение плюрипотентных стволовых клеток	Протокол ренальной дифференцировки	Гломерулярные подоциты (последовательная культура, 8 дней): 10 нг/мл <sup>-1</sup> активин А; 15 нг/мл <sup>-1</sup> BMP7, 0,1 мМ ретиноидной кислоты	Промежуточный мезодерм (7 дней): 10 нг/мл <sup>-1</sup> TGFβ1
Song et al. (2012) [3]	Человеческие iPСК (мезангиальные клетки)	Формирование тела эмбриоида (3 дня): 10 нг/мл <sup>-1</sup> активин А; 15 нг/мл <sup>-1</sup> BMP7, 0,1 мМ ретиноидной кислоты	Клетки проксимальных канальцев (20 дней): 10 нг/мл <sup>-1</sup> BMP2; 2,5 нг/мл <sup>-1</sup> BMP7; 10 нг/мл <sup>-1</sup> активин А; 0,1 мМ ретиноидной кислоты	Ранний промежуточный мезодерм (8 дней): 100 нг/мл <sup>-1</sup> BMP7; 3 мМ CHIR99021
Narayanan et al. (2013) [4]	Человеческие ЭСК	Мезендодерма (2 дня): 100 нг/мл <sup>-1</sup> активин А; 3 мМ CHIR99021, 10 мМ Y27632	Клетки проксимальных канальцев (20 дней): 10 нг/мл <sup>-1</sup> BMP2; 2,5 нг/мл <sup>-1</sup> BMP7; 10 нг/мл <sup>-1</sup> активин А; 0,1 мМ ретиноидной кислоты	Промежуточный мезодерм (3 дня): 1 мМ TTPB
Mae et al. (2013) [53]	Человеческие ЭСК (H9, khes1 и khes3), человеческие iPСК (201B6, 201B7, 253G1 и 253G4)	Ранний промежуточный мезодерм (2 дня): 100 нг/мл <sup>-1</sup> BMP7; 3 мМ CHIR99021; 1 мМ 4-[(E)-2-(5,6,7,8-тетрагидро-5,8,8-тетраметил-2-нафталил)-1-пропенил]бензойная кислота (TTPB)	Мезендодерма (2 дня): 100 нг/мл <sup>-1</sup> активин А; 3 мМ CHIR99021, 10 мМ Y27632	Промежуточный мезодерм (3 дня): 1 мМ TTPB
Araoka et al. (2014) [54]	Человеческие ЭСК, человеческие iPСК (дермальные фибробласты)	Мезодермальные предшественники (2 дня): 30 нг/мл <sup>-1</sup> BMP4; 50 нг/мл <sup>-1</sup> FRF2; 17,5 мМ инсулин	Ранний промежуточный мезодерм (2 дня): 100 нг/мл <sup>-1</sup> BMP7; 3 мМ CHIR99021; 1 мМ 4-[(E)-2-(5,6,7,8-тетрагидро-5,8,8-тетраметил-2-нафталил)-1-пропенил]бензойная кислота (TTPB)	Промежуточный мезодерм (3 дня): 1 мМ TTPB
Xia et al. (2013) [55]	Человеческие iPСК (дермальные фибробласты)	Задняя примитивная полоска: (а) 2 дня, 30 нг/мл <sup>-1</sup> BMP4; 10 нг/мл <sup>-1</sup> активин А; (б) 2 дня, 8 мМ CHIR99021	Мезодермальные предшественники (2 дня): 30 нг/мл <sup>-1</sup> BMP4; 50 нг/мл <sup>-1</sup> FRF2; 17,5 мМ инсулин	Промежуточный мезодерм (3 дня): 1 мМ TTPB
Takasato et al. (2014) [56]	Человеческие ЭСК	Задняя примитивная полоска: (а) 2 дня, 30 нг/мл <sup>-1</sup> BMP4; 10 нг/мл <sup>-1</sup> активин А; (б) 2 дня, 8 мМ CHIR99021	Мезодермальные предшественники (2 дня): 30 нг/мл <sup>-1</sup> BMP4; 50 нг/мл <sup>-1</sup> FRF2; 17,5 мМ инсулин	Промежуточный мезодерм (3 дня): 1 мМ TTPB
Lam et al. (2013) [57]	Человеческие ЭСК; человеческие iPСК (дермальные фибробласты)	Мезендодермий (2 дня): 5 мМ CHIR99021	Мезодермальные предшественники (2 дня): 30 нг/мл <sup>-1</sup> BMP4; 50 нг/мл <sup>-1</sup> FRF2; 17,5 мМ инсулин	Промежуточный мезодерм (3 дня): 1 мМ TTPB
Taguchi et al. (2014) [58]	Мышиные и человеческие iPСК	ЕВ-формация (1 день): 0,5 нг/мл <sup>-1</sup> BMP4; 10 мМ Y27632	Мезодермальные предшественники (2 дня): 30 нг/мл <sup>-1</sup> BMP4; 50 нг/мл <sup>-1</sup> FRF2; 17,5 мМ инсулин	Промежуточный мезодерм (3 дня): 1 мМ TTPB

\*Эта таблица представляет обзор нескольких последних публикаций, в которых человеческие плюрипотентные клетки были дифференцированы в почечные клеточные линии. Детально перечислены факторы роста и цитокины, использованные в процессе дифференцировки.

Продолжение табл. 1

Imberti et al. (2015) [59]	Человеческие iPСК (SC101A-1)	Промежуточная мезодерма (6 дней): 0,1 $\mu\text{M}$ ретиноидной кислоты; 1 $\mu\text{M}$ CCG1423; 5 $\mu\text{M}$ LY294002; 10 $\mu\text{M}$ ретиноидной кислоты добавлено на 2 дня начиная со второго дня	Метанефральная мезенхима (13 дней): 50 нг/мл <sup>-1</sup> BMP7; 10 нг/мл <sup>-1</sup> ФРФ2; 15 нг/мл <sup>-1</sup> GDNF		
Morizane et al. (2015) [60]	H9 человеческие ЭСК, человеческие iPСК (дермальные фибробласты)	Поздняя примитивная полоска (4 дня): 8 $\mu\text{M}$ CHIR99021 для ЭСК и 10 $\mu\text{M}$ CHIR99021; 5 нг/мл <sup>-1</sup> ноггин для iPСК	Задняя промежуточная мезодерма (3 дня): 10 нг/мл <sup>-1</sup> активин А	Метанефральная мезенхима (2 дня): 10 нг/мл <sup>-1</sup> ФРФ9	Претубулярный агрегат (2 дня): 3 $\mu\text{M}$ CHIR99021; 10 нг/мл <sup>-1</sup> ФРФ9
Freedman et al. (2015) [61]	Человеческие ЭСК (H9/WA09), человеческие iPСК (фибробласты крайней плоти и дермальные фибробласты)	Сфероидные колонии-сандвичи (3 дня): 10 $\mu\text{M}$ Y27632, матригель	Канальцевая органоидная дифференцировка, содержащая проксимальные каналы, эндотелиальные клетки и подоциты (13 дней): 13 $\mu\text{M}$ CHIR99021 на 36 ч, затем восстановлено; затем замещение меди каждые три дня		
Takasato et al. (2015) [62]	Человеческие iPСК (CRL1502, клон C32)	Промежуточный мезодерм (7 дней) (передний и/или задний в зависимости от времени экспозиции CHIR): 8 $\mu\text{M}$ CHIR99021 (2–5 дней), затем 200 нг/мл <sup>-1</sup> ФРФ9; 1 $\mu\text{g}/\text{мл}^{-1}$ гепарин (2–5 дней)	Почечный органоид, содержащий нефроны, связанные с сетью собирательных трубочек, окруженной почечным интерстицием и эндотелиальными клетками (11–18 дней): 5 $\mu\text{M}$ CHIR99021 на 1 ч, затем 200 нг/мл <sup>-1</sup> ФРФ9 и 1 $\mu\text{g}/\text{мл}^{-1}$ гепарин (5 дней); затем без цитокинов (9–13 дней)		

ки. Важно отметить, что группа Osafune сделала дальнейший шаг в применении OSR-1-GFP ген-репортерных клеточных линий и выявила два агониста рецептора ретиноевой кислоты, а именно AM580 и TTNPB, которые вместе с CHIR99021 индуцировали дифференцировку ПМ-клеток путем активации экспрессии КМП4 [54]. Интересно, что новый метод дифференцировки, использующий малые составляющие, обеспечил менее дорогой и более совместимый метод генерации ПМ-клеток по сравнению с методом применения фактора роста, описанный этой же группой ранее [53]. Поскольку идентификация и размножение тканеспецифичных почечных стволовых клеток/клеток-предшественников с нефрогенным потенциалом являются критичным шагом в развитии клеточной терапии для заболеваний почек, применение почечного репортера ПСК может привести к разработке условий клеточного культивирования для получения 3D-почечной структуры из чПСК.

#### НОВЫЕ СТРАТЕГИИ БИОИНЖИНИРИНГА ПОЧКИ

В области тканевого инжиниринга применяют принципы биологии и инжиниринга для разработки функционального замещения поврежденной ткани [68]. Десятилетиями исследователи напряженно работали для создания техник и методик для разработки биоостова, используя натуральные или синтетические биоматериалы [69, 70]. Общее мнение в данной области таково, что для успешного применения в тканевом инжиниринге такой остов должен обладать несколькими ключевыми характеристиками с целью поддержания правильного формирования ткани и функции: (а) быть биосовместимым; (б) обладать достаточной механической силой; (в) быть биоактивным для изменения 3D-клеточного микроокружения и (г) обеспечивать диффузию питательных веществ и очищение от токсичных продуктов. В этой области произошли значительные достижения, включая успешное создание трансплантатов таких тканей, как кожа [71], хрящ [72, 73], кость [74], мочевого пузыря [75], сосуды

[76] и трахея [77]. Однако в наше время исследователи стоят лицом к лицу с новой проблемой, относящейся к биоинжинирингу более сложных 3D-органов: легкие, печень, сердце и почки.

Сложные органы требуют интактной сосудистой сети, которая далее могла бы быть включена в систему циркуляции после трансплантации реципиенту для обеспечения адекватного питания и кислородной поддержки всему органу. Более того, такие органы обычно обладают высокоорганизованными орган-специфичными многоклеточными структурами, ответственными за выполнение основных функций. Почка представляет собой один из наиболее сложных органов в отношении развития, пространственной организации и клеточной специализации. Почка человека состоит из более чем 30 разных типов клеток и тысяч сложных и функционально разделенных эпителиальных структур, называемых нефронами, которые являются функциональной единицей почки. Каждый нефрон дифференцируется из разных регионов, главным образом из капсулы Боумена, которая окружает клубочек, и почечных канальцев, каждый из которых имеет различные анатомические характеристики и физиологическую роль [16]. Такая сложная органная структура не может быть воспроизведена при использовании традиционных методик тканевого инжиниринга остова.

Недавнее получение остова орган-специфичного экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) путем децеллюляризации/рецеллюляризации и возможность точного расположения клеток и материалов путем технологии 3D-биопринтинга представляются двумя наиболее обещающими достижениями органного биоинжиниринга.

#### **СОЗДАНИЕ ОРГАНЫХ ОСТОВОВ ПУТЕМ ТЕХНОЛОГИИ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИИ/РЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИИ**

Децеллюляризация целого органа открывает новые перспективы в тканевом инжиниринге [78]. Несколькими лабораториями было сообщено о создании почечного остова от грызунов [79–85], свиней [86–88], макак-резус [89] и человеческих почек [5, 90, 91] (табл. 2).

Описано много протоколов децеллюляризации (см. [92–94]), которые обычно включают антеградную перфузию очищающих веществ (детергентов), ферментов и других разрушающих клетки растворов через сосудистую систему органа для удаления клеточных компонентов, в то же время сохраняя 3D-архитектонику и биохимический состав нативного ЭЦМ.

После децеллюляризации почечный остов сохраняет гломерулярную и тубулярную архитектонику и сосудистую сеть. Интересно, что некоторые исследования открыли важную роль почечного ЭЦМ в управлении поведением клетки. Nakayama и соавт. показали, что чЭСК, подсаженные в ЭЦМ децеллюляризованной почки макак-резус, формировали канальцы и экспрессировали ряд специфичных для почки маркеров, но эти события не происходили, когда использовали ЭЦМ легкого, показывая определенную специфичность функций почечного ЭЦМ [95]. Действительно, в недавней публикации O'Neill и соавт. [96] было описано, что полученные из сосочка почечные стволовые клетки регулируются по-разному при культивировании в контакте с разными регионами ЭЦМ почки, предполагая регион-специфичный эффект ЭЦМ почки на поведение стволовых клеток. Более того, в недавнем исследовании Yu и соавт. [97] бесклеточный ЭЦМ почечного остова крысы был пересажен в частично нефрэктомированные почки крысы и показал некоторое возобновление роста удаленной области спустя 4 нед после трансплантации. Интересно, что микроскопический анализ показал миграцию нестипозитивных клеток из поврежденной почки в трансплантированный бесклеточный остов, демонстрируя, что интактный бесклеточный почечный остов сохраняет биоактивные сигналы. Однако ни одного значимого восстановления почечной функции показано не было. В общем, эти работы поддерживают идею, что бесклеточный почечный ЭЦМ сохраняет ренальные специфичные биохимические и биофизические сигналы, которые способны регулировать клеточную пролиферацию и дифференцировку. Хотя лежащие в основе механизмы еще должны быть изучены, эти данные предполагают, что ЭЦМ остова органа, полученный путем децеллюляризации, мог бы быть идеальной системой для обеспечения клеткам необходимого орган-специфичного микроокружения для создания функционирующих почек.

Несмотря на эти впечатляющие данные, количество исследований, продемонстрировавших успешную трансплантацию целиком рецеллюляризованных почек, ограничено [80, 83–85, 87]. Одно из главных препятствий до настоящего времени – это необходимость эффективно рендотелизировать сосудистую сеть созданной почки перед имплантацией для того, чтобы избежать массивных тромбозов при соединении с сосудистой системой реципиента. Orlando и соавт. [87] имплантировали децеллюляризованный

почечный остов свиньи в животное-реципиента, поддерживая достаточное кровяное давление в течение операции; однако в отсроченном периоде, составившем 2 нед, авторы доложили о массивных тромбозах, подчеркнув факт того, что эндотелизация сосудистой системы остова является решающим требованием для проведения успешной пересадки и длительной жизни трансплантата. Re-losa и соавт. [84] также наблюдали ту же проблему формирования тромбов при имплантации децеллюляризованного почечного остова крысам. Примечательно, что в исследовании, проведенном Ott [80], целиком бесклеточные почки крыс были рецеллюляризованы почечными клетками новорожденной крысы и клетками эндотелия пупочной вены человека и далее имплантированы ортотопически, что привело к некоторому восстановлению почечной фильтрации и реабсорбции. В этой важной концептуальной работе не было выявлено признаков кровотечения или образования тромба в течение процесса имплантации, доказывая важность реэндотелизации сосудистой сети бесклеточного остова. Все эти работы подтверждают, что ортотопическая трансплантация почечного остова в наши дни технически возможна, и что надлежащая рецеллюляризация таких остовов необходима для последующего достижения эффективной трансплантации и функционирования органа.

Оптимальный источник клеток для внедрения в бесклеточный почечный остов – это другой нерешенный вопрос. В настоящее время исследователи стараются рецеллюляризовать почечный остов с помощью различных клеточных источников, включая почечные клетки новорожденных [80], эндотелиальные клетки пупочной вены человека [80], мышинные ЭСК [82, 85], эндотелиальные клетки из чиПСК [83], иммортализованные клетки почечного кортикального эпителия человека [83], линию клеток карциномы поджелудочной железы человека [84] и первичные почечные клетки свиньи [98]. Учитывая последние достижения в технологиях ИПСК и генного редактирования, а также самый последний прогресс в разработке протоколов для ренальной дифференцировки ПСК в надлежащие типы почечных клеток, представляется, что ПСК-почечные клетки будут идеальным источником для создания целого органа (что обсуждается выше в разделе терапия стволовыми клетками для регенерации почки). Считается, что предшественники почечных клеток из ПСК-клеток будут подходить для биоинжиниринга почки в большей степени, чем зрелые фенотипы

почечных. Тем не менее, большой объем работы еще предстоит выполнить, чтобы точно охарактеризовать и признать пригодными популяции клеток из ПСК в отношении клеточной идентичности, дифференцировки и финального созревания для обеспечения надлежащей репопуляции различных почечных отделов, а также выполнения необходимых физиологических функции почки.

В текущих работах обычно используют почечную артерию [79–82, 99] или мочеточник [79, 80] в качестве пути доставки клеток в почечный остов. Однако выбор пути для клеточного осеменения должен быть изучен в большей степени, учитывая, что различные биохимические и биофизические сигналы от различных отделов ЭЦМ могут влиять на клеточную пролиферацию, дифференцировку и дальнейшее созревание, как предполагается некоторыми исследованиями [95, 96]. В настоящий момент для доставки клеток в почечный остов и обеспечения стандартной доставки питательных веществ и кислорода в рецеллюляризованный почечный остов используют самодельные биореакторы. Song и соавт. [80] разработали биореактор, который позволяет осуществлять перфузию как через почечную артерию, так и мочеточник, включая порт для забора воздуха для генерирования среды отрицательного давления и создания трансрэнального градиента давления, который улучшает прохождение клеток через мочеточник. Однако, до сих пор главной проблемой остается неравномерное распределение клеток, обычно наблюдаемое после осеменения, с неспособностью клеток в ряде случаев достичь клубочка и, как правило, неэффективность формирования клеточной плотности, сравнимой с нативным органом. Поэтому дальнейшая оптимизация систем биореактора будет необходима для достижения полной рецеллюляризации и созревания органа перед имплантацией [100].

В целом возможность совмещения бесклеточного почечного ЭЦМ остова с почечными клетками из чиПСК является уникальной технологической платформой для инжиниринга почки [101]. В нескольких статьях уже показана возможность применения технологии децеллюляризации к почкам человека [5, 90, 91], хотя ни в одном из этих исследований не изучали рецеллюляризацию. Будущие направления потребуют определения оптимальных условий рецеллюляризации (клеточная плотность, путь доставки клеток и методика осеменения) с целью улучшения клеточной плотности, распределения и задержки в различных областях бесклеточного почечного остова. Более того, расширение тех-

Таблица 2

## Последние литературные данные по стратегиям децеллюляризации/рецеллюляризации почки\*

Автор и год	Вид	Децеллюляризация	Рецеллюляризация			Имплантация	Основные исходы
			Засеянные клетки	Метод засеивания	Метод культивирования остова		
Ross et al. (2009) [79], (2012) [99]	Крыса линии Спрег-Доули	Гравитационная перфузия (при 100 мм рт. ст.) через почечную артерию и мочеточник с (а) 3% Тритоном X-100, (б) деоксирибонуклеазой, (в) 3% Тритоном X-100, (г) 4% додецилсульфатом натрия (ДСН)	Мышинные ЭСК	Инъекция через артерию и мочеточник вручную	Автоматизированная перфузионная система, разработанная для поддержания давления на уровне 120/80 мм рт. ст.	Нет	Клетки, введенные в артерию, сначала попали в клубочки, но потом мигрировали в сосудистую сеть в процессе культивирования. Клетки, введенные в мочеточник, распределились неравномерно
Song et al. (2013) [80]	Крыса линии Спрег-Доули	Перфузия почечной артерии при постоянном давлении 40 мм рт. ст. 1% ДСН 12 ч, 1% Тритоном X-100 30 мин	Клетки почки новорожденной крысы и эндотелиальные клетки пупочной вены человека (HUVES)	Засеивание HUVES при артериальном кровотоке 1 мл/мин <sup>-1</sup> с последующей статической инкубацией в течение ночи. Клетки почки новорожденной крысы засеивались через мочеточник при отрицательном градиенте давления, достигнутом в камере биореактора	Культура, перфузируемая артериально со скоростью 1,5 мл/мин <sup>-1</sup> в биореакторе	Ортопедическая имплантация крысы	Частичное восстановление почечной фильтрации и реабсорбции электролитов. Рецеллюляризация 70% клубочков. Тромбообразование или кровотечения во время имплантации не было
Bonandrini et al. (2014) [82]	Крыса линии Спрег-Доули	Перфузия почечной артерии со скоростью 0,4 мл/мин <sup>-1</sup> при давлении 62–107 мм рт. ст. с 1% ДСН 17 ч	R1 мышинные ЭСК	Динамическое засеивание через почечную артерию 0,2 мл/мин <sup>-1</sup>	Культура, перфузируемая в биореакторе	Нет	Снижение экспрессии OCT4 и увеличение NCAM, Tie-2 и CD31
Sullivan et al. (2012) [86]	Йорк-ширская свинья	Перфузия почечной артерии с 0,5% ДСН и деоксирибонуклеазой в течение ночи	Первичные кортикальные почечные клетки человека	5 × 7 мм биопсии коры были засеяны статически	Статическое культивирование 3–4 дня	Нет	Клеточная пролиферация. Лучшее действие ДСН при сравнении с Тритоном X-100
Nakayama et al. (2010) [89], (2013) [95]	Макак-резус	Срезы почки: 1% ДСН 7–10 дней	WA09 человеческие ЭСК	Срезы почки 8 мм в диаметре были статически засеяны клетками	Статическое культивирование в течение 8 дней	Нет	Увеличение экспрессии генных маркеров почечных канальцев
O'Neill et al. (2013) [96]	Йорк-ширская свинья	0,02% трипсин 2 ч, 3% Твин (Твееп) 2 ч, 4% деоксихолат натрия 2 ч	Мышинные почечные стволочные клетки и мышинные мезенхимальные стволочные клетки	Клетки помещались на срезы децеллюляризованного остова, ЭСК-гидрогель и растворимый ЭЦМ	Статическое культивирование до 7 дней	Нет	Сосочковый ЭЦМ ингибировал пролиферацию и увеличивал мезенхимальную активность почечных стволочных клеток
Caralt et al. (2014) [83]	Крыса линии Спрег-Доули	Три метода: (а) 1% Тритон X-100; (б) 1% Тритон X-100 и 0,1% ДСН; (в) 0,05% EDTA с 0,02% трипсином и 1% Тритоном X-100	Человеческие ИПСК-эндотелиальные клетки и оживленные эпителиальные клетки кортикальных почечных канальцев человека (RCTEs)	Вручную инъецированы или инфузирваны через антеградную перфузию биореактора в почечную артерию со скоростью 25 мл/мин <sup>-1</sup> на 15 мин	Статическое культивирование в течение 36 ч и культивирование при перфузии в биореакторе при скорости 4 мл/мин <sup>-1</sup> до 7 дней	Нет	Эндотелиальные клетки обнаружены в сосудистом русле, а RCTEs образовали структуры канальцев. Доступ кислорода был ограничен в некоторых участках

\*Эта таблица представляет обзор нескольких недавних публикаций, в которых описаны децеллюляризация и рецеллюляризация целой почки *in vitro* при использовании различных типов клеток. Также подробно описаны видовая принадлежность децеллюляризации, засеянные типы клеток, метод засеивания, методика культивирования почечного остова и основные результаты.

Продолжение табл. 2

Peloso et al. (2015) [84]	Крыса Льюис	Аортальная антеградная пульсовая перфузия с Тритоном X-100 1% при скорости 70 мл/мин <sup>-1</sup> (1 ч 25 мин), затем PBS со скоростью 50 мл/мин <sup>-1</sup> (1 ч), после ДСН 1% при скорости 70 мл/мин <sup>-1</sup> (1 ч 25 мин)	Клетки карциномы поджелудочной железы человека (MIA PaCa-2)	Инъецирование в ручную через сосудистое русло почечной артерии	Орган перфузировался в биореакторе со специфичным способом 24 ч со скоростью потока 1 мл/мин <sup>-1</sup>	Ортотопическая имплантация крысе	Гомогенное распределение клеток в почечном матриксе и отсутствие токсичности остова. Отсутствие эндотелия сосудистой сети после трансплантации обеспечивает прямой контакт между кровью и ЭЦМ, что приводит к интенсивной активации каскада коагуляции и формированию сгустков
Guan et al. (2015) [85]	Крыса Вистар	Перфузия почечной артерии 2 мл/мин <sup>-1</sup> с 0,01 м PBS 15 мин, 0,5% ДСН 4 ч и затем PBS 24 ч для удаления ДСН	Мышьиные ЭСК	Засеяны в ручную через почечную артерию и мочеточник	Клетки могли прижиться в течение ночи, после чего перфузия возобновлялась при скорости 1 мл/мин <sup>-1</sup>	Ортотопическая имплантация крысе	Увеличение репопуляции клеток почечного остова при контролируемых условиях перфузии. ЭСК прикрепились к ЭЦМ и пролиферовали. Сосудистое дерево полностью было окклюзировано тромбами
Guan et al. (2015) [88]	Обычная свинья	Перфузия почечной артерии: дистиллированная вода 10 мл/мин <sup>-1</sup> 2 ч, 1% ДСН 10 мл/мин <sup>-1</sup> 28 ч и 1% Тритон X-100 2 ч, финальная отмывка PBS 10 мл/мин <sup>-1</sup> 4 дня	Мышьиные ЭСК	Множественное пункционное засеивание инжектором 28G	Клетки могли прижиться в течение 4 ч, затем почечный остов соединяли с системой биореактора и перфузировали при скорости 2 мл/мин <sup>-1</sup> 7 дней	Нет	Примененный протокол децеллюляризации значительно снижал содержание ДНК, поддерживая при этом основные структурные особенности и задерживая цитокины
Orlando et al. (2013) [90]	Удаленные человеческие почки	Дистиллированная вода 12 мл/мин <sup>-1</sup> 12 ч, 0,5% ДСН 12 мл/мин <sup>-1</sup> 48 ч как в почечной артерии, так и в мочеточнике, финальная отмывка PBS 6 мл/мин <sup>-1</sup> 5 дней	-	-	-	Нет	Оптимизирование децеллюляризации путем перфузии через артерию и также мочеточник ретроградно в собирательную систему. Продемонстрирована способность к ангиогенезу ЭЦМ остова.
Peloso et al. (2015) [91]	Удаленные человеческие почки	PBS при скорости 12 мл/мин <sup>-1</sup> 12 ч, 0,5% ДСН 12 мл/мин <sup>-1</sup> 48 ч как в почечной артерии, так и в мочеточнике, финальная отмывка деоксирибонуклеазой 6 ч при скорости 6 мл/мин <sup>-1</sup> и затем PBS 6 мл/мин <sup>-1</sup> 5 дня	-	-	-	Нет	Морфология и пространственность бесклеточного клубочка и его сосудистая сеть были относительно хорошо сохранены после децеллюляризации и сравнимы с клеточным двойником. Сосудистая сеть сохранила свою нативную эластичность. Цитокины остались внутри матрикса после децеллюляризации в значительной концентрации
Abolbashari et al. (2016) [98]	Йорк-ширская свинья	Перфузия почечной артерии 0,5% ДСН 36 ч и деоксирибонуклеазой в течение ночи	Первичные почечные клетки свиньи	Множественные клеточные инъекции в кортикальный регион почечного остова. Оптимизированный метод инъекции клеток, способный восстановить популяцию 50% верхнего полюса почки	Перфузия в биореакторе при скорости 10 мл/мин <sup>-1</sup> направляю в почку через почечную артерию	Нет	Клеточная организация в надлежащую структуру почечных канальцев без вовлечения в засеивание сосудистой сети. Уровень активности гидролаз был сравним с нормальной почкой. Продукция эритропоэтина восстановленными почечными клетками все время увеличивалась при культивировании в биореакторе, показывая на клинически важную функциональную продукцию

нологии рецеллюляризации почечного остова человека потребует улучшения протоколов по точной дифференцировке, стратегий эффективной доставки клеток и инновационных систем биореакторов с физиологически необходимыми условиями клеточных культур (объем, давление, скорость потока и механические стимулы) с целью создания функционирующей человеческой почки [100, 102].

### 3D-БИОПРИНТИНГ

3D-биопринтинг использует последние разработки в прикладных производственных технологиях (также известный как 3D-принтинг) по тщательному депонированию живых клеток или клеточных масс вместе с поддерживающим биоматериалом на основе гидрогеля (вместе называемыми биочернилами) для точной геометрии при построении орган-подобных или тканевых структур в трех измерениях [103, 104]. В последние годы были сделаны новые достижения в разработке различных техник биопринтинга для создания 3D-тканеподобной живой структуры (см. в [6]), включая базирующиеся на инжекторном клеточном принтинге, экструзии, мягкой литографии и лазер-индуцированном переносе. Все они содержат компьютерное устройство, которое транслирует в трех измерениях сложную геометрию с целью повторения специфических биологических признаков ткани или даже целого органа.

Несмотря на огромный потенциал этой технологии в области тканевого инжиниринга, одним из главных препятствий, требующих решения в первую очередь, остается недостаток адекватного биоматериала для успешного биопринтинга живых структур.

Много исследований проводятся в этой области для разработки новых классов биочернил, что полноценно освещено в других источниках [105–107]. Интересно, что в недавней работе Pati и соавт. [108] были изготовлены биочернила из децеллюляризованных жировой, хрящевой и сердечной тканей и использованы для принтинга нагруженных клетками конструкции с регулируемой пористостью. Авторы продемонстрировали возможность создания тканевых аналогов *in vitro* как с адипогенным, так и хондрогенным потенциалом, показав стволовые клетки из человеческой жировой ткани и мезенхимальные стволовые клетки из ткани нижней носовой раковины человека, напечатанные при использовании ЭЦМ-биочернил, полученных из жировой ткани и хрящевой ткани соответственно. В контексте регенерации почки успешное создание функцио-

нального почечного остова путем биопринтинга будет ограничено возможностью повторения ренального ЭЦМ в отношении композиции и пространственной организации, как и депонирования различных популяций почечных клеток организованным образом. В связи с этим биочернила, полученные из бесклеточного почечного ЭЦМ, станут привлекательным материалом, так как это может обеспечить реноспецифичные внутриструктурные сигналы для напечатанных клеток.

Хотя технология 3D-биопринтинга пока только в самом раннем периоде развития, уже показан ее потенциал в создании органов. Группа Atala смогла смоделировать напечатанный мочевой пузырь, используя модифицированную технологию инжекторного биопринтинга [109], показав, что возможно печатать различные типы клеток в организованной 3D-структуре. Эта оригинальная работа открыла новые перспективы в 3D-принтинге органа в целом. Такие достижения, как использование тканевых сфероидов в качестве строительных блоков, продемонстрировали большой успех в создании микротканей, например, сосудистой сети [110, 111], которые в дальнейшем могут быть объединены в организованную макроткань.

Хотя большой объем работы еще должен быть проделан перед тем как полностью функционирующая почка сможет быть напечатана, предварительным шагом будет создание мелких органоидов или функциональных единиц, таких как нефрон, которые будут полезны для применения при лекарственном скрининге и моделировании заболеваний. Уже некоторые работы исследуют применение чПСК в биопринтинге [112, 113] для изучения возможных эффектов параметров процесса биопринтинга на жизнеспособность клетки и потенциал дифференцировки.

В отношении инжиниринга целого органа несколько проблем должны быть приняты во внимание для реализации этой техники [103, 104]: а) разработка новых биочернил (т.е. ткань специфичных биочернил); б) улучшение устройств биопринтинга с достаточным пространственным разрешением для копирования иерархичной структуры сложного органа и сложности клеток органа; в) необходимость васкуляризации; г) разработка адаптированной перфузии биореакторов, подходящих для биопринтинга и дальнейшего созревания органа.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Последние три года оказались впечатляющими в области инжиниринга почечной ткани.

Недавние работы демонстрируют осуществимость не только создания почечных клеток из пациент-специфичных иПСК, но и понимание сигналов, управляющих их образованием *in vitro*. Обнаруженные различия в данных указывают, что образованные почечные 3D-структуры при комбинации почечных дифференцированных клеток из чПСК имеют различную степень функционального потенциала. Таким образом, предполагается, что необходимо развивать в дальнейшем методики *in vivo*, доказывающие функциональность созданных из иПСК пациента почечных клеток, например, их трансплантация в нефрэктомически поврежденную почку на мышинных моделях. Кроме того, необходимо понимать, какие молекулярные компоненты определяют почечную идентичность в ходе развития у человека, а создание репортерных ПСК для почечных маркеров являются необходимыми для всестороннего анализа развития почки, приводя к разработке новых протоколов для формирования зрелых и функциональных почечных клеток.

Другая проблема, относящаяся к инжинирингу почки, касается разработки инновационных методов, позволяющих имитировать такую сложную структуру органа. Недавно две разные стратегии привлекли внимание ученых – инжиниринг целого органа путем децеллюляризации/рецеллюляризации и биопринтинг живых орган-подобных структур, что могло бы стать новым источником органного обеспечения.

В заключение, продолжающиеся исследования в области регенеративной медицины будут напрямую способствовать созданию новых стратегий биоинжиниринга почки: от производства биооснова и 3D-живых структур до продукции почечных клеток из иПСК пациента в клинической практике.

#### Благодарности

Мы хотели бы поблагодарить М. Schwarz, P. Schwarz за административную помощь. N.M. был частично поддержан StG-2014-640525\_REGMAMKID, RyC 2014-16242, Fundaci\_o Privada La Marat\_o de TV3 (121430/31/32) Министерством экономики и конкурентоспособности Испании (SAF2014-59778) и комиссией по университетам и научным исследованиям отдела инноваций, университетов и предприятий генералитета Каталонии (2014 SGR 1442). E.G. был частично поддержан StG-2014-640525\_REGMAMKID and La Fundaci\_o Privada La Marat\_o de TV3, 121430/31/32. J.C.I.B. был поддержан грантами фонда Glenn, благотворительного фонда G.Harold и Leila Y.Mathers и благотворительный фонд.Leona M. and Harry B. Helmsley

#### Участие авторов

N.M. выполняла эксперименты, анализировала данные, предоставляла реагенты и другие необходимые материалы и писала статью; E.G. выполняла эксперименты, анализировала данные и писала статью; J.I.B. предоставлял реагенты или другие необходимые материалы и писал статью.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. <https://www.kidney.org/news/newsroom/factsheets/Organ-Donation-and-Transplantation-Stats>.
2. <http://optn.transplant.hrsa.gov/3>. Song B, Smink AM, Jones CV, et al. The directed differentiation of human iPS cell into kidney podocytes. *PLoS One* 2012; 7, e46453
3. Narayanan K, Schumacher KM, Tasnim F et al. Human embryonic stem cells differentiate into functional renal proximal tubular-like cells. *Kidney* 2013; Int 83, 593–603
4. Katari R, Peloso A, Zambon JP et al. Renal bioengineering with scaffolds generated from human kidneys. *Nephron* 2014; *Exp Nephrol* 126, 119–124
5. Mandrycky C, Wang Z, Kim K & Kim DH. 3D bioprinting for engineering complex tissues. *Biotechnol* 2015; Adv doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.12.011
6. Montserrat N, Ramirez-Bajo MJ, Xia Y et al. Generation of induced pluripotent stem cells from human renal proximal tubular cells with only two transcription factors, OCT4 and SOX2. *J Biol Chem* 2012; 287, 24131–24138
7. Baer PC, Geiger H. Human renal cells from the thick ascending limb and early distal tubule: characterization of primary isolated and cultured cells by reverse transcription polymerase chain reaction. *Nephrology* 2008; 13, 316–321
8. Baer PC, Nockher WA, Haase W, Scherberich JE. Isolation of proximal and distal tubule cells from human kidney by immunomagnetic separation. Technical note. *Kidney* 1997; Int 52, 1321–1331
9. Humphreys BD, Czerniak S, DiRocco DP, et al. Repair of injured proximal tubule does not involve specialized progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108, 9226–9231
10. Song J, Czerniak S, Wang T et al. Characterization and fate of telomerase-expressing epithelia during kidney repair. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22, 2256–2265
11. Humphreys BD, Valerius MT, Kobayashi A et al. Intrinsic epithelial cells repair the kidney after injury. *Cell Stem Cell* 2008; 2, 284–291
12. Romagnani P, Lasagni L, Remuzzi G. Renal progenitors: an evolutionary conserved strategy for kidney regeneration. *Nat Rev Nephrol* 2013; 9, 137–146
13. Romagnani P, Anders H-J. What can tubular progenitor cultures teach us about kidney regeneration? *Kidney* 2013; Int 83, 351–353
14. Osafune K, Takasato M, Kispert A, Asashima MNR. Identification of multipotent progenitors in the embryonic mouse kidney by a novel colonyforming assay. *Development* 2006; 133, 151–161
15. Little MH, McMahon AP. Mammalian kidney development: principles, progress, and projections. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2012; 4, 3
16. Thomson JA. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282, 1145–1147
17. Wakayama T, Tabar V, Rodriguez I et al. Differentiation of embryonic stem cell lines generated from adult somatic cells by nuclear transfer. *Science* 2001; 292, 740–743
18. Tada M, Takahama Y, Abe K et al. Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. *Curr Biol* 2001; 11, 1553–1558
19. Hou P, Li Y, Zhang X et al. Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by smallmolecule compounds. *Science* 2013; 341, 651–654
20. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007; 131, 861–872
21. Kazutoshi Takahashi SY. A developmental framework for induced pluripotency. *Development* 2015; 142,3274–3285

23. Zhu S, Li W, Zhou H, Wei et al. Reprogramming of human primary somatic cells by OCT4 and chemical compounds. *Cell Stem Cell* 2010; 7, 651–655
24. Aasen T, Raya A, Barrero MJ et al. Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells from human keratinocytes. *Nat Biotechnol* 2008; 26, 1276–1284
25. Giorgetti A, Montserrat N, Aasen T et al. Generation of induced pluripotent stem cells from human cord blood using OCT4 and SOX2. *Cell Stem Cell* 2009; 5, 353–357
26. Kim JB, Greber B, Ara et al. Direct reprogramming of human neural stem cells by OCT4. *Nature* 2009; 461, 649–643
27. Gonzalez F, Boue S, Belmonte JCI. Methods for making induced pluripotent stem cells: reprogramming a la carte. *Nat Rev Genet* 2011; 12, 231–242
28. Zhou H, Wu S, Joo JY et al. Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins. *Cell Stem Cell* 2009; 4, 381–384
29. Kim D, Kim C-H, Moon J-I et al. Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins. *Cell Stem Cell* 2009; 4, 472–476
30. Okita K, Matsumura Y, Sato Y et al. A more efficient method to generate integration-free human iPSC cells. *Nat Methods* 2011; 8, 409–412
31. Warren L, Manos PD, Ahfeldt T et al. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell* 2010; 7, 618–630
32. Anokye-Danso F, Trivedi CM, Jühr D et al. Highly efficient miRNA-mediated reprogramming of mouse and human somatic cells to pluripotency. *Cell Stem Cell* 2011; 8, 376–388
33. Meng G, Liu S, Rancourt DE. Synergistic effect of medium, matrix, and exogenous factors on the adhesion and growth of human pluripotent stem cells under defined, xeno-free conditions. *Stem Cells Dev* 2012; 21, 2036–2048
34. Sugii S, Kida Y, Kawamura T et al. Human and mouse adiposederived cells support feeder-independent induction of pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107, 3558–3563.
35. Nakagawa M, Taniguchi Y, Senda S et al. A novel efficient feeder-free culture system for the derivation of human induced pluripotent stem cells. *Sci Rep* 2014; 4, 3594
36. Raya A, Rodriguez-Piza I, Guenechea G et al. Disease-corrected haematopoietic progenitors from Fanconi anaemia induced pluripotent stem cells. *Nature* 2009; 460, 53–59
37. Ebert AD, Yu J, Rose FF et al. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature* 2009; 457, 277–280
38. Ye L, Chang JC, Lin C et al. Induced pluripotent stem cells offer new approach to therapy in thalassemia and sickle cell anemia and option in prenatal diagnosis in genetic diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106, 9826–9830
39. Liu G-H, Barkho BZ, Ruiz S et al. Recapitulation of premature aging with iPSCs from Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature* 2009; 472, 221–225
40. Itzhaki I, Maizels L, Huber I et al. Modelling the long QT syndrome with induced pluripotent stem cells. *Nature* 2011; 471, 225–229
41. Nguyen HN, Byers B, Cord B et al. LRRK2 mutant iPSC-derived DA neurons demonstrate increased susceptibility to oxidative stress. *Cell Stem Cell* 2011; 8, 267–280
42. Lee G, Papapetrou EP, Kim H et al. Modeling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient specific iPSCs. *Nature* 2011; 461, 402–406
43. Moretti A, Bellin M, Welling A et al. Patient-specific induced pluripotent stem-cell models for long-QT syndrome. *N Engl J Med* 2010; 363, 1397–1409
44. Li M, Suzuki K, Kim NY et al. A cut above the rest: targeted genome editing technologies in human pluripotent stem cells. *J Biol Chem* 2014; 289, 4594–4599
45. Liu G-H, Suzuki K, Qu J et al. Targeted gene correction of laminopathy-associated LMNA mutations in patient-specific iPSCs. *Cell Stem Cell* 2011; 8, 688–694
46. Howden SE, Gore A, Li Z et al. Genetic correction and analysis of induced pluripotent stem cells from a patient with gyrate atrophy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108, 6537–6542
47. Papapetrou EP, Lee G, Malani N et al. Genomic safe harbors permit high b-globin transgene expression in thalassemia induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 2011; 29, 73–78
48. Li M, Suzuki K, Qu J et al. Efficient correction of hemoglobinopathy-causing mutations by homologous recombination in integration-free patient iPSCs. *Cell Res* 2011; 21, 1740–1744
49. Liu G-H, Qu J, Suzuki K et al. Progressive degeneration of human neural stem cells caused by pathogenic LRRK2. *Nature* 2012; 491, 603–607
50. Fattahi F, Steinbeck JA, Kriks S et al. Deriving human ENS lineages for cell therapy and drug discovery in Hirschsprung disease. *Nature* 2016; 531, 105–109
51. Tiscornia G, Vivas EL, Izpisua Belmonte JC. Diseases in a dish: modeling human genetic disorders using induced pluripotent cells. *Nat Med* 2011; 17, 1570–1576
52. Shankland SJ, Pippin JW, Reiser J, Mundel P. Podocytes in culture: past, present, and future. *Kidney Int* 2007; 72, 26–36
53. Mae S-I, Shono A, Shiota F et al. Monitoring and robust induction of nephrogenic intermediate mesoderm from human pluripotent stem cells. *Nat Commun* 2013; 4, 1367
54. Araoka T, Mae S, Kurose Y et al. Efficient and rapid induction of human iPSCs/ESCs into nephrogenic intermediate mesoderm using small molecule-based differentiation methods. *PLoS One* 2014; 9, e84881
55. Xia Y, Nivet E, Sancho-Martinez I et al. Directed differentiation of human pluripotent cells to ureteric bud kidney progenitor-like cells. *Nat Cell Biol* 2013; 15, 1507–1515
56. Takasato M, Er PX, Becroft M et al. Directing human embryonic stem cell differentiation towards a renal lineage generates a self-organizing kidney. *Nat Cell Biol* 2014; 16, 118–126
57. Lam AQ, Freedman BS, Morizane R et al. Rapid and efficient differentiation of human pluripotent stem cells into intermediate mesoderm that forms tubules expressing kidney proximal tubular markers. *J Am Soc Nephrol* 2013; 25, 1211–1225
58. Taguchi A, Kaku Y, Ohmori T et al. Redefining the in vivo origin of metanephric nephron progenitors enables generation of complex kidney structures from pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 2014; 14, 53–67
59. Imberti B, Tomasoni S, Ciampi O et al. Renal progenitors derived from human iPSCs engraft and restore function in a mouse model of acute kidney injury. *Sci Rep* 2015; 5, 8826
60. Morizane R, Lam AQ, Freedman BS et al. Nephron organoids derived from human pluripotent stem cells model kidney development and injury. *Nat Biotechnol* 2015; 33, 1193–1200
61. Freedman BS, Brooks CR, Lam AQ et al. Modelling kidney disease with CRISPR-mutant kidney organoids derived from human pluripotent epiblast spheroids. *Nat Commun* 2015; 6, 8715
62. Takasato M, Er PX, Chiu HS et al. Kidney organoids from human iPSCs contain multiple lineages and model human nephrogenesis. *Nature* 2015; 526, 564–568
63. Xiao-Jie L, Hui-Ying X, Zun-Ping K et al. CRISPR-Cas9: a new and promising player in gene therapy. *J Med Genet* 2015; 52, 289–296
64. Hu J, Lei Y, Wong W-K, Liu S et al. Direct activation of human and mouse Oct4 genes using engineered TALE and Cas9 transcription factors. *Nucleic Acids Res* 2014; 42, 4375–4390
65. Elliott DA, Braam SR, Koutsis K et al. NKX2-5eGFP/w hESCs for isolation of human cardiac progenitors and cardiomyocytes. *Nat Methods* 2011; 8, 1037–1040
66. Den Hartogh SC, Schreurs C, Monshouwer-Kloots JJ et al. Dual reporter MESP1 mCherry/w -NKX2-5 eGFP/w hESCs enable studying early human cardiac differentiation. *Stem Cells* 2015; 33, 56–67
67. Krentz NA, Nian CLF. TALEN/CRISPR-mediated eGFP knock-in add-on at the OCT4 locus does not impact differentiation of human embryonic stem cells towards endoderm. *PLoS One* 2014; 9, e114275
68. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993; 260, 920–926
69. Kim TG, Shin H, Lim DW. Biomimetic scaffolds for tissue engineering. *Adv Funct Mater* 2012; 22, 2446–2468
70. Mallick KK, Cox SC. Biomaterial scaffolds for tissue engineering. *Front Biosci* 2013; 5, 341–360
71. Kamel RA, Ong JF, Eriksson E et al. Tissue engineering of

- skin. *J Am Coll Surg* 2013; 217: 533–555
72. Sittlinger M, Bujia J, Minuth WW et al. Engineering of cartilage tissue using bioresorbable polymer carriers in perfusion culture. *Biomaterials* 1994; 15, 451–456
73. Liao J, Guo X, Grande-Allen KJ et al. Bioactive polymer/extracellular matrix scaffolds fabricated with a flow perfusion bioreactor for cartilage tissue engineering. *Biomaterials* 2010; 31, 8911–8920
74. Amini AR, Laurencin CT, Nukavarapu SP. Bone tissue engineering: recent advances and challenges. *Crit Rev Biomed Eng* 2012; 40, 363–408
75. Atala A. Tissue engineering of human bladder. *Br Med Bull* 2011; 97, 81–104
76. Koike N, Fukumura D, Gralla O et al. Tissue engineering: creation of longlasting blood vessels. *Nature* 2004; 428, 138–139
77. Kojima K, Vacanti CA. Tissue engineering in the trachea. *Anat Rec* 2014; 297, 44–50
78. Tapias LF, Ott HC. Decellularized scaffolds as a platform for bioengineered organs. *Curr Opin Organ Transplant* 2014; 19, 145–152
79. Ross EA, Williams MJ, Hamazaki T et al. Embryonic stem cells proliferate and differentiate when seeded into kidney scaffolds. *J Am Soc Nephrol* 2014; 20, 2338–2347
80. Song JJ, Guyette JP, Gilpin SE et al. Regeneration and experimental orthotopic transplantation of a bioengineered kidney. *Nat Med* 2013; 19, 646–651
81. Burgkart R, Tron A, Prodinge P et al. Decellularized kidney matrix for perfused bone engineering. *Tissue Eng Part C Methods* 2014; 20, 553–561
82. Bonandrini B, Figliuzzi M, Papadimou E et al. Recellularization of wellpreserved acellular kidney scaffold using embryonic stem cells. *Tissue Eng Part A* 2014; 20, 1486–1498
83. Caralt M, Uzarski JS, Iacob S et al. Optimization and critical evaluation of decellularization strategies to develop renal extracellular matrix scaffolds as biological templates for organ engineering and transplantation. *Am J Transplant* 2014; 15, 64–75
84. Peloso A, Ferrario J, Maiga B et al. Creation and implantation of acellular rat renal ECM-based scaffolds. *Organogenesis* 2015; 1, 58–74
85. Guan Y, Liu S, Sun C et al. The effective bioengineering method of implantation decellularized renal extracellular matrix scaffolds. *Oncotarget* 2015; 6, 36126–36138
86. Sullivan DC, Mirmalek-Sani SH, Deegan DB et al. Decellularization methods of porcine kidneys for whole organ engineering using a high-throughput system. *Biomaterials* 2012; 33, 7756–7764
87. Orlando G, Farney AC, Iskandar SS et al. Production and implantation of renal extracellular matrix scaffolds from porcine kidneys as a platform for renal bioengineering investigations. *Ann Surg* 2012; 256, 363–370
88. Guan Y, Liu S, Liu Y et al. Porcine kidneys as a source of ECM scaffold for kidney regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2015; 56, 451–456
89. Nakayama KH, Batchelder CA, Lee CI, Tarantal AF. Decellularized rhesus monkey kidney as a three-dimensional scaffold for renal tissue engineering. *Tissue Eng Part A* 2010; 16, 2207–2216
90. Orlando G, Booth C, Wang Z et al. Discarded human kidneys as a source of ECM scaffold for kidney regeneration technologies. *Biomaterials* 2013; 34, 5915–5925
91. Peloso A, Petrosyan A, Da Sacco S et al. Renal extracellular matrix scaffolds from discarded kidneys maintain glomerular morphometry and vascular resilience and retains critical growth factors. *Transplantation* 2015; 99, 1807–1816
92. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials* 2012; 32, 3233–3243
93. He M, Callanan A. Comparison of methods for whole-organ decellularization in tissue engineering of bioartificial organs. *Tissue Eng Part B Rev* 2013; 19, 194–208
94. Keane TJ, Swinehart I, Badylak SF. Methods of tissue decellularization used for preparation of biologic scaffolds and in-vivo relevance. *Methods* 2015; 84, 25–34
95. Nakayama KH, Lee CCI, Batchelder CA, Tarantal AF. Tissue specificity of decellularized rhesus monkey kidney and lung scaffolds. *PLoS One* 2013; 8, e64134
96. O'Neill JD, Freytes DO, Anandappa AJ et al. The regulation of growth and metabolism of kidney stem cells with regional specificity using extracellular matrix derived from kidney. *Biomaterials* 2013; 34, 9830–9841
97. Yu YL, Shao YK, Ding YQ et al. Decellularized kidney scaffold-mediated renal regeneration. *Biomaterials* 2014; 35, 6822–6828
98. Abolbashari M, Agcaoili SM, Lee MK et al. Repopulation of porcine kidney scaffold using porcine primary renal cells. *Acta Biomater* 2016; 29, 52–61
99. Ross EA, Abrahamson DR, St. John P et al. Mouse stem cells seeded into decellularized rat kidney scaffolds endothelialize and remodel basement membranes. *Organogenesis* 2012; 8, 49–55
100. Bijonowski BM, Miller WM, Wertheim JA. Bioreactor design for perfusion-based, highly vascularized organ regeneration. *Curr Opin Chem Eng* 2013; 2, 32–40
101. Pollock CA. Toward a bioartificial kidney: will embryonic stem cells be the answer? *Kidney* 2013; Int 83, 543–545
102. Badylak SF, Taylor D, Uygun K. Wholeorgan tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds. *Annu Rev Biomed Eng* 2011; 13, 27–53
103. Murphy SV, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol* 2014; 32, 773–785
104. Groll J, Boland T, Blunk T et al. Biofabrication: reappraising the definition of an evolving field. *Biofabrication* 2016; 8, 013001
105. Skardal A, Atala A. Biomaterials for integration with 3-D bioprinting. *Ann Biomed Eng* 2015; 43, 730–746
106. Chung JHY, Naficy S, Yue Z et al. Bio-ink properties and printability for extrusion printing living cells. *Biomater Sci* 2013; 1, 763
107. Ferris CJ, Gilmore KJ, Beirne S et al. Bio-ink for on-demand printing of living cells. *Biomater Sci* 2013; 1, 224
108. Pati F, Jang J, Ha D-H, et al. Printing threedimensional tissue analogues with decellularized extracellular matrix bioink. *Nat Commun* 2014; 5, 3935
109. Fullhase C, Soler R, Atala A et al. A novel hybrid printing system for the generation of organized bladder tissue. *J Urol* 2009; 181, 282–283
110. Williams SK, Touroo JS, Church KH, Hoying JB. Encapsulation of adipose stromal vascular fraction cells in alginate hydrogel spheroids using a direct-write three-dimensional printing system. *Biores Open Access* 2013; 2, 448–454
111. Mironov V, Visconti RP, Kasyanov V et al. Organ printing: tissue spheroids as building blocks. *Biomaterials* 2009; 30, 2164–2174
112. Faulkner-Jones A, Greenhough S, King JA et al. Development of a valve-based cell printer for the formation of human embryonic stem cell spheroid aggregates. *Biofabrication* 2013; 5, 015013
113. Faulkner-Jones A, Fyfe C, Cornelissen DJ, Gardner et al. Bioprinting of human pluripotent stem cells and their directed differentiation into hepatocyte-like cells for the generation of minilivers in 3D. *Biofabrication* 2015; 7, 044102

Статья переведена на русский язык и опубликована согласно условиям лицензии «Creative Commons»). Журнал FEBS J. 2016 Sep;283(18):3303–24. doi: 10.1111/febs.13704.

Перевод М.С.Храбровой  
Редакция перевода И.И.Трофименко

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию: 25.05.2016 г.  
Принята в печать: 12.09.2016 г.

© А.В.Ватазин, А.Б.Зулькарнаев, 2016  
УДК 616.61-036.12 – 002:612.017

*А.В. Ватазин, А.Б. Зулькарнаев*

## ЭНДОТОКСИН И ХРОНИЧЕСКОЕ ВОСПАЛЕНИЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК

Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского

*A.V. Vatazin, A.B. Zulkarnaev*

## ENDOTOXIN AND CHRONIC INFLAMMATION IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE

Moscow regional research and clinical institute n.a. M.F.Vladimirsky

### РЕФЕРАТ

Эндотоксин – облигатный компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий – один из основных этиологических факторов хронического воспаления у больных хронической болезнью почек. Тяжесть эндотоксинемии возрастает по мере прогрессирования почечной недостаточности. Основными источниками эндотоксина являются микробиом толстой кишки, а также биопленки, формируемые бактериями, в системе водоподготовки, венозных катетеров и т.д. Эндотоксин вызывает различные стойкие нарушения гомеостаза: клеточного и гуморального иммунитета, метаболические расстройства и др. Коррекция указанных нарушений представляет собой сложную задачу. Эндотоксинемия у больных хронической болезнью почек значительно ухудшает результаты лечения и рост летальности.

**Ключевые слова:** эндотоксин, воспаление, хроническая болезнь почек, гемодиализ.

### ABSTRACT

Endotoxin – obligatory component of gram-negative bacteria cell wall – one of the main etiological factors of chronic inflammation in patients with chronic kidney disease. Endotoxemia severity increases with the progression of renal failure. The main sources of endotoxin are colon microbiome, as well as the biofilm formed by bacteria in the water treatment system, venous catheters, etc. Endotoxin causes persistent violations of homeostasis: cellular and humoral immunity, metabolic disorders, etc. The correction of these disorders is a complex problem. Endotoxemia in patients with chronic kidney disease significantly affects the results of treatment and increases mortality.

**Key words:** endotoxin, inflammation, chronic kidney disease, hemodialysis.

Согласно прошлому отчету Российского диализного общества [1], на начало 2014 года заместительную почечную терапию получали 35 305 человек по все России, из них 28 440 больных получали различные варианты диализа. Ежегодный прирост пациентов с 5 стадией хронической болезни почек составляет более 7300 человек. При этом, это лишь «верхушка айсберга», поскольку данный отчет не охватывает больных на додиализных стадиях. Все это позволяет оценить масштаб проблемы. Несмотря на то, что в настоящее время уремия редко является непосредственной причиной смерти больных, хроническая болезнь почек занимает важное место в структуре летальности, поскольку по мере прогрессирования

заболевания риск смерти увеличивается в несколько раз.

Эндотоксин или липополисахарид (ЛПС) грамотрицательных бактерий – универсальный фактор патогенеза множества заболеваний. ЛПС является одним из сильнейших пирогенов и способен инициировать системную воспалительную реакцию. Хроническое воспаление низкой степени, свойственное больным с хронической болезнью почек, порождает множественные нарушения гомеостаза, повышает риск развития сердечно-сосудистых осложнений и ухудшает прогноз выживаемости [2, 3].

**Структура и биологическое действие липополисахарида.**

Изучение строения ЛПС, а также путей реализации его биологического действия может быть полезно для разработки лечебных и профилактических мер.

Зулькарнаев АБ. 129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корпус 6. Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Тел.: +7-916-705-98-99, e-mail: 7059899@gmail.com

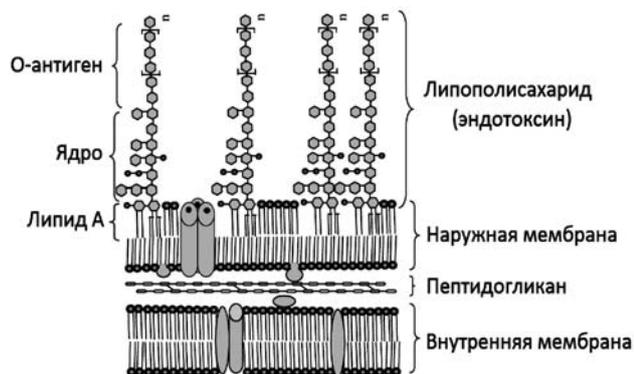


Рис. 1. Структура эндотоксина.  
По P.G. Cardoso et al. с изменениями [4].

Richard Pfeiffer в 1892 году открыл эндотоксин – термостойкий бактериальный яд и впоследствии сформулировал основные положения концепции биологического действия эндотоксина.

Молекула ЛПС представляет собой облигатный компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Структурно ЛПС состоит из липида А, который представлен цепями жирной кислоты и консервативного полисахаридного ядра, к сердцевине ядра прикреплена переменная углеводная цепочка – O-антиген (рис. 1).

Основной сигнальный путь при взаимодействии клеток организма-хозяина и эндотоксина реализуется через систему Toll-подобных рецепторов – TLR (Toll-like receptor), экспрессируемых моноцитами, дендритными клетками, тучными

клетками, В-лимфоцитами. Схема взаимодействия эндотоксина и TLR4 представлена на рис. 2.

Специфичным лигандом для TLR4 является эндотоксин. Для активации этого рецептора также необходимо наличие компонентов рецепторного комплекса: CD14 и LBP (lipopolysaccharide binding protein), а также лимфоцитарного антигена-96 – молекулы MD-2. Взаимодействуя с трансмембранным рецептором – TLR4-MD-2, комплекс эндотоксин-LBP-CD14 специфическим образом активирует мононуклеарные фагоциты, что сопровождается выделением цитокинов – ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-23, ИЛ-27, ФНО $\alpha$  и др.

После связывания лиганда разрывается комплекс со специфическим ингибитором – Tollip (Toll interacting protein), происходит активация и связывание TIR-домена рецептора (Toll-interleukin-1 receptor) с различными комбинациями домен-содержащих адаптерных белков. В зависимости от набора адаптерных белков активируются определенные сигнальные пути и опосредуется соответствующий транскрипторный ответ клетки. В прошлые годы было установлено, что различные внутриклеточные пути реакций, вызванные взаимодействием TLR4 и ЛПС, опосредуют разные варианты транскрипторного ответа клетки [6].

Эндотоксин оказывает прямое цитотоксическое действие. Благодаря наличию гидрофобной части молекулы эндотоксин способен внедряться

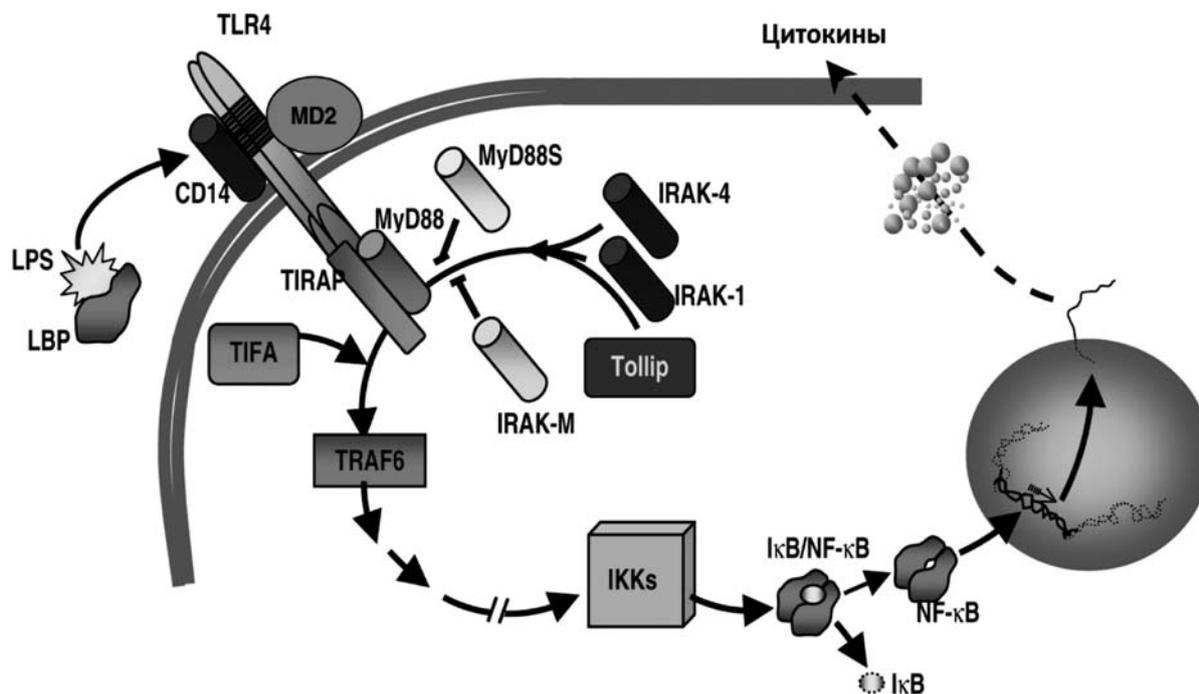


Рис. 2. Схема взаимодействия TLR4 и эндотоксина.  
По J. Villar et al. с изменениями [5].

в двухслойную клеточную мембрану, способствуя ее реорганизации: изменению гидрофобности, поверхностного заряда, функциональной стабильности. Это приводит к нарушениям клеточного метаболизма: угнетению клеточного дыхания, нарушению функций митохондрий, ускорению окислительных процессов.

При проникновении в различные жидкие среды организма эндотоксин, обладающий чрезвычайно высокой биологической активностью, приводит к многочисленным патофизиологическим эффектам: активации системы коагуляции, комплемента и клеток крови (моноцитов, макрофагов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов), а также эндотелиоцитов. Развивается комплекс адаптационных реакций, который выражается в активации как клеточного, так и гуморального иммунитета. Массивное выделение медиаторов клинически проявляется системной воспалительной реакцией [4, 7].

Известно, что эндотоксин является специфическим активатором комплемента, в результате чего генерируются анафилоксины – фракции C3a и C5a. Активация системы комплемента приводит к секреции базофилами биологически активных веществ: гистамина, серотонина, брадикинина. В результате происходят изменение тонуса гладкой мускулатуры и активация клеток эндотелия капилляров, усиление сосудистой проницаемости. Фрагменты C3a и C5a комплемента способствуют хемотаксису, агрегации и дегрануляции клеток крови, что приводит к образованию свободных радикалов кислорода и дополнительному выделению медиаторов [8, 9].

Известно, что инфекция способна активировать коагуляцию крови. Во многом это обусловлено влиянием эндотоксина, который способен инициировать коагуляционный каскад напрямую. Эндотоксин вызывает повышенную экспрессию тканевого фактора на мембранах эндотелиоцитов, активирует фактор XII и ингибитор активатора плазминогена [9, 10].

Низкие концентрации ЛПС, выявленные в крови у здоровых людей, позволяют рассматривать его как фактор, необходимый для нормального развития иммунной системы и облигатного фактора адаптационного синдрома. Физиологическая концентрация ЛПС в крови (выявленная при помощи ЛАЛ-теста) составляет до 1 ЕУ/мл. С точки зрения группы отечественных авторов, активно занимающихся изучением данного вопроса, физиологически контролируемое присутствие ЛПС в крови «обеспечивает поддержание активности

жизненно важных систем организма на необходимом в данный момент времени уровне, поскольку эндотоксина является неспецифическим мультипотентным активатором в силу своей способности активировать протеинкиназу С, снимающую репрессию с генома» [7].

Доказана важная роль хронического воспаления, инициируемого ЛПС, в патогенезе атеросклероза, бронхиальной астмы, псориаза, аллергической реакции. [7]. Помимо этого, повышенное содержание ЛПС в крови способствует прогрессированию инсулинрезистентности, метаболического синдрома, ожирения [11, 12].

При нарастании концентрации эндотоксина выше физиологической его эффекты многократно усиливаются, развивается системная воспалительная реакция. В результате комплекса адаптационных реакций, в которые вовлечены комплемент, клетки крови (моноцитарные и зернистые лейкоциты), а также эндотелиоциты, активируются клеточное и гуморальное звенья иммунитета.

**Источники эндотоксина и методы оценки тяжести эндотоксинемии.** Важность адекватной оценки тяжести эндотоксинемии у пациентов с хронической болезнью почек обусловлена рядом факторов. Известно, что для больных с ХБП свойствен повышенный уровень ЛПС в крови [3, 13]. Повышение концентрации эндотоксина, а также компонентов рецепторного комплекса TLR4 (растворимой формы CD14, липополисахаридсвязывающего белка) в крови у больных как на диализной стадии, так и у больных, получающих гемо- или перитонеальный диализ, связано с повышением риска развития сердечно-сосудистых осложнений и смерти [2, 13, 14, 15].

Основным источником эндогенного ЛПС являются грамотрицательные бактерии толстой кишки. Об этом свидетельствует, с одной стороны, повышенное содержание ЛПС в крови воротной вены и лимфатических протоках толстого кишечника, обнаружение там фрагментов ДНК бактерий. У больных с хронической болезнью почек транслокация ЛПС из просвета кишечника в системную циркуляцию усиливается. Об этом косвенно свидетельствуют хронические воспалительные изменения стенки кишки, обнаруживаемые при аутопсии. При этом тяжесть этих изменений и эндотоксинемии прямо коррелирует со снижением скорости клубочковой фильтрации. Изменению количественного и качественного состава кишечного микробиома способствуют уремия, электролитные нарушения, особенности питания и другие факторы [15].

При этом у данной категории больных, наряду с микробиомом толстой кишки, важным источником ЛПС являются диализат [3] в результате наличия бактериальных биопленок в системе водоочистки и магистральных [16], а также центральные венозные [15, 17] и перитонеальные катетеры [18]. Сложность и неоднозначность исследования последствий системной эндотоксинеми *in vivo* главным образом обусловлена сложностью определения концентрации или активности (что в целом также косвенно отражает его концентрацию) эндотоксина в крови.

Самым распространенным тестом для выявления и количественной оценки уровня эндотоксина в лекарственных препаратах и воде для ГД является LAL-тест (*Limulus amoebocyte lysate test*) – реакция лизата амебоцитов с эндотоксином, в которой в результате каскада реакций сериновых протеаз формируется гель (течение реакции схоже с течением свертывания крови у млекопитающих). Сложности с определением концентрации ЛПС в крови связаны с особенностями проведения LAL-теста: в различных вариантах этого теста отмечается сильное влияние компонентов плазмы (ферментных систем, солей желчных кислот, липопротеинов и других белков), лекарственных препаратов (антибиотики, гепарин) и даже мембран диализаторов (целлюлозных) на результат. Активность ЛПС разных грамотрицательных бактерий в LAL-тесте неоднородна. В связи с этим реакция организма и результатов LAL-теста не всегда тесно коррелируют. Помимо этого, отмечается значительная неоднородность реактивов. [19, 20] Для стандартизации результатов было предложено выражать содержание эндотоксина не как абсолютную концентрацию, а в единицах эндотоксина на 1 мл по отношению к контрольному стандартному эндотоксину *E. coli* [20].

Перспективным является вариант LAL-теста с применением светорассеивающего фотометра (endotoxin scattering photometry – ESP). Этот тест способен обнаруживать очень низкие концентрации ЛПС в крови и более информативен, чем классический турбодиметрический LAL-тест [21].

Известен метод детекции ЛПС в препаратах и воде с применением рекомбинантного фактора свертывания С (фактора свертывания крови крабов семейства *Limulidae*) – внутриклеточной сериновой протеазы (проферемента), которая инициирует каскад коагуляции в ответ на эндотоксин. Каскад реакций в тесте короче, чем при классическом LAL-тесте, метод более чувствителен и более стандартизирован. Тем не менее, пока нет

сообщений о применении этого метода для обнаружения ЛПС в крови [22].

Единственным одобренным методом для определения эндотоксина в крови является исследование активности эндотоксина (ЕАА – endotoxin activity assay) [23]. Однако и этот метод имеет два относительных недостатка: недостаточную информативность при низких концентрациях эндотоксина, а также этот тест выражает не непосредственно концентрацию эндотоксина, а индуцированную ЛПС кислородпродуцирующую способность нейтрофилов конкретного больного в присутствии специфических анти-ЛПС-антител [20], т.е. тест зависит еще и от активности нейтрофилов пациента.

В связи со сложностью детекции и количественной оценки эндотоксинеми предложены другие, косвенные способы оценки. CD14 в растворимой или мембранной форме – необходимый компонент рецепторного комплекса при взаимодействии клеток с ЛПС, причем концентрации этих молекул тесно коррелируют. Доказано, что уровень растворимой формы CD14 повышен у больных с ХБП, что ассоциировано с ростом риска смерти с числом сердечно-сосудистых осложнений [24, 25]. Схожим суррогатным способом оценки тяжести эндотоксинеми у больных на ГД является уровень анти-ЛПС-антител классов IgA, M, G [13, 20].

Уровень эндотоксинеми выше, чем у здоровых людей, но все равно достаточно низок, и ЛПС может не выявляться рутинным методом исследования, особенно в крови. При этом, тем не менее, отмечается значимая корреляция с уровнем С-реактивного белка [2, 26]. Являясь суррогатным маркером системной эндотоксинеми, этот показатель недостаточно специфичен.

#### **Методы борьбы с системной эндотоксинеми.**

Существуют филогенетически сложившиеся системы инактивации эндотоксина. В норме большая часть поступающего в кровь воротной вены эндотоксина разрушается в купферовских клетках печени и клетках ретикулоэндотелиальной системы. Тем не менее, постоянное поступление повышенного количества ЛПС кровотока постепенно приводит к несостоятельности антиэндотоксиновых систем.

Предложены множество препаратов, которые должны блокировать биологическое действие эндотоксина: иммунизированная сыворотка [27–29], антиэндотоксиновые IgG и IgM [30], естественные и рекомбинантные антимикробные пептиды

[31], липосахаридсвязывающий протеин (естественный акцептор эндотоксина в плазме крови человека) [32], регуляторный белок системы комплемента C1-ингибитор [33], антилипополисахаридный пептид мечехвоста и синтетический антилипополисахаридный пептид [34], пептид M33 [31], антагонист эндотоксина E5564, химерные молекулы TLR4-Fc [35]. Однако на данный момент эти препараты так и не получили широкого распространения, а большинство из них не подтвердили свою клиническую эффективность. Известны работы, посвященные развитию эндотоксиновой толерантности. Ключевые роли в развитии толерантности отводят Toll-подобным рецепторам и их адаптерным белкам, а также активности транскрипционного фактора NF-κβ [36]. Помимо этого, описаны множество природных и синтетических рекомбинантных пептидов [37, 38], которые способны или непосредственно связывать ЛПС, или ингибировать его биологическое действие. Однако пока не существует доступных в клинической практике способов снижения чувствительности к эндотоксину.

На состояние кишечного микробиома, как главного источника эндогенного ЛПС, оказывает влияние характер питания: изменение естественной диеты, а также применение пробиотиков может снизить тяжесть системной эндотоксинемии [15, 39–42]. Помимо этого, доказано, что применение фосфатбиндеров, в частности – севеламера, может оказывать протективный эффект, связывая кишечный ЛПС (как *in vitro*, так и *in vivo*) и уменьшая его транслокацию через кишечную стенку, что сопровождается снижением активности системного воспаления (концентрации растворимого CD14, С-реактивного белка, ИЛ-6), окислительного стресса, атерогенеза, дисфункции эндотелия (эндотелина-1, ингибитора-1 активатора плазминогена) [43, 44]. Помимо этого, нормализация микрофлоры кишечника может снизить продукцию уремических токсинов [45, 46].

Материалы, которые в меньшей степени подвержены образованию биопленок – одного из основных источников экзогенного ЛПС, представлены: поливинилхлорид, хлорированный поливинилхлорид, поливинилиденфторид, сшитый полиэтилен, нержавеющей сталь, полипропилен, полиэтилен, акрилонитрил-бутадиен-стирол, политетрафторэтилен и др. Использование этих материалов в системе водоподготовки может уменьшить контаминацию. Эффективными дезинфицирующими средствами могут быть: гипохлорит натрия, надуксусная кислота, формальдегид, озон,

растворенный в горячей воде; перуксусная кислота и др. [47]. Также уменьшить содержание эндотоксина в диализате может применение специальных бактериальных и эндотоксиновых фильтров, сухих буферных бикарбонатных систем, а также организационные меры [48–51].

Мембраны, которые используются в диализаторах, непрерывно эволюционируют. Известны сорбционные способности некоторых мембран, частности, полисульфона [52], AN69 [53], полиметилметакрилата [54]. Различные мембраны \ имеют способность к адсорбции эндотоксина, а также других молекул (в частности, компонентов комплемента, иммуноглобулинов, молекул оксидативного стресса, CD40, цитокинов и др.), при этом они имеют хорошую биосовместимость [55]. Однако сорбционная емкость таких мембран невысока. Интересны исследования по применению комбинированных мембран – «мембран со смешанной матрицей», сочетающих в себе высокие диффузионно-сорбционные показатели [56, 57].

Имеются ряд работ, свидетельствующих, что гепарин обладает способностью дозозависимого ингибирования действия эндотоксина [58–63].

**Заключение.** Несмотря на то, что за последние годы установлена значительная роль эндотоксина в нормальной физиологии человека, инициируемая при его избытке хроническая воспалительная реакция лежит в основе множества патологических процессов у больных с хроническими заболеваниями почек. Проблема системной эндотоксинемии пока не решена. Основные меры направлены как на борьбу с эндотоксинемией, так и на устранение ее последствий. Дальнейшее изучение данного вопроса позволит улучшить результаты лечения пациентов с хронической болезнью почек.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Бикбов БТ, Томила НА. Заместительная терапия терминальной хронической почечной недостаточности в Российской Федерации в 1998-2013 гг. Отчет по данным российского регистра заместительной почечной терапии. Часть первая. *Нефрология и диализ* 2015; 17(3, приложение): 5-111 [Bikbov BT, Tomilina NA. Zamestitel'naja terapija terminal'noj hronicheskoj pochechnoj nedostatochnosti v rossijskoj federacii v 1998-2013 gg. Otchet po dannym rossijskogo registra zamestitel'noj pochechnoj terapii. Chast' pervaja. Nefrologija i dializ 2015; 17(3, prilozhenie): 5-111]
2. Terawaki H, Yokoyama, Yamada Y et al. Low-grade endotoxemia contributes to chronic inflammation in hemodialysis patients: examination with a novel lipopolysaccharide detection method. *Ther Apher Dial* 2010; 14(5):477-482. doi: 10.1111/j.1744-9987.2010.00815.x
3. McIntyre CW, Harrison LE, Eldehni MT et al. Circulating endotoxemia: a novel factor in systemic inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6(1):133-141. doi: 10.2215/CJN.04610510
4. Cardoso PG, Macedo GC, Azevedo V et al. *Brucella* spp

noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system. *Microb Cell Fact* 2006; 5:13

5. Villar J, Maca-Meyer N, Pérez-Méndez L et al. Bench-to bedside review: understanding genetic predisposition to sepsis. *Crit Care* 2004; 8(3): 180-189

6. Gyorffy Z, Duda E, Vizler C. Interactions between LPS moieties and macrophage pattern recognition receptors. *Vet Immunol Immunopathol* 2013; 152(1-2):28-36. doi: 10.1016/j.vetimm.2012.09.020

7. Аниховская ИА, Опарина ОН, Яковлева ММ, Яковлев МЮ. Кишечный эндотоксин как универсальный фактор адаптации и патогенеза обобщего адаптационного синдрома. *Физиология человека* 2006; 32(2): 87-91

8. Ward PA. Role of C5 activation products in sepsis. *ScientificWorldJournal* 2010; 10:2395-2402. doi: 10.1100/tsw.2010.216

9. Kozarcanin H, Lood C, Munthe-Fog L et al. The lectin complement pathway serine proteases (MASPs) represent a possible crossroad between the coagulation and complement systems in thromboinflammation. *J Thromb Haemost* 2016; 14(3):531-545. doi: 10.1111/jth.13208

10. Esmon CT, Xu J, Lupu F. Innate immunity and coagulation. *J Thromb Haemost* 2011; 9 Suppl 1:182-188. doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04323.x

11. Lassenius MI, Pietiläinen KH, Kaartinen K et al. Bacterial endotoxin activity in human serum is associated with dyslipidemia, insulin resistance, obesity, and chronic inflammation. *Diabetes Care* 2011; 34(8):1809-1815. doi: 10.2337/dc10-2197

12. Boutagy NE, McMillan RP, Frisard MI et al. Metabolic endotoxemia with obesity: Is it real and is it relevant? *Biochimie* 2016; 124:11-20. doi: 10.1016/j.biochi.2015.06.020

13. Белоглазов ВА, Климчук АВ, Гордиенко АИ и др. Динамика показателей гуморального антиэндотоксинового иммунитета и уровень С-реактивного белка у больных хронической болезнью почек, находящихся на программном гемодиализе, при четырехлетнем наблюдении. *Нефрология и диализ* 2013; 15(2): 140-143 [Beloglazov VA, Klimchuk AV, Gordienko AI i dr. Dinamika pokazatelej gumoral'nogo antijendotksinovogo immuniteta i uroven' S-reaktivnogo belka u bol'nyh hronicheskoy bolezn'ju pochek, nahodjashihhsja na programmnom gemodialize, pri chetyrehletnem nabljudenii. *Нефрология и диализ* 2013; 15(2): 140-143]

14. Feroze U, Kalantar-Zadeh K, Sterling KA et al. Examining associations of circulating endotoxin with nutritional status, inflammation, and mortality in hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2012; 22(3):317-326. doi: 10.1053/j.jrn.2011.05.004

15. Lau WL, Kalantar-Zadeh K, Vaziri ND. The Gut as a Source of Inflammation in Chronic Kidney Disease. *Nephron* 2015; 130(2):92-98. doi: 10.1159/000381990

16. Sabatino A, Regolisti G, Brusasco I et al. Alterations of intestinal barrier and microbiota in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2015; 30(6):924-933. doi: 10.1093/ndt/gfu287

17. Shi K, Wang F, Jiang H et al. Gut bacterial translocation may aggravate microinflammation in hemodialysis patients. *Dig Dis Sci* 2014; 59(9):2109-2117. doi: 10.1007/s10620-014-3202-7

18. Hazzah WA, Hashish MH, El-Koraie AF et al. Circulating bacterial DNA fragments in chronic hemodialysis patients. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2015; 26(6):1300-1304. doi: 10.4103/1319-2442.168689

19. Marinho AC, Polay AR, Gomes BP. Accuracy of Turbidimetric Limulus Amebocyte Lysate Assay for the Recovery of Endotoxin Interacted with Commonly Used Antimicrobial Agents of Endodontic Therapy. *J Endod* 2015; 41(10):1653-1659. doi: 10.1016/j.joen.2015.05.020

20. Wong J, Vilar E, Farrington K. Endotoxemia in end-stage kidney disease. *Semin Dial*; 28(1):59-67. doi: 10.1111/sdi.12280

21. Shimizu T, Obata T, Sonoda H et al. Diagnostic potential of endotoxin scattering photometry for sepsis and septic shock. *Shock* 2013; 40(6):504-511. doi: 10.1097/SHK.0000000000000056

22. Ding JL, Ho B. Endotoxin detection-from limulus amebocyte lysate to recombinant factor C. *Subcell Biochem* 2010; 53:187-208. doi: 10.1007/978-90-481-9078-2\_9

23. Yaguchi A, Yuzawa J, Klein DJ et al. Combining inter-

mediate levels of the Endotoxin Activity Assay (EAA) with other biomarkers in the assessment of patients with sepsis: results of an observational study. *Crit Care* 2012; 16(3):R88. doi: 10.1186/cc11350

24. Poesen R, Ramezani A, Claes K et al. Associations of Soluble CD14 and Endotoxin with Mortality, Cardiovascular Disease, and Progression of Kidney Disease among Patients with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10(9):1525-1533. doi: 10.2215/CJN.03100315.

25. Raj DS, Shah VO, Rambod M et al. Association of soluble endotoxin receptor CD14 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2009; 54(6):1062-1071. doi: 10.1053/j.ajkd.2009.06.028

26. Cobo G, Qureshi AR, Lindholm B, Stenvinkel P. C-reactive Protein: Repeated Measurements will Improve Dialysis Patient Care. *Semin Dial* 2016; 29(1):7-14. doi: 10.1111/sdi.12440

27. Cross AS. Development of an anti-endotoxin vaccine for sepsis. *Subcell Biochem* 2010; 53: 285-302

28. Müller-Loennies S, Brade L, Brade H. Neutralizing and cross-reactive antibodies against enterobacterial lipopolysaccharide. *Int J Med Microbiol* 2007; 297(5): 321-340

29. Santos MF, New RR, Andrade GR et al. Lipopolysaccharide as an antigen target for the formulation of a universal vaccine against Escherichia coli O111 strains. *Clin Vaccine Immunol* 2010; 17(11): 1772-1780

30. Harkin DW, Arnold R, Hoper M. Anti-endotoxin hyper-immune globulin attenuates portal cytokinaemia, phagocytic cell priming, and acute lung injury after lower limb ischaemia-reperfusion injury. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007; 33(3): 330-339

31. Pini A, Falciani C, Mantengoli E et al. A novel tetrabranching antimicrobial peptide that neutralizes bacterial lipopolysaccharide and prevents septic shock in vivo. *FASEB J* 2010; 24(4): 1015-1022

32. Li J, Shang G, You M et al. Endotoxin removing method based on lipopolysaccharide binding protein and polyhydroxyalkanoate binding protein PhaP. *Biomacromolecules* 2011; 12(3): 602-608

33. Liu D, Lu F, Qin G et al. C1 inhibitor-mediated protection from sepsis. *J Immunol* 2007; 179(6): 3966-3972

34. Kaconis Y, Kowalski I, Howe J et al. Biophysical mechanisms of endotoxin neutralization by cationic amphiphilic peptides. *Biophys J* 2011; 100(11): 2652-6261

35. Peri F, Piazza M. Therapeutic targeting of innate immunity with Toll-like receptor 4 (TLR4) antagonists. *Biotechnol Adv* 2012; 30(1): 251-260

36. Fujita T. Molecular mechanism of endotoxin tolerance. *Hepatology* 2009; 50(4): 1322

37. Brandenburg K, Heinbockel L, Correa W et al. Peptides with dual mode of action: Killing bacteria and preventing endotoxin-induced sepsis. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1858(5):971-979. doi: 10.1016/j.bbamem.2016.01.011

38. Sun Y, Shang D. Inhibitory Effects of Antimicrobial Peptides on Lipopolysaccharide-Induced Inflammation. *Mediators Inflamm* 2015; 2015:167572. doi: 10.1155/2015/167572

39. Moraes C, Fouque D, Amaral AC et al. Trimethylamine N-Oxide From Gut Microbiota in Chronic Kidney Disease Patients: Focus on Diet. *J Ren Nutr* 2015; 25(6):459-465. doi: 10.1053/j.jrn.2015.06.004

40. Machowska A, Carrero JJ, Lindholm B et al. Therapeutics targeting persistent inflammation in chronic kidney disease. *Transl Res* 2016; 167(1):204-213. doi: 10.1016/j.trsl.2015.06.012

41. Tzanno-Martins C, Biavo BM, Ferreira-Filho O et al. Clinical efficacy, safety and anti-inflammatory activity of two sevelamer tablet forms in patients on low-flux hemodialysis. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2014; 27(1):25-35

42. Rossi M, Johnson DW, Campbell KL. The Kidney-Gut Axis: Implications for Nutrition Care. *J Ren Nutr* 2015; 25(5):399-403. doi: 10.1053/j.jrn.2015.01.017

43. Sun PP, Perianayagam MC, Jaber BL. Endotoxin-binding affinity of sevelamer: a potential novel anti-inflammatory mechanism. *Kidney Int Suppl* 2009; (114):S20-5. doi: 10.1038/ki.2009.403

44. Rodríguez-Osorio L, Zambrano DP, Gracia-Iguacel C et

- al. Use of sevelamer in chronic kidney disease: beyond phosphorus control. *Nefrologia* 2015; 35(2):207-217. doi: 10.1016/j.nefro.2015.05.022
45. Mafra D, Fouque D. Gut microbiota and inflammation in chronic kidney disease patients. *Clin Kidney J* 2015; 8(3):332-334. doi: 10.1093/ckj/sfv026
46. Wing MR, Patel SS, Ramezani A et al. Gut microbiome in chronic kidney disease. *Exp Physiol* 2016; 101(4):471-477. doi: 10.1113/EP085283
47. Coulliette AD, Arduino MJ. Hemodialysis and water quality. *Semin Dial* 2013; 26(4):427-438. doi: 10.1111/sdi.12113
48. Schiff H. High-flux dialyzers, backfiltration, and dialysis fluid quality. *Semin Dial* 2011; 24(1):1-4. doi: 10.1111/j.1525-139X.2010.00786.x
49. Glorieux G, Hulko M, Speidel R et al. Looking beyond endotoxin: a comparative study of pyrogen retention by ultrafilters used for the preparation of sterile dialysis fluid. *Sci Rep* 2014; 4:6390. doi: 10.1038/srep06390
50. Kashiwagi T, Sato K, Kawakami S et al. The performance evaluation of endotoxin retentive filters in haemodialysis. *J Nippon Med Sch* 2011; 78(4):214-223
51. Glorieux G, Neiryck N, Veys N, Vanholder R. Dialysis water and fluid purity: more than endotoxin. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27(11):4010-4021. doi: 10.1093/ndt/gfs306
52. Bowry SK, Gatti E, Vienken J. Contribution of polysulfone membranes to the success of convective dialysis therapies. *Contrib Nephrol* 2011; 173:110-118. doi: 10.1159/000328960
53. Thomas M, Moriyama K, Ledebro I. AN69: Evolution of the world's first high permeability membrane. *Contrib Nephrol* 2011; 173:119-129. doi: 10.1159/000328961
54. Perego AF. Adsorption techniques: dialysis sorbents and membranes. *Blood Purif* 2013; 35 Suppl 2:48-51. doi: 10.1159/000350848
55. Aucella F, Gesuete A, Vigilante M et al. Adsorption dialysis: from physical principles to clinical applications. *Blood Purif* 2013; 35 Suppl 2:42-47. doi: 10.1159/000350847
56. Tjink MS, Wester M, Sun J et al. A novel approach for blood purification: mixed-matrix membranes combining diffusion and adsorption in one step. *Acta Biomater* 2012; 8(6):2279-2287. doi: 10.1016/j.actbio.2012.03.008
57. Tjink MS, Kooman J, Wester M et al. Mixed matrix membranes: a new asset for blood purification therapies. *Blood Purif* 2014; 37(1):1-3. doi: 10.1159/000356226
58. Li L, Ling Y, Huang M et al. Heparin inhibits the inflammatory response induced by LPS and HMGB1 by blocking the binding of HMGB1 to the surface of macrophages. *Cytokine* 2015; 72(1):36-42. doi: 10.1016/j.cyto.2014.12.010
59. Li X, Liu Y, Wang L et al. Unfractionated heparin attenuates LPS-induced IL-8 secretion via PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B signaling pathway in human endothelial cells. *Immunobiology* 2015; 220(3):399-405. doi: 10.1016/j.imbio.2014.10.008
60. Li X, Li X, Zheng Z et al. Unfractionated heparin suppresses lipopolysaccharide-induced monocyte chemoattractant protein-1 expression in human microvascular endothelial cells by blocking Krüppel-like factor 5 and nuclear factor- $\kappa$ B pathway. *Immunobiology* 2014; 219(10):778-785. doi: 10.1016/j.imbio.2014.06.005
61. Li X, Zheng Z, Li X, Ma X. Unfractionated heparin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response through blocking p38 MAPK and NF- $\kappa$ B activation on endothelial cell. *Cytokine* 2012; 60(1):114-121. doi: 10.1016/j.cyto.2012.06.008
62. Li X, Zheng Z, Mao Y, Ma X. Unfractionated heparin promotes LPS-induced endothelial barrier dysfunction: a preliminary study on the roles of angiopoietin/Tie2 axis. *Thromb Res* 2012; 129(5):e223-228. doi: 10.1016/j.thromres.2012.03.003
63. Luan ZG, Naranpurev M, Ma XC. Treatment of low molecular weight heparin inhibits systemic inflammation and prevents endotoxin-induced acute lung injury in rats. *Inflammation* 2014; 37(3):924-932. doi: 10.1007/s10753-014-9812-6

#### Сведения об авторах:

Ватазин Андрей Владимирович, д.м.н., профессор.  
129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Руководитель отдела трансплантологии, нефрологии и хирургической гемокоррекции. Тел.: +7-916-149-27-90, e-mail: vatazin@yandex.ru.  
Andrey V. Vatazin, MD, PhD, Professor of medicine, DMedSci. Affiliations: Russia, 129110, Moscow, Shchepkin Str., 61/2, building 6. Moscow Regional Research and Clinical Institute. Head of the Department of Transplantation, Nephrology and Surgical hemocorrection. Tel.: +7-916-149-27-90, e-mail: vatazin@yandex.ru.

Зулькарнаев Алексей Батыргараевич, д.м.н.  
129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Старший научный сотрудник хирургического отделения трансплантологии и диализа. Тел.: +7-916-705-98-99, e-mail: 7059899@gmail.com.  
Alexey B. Zulkarnaev, MD, PhD, DMedSci. Affiliations: Russia, 129110, Moscow, Shchepkin Str., 61/2, building 6. Moscow Regional Research and Clinical Institute. Senior Researcher of transplantation and dialysis surgical department. Tel.: +7-916-705-98-99, e-mail: 7059899@gmail.com.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Поступила в редакцию: 15.05.2016 г.  
Принята в печать: 12.09.2016 г.

© А.В.Ватазин, А.В.Кильдюшевский, В.А.Федулкина, А.П.Фаенко, 2016  
УДК 616.61 – 089.843.168.6 : 612. 017

*А.В. Ватазин, А.В. Кильдюшевский, В.А. Федулкина, А.П. Фаенко*

## МЕХАНИЗМЫ ОТТОРЖЕНИЯ ПОЧЕЧНОГО АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА И ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ

Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского

*A.V. Vatazin, A.V. Kildjushevskiy, V.A. Fedulkina, A.P.Faenko*

## RENAL ALLOGRAFT REJECTION MECHANISMS AND IMMUNOTOLERANCE

Moscow regional research and clinical institute n.a. M.F.Vladimirsky

### РЕФЕРАТ

В статье отражены основные причины и механизмы развития отторжения почечного аллотрансплантата, описаны современные представления о формировании иммунологической толерантности.

**Ключевые слова:** причины и механизмы отторжения трансплантата, иммунологическая толерантность, трансплантация почки.

### ABSTRACT

The review summarizes basic causes and mechanisms of renal allograft rejection, describes the modern concept of immune tolerance formation.

**Key words:** causes and mechanisms of allograft rejection, immune tolerance, kidney transplantation.

### ВВЕДЕНИЕ

Одной из главных и постоянных проблем при аллотрансплантации трупной почки (АТП) по-прежнему остается риск отторжения почечного аллотрансплантата (ПАТ) [1]. Приблизительно 5–10% реципиентов в течение 1 года после пересадки почки возвращаются к программам гемодиализа в связи с дисфункцией трансплантата [2], а с удлинением времени после трансплантации таких пациентов становится все больше [3]. Поэтому представляется крайне важным обеспечить сохранность и максимальную эффективность функционирования ПАТ.

На современном этапе развития трансплантологии иммуносупрессия является безальтернативным методом предупреждения и лечения реакции отторжения. Совершенствование схем и протоколов иммуносупрессии помогло снизить риск развития данного осложнения [4, 5]. Однако это полностью не решило проблему отторжения, а токсичность и побочные эффекты, связанные с приемом иммуносупрессантов, вынуждают производить поиск новых препаратов и методов

лечения, основанных на глубоком изучении иммунологических механизмов отторжения ПАТ и формирования толерантности к пересаженному органу.

### Отторжение почечного аллотрансплантата

Отторжение трансплантированных тканей происходит в результате того, что иммунная система реципиента распознает чужеродные тканевые антигены гистосовместимости на клетках трансплантата и реагирует на них. Во многом благодаря исследованиям приживления и отторжения пересаженных тканей в животных моделях были открыты молекулы главного комплекса гистосовместимости (ГКГ или МНС), кодирование которого располагается в гене на коротком плече 6-й хромосомы [6]. Продукты генов – антигены или молекулы МНС обладают крайне выраженным полиморфизмом [7]. Обнаружено, что при сингенных пересадках, например, при пересадках тканей между однояйцевыми близнецами, которые имеют одинаковые молекулы МНС, как правило, отторжения не происходит. В то время как при аллогенных трансплантациях, когда донор и реципиент различаются по антигенам МНС, отсутствие приема иммуносупрессии приведет к неминуемому отторжению [8].

Ватазин А.В. 129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Тел.: 8-495-684-54-53, E-mail: vatazin@yandex.ru

Существуют три типа молекул МНС: класса I, II и III. У людей гены МНС называются генами лейкоцитарных антигенов человека (*human leukocyte antigen – HLA*). В их состав входят следующие гены (рис. 1):

- класс I – HLA-A, HLA-B и HLA-C;
- класс II – HLA-DP, HLA-DQ и HLA-DR;
- класс III – C4a, C2, C4b, Bf.

Молекулы МНС I класса располагаются практически на всех ядродержащих клетках и презентуют пептид, состоящий из 9–11 аминокислот. Молекулы МНС II класса обнаруживаются только на специализированных антигенпрезентирующих клетках (АПК), к которым относятся дендритные клетки, В-лимфоциты и макрофаги, они связывают пептиды длиной 13–30 аминокислот [9]. К тому же экспрессия антигенов МНС значительно увеличивается под действием цитокинов – интерферона- $\gamma$  (ИФН $\gamma$ ) и фактора некроза опухолей (ФНО $\alpha$ ), что безусловно играет важную роль в развитии иммунологической реакции [10].

К продуктам генов МНС III класса относят некоторые компоненты системы комплемента, ФНО- $\alpha$ , белки теплового шока и др. Они не играют существенной роли в реакциях тканевой несовместимости.

Молекулы МНС имеют две существенные особенности, использующиеся в трансплантационной иммунологии [8]. Первая особенность заключается в том, что всякий локус в молекуле МНС

полиморфен. Различий в молекулах HLA-A1 и HLA-A2 вполне достаточно для запуска реакции отторжения. Совокупность разных молекул МНС (аллелей), экспрессируемых одной хромосомой, называется гаплотипом. Генотип – сумма двух гаплотипов.

Второй особенностью является кодоминантность экспрессии генов. МНС экспрессируются кодоминантно, т.е. у каждого индивидуума в каждом локусе проявляются аллели обеих хромосом. Следовательно, МНС-генотип индивида представлен 12 различными молекулами МНС (по два аллеля каждого из шести локусов) (рис. 2). Поэтому, согласно законам Менделя, трансплантат, пересаженный от родителей, отторгается их потомками и наоборот.

Известно, что именно несовместимость МНС донора и реципиента вызывает иммунный ответ против трансплантата, приводящий в конечном итоге к его разрушению. Также, помимо антигенов МНС, выделяют минорные антигены гистосовместимости. Они, по-видимому, играют небольшую роль в процессе отторжения, за исключением тех случаев, когда главные комплексы гистосовместимости совпадают, но имеются ряд незначительных отличий в минорных антигенах гистосовместимости. В этих случаях также может произойти отторжение трансплантата. О минорных антигенах человека известно очень мало, однако существуют сообщения, что несовпадение по данной

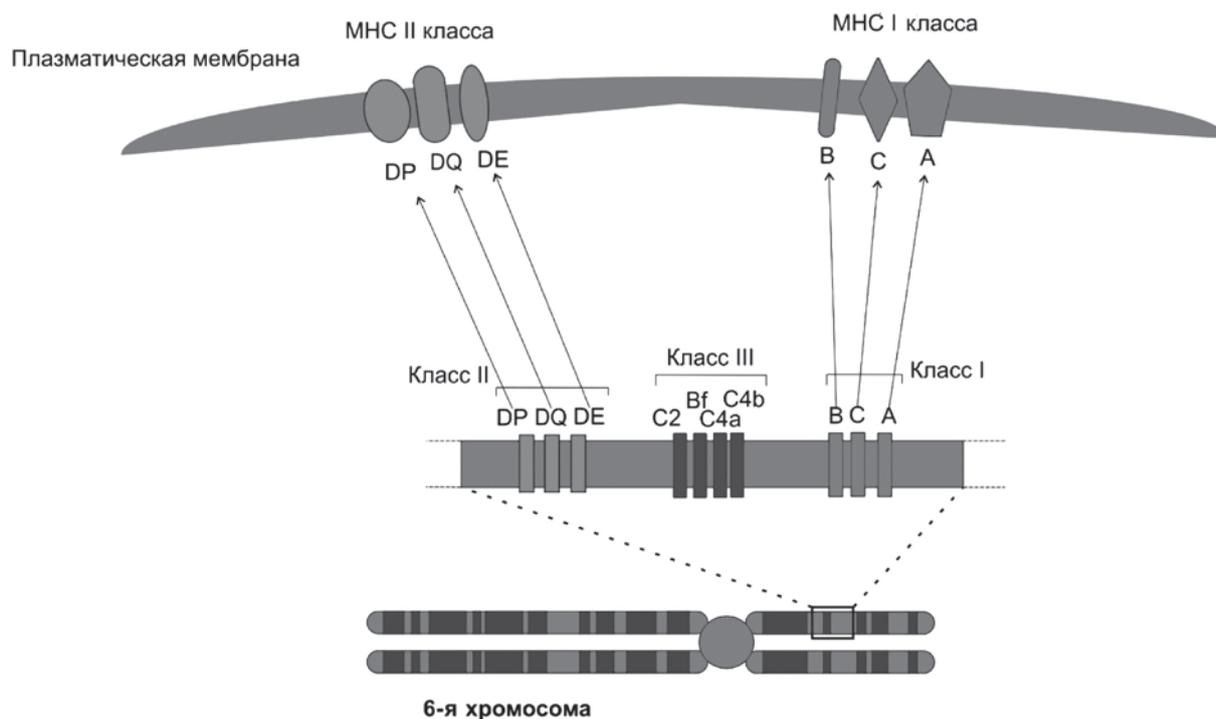


Рис. 1. Главный комплекс гистосовместимости с локализацией в 6-й хромосоме.

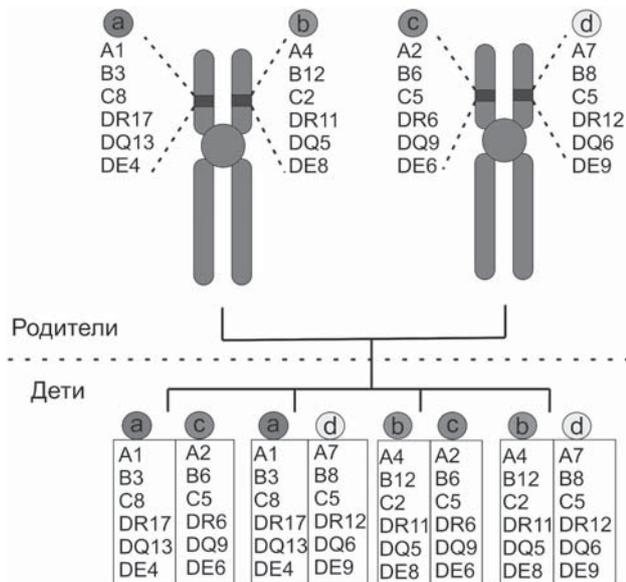


Рис. 2. Кодоминантное наследование генов системы HLA.

системе антигенов у однояйцовых близнецов приводит к отторжению трансплантата [11].

Основная функция МНС – участие в инициации Т-клеточного иммунного ответа через распознавание Т-клеточным рецептором комплекса МНС-пептид [12]. Трансплантированные органы экспрессируют молекулы МНС донора, в результате чего происходит распознавание аллоантигенов трансплантата по двум путям (рис. 3) [8]. При снижении экспрессии МНС I класса на ядро-содержащих клетках происходит их узнавание НК-клетками с последующим их цитолизом или апоптозом.

Прямое распознавание происходит через взаимодействие Т-клеток реципиента и аллогенных молекул МНС, экспрессированных на донорских клетках. Такое взаимодействие объясняется молекулярной мимикрией, т.е. аллогенные МНС напоминают собственные молекулы МНС, поэтому пептид, который они презентуют, легко распознается Т-клетками реципиента. При этом в распознавании Т-клеточным рецептором может участвовать не только пептид, погруженный в молекулу МНС, но также и часть донорской молекулы МНС [13].

В непрямом или косвенном пути Т-клетки реципиента распознают чужеродный антиген через собственные АПК, которые презентуют подвергшиеся катаболизму молекулы МНС донора. В целом косвенный путь похож на нормальный процесс представления бактериального антигена [14].

Полагают, что прямой путь может быть ответствен за развитие острого отторжения, в то время

как косвенный путь играет доминирующую роль в процессе хронического отторжения [15].

В реакции клеточного отторжения основное участие принимают два типа клеток CD8 и CD4 Т-клетки. CD4-клетки, так называемые Т-хелперные клетки, считаются наиболее важными в инициации и регуляции отторжения трансплантата. Независимо от пути распознавания молекулы МНС активированные Т-хелперные клетки делятся и выделяют различные цитокины, которые служат как факторами роста, так и факторами активации CD8 цитотоксических Т-клеток, В-клеток и макрофагов, которые вызывают разрушение трансплантата [16]. CD8 Т-цитотоксические также способны к секреции цитокинов, однако этой секреции без влияния Т-хелперных клеток недостаточно для запуска отторжения [17]. Основная функция CD8-клеток – прямой лизис клеток донора. Активированные макрофаги и Т-хелперные клетки сами по себе способны привести к отторжению трансплантата через развитие реакции гиперчувствительности замедленного типа. В-клетки ответственны за выработку антител, которые, связываясь со своим специфическим антигеном, принимают участие в развитии гуморального отторжения [18].

В инициации иммунологической реакции, помимо взаимодействия Т-клеточного рецептора с молекулой МНС и ее пептидом, принимают участие большой ряд молекул коактивации (рис. 4.) [19]. Полная активация Т-клеток возможна только при взаимодействии и работе двух отдельных, но синергетических сигналов. Первый сигнал заключается в том, что поставляемые через Т-клеточный рецептор антигены представляют себя и несут ответственность за специфичность иммунного ответа. Второй, или коактиваторный, сигнал – антигеннеспецифический, однако от него зависит характер направленности иммунного ответа. Многие Т-клеточные молекулы могут служить в качестве рецепторов для коактиваторных сигналов. Вместе с тем, наибольшее значение имеют молекулы CD28/CTLA-4/B7 [20]. CD28 имеет два известных лиганда B7-1 (CD80) и B7-2 (CD86), оба из которых экспрессированы, прежде всего, на активированных АПК [19]. Помимо этого, Т-клетки также презентуют CTLA-4 (цитотоксический Т – лимфоцитарный антиген), молекулу, структурно схожую с CD28, которая способна связывать B7-1 и B7-2. Однако в отличие от CD28 CTLA-4 передает тормозящий сигнал, который вызывает прекращение иммунного ответа [21].

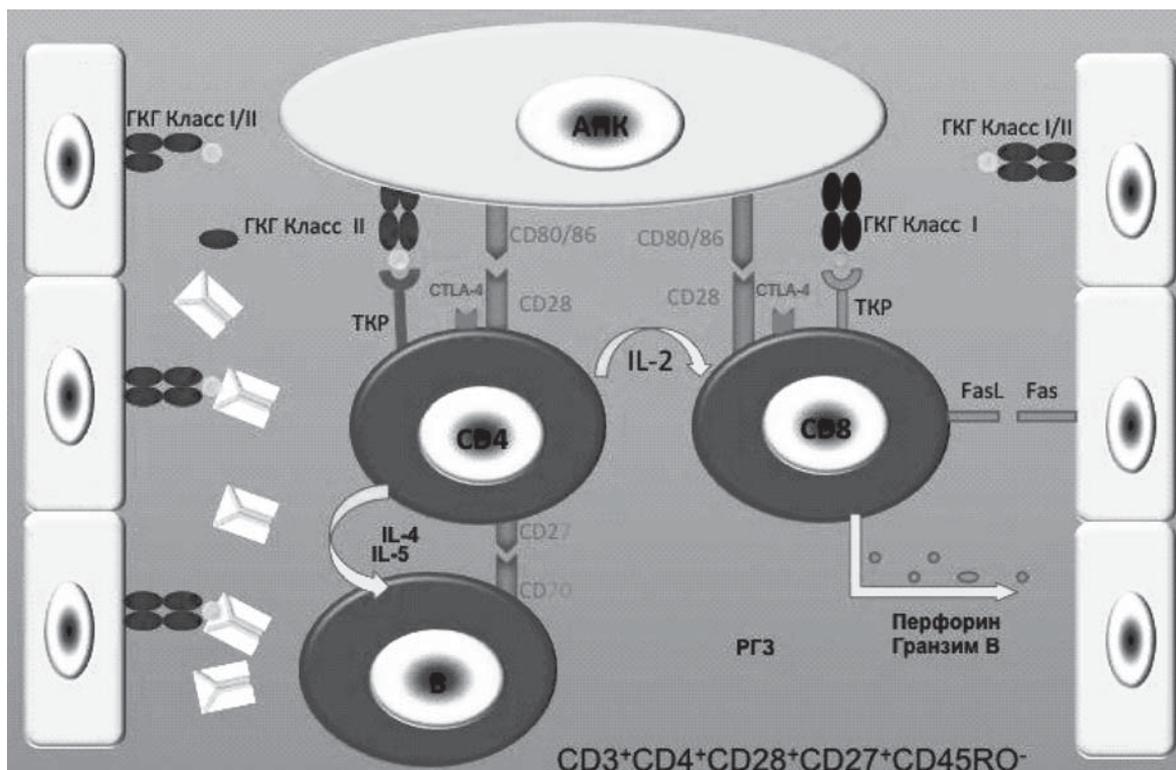


Рис. 3. Пути распознавание аллоантигена и механизмы отторжения.

Покоящиеся Т-клетки постоянно экспрессируют CD28, хотя и в значительно меньшем количестве без предварительной стимуляции, в то же время покоящиеся АПК не презентуют молекулы В7 [22]. В течение шести часов после активации АПК экспрессируют молекулы В7-2, а через 48–72 ч – молекулу В7-1. Молекулы В7-1 и В7-2 могут связаться как с CD28, обеспечивая активацию иммунного ответа, так и с CTLA-4, вызывая тормозной сигнал. CTLA-4, обладая большей avidностью к коактивационным молекулам, связывает молекулы В7 с большим сродством, чем CD28, поэтому при снижении экспрессии молекулы CD28 тормозное взаимодействие CTLA-4/В7 в конечном итоге преобладает, что ведет к прекращению иммунного ответа [19–22].

Помимо основного пути передачи второго коактивационного сигнала CD28/В7, существуют и вспомогательные пути, которые реализуются через парное взаимодействие дополнительных молекул на мембранах Т-хелперных лимфоцитов и АПК. При активации коактивационного пути CD40-CD40L повышается экспрессия молекул В7 на АПК и усиливается выделение провоспалительных цитокинов, которые активируют Т-клетки [23]. Если в качестве АПК выступает В-клетка, то, помимо передачи дополнительного коактивационного сигнала на Т-хелпер, активация CD40-CD40L-пути влияет и на сам В-лимфоцит.

В результате такого взаимодействия происходит интенсивный обмен информацией между клетками с последующей стимуляцией АПК, т.е. самого В-лимфоцита [23, 24].

Еще одним путем коактивации Т- и В-клеток является взаимодействие молекул ICOS (Inducible T-cell COStimulator, CD278) с его лигандом ICOSL. ICOS является гомологом CD28, но экспрессируется только на активированных Т-клетках, в большей мере на Т-хелперных клетках 2-го типа. Лигандом для ICOS является молекула В7h (CD275), структурно схожая с В7, однако, не способная взаимодействовать с CD28 и CTLA-4. Стимуляция

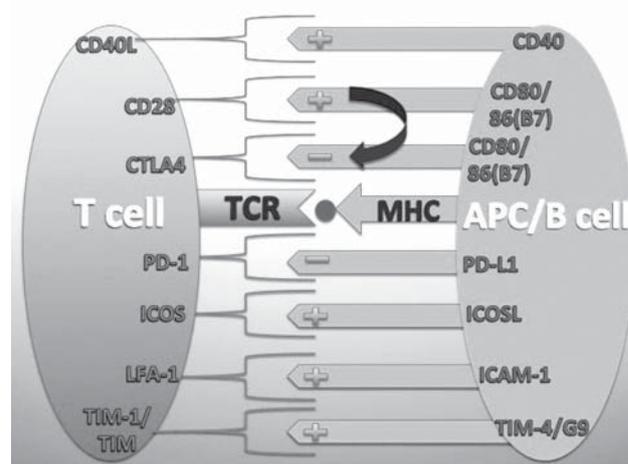


Рис. 4. Пути коактивации Т-клеток.

Т-клеток по пути ICOS-B7h стимулирует пролиферацию клеток и выделение цитокинов. Поскольку ICOS экспрессируется также и В-клетками, активация этого пути передачи сигнала может сопровождаться продукцией антител [25].

Взаимодействие молекул OX40 (CD134) и OX40L (CD252) является важным костимуляционным сигналом для Т-клеток, сравнимым по значимости с CD28-B7, и имеет ключевое значение для формирования CD4 аллореактивных клеток памяти. Активация OX40-OX40L-пути, подобно пути CD40-CD40L, приводит к двунаправленной стимуляции клеток: активации и стимуляции пролиферации Т-клеток и повышению продукции провоспалительных цитокинов АПК [24].

Сигнальные пути OX40-OX40L, CD40-CD40L играют важную роль в CD28-B7-независимой активации Т-клеток. При блокаде этих путей значительно уменьшается степень повреждения аллотрансплантата [26].

При отсутствии костимуляторных сигналов Т-клетки, сталкиваясь с антигеном, подвергаются неудачной активации. Они не вырабатывают заметного количества цитокинов и не делятся, а вместо этого перестают отвечать на запросы соответствующей стимуляции на срок до нескольких недель, т.е. возникает анергия [27], или подвергаются запрограммированной клеточной смерти – апоптозу [19, 23].

Помимо молекулы CTLA-4, тормозящим пролиферацию и активацию Т-клеток обладает белок PD-1 (CD279), имеющий два лиганда – PD-L1 (B7-H1, CD274) и PD-L1 (B7-DC, CD273). Активация данного сигнального пути ингибирует пролиферацию и продукцию цитокинов антигенспецифичных CD4- и CD8-клеток. Выраженность ингибирующего действия этих молекул зависит от наличия других костимуляционных сигналов, в частности CD28-B7. Блокирование этого сигнального пути ускоряет отторжение ПАТ, введение же PD-L1-Ig тормозит реакцию отторжения [28].

Процессы передачи сигналов молекулярных взаимодействий между АПК и Т-клетками весьма многогранны, в зависимости от их результата происходят дальнейшая активация и дифференцировка или анергия и апоптоз Т- и В-лимфоцитов, а также других клеток, участвующих в развитии реакции отторжения ПАТ [19, 23, 24].

Некоторые современные иммуносупрессивные препараты направлены на блокирование одного из костимуляционных путей, к примеру, введение CTLA-4Ig (Белатасепт) нарушает взаимодействие между молекулами B7-CTLA-4, тем

самым предотвращая отторжение [29]. Другие препараты воздействуют на внутриклеточные процессы активации Т-клеток. Ингибиторы кальциейрина (такролимус, циклоспорин) прерывают дефосфорилирование NFAT (ядерного фактора активированных Т-клеток), благодаря чему NFAT не перемещается из цитоплазмы в ядро и не происходит синтез провоспалительных цитокинов, в частности ИЛ-2 [30].

Применяемые в настоящее время иммунодепрессанты обладают исключительно мощным, блокирующим отторжение действием, однако не один из них не является антигенспецифическим [31]. Именно поэтому при тотальной иммуносупрессии снижается устойчивость к инфекциям.

### **Иммунологическая толерантность**

Иммунологическая толерантность – состояние неактивности в отношении того или иного антигена, которое возникает в результате предшествующего контакта с этим антигеном [32]. Активно функционирующие механизмы толерантности жизненно необходимы в процессе развития организма, так как они предотвращают развитие иммунных реакций против собственных антигенов и многих других безвредных антигенов, попадающих в организм с воздухом, пищей и т.д. Достичь поставленной цели помогают механизмы центральной и периферической толерантности (рис. 5) [31–33].

В тимусе происходит формирование Т-клеток из клеток-предшественников с еще неперестроенными генами Т-клеточных рецепторов. В процессе развития лимфоцитов в тимусе эти гены подвергаются перестройке, после чего Т-клетки начинают экспрессировать Т-клеточный рецептор (ТкР), способный распознавать пептиды в связывающей их полости молекул МНС на АПК. На этапе созревания лимфоцитов в тимусе образуются большое количество Т-клеток с дефектным ТкР, обладающим аутореактивными свойствами. Такие клетки подвергаются отрицательной селекции и, в конечном счете, погибают в результате запуска различных механизмов апоптоза [34, 35].

Процесс отрицательной селекции в тимусе несовершенен, поэтому часть аутореактивных Т-клеток все же попадают в пул периферических лимфоцитов. Предотвращение развития аутоиммунных реакций поддерживается механизмами периферической, или посттимической, толерантности. Активно функционирующими механизмами формирования периферической толерантности Т-клеток являются клональная делеция, анергия и супрессия [36].

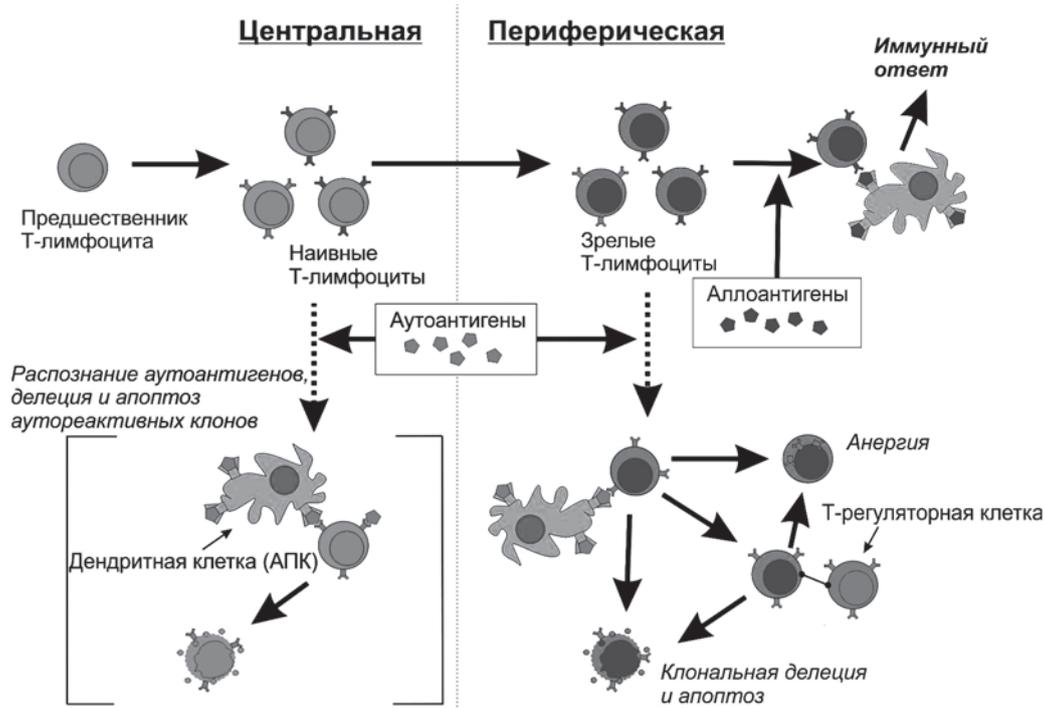


Рис. 5. Механизмы толерантности.

Клетки могут стать неответающими, получив опосредованный ТкР-сигнал. Подавление их функции может происходить в результате снижения экспрессии ТкР и корецепторных молекул [24]. Аннергия Т-лимфоцитов легко демонстрируется в опытах *in vitro* и *in vivo* на некоторых животных моделях [37, 38]. Стимулирование ТкР в отсутствие костимуляционных сигналов приводит к анергии Т-лимфоцитов, однако стоит устранить это отсутствие, например, при стимулировании Т-клеток посредством ИЛ-2 развивается иммунная реакция [39].

Для поддержания толерантности к собственным антигенам и гомеостаза иммунной системы имеет значение клональная делеция Т-клеток вне тимуса, когда после активации антигеном большинство аутореактивных клеток погибают в результате апоптоза. Этот механизм служит для контроля аутоиммунных реакций и поддержания должного пула лимфоидных клеток. Процесс инициации клональной делеции запускается различными путями. Взаимодействие рецептора Fas (CD95) с его лигандом FasL запускает последующую цепь передачи сигналов, которая активирует ИЛ-1 $\beta$ -конвертирующие ферментоподобные протеазы, вызывающие апоптоз [40]. Молекула FasL может как экспрессироваться на активированных Т-клетках, обуславливая непосредственное межклеточное взаимодействие по принципу «братоубийства», так и находиться в растворимой форме,

запуская аутокринный механизм апоптоза (рис. 6). Рецептор PD-1 имеет два лиганда PD-L1 и PD-L2, при его активации запускается двойной механизм стимулирования апоптоза, с одной стороны, вызывая гибель Т-эффекторных клеток, с другой – ингибирование апоптоза Т-супрессорных клеток [41]. Молекула CTLA-4 также играет важную роль как отрицательный регулятор, в результате чего ее

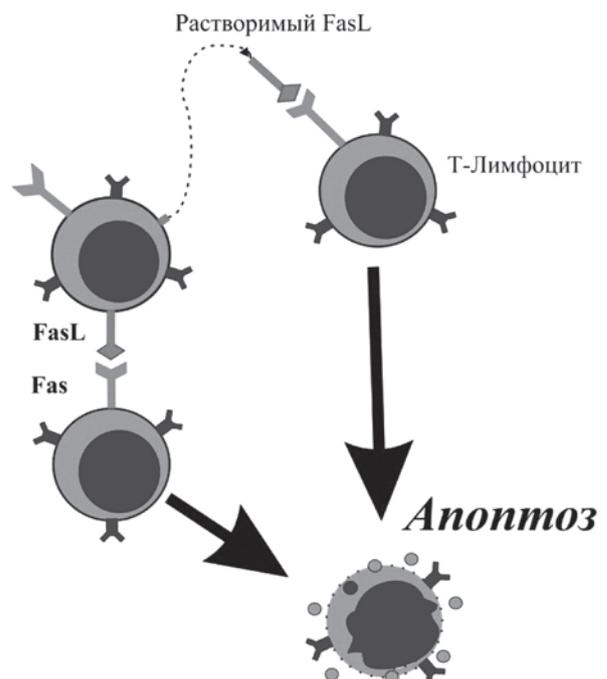


Рис. 6. Роль Fas-системы в гибели Т-клеток.

взаимодействие с молекулой В7 на поверхности АПК может прервать клеточный цикл деления Т-клетки и вызвать ее гибель или анергию [42].

Доказательства существования специфических супрессорных или толерогенных клеток были неоднократно показаны в экспериментальных работах по адаптивному переносу, когда индукции толерантности у интактных животных удавалось добиться, вводя им клетки толерантных животных [43, 44]. Одно из предложенных объяснений для данной формы толерантности предполагает существование двух популяций Т-лимфоцитов, продуцирующих различные цитокины. Известно, что многие воспалительные аутоиммунные реакции индуцируются Т-хелперными клетками 1-го типа (Тх1-клетки), продуцирующими такие провоспалительные цитокины, как ИЛ-2, ИФН- $\gamma$  и ФНО. Цитокины, продуцируемые Т-хелперными клетками 2-го типа (Тх2-клетки), ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-9 и ИЛ-10-поддерживают антителообразование, однако, наряду с этим, подавляют эффекторные функции макрофагов, включая их презентацию антигена Тх1-лимфоцитам и нестимулированным Т-клеткам. Активно изучаются молекулярный фенотип супрессорных клеток, их поверхностные маркеры и продуцируемые ими растворимые факторы. Регуляторные Т-клетки (Tregs) – это субпопуляции Т-хелперных клеток (CD3+CD4+), которые экспрессируют большое количество молекул CD25(hi) и фактор транскрипции Foxp3 и играют важную роль в подавлении аутоиммунных реакций [45]. Существуют предположения, что данная популяция клеток может иметь место в формировании трансплантационной толерантности [46].

Индукция толерантности аутореактивных В-клеток к собственным антигенам также может происходить через механизмы их делеции или анергии. Это зависит от аффинности антигенных рецепторов В-клеток и природы соответствующего антигена, в частности от того, является ли он интегральным белком клеточной мембраны или представляет растворимый, циркулирующий, в основном мономерный белок. Особое значение в управлении В-клеточного иммунного ответа играет роль клеток Тх2 типа [47].

Физиологические механизмы толерантности ученые пытались воспроизвести в трансплантации органов и тканей между гомологичными особями одного вида. Некоторого успеха удалось добиться при одновременной пересадке почки и костного мозга у иммунокомпрометированных больных, формируя клеточный химеризм [48, 49].

Существуют различные методы, направленные на изоляцию Tregs и их использование в формировании иммунологической толерантности при трансплантации солидных органов [50, 51]. Полагают, что формирование толерантности возможно достичь путем истощения Т-клеточной популяции, подобно формированию устойчивости к хроническому вирусному заражению, однако данное предположение остается спорным [52, 53]. Одним из методов эффективной борьбы с отторжением трансплантата и формированием частичной иммунологической толерантности является экстракорпоральная фотохимиотерапия или фотоферез [54, 55].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Расширение знаний о трансплантационной иммунологии способствует углубленному пониманию механизмов развития отторжения почечного аллотрансплантата. В трансплантации иммунологический конфликт обусловлен чужеродностью тканей, его антигенностью, наибольшее значение в котором играет различие в строении молекул МНС донора и реципиента. Для инициации иммунного ответа необходимо взаимодействие Т-клеточного рецептора с антигенным пептидом, погруженным в МНС. Помимо этого, для развития иммунного ответа необходима передача дополнительного сигнала с молекул коактивации, в зависимости от его результата происходят дальнейшая активация и дифференцировка или анергия и апоптоз Т- и В-лимфоцитов, а также других клеток, участвующих в развитии реакции отторжения. Процессы иммунологической толерантности тесно связаны с корцепторным взаимодействием, особое значение в котором приобретают супрессорные или толерогенные клетки, относящиеся к клеткам Т-хелперной субпопуляции (CD3+ CD4+), экспрессирующие большое количество молекул CD25(hi) и фактор транскрипции Foxp3.

Формирование иммунологической толерантности, при котором, возможно, будет избирательное отсутствие иммунного ответа к антигенам пересаженного органа, является весьма перспективным направлением в трансплантологии. Такая таргетная терапия позволит избежать губительного воздействия тотальной иммуносупрессии и улучшить результаты трансплантации почки и длительность жизни почечного аллотрансплантата.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Столяревич ЕС, Артюхина ЛЮ, Ким ИГ и др. Морфологические особенности позднего отторжения трансплан-

- тированной почки и их прогностическое значение. *Вестн трансплантологии и искусственных органов*. 2014; 16(2): 30-38 [Stoliarevich ES, Artiuhina LIU, Kim IG i dr. Morfologicheskie osobennosti pozdnego ottozheniia transplantirovannoi` pochki i ikh prognosticheskoe znachenie. Vestn transplantologii i iskusstvenny`kh organov. 2014; 16(2): 30-38]
2. Лубенников АЕ, Трушкин РН, Артюхина ЛЮ. Современные взгляды на проблему удаления почечного трансплантата. *Московск хирург журн* 2014; 4: 49-56 [Lubennikov AE, Trushkin RN, Artyukhina LY Sovremennye vzglyady na problemu udaleniya pochechnogo transplantata. *Moskovskii khirurgicheskii zhurnal*. 2014; 4: 49-56]
3. Johnston O, Rose C, Landsberg D et al. Nephrectomy after transplant failure: current practice and outcomes *Am J Transplant* 2007; 7(8): 1961-1967. doi: 10.1111/j.1600-6143.2007.01884.x
4. Столяр АГ, Будкар ЛН, Климушева НФ и др. Улучшение результатов трансплантации почки. *Вестн трансплантологии и искусственных органов* 2014; 4: 55-61 [Stoliar AG, Budkar` LN, Klimusheva NF i dr. Uluchshenie rezul`tatov transplantatsii pochki. Vestn transplantologii i iskusstvenny`kh organov 2014; 4: 55-61]
5. O'Leary JG, Samaniego M, Barrio MC et al. The Influence of Immunosuppressive Agents on the Risk of De Novo Donor-Specific HLA Antibody Production in Solid Organ Transplant Recipients. *Transplantation*. 2016; 100(1): 39-53 [doi: 10.1097/TP.0000000000000869]
6. Thorsby E. A short history of HLA. *Tissue Antigens* 2009; 74(2): 101-116 doi: 10.1111/j.1399-0039.2009.01291.x
7. Дмитриева НГ, Яковчик ОН, Ватазин АВ и др. Система гистосовместимости при трансплантации почки. *Альманах клинической медицины* 2014; 31: 83-87 [Dmitrieva NG, Iakovchik ON, Watazin AV i dr. Sistema gistosovmestimosti pri transplantatsii pochki. *Al`manakh klinicheskoi` meditsiny`* 2014; 31: 83-87]
8. Данович Габриэль М. Трансплантация почки. ред. ЯГ Мойсюк ГЭОТАР-Медиа, М., 2013; 23-138 [Danovitch Gabriel M Handbook of kidney transplantation. ed. YG Moisyuk GEOTAR-Media, M, 2013; 23-138.]
9. Caron E, Kowalewski DJ, Chiek Koh C et al. Analysis of Major Histocompatibility Complex (MHC) Immunopeptidomes Using Mass Spectrometry. *Mol Cell Proteomics* 2015; 14(12): 3105-3117. doi: 10.1074/mcp.M115.052431
10. Wei RQ, Schwartz CF, Lin H et al. Anti-TNF antibody modulates cytokine and MHC expression in cardiac allografts. *J Surg Res* 1999; 81(2): 123-128. doi: 10.1006/jsre.1998.5303
11. Pabón MA, Navarro CE, Martin R et al. Minor histocompatibility antigens as risk factor for poor prognosis in kidney transplantation. *Transplant Proc* 2011; 43(9): 3319-3323. doi: 10.1016/j.transproceed.2011.09.007
12. Breman E, van Miert PP, van der Steen DM et al. HLA monomers as a tool to monitor indirect allorecognition. *Transplantation* 2014; 97(11): 1119-1127. doi: 10.1097/TP.0000000000000113
13. Harper SJ, Ali JM, Wlodek E et al. CD8 T-cell recognition of acquired alloantigen promotes acute allograft rejection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112(41): 12788-12793. doi: 10.1073/pnas.1513533112
14. Ali J, Bolton E, Saeb-Parsy K. et al. Targeting indirect pathway CD4 T-cell alloresponses in the prevention of chronic transplant rejection. *Lancet* 2015; 385(1): 17. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60332-4
15. Lin CM, Gill RG. Direct and indirect allograft recognition: pathways dictating graft rejection mechanisms. *Curr Opin Organ Transplant* 2016; 21(1): 40-44. doi: 10.1097/MOT.0000000000000263
16. Taylor AL, Negus SL, Negus M. et al. Pathways of helper CD4 T cell allorecognition in generating alloantibody and CD8 T cell alloimmunity. *Transplantation* 2007; 83(7): 931-937. doi: 10.1097/01.tp.0000257960.07783.e3
17. Weist BJ, Schmueck M, Fuehrer H. et al. The role of CD4(+) T cells in BKV-specific T cell immunity. *Med Microbiol Immunol* 2014; 203(6): 395-408. doi: 10.1007/s00430-014-0348-z
18. Phillips S, Kapp M, Crowe D. et al. Endothelial activation, lymphangiogenesis, and humoral rejection of kidney transplants. *Hum Pathol* 2016; 51:86-95. doi: 10.1016/j.humpath.2015.12.020
19. Esposito P, Grosjean F, Rampino T et al. Costimulatory pathways in kidney transplantation: pathogenetic role, clinical significance and new therapeutic opportunities. *Int Rev Immunol* 2014; 33(3): 212-233. doi: 10.3109/08830185.2013.829470
20. Vogel I, Kasran A, Cremer J. et al. CD28/CTLA-4/B7 costimulatory pathway blockade affects regulatory T-cell function in autoimmunity. *Eur J Immunol* 2015; 45(6): 1832-1841. doi: 10.1002/eji.201445190
21. Berg M, Zavazava N. Regulation of CD28 expression on CD8+ T cells by CTLA-4. *J Leukoc Biol* 2008; 83(4): 853-863. doi: 10.1189/jlb.0107065
22. Linsley PS, Brady W, Urnes M. et al. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. *J Exp Med* 1991; 174: 561-569. doi: 10.1084/jem.174.3.561
23. Ford ML, Larsen CP. Translating costimulation blockade to the clinic: lessons learned from three pathways. *Immunol Rev* 2009; 229(1): 294-306. doi: 10.1111/j.1600-065X.2009.00776.x.
24. Pilat N, Sayegh MH, Wekerle T. Costimulatory pathways in transplantation. *Semin Immunol*. 2011; 23(4): 293-303. doi: 10.1016/j.smim.2011.04.002
25. Harada H, Salama AD, Sho M et al. The role of the ICOS-B7h T cell costimulatory pathway in transplantation immunity. *J Clin Invest* 2003; 112(2): 234-243. doi: 10.1172/jci200317008
26. Dai H, Peng F, Lin M. et al. Anti-OX40L monoclonal antibody prolongs secondary heart allograft survival based on CD40/CD40L and LFA-1/ICAM-1 blockade. *Transpl Immunol* 2015; 32(2):84-91. doi: 10.1016/j.trim.2015.01.001
27. Wells AD, Walsh MC, Sankaran D et al. T cell effector function and anergy avoidance are quantitatively linked to cell division. *J Immunol* 2000; 165(5): 2432-2443. doi: 10.4049/jimmunol.165.5.2432
28. del Rio ML, Buhler, Gibbons C et al. PD-1/PD-L1, PD-1/PD-L2, and other co-inhibitory signaling pathways in transplantation. *Transpl Int* 2008; 21(11): 1015-1028. doi: 10.1111/j.1432-2277.2008.00726.x
29. Masson P, Henderson L, Chapman JR et al. Belatacept for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; 11: 1-65. doi: 10.1002/14651858.CD010699.pub2
30. Rancić N., Dragojević-Simić V., Vavić N et al. Tacrolimus concentration/dose ratio as a therapeutic drug monitoring strategy: the influence of gender and medication. *Vojnosanitetski Pregl* 2015; 72(9): 813-822. doi:10.2298/VSP140905005R
31. Sarwal MM. Fingerprints of transplant tolerance suggest opportunities for immunosuppression minimization. *Clin Biochem* 2016; 49(4-5): 404-410. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2016.01.007
32. Gracon AS, Wilkes DS. Lung transplantation: chronic allograft dysfunction and establishing immune tolerance. *Hum Immunol* 2014; 75(8): 887-894. doi: 10.1016/j.humimm.2014.06.015
33. LaFlam TN, Seumois G, Miller CN et al. Identification of a novel cis-regulatory element essential for immune tolerance. *J Exp Med* 2015; 212(12): 1993-2002. doi: 10.1084/jem.20151069
34. Yamano T, Steinert M, Klein L. Thymic B Cells and Central T Cell Tolerance. *Front Immunol* 2015; 6: 376. doi: 10.3389/fimmu.2015.00376
35. Laan M, Peterson P. The many faces of aire in central tolerance. *Front Immunol* 2013; 4: 326. doi: 10.3389/fimmu.2013.00326
36. Delgoffe GM, Powell JD. Feeding an army: The metabolism of T cells in activation, anergy, and exhaustion. *Mol Immunol* 2015; 68: 492-496. doi: 10.1016/j.molimm.2015.07.026
37. Asashima H, Tsuboi H, Takahashi H et al. The anergy induction of M3 muscarinic acetylcholine receptor-reactive CD4+ T cells suppresses experimental sialadenitis-like Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheumatol* 2015; 67(8): 2213-2225. doi: 10.1002/art.39163
38. O'Konek JJ, Kato S, Takao S et al.  $\beta$ -mannosylceramide activates type I natural killer t cells to induce tumor immunity without inducing long-term functional anergy. *Clin Cancer Res* 2013; 19(16): 4404-4411. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2169
39. Bandyopadhyay S, Montagna C, Macian F. Silencing of the Il2 gene transcription is regulated by epigenetic changes in anergic T cells. *Eur J Immunol* 2012; 42(9): 2471-2483. doi:

10.1002/eji.201142307

40. Akiyama K, Chen C, Wang D et al. Mesenchymal-stem-cell-induced immunoregulation involves FAS-ligand-/FAS-mediated T cell apoptosis. *Cell Stem Cell* 2012; 10(5): 544-555. doi: 10.1016/j.stem.2012.03.007

41. Fife BT, Pauken KE. The role of the PD-1 pathway in autoimmunity and peripheral tolerance. *Ann NY Acad Sci* 2011; 1217: 45-59. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05919.x

42. Francisco LM, Sage PT, Sharpe AH. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity *Immunol Rev* 2010; 236: 219-242. doi: 10.1111/j.1600-065X.2010.00923.x

43. McCarthy DP, Bryant J, Galvin JP. Tempering allorecognition to induce transplant tolerance with chemically modified apoptotic donor cells. *Am J Transplant* 2015; 15(6): 1475-1483. doi: 10.1111/ajt.13237

44. Moreau A, Varey E, Bériou G et al. Tolerogenic dendritic cells and negative vaccination in transplantation: from rodents to clinical trials. *Front Immunol* 2012; 3: 218. doi: 10.3389/fimmu.2012.00218

45. Hall BM, Tran GT, Robinson CM et al. Induction of antigen specific CD4(+)CD25(+)Foxp3(+)T regulatory cells from naïve natural thymic derived T regulatory cells. *Int Immunopharmacol* 2015; 28(2): 875-886. doi: 10.1016/j.intimp.2015.03.049

46. Vela-Ojeda J, Montiel-Cervantes L, Granados-Lara P et al. Role of CD4+CD25+highFoxp3+CD62L+ regulatory T cells and invariant NKT cells in human allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Stem Cells Dev* 2010; 19(3): 333-340. doi: 10.1089/scd.2009.0216

47. Lal G, Kulkarni N, Nakayama Y et al. Bromberg J.S. IL-10 from marginal zone precursor B cells controls the differentiation of Th17, Tfh and Tfr cells in transplantation tolerance. *Immunol Lett* 2016; 170: 52-63. doi: 10.1016/j.imlet.2016.01.002

48. Kawai T, Cosimi AB, Wee SL et al. Effect of mixed hematopoietic chimerism on cardiac allograft survival in cynomolgus monkeys. *Transplantation* 2002; 73(11): 1757-1764. doi: 10.1097/00007890-200206150-00011

49. Nadazdin O, Abrahamian G, Boskovic S et al. Stem cell mobilization and collection for induction of mixed chimerism and renal allograft tolerance in cynomolgus monkeys. *J Surg Res* 2011; 168(2): 294-300. doi: 10.1016/j.jss.2010.02.027

50. Peters JH, Hilbrands LB, Koenen HJ et al. Ex vivo generation of human alloantigen-specific regulatory T cells from CD4(pos)CD25(high) T cells for immunotherapy. *PLoS One* 2008; 3(5): e2233. doi: 10.1371/journal.pone.0002233

51. Safinia N, Vaikunthanathan T, Fraser H et al. Successful expansion of functional and stable regulatory T cells for immunotherapy in liver transplantation. *Oncotarget* 2016; 7(7): 7563-7577. doi: 10.18632/oncotarget.6927

52. Thorp EB, Stehlik C, Ansari MJ. T-cell exhaustion in allograft rejection and tolerance. *Curr Opin Organ Transplant* 2015; 20(1): 37-42. doi: 10.1097/MOT.000000000000153

53. Valujskikh A, Li XC. Memory T cells and their exhaustive differentiation in allograft tolerance and rejection. *Curr Opin Organ Transplant* 2012; 17(1): 15-19. doi: 10.1097/MOT.0b013e32834ee443

54. Xia CQ, Campbell KA, Clare-Salzler MJ. Extracorporeal photopheresis-induced immune tolerance: a focus on modulation of antigen-presenting cells and induction of regulatory T cells by apoptotic cells. *Curr Opin Organ Transplant* 2009; 14(4): 338-343. doi: 10.1097/MOT.0b013e32832ce943

55. Кильдюшевский АВ, Федулкина ВА, Фомина ОА, Фомин АМ. Применение экстракорпоральной фотохимиотерапии при лимфомах кожи и трансплантации солидных органов. *Альманах клин мед* 2014; 30: 61-69 [Kil'dushevskii AV, Fedulkina VA, Fomina OA, Fomin AM. Primenenie e'kstrakorporal'noi' fotehimioterapii pri limfomakh kozhi i transplantatsii solidny'kh organov. *Al'manakh clin med* 2014; 30: 61-69]

**Сведения об авторах:**

Ватазин Андрей Владимирович, д.м.н., профессор 129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Руководитель отдела трансплантологии, нефрологии и хирургической гемокоррекции. Тел.: 8-495-684-54-53, E-mail: vatazin@yandex.ru

Andrey V. Vatzin, Prof. MD, PhD, DMedSci, Head of the department of Transplantation, nephrology and Surgical hemocorrection, Moscow Regional Research Clinical Institute named of MF Vladimirsky. Address: 129110 Russia, Moscow, Shchepkina st., 61/2, build. 6 Phone 8-495-684-54-53, E-mail: vatazin@yandex.ru

Кильдюшевский Александр Вадимович, д.м.н., профессор 129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 11. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Ведущий научный сотрудник отделения хирургической гемокоррекции и детоксикации. Тел.: (495) 631-72-82, E-mail: kildushev@yandex.ru

Alexander V. Kildushevskiy, Prof. MD, PhD, DMedSci, Leading researcher of the department of Surgical hemocorrection and detoxification, Moscow Regional Research Clinical Institute named of MF Vladimirsky. Address: 129110 Russia, Moscow, Shchepkina st., 61/2, build. 11. Phone (495) 631-72-82, E-mail: kildushev@yandex.ru

Федулкина Вероника Андреевна, к.м.н.

129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Старший научный сотрудник хирургического отделения трансплантологии и диализа. Тел.: 8-495-684-54-53, E-mail: v.fedulkina@mail.ru

Veronica A. Fedulkina MD, PhD, Senior Researcher of the Surgical department of Transplantation and Dialysis, Moscow Regional Research Clinical Institute named of MF Vladimirsky. Address: 129110 Russia, Moscow, Shchepkina st., 61/2, build. 6. Phone (495) 684-54-53, E-mail: v.fedulkina@mail.ru

Фаенко Александр Павлович

129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 8. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Старший лаборант курса клинической трансфузиологии. Тел.: (495) 631-72-82 E-mail: alexfaenko@mail.ru

Alexander P. Faenko, Senior Assistant of the Department of Clinical Transfusion, Moscow Regional Research Clinical Institute named of MF Vladimirsky. Address: 129110 Russia, Moscow, Shchepkina st., 61/2, build. 8. Phone (495) 631-72-82, E-mail: alexfaenko@mail.ru

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Поступила в редакцию: 10.05.2016 г.

Принята в печать: 12.09.2016 г.

© А.П.Фаенко, А.В.Ватазин, А.В.Кильдюшевский, В.А.Федулкина, 2016  
УДК 616.61-089.843: 615.262

*А.П. Фаенко, А.В. Ватазин, А.В. Кильдюшевский, В.А. Федулкина*

## ФОТОФЕРЕЗ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧЕК

Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского

*A.P. Faenko, A.V. Vatazin, A.V. Kildjushevskiy, V.A. Fedulkina*

## PHOTOPHERESIS DURING KIDNEY TRANSPLANTATION

Moscow regional research and clinical institute n.a. M.F.Vladimirsky

### РЕФЕРАТ

Современная концепция посттрансплантационного ведения больных направлена на редукцию иммуносупрессии, при которой отмечается минимальность побочных действий данных препаратов и не возникает отторжение почечного аллотрансплантата. Одним из методов, способствующих снижению риска отторжения и формированию иммунологической толерантности, является фотоферез. В статье представлен обзор литературных данных по применению фотофереза при трансплантациях солидных органов и приведены механизмы его действия.

**Ключевые слова:** экстракорпоральная фотохимиотерапия, фотоферез, иммунологическая толерантность, отторжение почечного аллотрансплантата.

### ABSTRACT

The modern concept of patient's post-transplantation care is focused on immunosuppression reduction where minimal side effects of these medications is registered and there is no rejection of renal allograft. Photopheresis is one of methods which inspire decrease of allograft rejection and immunotolerance formation.

**Key words:** Extracorporeal photochemotherapy, photopheresis, immunotolerance, renal allograft rejection.

### ВВЕДЕНИЕ

Отторжение почечного аллотрансплантата (ПАТ), несмотря на совершенствование схем иммуносупрессии, остается ведущей причиной дисфункции трансплантата. Приблизительно 5–10% реципиентов в течение 1 года после пересадки почки возвращаются к программам гемодиализа в связи с дисфункцией ПАТ [1], а с удлинением времени после трансплантации таких пациентов становится все больше [2]. Постоянный прием иммуносупрессантов связан с наличием таких осложнений, как гипертония, сахарный диабет, повышенный риск развития инфекций, онкогенез, к тому же, обладая нефротоксичным действием, эти препараты приводят к постепенному угасанию почечной функции [3, 4]. Совершенно другой подход к решению этой проблемы заключается в формировании иммунологической толерантности, при котором иммунная система реципиента избирательно не реагирует на ткани трансплантата при сохранении своих базисных функций – развития воспалительных реакций ко всем остальным чужеродным антигенам. Существуют много инте-

ресных методов и подходов к достижению иммунологической толерантности, из которых наиболее перспективным является экстракорпоральная фотохимиотерапия (ЭФХТ) или фотоферез.

### Экстракорпоральная фотохимиотерапия

ЭФХТ или фотоферез – это метод лечения, в основе которого лежит воздействие активированных ультрафиолетовым светом молекул 8-метоксипсоралена на лимфоциты пациента, предварительно полученные методом лейкоцитафереза, и после возвращенные ему обратно. Впервые метод ЭФХТ был успешно проведен в 1987 г. группой ученых Йельского университета во главе с профессором R.Edelson в качестве терапии Т-клеточной лимфомы кожи [5]. Дальнейшее использование метода показало высокую эффективность при терапии псориаза [6], системной склеродермии [7], вульгарной пузырчатки [8] и ряда других заболеваний [9–12].

ЭФХТ показала высокую эффективность в лечении реакции отторжения при трансплантации солидных органов. Так, Costanzo-Nordin и соавт. [13] продемонстрировали, что лечение фотоферезом купировало острое отторжение сердца у 8 из 9 пациентов, развившееся на 4–6-й месяц после пересадки. Анализ гистологического исследования эндомикардиальной биопсии, взятый до проведе-

Фаенко А.П. 129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 8. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского). Тел: (495) 631-72-82 E-mail: alexfaenko@mail.ru

ния фотофереза и на 7-е сутки после курса лечения, показал значительное снижение инфильтрации трансплантата Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами и макрофагами. Дальнейшее наблюдение за пациентами в течение 6 мес, не выявило каких-либо повторных эпизодов отторжения. Varten и соавт. [14] включили ЭФХТ в стандартный протокол иммуносупрессии при трансплантации сердца и обнаружили снижение частоты развития острого отторжения трансплантата, почечной васкулопатии, а также цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ). Авторы предполагают, что введение такого комбинированного протокола при подборе индивидуальной дозы ЭФХТ в дальнейшем поможет значительно снизить прием иммуносупрессантов [14, 15].

При трансплантации гемопоэтических стволовых клеток ЭФХТ показала высокую эффективность в лечении стероидрезистентных форм реакции трансплантат против хозяина (РТПХ), появление которой обычно связывают с плохим прогнозом выживаемости [16, 17]. В нашей стране А.В. Козлов и соавт. [18] применили ЭФХТ у 114 больных с РТПХ при поражении слизистых оболочек, легких, печени, кишечника. Авторы обнаружили несколько лучший ответ на данную процедуру при лечении хронической формы РТПХ, чем при острой форме. Общая 3-летняя выживаемость больных с хронической РТПХ в случае положительного ответа на терапию ЭФХТ составила 80%, а при отсутствии ответа – 35%; больных с острой РТПХ при положительном ответе – 43%, а при отсутствии его – 12% соответственно. Calore и соавт. [19] в лечении острой РТПХ у 72 детей обнаружили полный ответ на ЭФХТ у 72%, у 11% был частичный ответ и у 17% не было никакого ответа. Общая 5-летняя выживаемость в случае наличия ответа составила 78%, при отсутствии 30%.

Benden и соавт. [20] оценили динамику развития облитерирующего бронхиолита, как предиктора постепенного отторжения легочного трансплантата [21]. Применив ЭФХТ у 12 пациентов при начальных стадиях развития облитерирующего бронхиолита в сравнении с контрольной группой из 12 человек, авторы обнаружили эффективность ЭФХТ в уменьшении регрессии объема форсированного выдоха, тем самым продлевая выживаемость трансплантата, в среднем, на 4,9 года. Jaksch и соавт. [22] применили ЭФХТ у пациентов с тяжелой формой прогрессирующего облитерирующего бронхиолита, что позволило добиться ее регрессии и стабилизации у 61% пациентов с резистентностью к стандартным протоколам иммуносупрессии.

Urbani и соавт. [23] применили ЭФХТ для профилактики отторжения при трансплантации печени. Примечательным является то, что применение этого метода позволило безопасно отсрочить у трети реципиентов начало приема ингибиторов кальциневрина с целью минимизации нефротоксичности на ранних этапах послеоперационного периода. Помимо того, значительно удалось снизить риск как клеточного, так и гуморально-опосредованного отторжения при АВ0-несовместимых трансплантациях: при исследовании биоптатов ни у одного из реципиентов, получавших ЭФХТ, не было зафиксировано признаков острого или хронического отторжения при среднем сроке наблюдения около двух лет [24]. Также у авторов накоплен опыт применения ЭФХТ у реципиентов печени, инфицированных вирусом гепатита С с целью снизить лекарственную иммуносупрессивную нагрузку и повысить эффективность противовирусного лечения комбинацией рибавирина и интерферона. В результате 69% реципиентов завершили курс лечения, а устойчивый вирусологический ответ был достигнут у 50% пациентов [23–25].

По сравнению с количеством зарубежных исследований применения ЭФХТ при трансплантации гемопоэтических клеток костного мозга и сердца известны результаты нескольких небольших исследований, посвященных лечению острого отторжения ПАТ [26, 27]. В МОНКИ им. М.Ф. Владимирского было проведено исследование профилактического применения ЭФХТ при аллотрансплантации трупной почки [28]. Модель исследования была построена по принципу сравнительного анализа между двумя группами больных парного ПАТ, в каждой по 20 человек. В одной группе ведение больных проводилось на стандартной иммуносупрессивной терапии, во второй – использовалась комбинация ЭФХТ со стандартной иммуносупрессией. В группе с применением ЭФХТ отмечалось лучшее функционирование трансплантата на 30-е и 180-е сутки, проявляющееся более высокой скоростью клубочковой фильтрации на 47,2% и меньшей степенью протеинурии. Анализ протокольных биопсий на 30-е и 180-е сутки диагностировал острое отторжение у 4 пациентов группы контроля (без ЭФХТ), в то время как в группе с ЭФХТ картина биопсии соответствовала остаточным явлениям острого канальцевого некроза, выявленного у всех пациентов в биоптате на 30-е сутки после аллотрансплантации трупной почки (АТП). Авторами проведен анализ иммунологических данных, в результате которого выявлено, что применение ЭФХТ приво-

дит к достоверному уменьшению как количества клеток, экспрессирующих коактивационные рецепторы CD28 (с  $57,7 \pm 18,2$  до  $34,5 \pm 11,4\%$ ,  $p < 0,05$ ), так и плотности этих рецепторов на наивных хелперных Т-лимфоцитах (с  $22,7 \pm 6,0$  до  $16,8 \pm 5,1$  ед.,  $p < 0,05$ ), увеличению количества эффекторных цитолитических Т-лимфоцитов в контрольной группе на 17% и снижению на 18,6% в основной группе. Полученные результаты позволили сделать вывод, что применение ЭФХТ приводит к появлению толерантности к антигенам гистосовместимости донорского органа [29].

### Механизмы действия фотофереза

Под влиянием процедур ЭФХТ происходит апоптоз аллореактивных Т-клеток [30], который был продемонстрирован Holtick и соавт. [31] в опытах *in vitro*. Сразу после процедуры ЭФХТ лимфоциты остаются живыми, способными к смешанной лимфоцитарной реакции. Процессы апоптоза начинают наблюдаться только спустя несколько часов после ЭФХТ, достигая максимума к 3-му дню. Во время активации иммунной реакции при РТПХ, реакциях отторжения трансплантата и аутоиммунных заболеваниях аллореактивный клон является доминирующим во всей клеточной популяции лимфоцитов и, по-видимому, оказывается более чувствителен к действию ультрафиолетового излучения в присутствии 8-метоксипсоралена [32]. Так, Nannani и соавт. [33] обнаружили, что активированные Т-клетки (аллореактивный клон) при развитии отторжения трансплантата более чувствительны к фотоферез-индуцированному апоптозу, чем неактивированные Т-клетки, и в них апоптоз происходит быстрее. У пациентов с Т-клеточной лимфомой кожи Yoo и соавт. [34] через 24 ч после ЭФХТ наблюдали апоптоз клеток только в популяции лимфоцитов, включая клетки Сезари, однако моноциты (CD14<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>) оставались целыми.

Setterblad и соавт. [35] на примере РТПХ показали, что через 48 ч после ЭФХТ моноциты также начинают подвергаться апоптозу, достигая 80% лишь к 6-му дню. Такие моноциты до наступления гибели способны к взаимодействию с Т-клетками: презентация молекулами главного комплекса гистосовместимости пептидов, молекулы костимуляции CD40 и CD86, а также молекулы адгезии CD11a, CD54 и CD58 сохранены. Они по-прежнему способны к дифференцировке в дендритные клетки (ДК) под влиянием ГМ-КСФ и ИЛ-4 в течение 6 дней, однако их миграционный потенциал нарушен, что связывают с нарушением экспрессии некоторых молекул, в частности CCR7 (CD197) [36]. После возврата моноцитов

пациенту с нарушенными миграционными свойствами такие клетки подвергаются апоптозу, как и лимфоциты. Вероятно из всей популяции лимфоцитов, непосредственно подвергшихся ЭФХТ, принимают участие в формировании толерантности только те клетки, которые в дальнейшем стали ДК. Клетки, подвергшиеся апоптозу, подобно всем некротическим и мертвым клеткам, ответственны за возникновение воспаления и провоцируют иммунный ответ [32].

Идея использования апоптотических клеток для профилактики и лечения отторжения трансплантата активно изучается в последние годы. Донорские лейкоциты, подверженные апоптозу, содержат большое количество аллоантигена, который способен вызывать иммунорегуляторный сигнал на антигенпредставляющих клетках (АПК) реципиента и способствовать формированию донор-специфической толерантности [37].

В опытах на мышах при трансплантации костного мозга инъекция донорских апоптотических лейкоцитов предупреждала развитие РТПХ и продлевала жизнь трансплантата [38]. Kleinclaus и соавт. [39] в основе формирования толерантности видят образование Т-регуляторных клеток.

Лимфоциты, моноциты и ДК, чувствительные к апоптозу, возвращаясь обратно к пациенту, мигрируют в селезенку и печень, где они фагоцитируются АПК. Повышенная экспрессия CD95 (Fas) и CD95-ligand усиливает апоптоз лимфоцитов через 20 ч после ЭФХТ [40]. При этом важным моментом является тот факт, что апоптозу также подвергаются воспалительные клетки, инфильтрирующие периваскулярное пространство и интерстиций трансплантата [41]. Количество таких апоптотических клеток велико в первые сутки после курса ЭФХТ и затем достаточно быстро уменьшается.

Peritt [42], исследуя ДК, поглотившие апоптотические клетки, обнаружил снижение экспрессии костимулирующей молекулы CD86 и вторичного сигнала ИЛ-12 на их поверхности. Введение апоптотических антител оказывает супрессорную активность на АПК, стимулирует выработку ТФР-β, ИЛ-10 и уменьшает синтез провоспалительных цитокинов ФНОα, ИЛ-1а, ИЛ-1b, ИЛ-6 и ИЛ-12 [43].

Iyoda и соавт. [44] считают, что ДК после фагоцитоза апоптотических клеток являются незрелыми и неспособны в должной мере экспрессировать свои маркеры (CD40, CD80, CD86 и CD83) и МНС, что делает невозможным их взаимодействие с Т-эффекторными лимфоцитами.

Gorgan и соавт. [45], использовав ЭФХТ в ле-

чении 10 пациентов с РТПХ, обнаружили связь между клинической эффективностью фотофереза и увеличением CD3-CD56<sup>+</sup> NK-клеток, нормализацией соотношения CD4/CD8-клеток, сниженной циркуляцией ДК и Т-клеточной пролиферацией (аутологичной и аллогенной) в МЛР-тесте. Они также заметили переход преимущественной дифференцировки Т-хелперов 1-го типа в сторону Т-хелперов 2-го типа и соответственно переход от ДК 1-го типа к ДК 2-го типа. При этом известно, что Тх2-клетки имеют взаимно перекрестную отрицательную регуляцию с Тх1 фенотипа, ингибируя синтез провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 и ФНО $\alpha$ ), и могут играть важную роль в развитии толерантности. Похожую аналогию выявили Baron et al. [46] в лечении криза отторжения при АТПП.

После фагоцитоза апоптотических клеток ДК осуществляют презентацию антигена при помощи МНС II класса с Т-клеточным рецептором (ТкР) CD4-хелперов – первый коактивационный путь. В дальнейшем, в зависимости от типа костимулирующего сигнала от CD4<sup>+</sup>-клеток и состояния микроокружения, при взаимодействии ДК МНС I класса и ТкР CD8<sup>+</sup>-клеток образуются эффектор-ные клетки различной направленности [47].

Многие авторы считают, что основная роль в формировании специфической толерантности принадлежит незрелым дендритным клеткам, полученным в результате ЭФХТ [48, 49].

В МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского была предложена несколько иная модель формирования толерантности в ходе проведения ЭФХТ [29]. В основе этой модели лежит изменение костимулирующего рецептор-лигандного взаимодействия в процессе презентации донорских антигенных пептидов наивным Т-лимфоцитам. Костимуляция Т-лимфоцитов состоит в том, что клетка в дополнение к сигналу, индуцированному через Т-клеточный рецептор, получает второй сигнал, усиливающий пролиферацию и стимулирующий эффекторные функции Т-клеток. В костимуляции принимают участие многие молекулы, однако наиболее значимая роль в этом процессе принадлежит взаимодействию В7-CD28/CTLA-4. В ходе иммунологического исследования при использовании ЭФХТ у больных после АТПП происходило достоверное снижение плотности экспрессии рецепторов коактивации CD27 и CD28 на наивных Т-лимфоцитах в отличие от контрольной группы, где данная процедура не проводилась. Экспрессия молекулы CTLA-4 на наивных Т-лимфоцитах в этих двух группах не отличалась. Так как во взаи-

модействии с лигандами В7 (CD80, CD86), представленных на АПК, принимают участие молекулы CD28 и CTLA-4 на наивных Т-лимфоцитах, то в ходе проведения ЭФХТ происходит смещение костимулирующего сигнала в сторону CTLA-4, ответственного за формирование ингибирующего сигнала на эффекторные аллореактивные Т-клетки и возникновение толерантности.

Vogel et al. [50] в опытах на мышах при модуляции рассеянного склероза изучали влияние блокирования лиганда В7 и избирательного блокирования CTLA-4 на формирование Т-регуляторных клеток (Tregs). В результате было обнаружено, что блокада В7 и CTLA-4 усугубляет признаки заболевания, провоцируя более тяжелое воспаление ЦНС и демиелинизацию, что было связано с повышенным производством провоспалительных цитокинов IL-17 и ИФН- $\gamma$ . В группе блокирования CTLA-4 в дополнение возникало снижение переходного маркера клеточной пролиферации Ki67, экспрессии CTLA-4 и функции Tregs. Таким образом, в отсутствие Tregs происходили увеличение эффекторной функции Т-лимфоцитов и дальнейшее прогрессирование заболевания.

Основная роль в поддержании периферической толерантности принадлежит Tregs, которая была подтверждена многочисленными исследованиями [51, 52].

Помимо Tregs-клеток, в формировании периферической толерантности принимают участие целый набор клеток, в котором один тип клеток способен контролировать активацию другой популяции. Среди них можно выделить Т-клетки, обладающие супрессорной активностью, включающие натуральные CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-клетки, TGF $\beta$  секретирующие Т-клетки, индуцированные Тх3, TGF- $\beta$  и ИЛ-10, секретирующие Т-клетки, активированные Тх1 и некоторыми CD8 Т-клетками и NK-клетками. Многочисленные исследования показали, что CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> может предотвратить активацию аутореактивных Т-клеток и развитие аутоиммунных заболеваний. Сосуществование клеточных маркеров CD4 и CD25 ( $\alpha$ -цепи рецептора IL-10) в одиночку не может представлять супрессорную субпопуляцию, поскольку большая часть CD4<sup>+</sup>-клеток (20–40%) выражают средний уровень CD25 (CD25<sup>int</sup>) и не обладают должной активностью. Только небольшая популяция (0,8–1%) выражает высокие уровни CD25 (CD25<sup>hi</sup>), которая на самом деле является истинной Tregs [53].

Другим маркером, который может помочь идентифицировать Tregs, является Foxp3 (80% Foxp3<sup>+</sup>-клеточные Т-регистры) [54].

Супрессорная активность Tregs обычно зависит от активации их ТкР (т.е. является антиген-зависимой), которая препятствует пролиферации CD4 + Т-клеток, а также снижает синтез провоспалительных цитокинов и способна подавлять действие CD8+-клеток, дендритных клеток, В-клеток и NK-клеток. Роль Tregs активно была продемонстрирована в моделях рассеянного склероза [55].

Влияние роли Tregs также было доказано в области трансплантации. Передача CD25+-клеток у мышей, толерантных к коже трансплантата, другой группе мышей вызывает специфическую толерантность [56].

При пересадке костного мозга первая демонстрация роли Tregs была обнаружена в ускорении развития РТПХ-осложнений при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) и Т-клеток донора, обедненных Tregs-клетками, которые вводили пациенту после тотальной химиотерапии [57].

Rubegni и соавт. [58] сообщили об увеличении CD4+CD25hi-лимфоцитов у 14 больных с хронической РТПХ, возникающей через 48 ч после проведения ЭФХТ, а также через 6 и 12 мес.

В другом исследовании у 6 пациентов после пересадки легких также отмечалось увеличение CD4+CD25hi Т-клеток после проведения курса ЭФХТ [59].

Многочисленные исследования в области механизмов действия и высокой клинической эффективности позволили рекомендовать ЭФХТ в качестве терапии второй линии в профилактике и лечении трансплантационных отторжений [10, 11, 32].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Посттрансплантационный период ведения больных всегда сопряжен с большим риском развития отторжения почечного аллотрансплантата. Совершенствование протоколов иммуносупрессии помогло значительно отодвинуть сроки позднего отторжения, однако их прием сопряжен с различными осложнениями: высоким риском смертности от сердечно-сосудистых заболеваний, развитием инфекций, онкозаболеваний, сахарного диабета, медикаментозной нефротоксичностью и т.д. Постоянно увеличивающееся количество пациентов, нуждающихся в трансплантации, снижает шанс на повторную трансплантацию, поэтому весьма перспективной задачей является продление сроков и качества функционирующих трансплантатов.

Формирование иммунологической толерантности к трансплантату – совершенно иной подход

к борьбе с отторжением ПАТ. При ее достижении станет возможным полностью или частично отказаться от иммуносупрессантов, что поможет избежать осложнений, связанных с их применением.

Среди множества методов достижения иммунологической толерантности наиболее перспективным является эфферентная фотохимиотерапия, или фотоферез. Данный метод показал высокую эффективность в лечении кризов острого и хронического отторжения при трансплантации солидных органов и гемопоэтических стволовых кроветворных клеток (СКК). Высокая клиническая эффективность фотофереза, прежде всего, характеризуется отсутствием усиления иммуносупрессии, при проведении данного метода не было выявлено каких-либо специфических осложнений. Многоцентровые исследования, посвященные использованию этого метода при трансплантации сердца, легких и СКК, позволили рекомендовать данный метод в качестве терапии 2-й линии при развитии отторжения трансплантированных органов [10, 11].

При анализе мировой литературы обнаружено небольшое количество публикаций, посвященных профилактическому применению ЭФХТ в раннем посттрансплантационном периоде [23, 28]. Их результаты показали значительное улучшение выживаемости и функционирования трансплантатов при снижении различных осложнений в ближайшем посттрансплантационном периоде. По-прежнему остаются неясными длительность и полнота формирования толерантности в отдаленном периоде. Остаются вопросы в определении эффективной дозы ЭФХТ. Не изучены также вопросы о необходимости проведения дополнительных процедур для поддержания толерантности и существуют ли возможности, критерии для снижения иммуносупрессии.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Лубенников АЕ, Трушкин РН, Артюхина ЛЮ. Современные взгляды на проблему удаления почечного трансплантата. *Московск хирург журн* 2014; 4: 49-56 [Lubennikov AE, Trushkin RN, Artyukhina LY Sovremennye vzglyady na problemu udaleniya pochechnogo transplantata. *Moskovskii khirurgicheskii zhurnal*. 2014; 4: 49-56]
2. Johnston O, Rose C, Landsberg D et al. Nephrectomy after transplant failure: current practice and outcomes. *Am J Transplant* 2007; 7(8): 1961-1967. doi: 10.1111/j.1600-6143.2007.01884.x
3. Zamboni JP, Magalhaes RS, Ko I et al. Kidney regeneration: Where we are and future perspectives. *World J Nephrol* 2014; 3(3): 24-30. doi: 10.5527/wjn.v3.i3.24
4. Yu H, Kim HS, Baek CH et al. Risk Factors for Hypertension After Living Donor Kidney Transplantation in Korea: A Multivariate Analysis. *Transplant Proc* 2016; 48(1): 88-91. doi: 10.1016/j.transproceed.2015.12.020
5. Peter W, Edelson RL. New Therapies for Cutaneous T-Cell

- Lymphoma. *Arch Dermatol* 1987; 123(2): 189-191. doi:10.1001/archderm.1987.01660260059012
6. Otman SG, Edwards C, Pearse AD et al. Modulation of ultraviolet (UV) transmission by emollients: relevance to narrowband UVB phototherapy and psoralen plus UVA photochemotherapy. *Br J Dermatol* 2006; 154(5): 963-8. doi: 10.1111/j.1365-2133.2006.07171.x
  7. Jung AG, Bertsch HP, Schoen MP et al. A rare case of a sclerodermoid chronic graft versus host disease. Successful treatment with extracorporeal photopheresis (ECP). *Hautarzt* 2010; 61(6): 514-517. doi: 10.1007/s00105-010-1924-9
  8. Andreu-Ullrich H. Miscellaneous indications for extracorporeal photochemotherapy (ECP). *Transfus Apher Sci* 2014;50(3): 363-369. doi: 10.1016/j.transci.2014.04.007
  9. Adamski J, Kinard T, Ipe T et al. Extracorporeal photopheresis for the treatment of autoimmune diseases. *Transfus Apher Sci* 2015; 52(2): 171-182. doi: 10.1016/j.transci.2015.02.005
  10. Knobler R, Berlin G, Calzavara-Pinton P et al. Guidelines on the use of extracorporeal photopheresis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014; 28(1): 1-37. doi: 10.1111/jdv.12311
  11. Perotti C, Sniecinski I. A concise review on extracorporeal photochemotherapy: Where we began and where we are now and where are we going! *Transfus Apher Sci* 2015; 52(3): 360-368. doi: 10.1016/j.transci.2015.04.011
  12. Schwartz J, Winters JL, Padmanabhan A et al. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice-evidence-based approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: the sixth special issue. *J Clin Apher* 2013; 28(3): 145-284. doi: 10.1002/jca.21276
  13. Costanzo-Nordin MR, Hubbell EA, O'Sullivan EJ et al. Successful treatment of heart transplant rejection with photopheresis. *Transplantation* 1992; 53(4): 808-815. doi: 10.1097/00007890-199204000-00021
  14. Barten MJ, Dieterlen MT. Extracorporeal photopheresis after heart transplantation. *Immunotherapy* 2014;6(8):927-944. doi: 10.2217/imt.14.69
  15. Dieterlen MT, Bittner HB, Pierzchalski A et al. Immunological monitoring of extracorporeal photopheresis after heart transplantation. *Clin Exp Immunol* 2014; 176(1): 120-128. doi: 10.1111/cei.12254
  16. Kapadia E, Wong E, Perez-Albuerna E et al. Extracorporeal photopheresis performed on the CELLEX® compared with the UVAR-XTS® instrument is more efficient and better tolerated in children with steroid-refractory graft-versus-host disease. *Pediatr Blood Cancer* 2015; 62(8): 1485-1488. doi: 10.1002/pbc.25487
  17. Kitko CL, Levine JE. Extracorporeal photopheresis in prevention and treatment of acute GVHD. *Transfus Apher Sci* 2015; 52(2): 151-156. doi: 10.1016/j.transci.2015.02.001
  18. Козлов АВ, Быкова ТА, Кулагина ИИ и др. Экстракорпоральный фотоферез в лечении реакции «трансплантат против хозяина». *Гематол и трансфузиол* 2014; 59(1): 47 [Kozlov AV, Bykova TA, Kulagina II et al. E'kstrakorporal'ny'i' fotoferez v lechenii reakcii «transplantat protiv hoziaina». *Gematol i transfuziol* 2014; 59(1): 47]
  19. Calore E, Marson P, Pillon M et al. Treatment of Acute Graft-versus-Host Disease in Childhood with Extracorporeal Photochemotherapy/Photopheresis: The Padova Experience. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(11): 1963-1972. doi: 10.1016/j.bbmt.2015.07.007
  20. Benden C, Speich R, Hofbauer GF et al. Extracorporeal photopheresis after lung transplantation: a 10-year single-center experience. *Transplantation* 2008; 86(11): 1625-1627. doi: 10.1097/TP.0b013e31818bc024
  21. Sato M, Waddell TK, Wagnetz U et al. Restrictive allograft syndrome (RAS): a novel form of chronic lung allograft dysfunction. *J Heart Lung Transplant* 2011; 30(7): 735-742. doi: 10.1016/j.healun.2011.01.712
  22. Jaksch P, Scheed A, Keplinger M et al. A prospective interventional study on the use of extracorporeal photopheresis in patients with bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2012; 31(9): 950-957. doi: 10.1016/j.healun.2012.05.002
  23. Urbani L, Mazzoni A, Colombatto P et al. Potential applications of extracorporeal photopheresis in liver transplantation. *Transplant Proc* 2008; 40(4): 1175-1178. doi: 10.1016/j.transproceed.2008.03.071
  24. Urbani L, Mazzoni A, Bianco I et al. The role of immunomodulation in ABO-incompatible adult liver transplant recipients. *J Clin Apher* 2008; 23(2): 55-62. doi: 10.1002/jca.20156
  25. Urbani L, Mazzoni A, Bindi L et al. A single-staggered dose of calcineurin inhibitor may be associated with neurotoxicity and nephrotoxicity immediately after liver transplantation. *Clin Transplant* 2009; 23(6): 853-860. doi: 10.1111/j.1399-0012.2009.00957.x
  26. Baron ED, Heeger PS, Hricik DE et al. Immunomodulatory effect of extracorporeal photopheresis after successful treatment of resistant renal allograft rejection. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2001; 17(2): 79-82. doi: 10.1034/j.1600-0781.2001.017002079.x
  27. Kusztal M, Klak R, Krajewska M et al. Application of extracorporeal photopheresis in kidney transplant recipients: technical considerations and procedure tolerance. *Transplant Proc* 2011; 43(8): 2941-2942. doi: 10.1016/j.transproceed.2011.08.034
  28. Федулкина ВА, Ватазин АВ, Кильдюшевский АВ и др. Трансляционная клеточная иммунотерапия при аллотрансплантации трупной почки у урологических больных. *Альманах клин мед* 2013; 28: 25-31 [Fedulkina V.A., Vatazin A.V., Kildyushevskii A.V. et al. Translational cellular immunotherapy for cadaveric kidney allograft in urological patients. *Almanac of Clinical Medicine*. 2013; 28: 25-31]
  29. Кильдюшевский АВ, Федулкина ВА, Фомина ОА и др. Применение экстракорпоральной фотохимиотерапии при лимфомах кожи и трансплантации солидных органов. *Альманах клин мед* 2014; 30: 61-69 [Kildyushevskiy AV, Fedulkina VA, Fomina OA et al. Application of extracorporeal photochemotherapy in skin lymphomas and transplantation of solid organs. *Almanac of Clinical Medicine* 2014; 30: 61-69]
  30. Schmid D, Grabmer C, Streif D et al. T-cell death, phosphatidylserine exposure and reduced proliferation rate to validate extracorporeal photochemotherapy. *Vox Sang* 2015; 108(1): 82-88. doi: 10.1111/vox.12200
  31. Holtick U, Wang XN, Marshall SR et al. In vitro PUVA treatment preferentially induces apoptosis in alloactivated T cells. *Transplantation* 2012; 94(5): 31-34. doi: 10.1097/TP.0b013e31825f4454
  32. Heshmati F. Updating ECP action mechanisms. *Transfus Apher Sci* 2014; 50(3): 330-339. doi: 10.1016/j.transci.2014.04.003
  33. Hannani D, Merlin E, Gabert F et al. Photochemotherapy induces a faster apoptosis of all reactive activated T cells than of nonalloreactive resting T cells in GvHD. *Transplantation* 2010; 90(11): 1232-1238. doi: 10.1097/TP.0b013e3181fa4eb6
  34. Yoo EK, Rook AH, Elenitsas R et al. Apoptosis induction of ultraviolet light A and photochemotherapy in cutaneous T-cell Lymphoma: relevance to mechanism of therapeutic action. *J Invest Dermatol* 1996; 107(2): 235-242. doi: 10.1111/1523-1747.ep12329711
  35. Setterblad N, Garban F, Weigl R et al. Extracorporeal photopheresis increases sensitivity of monocytes from patients with graft-versus-host disease to HLA-DR-mediated cell death. *Transfusion* 2007; 48(1): 169-177. doi: 10.1111/j.1537-2995.2007.01502.x
  36. Usharauli D. Dendritic cells and the immunity/tolerance decision. *Med Hypotheses* 2005; 64(1): 112-113. doi: 10.1016/j.mehy.2004.02.061
  37. Morelli AE. The immune regulatory effect of apoptotic cells and exosomes on dendritic cells: its impact on transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6(2): 254-261. doi: 10.1111/j.1600-6143.2005.01197.x
  38. Bittencourt MC, Perruche S, Contassot E et al. Intravenous injection of apoptotic leukocytes enhances bone marrow engraftment across major histocompatibility barriers. *Blood* 2001; 98(1): 224-230. doi: 10.1182/blood.V98.1.224
  39. Kleinclauss F, Perruche S, Masson E et al. Intravenous apoptotic spleen cell infusion induces a TGF-beta-dependent regulatory T-cell expansion. *Cell Death Differ* 2005; 13(1): 41-52. doi:10.1038/sj.cdd.4401699

40. Morelli AE, Larregina AT, Shufesky WJ et al. Internalization of circulating apoptotic cells by splenic marginal zone dendritic cells: dependence on complement receptors and effect on cytokine production. *Blood* 2003; 101(2): 611-620. doi: 10.1182/blood-2002-06-1769
41. Hannani D, Merlin E, Gabert F et al. Photochemotherapy induces a faster apoptosis of alloreactive activated T cells than of nonalloreactive resting T cells in graft versus host disease. *Transplantation* 2010; 90(11): 1232-1238. doi: 10.1097/TP.0b013e3181fa4eb6
42. Peritt D. Potential mechanisms of action of photopheresis in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplantation* 2006; 12: 7-12. doi: 10.1016/j.bbmt.2005.11.005
43. Martin PJ. Biology of chronic graft-versus-host disease: implications for a future therapeutic approach. *Keio J Med* 2008; 57(4): 177-183. doi: 10.2302/kjm.57.177
44. Iyoda T, Shimoyama S, Liu K et al. The CD8+ dendritic cell subset selectively endocytoses dying cells in culture and in vivo. *J Exp Med* 2002; 195(10): 1289-1302. doi: 10.1084/jem.20020161
45. Gorgun G, Miller KB, Foss FM. Immunologic mechanisms of extracorporeal photochemotherapy in chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2002; 100(3): 941-947. doi: 10.1182/blood-2002-01-0068
46. Baron ED, Heeger PS, Hricik DE et al. Immunomodulatory effect of extracorporeal photopheresis after successful treatment of resistant renal allograft rejection. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2001; 17(2): 79-82. doi: 10.1034/j.1600-0781.2001.017002079.x
47. Inaba K, Turley S, Yamaide F et al. Efficient presentation of phagocytosed cellular fragments on the major histocompatibility complex class II products of dendritic cells. *J Exp Med* 1998; 188(11): 2163-2173. doi: 10.1084/jem.188.11.2163
48. Dhodapkar MV, Steinman RM. Antigen-bearing immature dendritic cells induce peptide-specific CD8(+) regulatory T cells in vivo in humans. *Blood* 2002; 100(1): 174-177. doi: 10.1182/blood.V100.1.174
49. Spisek R, Gasova Z, Bartunkova J. Maturation state of dendritic cells during the extracorporeal photopheresis and its relevance for the treatment of chronic graft-versus-host disease. *Transfusion* 2006; 46(1): 55-65. doi: 10.1111/j.1537-2995.2005.00670.x
50. Vogel I, Kasran A, Cremer J et al. CD28/CTLA-4/B7 costimulatory pathway blockade affects regulatory T-cell function in autoimmunity. *Eur J Immunol* 2015; 45(6): 1832-1841. doi: 10.1002/eji.201445190
51. Coutinho A, Caramalho I, Seixas E et al. Thymic commitment of regulatory T cells is a pathway of TCR-dependent selection that isolates repertoires undergoing positive or negative selection. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 2005; 293: 43-71. doi: 10.1007/3-540-27702-1\_3
52. Hu G, Liu Z, Zheng C et al. Antigen-non-specific regulation centered on CD25+Foxp3+ Treg cells. *Cell Mol Immunol* 2010; 7(6): 414-418. doi: 10.1038/cmi.2010.39
53. Viglietta V, Baecher-Allan C, Weiner HL et al. Loss of functional suppression by CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J Exp Med* 2004; 199(7): 971-979. doi: 10.1084/jem.20031579
54. Yang XF. Factors regulating apoptosis and homeostasis of CD4+ CD25(high) FOXP3+ regulatory T cells are new therapeutic targets. *Front Biosci* 2008; 13: 1472-1499. doi: 10.2741/2775
55. Dhaeze T, Peelen E, Hombrouck A et al. Circulating Follicular Regulatory T Cells Are Defective in Multiple Sclerosis. *J Immunol* 2015; 195(3): 832-840. doi: 10.4049/jimmunol.1500759
56. Hara M, Kingsley CI, Niimi M et al. IL-10 is required for regulatory T cells to mediate tolerance to alloantigens in vivo. *J Immunol* 2001; 166(6): 3789-3796. doi: 10.4049/jimmunol.166.6.3789
57. Cohen JL, Trenado A, Vasey D et al. CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T Cells: new therapeutics for graft-versus-host disease. *J Exp Med* 2002; 196(3): 401-406. doi: 10.1084/jem.20020090
58. Biagi E, Di Biaso I, Leoni V et al. Extracorporeal photochemotherapy is accompanied by increasing levels of circulating CD4+CD25+GITR+Foxp3+CD62L+ functional regulatory T-cells in patients with graft-versus-host disease. *Transplantation* 2007; 84(1): 31-39
59. Meloni F, Cascina A, Miserere S et al. Peripheral CD4(+) CD25(+) TREG cell counts and the response to extracorporeal photopheresis in lung transplant recipients. *Transplant Proc* 2007; 39(1): 213-217. doi: 10.1016/j.transproceed.2006.10.227

#### Сведения об авторах:

Фаенко Александр Павлович

129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 8. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Старший лаборант курса клинической трансфузиологии. Тел: (495) 631-72-82, E-mail: alexfaenko@mail.ru

Alexander P. Faenko, Senior Assistant of the Department of Clinical Transfusion, Moscow Regional Research Clinical Institute named of MF Vladimirsky. Address: 129110 Russia, Moscow, Shchepkina st., 61/2, build. 8. Phone (495) 631-72-82, E-mail: alexfaenko@mail.ru

Ватазин Андрей Владимирович, д.м.н., профессор  
129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Руководитель отдела трансплантологии, нефрологии и хирургической гемокоррекции. Тел.: 8-495-684-54-53, E-mail: vatazin@yandex.ru

Andrey V. Vatzin, Prof. MD, PhD, DMedSci, Head of the department of Transplantation, nephrology and Surgical hemocorrection, Moscow Regional Research Clinical Institute named of MF Vladimirsky. Address: 129110 Russia, Moscow, Shchepkina st., 61/2, build. 6 Phone 8-495-684-54-53, E-mail: vatazin@yandex.ru

Кильдюшевский Александр Вадимович, д.м.н., профессор  
129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 11. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Ведущий научный сотрудник отделения хирургической гемокоррекции и детоксикации. Тел.: (495) 631-72-82, E-mail: kildushev@yandex.ru

Alexander V. Kildushevskiy, Prof. MD, PhD, DMedSci, Leading researcher of the department of Surgical hemocorrection and detoxification, Moscow Regional Research Clinical Institute named of MF Vladimirsky. Address: 129110 Russia, Moscow, Shchepkina st., 61/2, build. 11. Phone (495) 631-72-82, E-mail: kildushev@yandex.ru

Федулкина Вероника Андреевна, к.м.н.,  
129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Старший научный сотрудник хирургического отделения трансплантологии и диализа. Тел.: 8-495-684-54-53, E-mail: v.fedulkina@mail.ru  
Veronica A. Fedulkina MD, PhD, Senior Researcher of the Surgical department of Transplantation and Dialysis, Moscow Regional Research Clinical Institute named of MF Vladimirsky. Address: 129110 Russia, Moscow, Shchepkina st., 61/2, build. 6. Phone (495) 684-54-53, E-mail: v.fedulkina@mail.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию: 05.05.2016 г.

Принята в печать: 12.09.2016 г.

© О.Н.Ветчинникова, Е.В.Шестеро, Е.А.Егорова, 2016  
УДК 616.61- 089.843-06 : 616.71-003.85

О.Н. Ветчинникова<sup>1,2</sup>, Е.В. Шестеро<sup>2</sup>, Е.А. Егорова<sup>3</sup>

## МИНЕРАЛЬНО-КОСТНЫЕ НАРУШЕНИЯ У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

<sup>1</sup>Отделение трансплантологии и диализа, <sup>2</sup>кафедра трансплантологии нефрологии и искусственных органов, <sup>3</sup>лабораторный отдел Московского областного научно-исследовательского клинического институт им. М.Ф.Владимирского, Россия

O.N. Vetchinnikova<sup>1,2</sup>, E.V. Shestero<sup>2</sup>, E.A. Egorova<sup>3</sup>

## MINERAL AND BONE DISORDERS IN RENAL TRANSPLANT RECIPIENTS

<sup>1</sup>Department of Transplantology and Dialysis, <sup>2</sup>Department of Transplantology, Nephrology and Artificial Organs, <sup>3</sup>Laboratory Department Moscow Regional Clinical and Research Institute n.a. M.F. Vladimirovsky, Russian Federation

### РЕФЕРАТ

**ЦЕЛЬ** – оценить распространенность и тяжесть минерально-костного обмена у пациентов с хронической болезнью почек (ХБП), перенесших трансплантацию почки. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** В исследование включены 77 больных (32 мужчины, 45 женщин, медиана возраста 44 года) с ХБП, перенесших трансплантацию трупной почки с 2011 по 2015 г. Сывороточные концентрации электролитов, активности общей щелочной фосфатазы (ЩФ), альбумина, параметров азотистого метаболизма определяли по стандартным методикам, паратиреоидный гормон (ПТГ) и витамин D (25-ОН витамин D) в плазме крови – хемилюминесцентным иммуноанализом на системе ARCHITECT. Проведен перерасчет сывороточной концентрации кальция на сывороточную концентрацию альбумина, скорость клубочковой фильтрации (СКФ) рассчитана по формуле СКД-EPI. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Гиперкальциемия, гипофосфатемия, гипомагниемия и высокий уровень ПТГ диагностированы у 15,6, 16,9, 16,9 и 87% соответственно. Определялась высокодостоверная разница между содержанием ПТГ в крови у пациентов с нормальной и сниженной функцией почечного трансплантата. Уровень витамина D в крови колебался от 6 до 30 нг/мл (медиана 14), только один пациент имел рекомендуемый диапазон ( $\geq 30$  нг/мл). Установлена обратная корреляционная зависимость ПТГ с СКФ ( $r=-0,543$ ,  $p<0,001$ ) и с сывороточной концентрацией магния ( $r=-0,241$ ,  $p=0,04$ ), прямая с активностью общей ЩФ ( $r=0,280$ ,  $p=0,015$ ). Не установлено ассоциативной связи между содержанием в крови ПТГ и сывороточными концентрациями фосфора и кальция. Определялась слабая корреляционная связь между сывороточной концентрацией фосфора и СКФ ( $r=-0,232$ ,  $p=0,04$ ), между активностью ЩФ и СКФ ( $r=0,267$ ,  $p=0,02$ ) и между сывороточной концентрацией магния и СКФ ( $r=0,230$ ,  $p=0,05$ ). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** К распространенным проявлениям минерально-костных нарушений у реципиентов почечного трансплантата относятся пре и посттрансплантационный гиперпаратиреоз, развитие/прогрессирование которого ассоциируется с гипомагниемией, ухудшением функции почки, а также дефицит витамина D.

**Ключевые слова:** трансплантация почки, минеральный обмен, посттрансплантационный гиперпаратиреоз.

### ABSTRACT

**THE AIM** of the study was to determine the prevalence and severity of mineral and bone metabolism in patients with chronic kidney disease (CKD) undergoing renal transplant. **PATIENTS AND METHODS.** The study included 77 patients (32 men, 45 women, mean age 44) with CKD who underwent transplantation of cadaveric kidneys from 2011 to 2015. Serum concentrations of electrolytes, the activity of total alkaline phosphatase (ALP), albumin, nitrogen metabolism parameters were determined by standard methods, blood concentrations of parathyroid hormone (PTH) and vitamin D (25-OH vitamin D) – by chemiluminescent analysis on ARCHITECT-system. Serum calcium on serum albumin is reassessed, glomerular filtration rate (GFR) is calculated according to the formula CKD-EPI. **RESULTS.** Hypercalcemia, hypophosphatemia, hypomagnesemia and a high level of PTH respectively diagnosed in 15.6%, 16.9%, 16.9% and 87% patients. There was the high significant difference between blood PTH in patients with normal renal function and reduced renal graft function. The blood level of vitamin D ranged from 6 to 30 ng/mL (median 14), only one patient was in a recommended range ( $\geq 30$  ng/ml). There was the invert correlation of PTH with GFR ( $r=-0.543$ ,  $p<0.001$ ) and serum magnesium ( $r=-0.241$ ,  $p=0.04$ ), direct correlation with total ALP activity ( $r=0.280$ ,  $p=0.015$ ). The blood PTH is not associated with serum calcium and phosphorus. There was weak invert correlation between serum phosphorus and GFR ( $r=-0.232$ ,  $p=0.04$ ), between ALP activity and GFR ( $r=-0.267$ ,  $p=0.02$ ) and between serum magnesium and GFR ( $r=-0.230$ ,  $p=0.05$ ). **CONCLUSION.** Common manifestations of mineral and bone disorders in renal transplant recipients are pre- and post-transplantation hyperparathyroidism, which development/progression is associated with hypomagnesemia, deterioration of kidney function, as well as deficiency of vitamin D.

**Key words:** kidney transplantation, mineral metabolism, post-transplantation hyperparathyroidism.

Ветчинникова О.Н. 129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского». Тел. 8 (495) 684-57-91, E-mail: olg-vetchinnikova@yandex.ru

## ВВЕДЕНИЕ

Совершенствование стратегии и тактики хирургических пособий, иммуносупрессивной терапии, профилактики и лечения инфекционных осложнений значительно улучшили ближайшие и отдаленные результаты трансплантации почки у пациентов, страдающих хронической болезнью почек (ХБП). Увеличение продолжительности жизни реципиентов почечного трансплантата обозначили для нефрологов другие задачи – предупреждение развития, коррекцию и замедление прогрессирования сердечно-сосудистой патологии, онкологических заболеваний, минерально-костных нарушений и др.

Успешная трансплантация почки нивелирует многие эндокринно-метаболические расстройства, свойственные ХБП, однако у некоторых реципиентов сохраняются те или иные отклонения в минерально-костном метаболизме. К наиболее частым диагностическим «находкам» относятся гипофосфатемия, гиперкальциемия и повышенная функция околотитовидных желез (ОЦЖ) – персистирующий/третичный гиперпаратиреоз (ГПТ) [1–3].

Синдром гипофосфатемии, обусловленный повышенной мочевой экскрецией фосфора, встречается у большинства реципиентов в раннем послеоперационном периоде, но может персистировать в течение нескольких лет. Согласно современным воззрениям многих исследователей, сохраняющийся высокий уровень фактора роста фибробластов-23 (ФРФ-23) в посттрансплантационном периоде – так называемый феномен «гиперфосфатонинизма» – является ведущим в генезе гипофосфатемии [4–6]. Интересны результаты одного из первых российских исследований, показавшие обратную корреляционную зависимость между ФРФ-23 и сывороточным фосфором у реципиентов на втором году после трансплантации почки и прямую – в более позднем посттрансплантационном периоде [7]. В то же время, японское исследование, включившее 34 реципиента почечного трансплантата от живого донора, обнаружило между содержанием фосфора и ФРФ-23 в крови очень слабую корреляционную связь и только в первые два послеоперационных месяца [3]. При многофакторном анализе сывороточная концентрация фосфора в первый посттрансплантационный год находилась в тесной отрицательной корреляционной зависимости исключительно с содержанием в крови паратиреоидного гормона (ПТГ) ( $p < 0,001$ ). Но независимо от причины формирования посттрансплантационной гипофосфа-

темии, длительное её существование приводит к неблагоприятным последствиям и со стороны костно-мышечной системы (остеопороз), и со стороны функционирующего почечного трансплантата, особенно при сопутствующей гиперкальциемии (нефрокальциноз) [8].

Гиперкальциемия регистрируется более чем в 50% случаев в первые три месяца после успешной трансплантации почки и в 5–10% случаев в течение первого года. Существуют несколько предположений о причинах развития посттрансплантационной гиперкальциемии – рассасывания очагов внескелетной кальцификации, уменьшение запасов фосфора в организме, восстановление кальциемического ответа кости на действие ПТГ, но в упомянутом японском исследовании единственным фактором, ответственным за посттрансплантационную гиперкальциемию, оказался уровень ПТГ в крови ( $p < 0,001$ ) [3].

Повышенная функция ОЦЖ встречается у 17–18% реципиентов почечного трансплантата, у половины из них она сочетается с гиперкальциемией. К установленным факторам риска третичного ГПТ относят длительную диализную терапию, предшествующую трансплантации почки, и тяжелое течение вторичного ГПТ, особенно при субоптимальной функции трансплантированной почки, но обсуждаются и другие возможные причины [2, 9–11].

В целом же исследований, в том числе отечественных, посвященных анализу состояния минерально-костного метаболизма у реципиентов почечного трансплантата, не так много, а их результаты не однозначны. В связи с этим целью настоящего исследования явилась оценка распространенности и тяжести минерального обмена и костного метаболизма у больных с ХБП, перенесших трансплантацию почки.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В проспективное исследование включены 77 больных с ХБП, перенесших трансплантацию трупной почки в отделении трансплантологии и диализа ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» в период с 2011 по 2015 г. Критерии включения: 1) длительность посттрансплантационного периода на момент включения в исследование не менее 11–12 мес и не более 60 мес (для получения максимальной информации о минерально-костных нарушениях в предтрансплантационном периоде); 2) стабильная функция почечного трансплантата в течение 12 мес до

момента включения в исследование. Критерии исключения: 1) перенесенная паратиреоидэктомия в пред- или посттрансплантационном периоде; 2) терапия препаратами витамина D или цинакалцетом на момент включения в исследование.

Демографическая и клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в табл. 1.

Все пациенты имели недиабетическую нефропатию длительностью, включая додиализную ХБП, от нескольких до 25–30 лет; у большинства пациентов диагностирован хронический гломерулонефрит с гистологическим подтверждением в нескольких случаях. В претрансплантационном периоде преобладающей модальностью диализной терапии был гемодиализ. Длительность удо-

влетворительной функции первичного почечного трансплантата у двух пациентов составила 42 и 36 мес, у третьего – трансплантатэктомия выполнена на третьи сутки после операции из-за тромбоза почечной артерии. В целом медиана общей продолжительности заместительной почечной терапии перед трансплантацией почки, включая двух пациентов с первичной трансплантацией почки, составила 15 (0–104) мес.

Индукционная иммуносупрессивная терапия включала введение базиликсимаба в суммарной дозе 40 мг и метилпреднизолона в суммарной дозе 1,5 г, базисная – преднизолон (30 мг/сут с последующим снижением дозы до поддерживающей – 5–10 мг/сут), ингибитор кальцинейрина (циклоsporин А, такролимус под контролем плазменной концентрации препарата), препарат группы микофенолатов.

Информация о состоянии минерального метаболизма в претрансплантационном периоде по результатам опроса и анализа медицинской документации получена для 56 пациентов. ГПТ диагностирован у 25 больных: легкого (ПТГ до 800 пг/мл) течения – у 5, среднетяжелого (800–1000 пг/мл) – у 9 и тяжелого (>1000 пг/мл) – у 11 больных; гиперфосфатемия определялась у 11 и гиперкальциемия – у 7 больных; лечение цинакалцетом проводилось у 5, альфакальцидолом и кальцитриолом – у 15 больных.

Сывороточные концентрации электролитов, активности общей щелочной фосфатазы (ЩФ), альбумина, параметров азотистого метаболизма и концентрацию белка в моче определяли по стандартным методикам, паратиреоидный гормон (ПТГ) и витамин D (25(OH)D) в плазме крови – хемилюминесцентным иммуноанализом на системе «ARCHITECT». Проведен перерасчет сывороточной концентрации кальция на сывороточную концентрацию альбумина [12]. Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) рассчитана по формуле CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration [13]). Обследование больных выполнено дважды с интервалом 1–8 мес (медиана 6).

Статистический анализ результатов выполняли с использованием пакета прикладных статистических программ «Statistica v. 6.0». Результаты исследования представлены как медиана [минимальное – максимальное значение]. Для проверки гипотезы о соответствии распределения нормальному закону применялся одновыборочный критерий Колмогорова–Смирнова. В группах с распределением, отличным от нормального, применены непараметрические критерии. Использованы

Таблица 1

### Демографическая и клиническая характеристика реципиентов почечного трансплантата

Параметр	Все больные (n=77)
Пол, М/Ж	32 (41,6%)/ 45 (58,4%)
Возраст, лет [медиана (мин. – макс.)]	44 (21–66)
Заболевание почек, число больных	
Хронический гломерулонефрит	43 (55,8%)
Гломерулонефрит при системных заболеваниях (системная красная волчанка, системный васкулит)	6 (7,8%)
Поликистоз почек	15 (19,5%)
Хронический интерстициальный нефрит	4 (5,2%)
Врожденная (наследственная) нефропатия	4 (5,2%)
Прочие (гипертонический нефросклероз, амилоидоз гемолитико-уремический синдром и др.)	5 (6,5%)
Модальность диализа, число больных	
Гемодиализ	49 (63,6%)
Перитонеальный диализ	20 (26,0%)
Гемодиализ + перитонеальный диализ	3 (3,9%)
Без диализа	5 (6,5%)
Длительность диализной терапии, мес [медиана (мин. – макс.)]	
Гемодиализ	19 (2–104)
Перитонеальный диализ	9 (1–53)
Гемодиализ + перитонеальный диализ	23 (14–44)
Трансплантация почки, число больных	
Первичная	74 (96,1%)
Повторная	3 (3,9%)
Функция почечного трансплантата, число больных (%)	
Немедленная	51 (66,2)
Отсроченная	26 (33,8)
Поддерживающая иммуносупрессивная терапия, число больных	
Стероиды	74 (96,1%)
Циклоспорин А	17 (22,1%)
Такролимус	60 (77,9%)
Препараты группы микофенолатов	77 (100%)
Длительность посттрансплантационного периода на момент включения в исследование, мес [медиана (мин. – макс.)]	20 (12–60)

**Функция почечного трансплантата и состояние минерально-костного метаболизма у реципиентов, медиана (мин. – макс.)**

Параметр	1-е обследование, n=77	2-е обследование, n=77	p
СКФ, мл/мин	55 (17–138)	60 (17–120)	Нд
Протеинурия, г/сут	0,2 (0–1,8)	0,2 (0–2,0)	Нд
Кальций ионизированный, ммоль/л	1,3 (1,1–1,6)	1,3 (1,0–1,6)	Нд
Кальций общий (корректированный на альбумин), ммоль/л	2,4 (2,1–2,9)	2,5 (2,1–3,2)	Нд
Фосфор, ммоль/л	0,98 (0,51–1,47)	1,07 (0,7–1,42)	Нд
ПТГ, пг/мл	146 (18–653)	140 (38–642)	Нд
ЩФ, ед/л (норма 26–115)	72 (28–228)	79 (30–213)	Нд
Магний, ммоль/л (норма 0,7–0,98)	0,77 (0,6–1,01)	0,73 (0,57–1,2)	Нд

Примечание. Нд – различия между показателями в сравниваемых группах статистически незначимы.

критерий Краскела–Уоллиса (для сравнения трех групп), Манна–Уитни (с коррекцией критического уровня значимости по поправке Бонферрони, т.е.  $p < 0,05/3 = 0,0167$ ) и метод ранговой корреляции Спирмена.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования функции почечного трансплантата и состояния минерально-костного метаболизма у наблюдаемых реципиентов представлены в табл. 2.

Различия между результатами обоих исследований не превышали 15%, поэтому для дальнейшего анализа использованы усредненные значения для каждого параметра. СКФ колебалась от 17 до 120 мл/мин: более или равную 60 мл/мин имели 39, в диапазоне 30–59 мл/мин – 29, 15–29 мл/мин – 9 реципиентов. Индивидуальный анализ параметров минерально-костного метаболизма выявил следующее. Повышение сывороточной концентрации ионизированного кальция до 1,4–1,5 ммоль/л регистрировали у 9 (11,7%), общего кальция до 2,6–3,0 ммоль/л – у 7 (9,1%). Всего гиперкальциемия имела место у 12 (15,6%) пациентов; гипокальциемия отсутствовала. При сравнении сывороточных концентраций кальция у реципиентов с различной функцией почечного трансплантата различий не выявлено. Гипофосфатемия (0,54–0,84 ммоль/л) определялась у 13 (16,9%) пациентов, гиперфосфатемия – ни у одного; содержание фосфора в крови имело тенденцию к увеличению у пациентов со сниженной функцией почки. Гипомагниемия (0,61–0,69 ммоль/л) наблюдалась у 13 (16,9%), гипермагниемия (1,0–1,02 ммоль/л) – у 4 пациентов, медиана сывороточной концентрации магния находилась в нижней трети референсного диапазона. Изменение сывороточной концентрации магния имело волнообразный характер – его содержание оказалось выше у реципиентов с СКФ в диапазо-

не 59–30 мл/мин, чем у пациентов с нормальной и более низкой СКФ. ПТГ колебался в широких пределах – от 18 до 647 пг/мл, у одной пациентки он составил 1500 пг/мл. Определялась высокодостоверная разница между содержанием ПТГ в крови у пациентов с нормальной и сниженной функцией почечного трансплантата. Гипофосфатемия, гиперкальциемия и повышенный уровень ПТГ в крови (типичная лабораторная симптоматика третичного ГПТ) регистрировались у 5 больных, все они имели тяжелый вторичный ГПТ на этапе диализной терапии.

Повышенный уровень активности общей ЩФ (130, 220, 507 и 128 ЕД/л) определялся у 4 пациентов, из них у троих – с высоким (соответственно 491, 175 и 1500 пг/мл) и у одного с нормальным (76 пг/мл) уровнем ПТГ, но имеющим хронический гепатит В. У половины пациентов (53%) активность ЩФ находилась в средней трети физиологической нормы, у трети (36%) – в верхней трети и у нескольких (10%) – в нижней трети, причем, как и для ПТГ, прослеживалась четкая зависимость между активностью ЩФ и функцией трансплантированной почки.

Частота гиперкальциемии, гипофосфатемии и повышенного уровня ПТГ у реципиентов оказа-

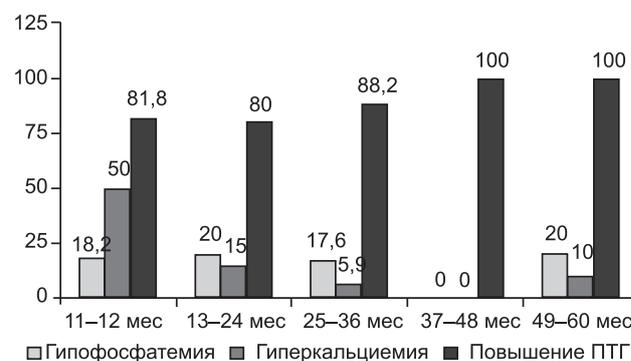


Рис. 1. Реципиенты почечного трансплантата (%) с гиперкальциемией, гипофосфатемией и повышенным уровнем ПТГ.

**Состояние минерально-костного метаболизма у реципиентов в зависимости от функции почечного трансплантата, медиана (мин. – макс.)**

Параметр	Пациенты				Различия между группами (p)			
	Все (n=77)	С СКФ $\geq 60$ мл/мин (n=41) 1-я группа	С СКФ 59–30 мл/мин (n=29) 2-я группа	С СКФ 29–15 мл/мин (n=9) 3-я группа	1–2–3-я группы	1–2-я группы	2–3-я группы	1–3-я группы
СКФ, мл/мин	60 (17–120)	60 (70–120)	50 (37–59)	21 (17–26)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Длительность после трансплантации почки, мес	20 (11–60)	18 (11–60)	26 (11–60)	44 (11–60)	0,082	0,092	0,293	0,081
Протеинурия, г/сут	0,2 (0–2,2)	0,1 (0–1,5)	0,1 (0–1,2)	1,0 (0,7–2,2)	0,001	0,418	<0,001	<0,001
Кальций ионизированный, ммоль/л	1,3 (1,1–1,5)	1,3 (1,1–1,4)	1,3 (1,1–1,5)	1,3 (1,2–1,3)	0,903	0,769	0,976	0,711
Кальций общий (корректированный на альбумин), ммоль/л	2,4 (2,1–3,0)	2,4 (2,2–3,0)	2,4 (2,2–2,8)	2,4 (2,1–2,5)	0,658	0,928	0,417	0,419
Фосфор, ммоль/л	1,0 (0,54–1,45)	0,98 (0,54–1,3)	0,98 (0,64–1,45)	1,1 (0,83–1,45)	0,058	0,483	0,093	0,011
ПТГ, пг/мл	136 (18–1500)	110 (18–1500)	161 (86–520)	371 (138–647)	<0,001	<0,001	0,013	<0,001
ЩФ, ЕД/л (норма 26–115)	74 (29–507)	72 (29–507)	73 (45–220)	97 (77–130)	0,004	0,887	<0,001	0,002
Магний, ммоль/л (норма 0,7–0,98)	0,75 (0,61–1,02)	0,73 (0,62–1,0)	0,78 (0,65–1,02)	0,71 (0,61–0,91)	<0,001	0,01	<0,001	<0,001

лась практически одинаковой в различные по длительности периоды после трансплантации почки (рис. 1).

Абсолютные значения содержания в крови параметров минерально-костного обмена представлены в табл. 3.

Сопоставление параметров минерально-костного метаболизма у наблюдаемых пациентов

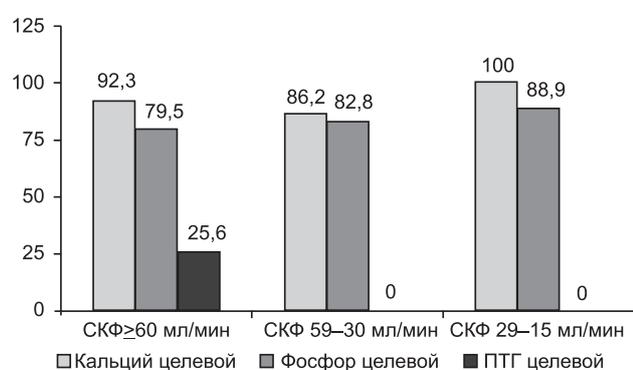


Рис. 2. Реципиенты почечного трансплантата (%) с целевыми значениями в крови кальция, фосфора, ПТГ.

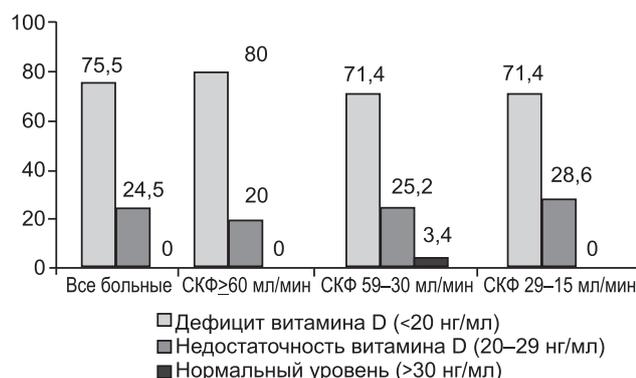


Рис. 3. Реципиенты почечного трансплантата (%) с дефицитом и недостаточностью витамина D.

с целевыми значениями, указанными в «Национальных рекомендациях по минеральным и костным нарушениям при ХБП» [14], установлено следующее. В группе реципиентов, имеющих удовлетворительную функцию почечного трансплантата (СКФ  $\geq 60$  мл/мин), целевые значения кальция и фосфора крови имели 36 и 31 человек соответственно, целевое значение ПТГ в крови – только 10 человек. В двух других группах реципиентов со сниженной функцией почечного трансплантата целевые значения кальция в крови определялись у 25 и 9 человек, фосфора в крови – у 24 и 8 человек, целевое значение ПТГ крови – ни у одного (различия достоверны только для ПТГ –  $p < 0,004$ ) (рис. 2).

Уровень витамина D в крови колебался в широких пределах независимо от функции почечного трансплантата – от 6 до 30 нг/мл (медиана 14 нг/мл). Только один пациент имел уровень витамина D в рекомендуемом диапазоне ( $\geq 30$  нг/мл), у большинства (75,5%) – определялся дефицит – менее 20 нг/мл (рис. 3).

При множественном корреляционном анализе получены следующие результаты. Определялись высокодостоверная обратная корреляционная зависимость между плазменным уровнем ПТГ и СКФ ( $r = -0,543$ ,  $p < 0,001$ ) и прямая с суточной протеинурией ( $r = 0,414$ ,  $p < 0,001$ ) и предтрансплантационным плазменным уровнем ПТГ ( $r = 0,483$ ,  $p = 0,007$ ). Менее выраженная прямая корреляционная зависимость определялась между плазменным уровнем ПТГ и активностью общей ЩФ ( $r = 0,28$ ,  $p = 0,015$ ) и обратная с сывороточной концентрацией магния ( $r = -0,241$ ,  $p = 0,04$ ). Не уста-

новлено ассоциативной связи между содержанием в крови ПТГ и сывороточными концентрациями фосфора, кальция и витамина D, длительностью диализного этапа лечения и посттрансплантационного периода. Определялась различной выраженности отрицательная корреляционная связь между сывороточной концентрацией фосфора и СКФ ( $r=-0,232$ ,  $p=0,04$ ), между активностью ЩФ и СКФ ( $r=-0,267$ ,  $p=0,02$ ), между сывороточной концентрацией магния и СКФ ( $r=-0,23$ ,  $p=0,05$ ) и между суточной протеинурией и СКФ ( $r=-0,327$ ,  $p=0,009$ ). Не установлено каких-либо ассоциативных связей между сывороточной концентрацией кальция и другими параметрами минерально-костного обмена.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты представленного исследования убедительно свидетельствуют – реципиенты почечного трансплантата представляют группу повышенного риска в плане нарушений со стороны минерального обмена и костного метаболизма. У некоторых реципиентов те или иные проявления этих нарушений могут возникнуть в предтрансплантационном периоде и редуцировать или наоборот прогрессировать после трансплантации почки, у других – развиваются *de novo*. Полученные нами данные согласуются с мнением ряда исследователей, что минерально-костные нарушения у реципиентов почечного трансплантата имеют сложное происхождение, а взаимоотношения многочисленных факторов, участвующих в их развитии, не обязательно носят непосредственный характер [15, 16].

Наиболее частая составляющая минерально-костных нарушений у реципиентов – пропорциональное снижению функции почечного трансплантата, повышение уровня ПТГ в крови, т.е. посттрансплантационный ГПТ. Обращает внимание, что лишь единичные реципиенты, в том числе в группе с хорошо функционирующей почкой, имели плазменную концентрацию ПТГ в пределах целевых значений [14]. Скорее всего, у определенной доли пациентов ГПТ имеет функциональный характер, обусловленный недостаточным содержанием в организме магния, у другой – персистирующий характер вследствие вторичного ГПТ в предтрансплантационном периоде. Подтверждением сказанному служит установленная обратная корреляционная зависимость между содержанием в крови ПТГ и магния и прямая между пред- и посттрансплантационными плазменными концентрациями ПТГ. Влияние

вторичного ГПТ перед трансплантацией почки на функцию ОЩЖ у реципиентов демонстрируют и другие исследования [2]. Повышение плазменного уровня ПТГ по мере ухудшения функции почки является закономерным процессом, инициированным задержкой фосфора в организме, хотя при проведении корреляционного анализа не получено прямой зависимости между уровнями ПТГ и фосфора. Гиперфосфатемия оказывает стимулирующее воздействие на функцию ОЩЖ самостоятельно, а также через ФРФ-23, синтез которого, как было показано, при прогрессировании нефропатии трансплантата увеличивается [7]. Очень вероятно, что накопление ПТГ у реципиентов со сниженной функцией почечного трансплантата параллельно с повышением его секреции в ОЩЖ связано ещё и с замедлением его деградации.

Наряду с повышенной секрецией ПТГ, для реципиентов почечного трансплантата характерен дисбаланс в метаболизме фосфора. Гипофосфатемия, регистрируемую у наших пациентов, как к концу первого года, так и через несколько лет после трансплантации почки, объясняют воздействием нескольких факторов – усилением функции ОЩЖ, приемом некоторых классов иммуносупрессивных препаратов, высоким уровнем ФРФ-23 в предтрансплантационном периоде. По мнению некоторых авторов исключительно ФРФ-23 является независимым предиктором гипофосфатемии, в то время как другие – установили ведущую роль пред- и посттрансплантационного уровня ПТГ [3–6]. Наше исследование не позволяет подтвердить или опровергнуть эти положения, но поскольку оба гормона принимают участие в метаболизме фосфора, то, по-видимому, оба они могут быть причастны к формированию посттрансплантационной гипофосфатемии. К настоящему времени обнаружены и другие новые гуморальные факторы, которые также способствуют гипофосфатемии [17].

Ещё одно проявление минерально-костных нарушений у реципиентов почечного трансплантата – гиповитаминоз D. Плазменный уровень 25(OH)D не отражает содержания в крови активной формы витамина D – D-гормона [ $1\alpha 25(\text{OH})_2\text{D}$ ]; при дефиците первого концентрация второго может оставаться нормальной или даже увеличиваться вследствие повышения секреции ПТГ [18]. В то же время, концентрация 25(OH)D в крови – это оптимальный индикатор для мониторинга обеспеченности организма витамином D. Он является основной формой данного витамина в циркуляции, имеет длительный период полужизни – 2–3 нед и отражает поступление витамина D

с пищей, прием нативных препаратов витамина D и синтезированного в коже под воздействием ультрафиолетового облучения [18]. Установлено, что пациенты, страдающие ХБП, с недостаточностью витамина D[25(OH)D] имеют худшую функцию почек и повышенный уровень ПТГ [19]. В ранее проведенном нами исследовании у женщин с ХБП в период беременности также установлено, что частота выявления гиповитаминоза D зависела от функции почек [20]. Данное исследование не выявило связи между плазменными концентрациями витамина D и ПТГ, с одной стороны, и содержанием витамина D в крови и функцией почечного трансплантата – с другой, что, вместе с тем, не исключает участия дефицита витамина D в формировании посттрансплантационного ГПТ. Это участие осуществляется путем сложных взаимодействий между всеми факторами, ответственными за регуляцию минерального и костного метаболизма [16]. Описаны отдельные случаи, когда нормализация уровня витамина D[25(OH)D] в крови (даже при концентрации более 60 нг/мл) не устраняла возрастания уровня ПТГ [21, 22].

Полученные в ходе исследования данные имеют практический интерес, в частности, для совершенствования клинических рекомендаций по диагностике и коррекции минерально-костных нарушений у больных с ХБП после трансплантации почки. Возможно, у реципиентов почечного трансплантата следует обсудить другой допустимый диапазон целевых значений ПТГ, нежели у больных с ХБП. Представляется целесообразным у этих больных включить в перечень диагностических параметров определение в крови витамина D. Наконец, с учетом распространенности дефицита витамина D и участием этого дефицита в развитии и прогрессировании минерально-костных нарушений пациентам после трансплантации почки показано назначение препаратов витамина D.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Распространенными проявлениями минерально-костных нарушений у больных с ХБП, перенесших трансплантацию почки, являются посттрансплантационный ГПТ и дефицит витамина D. К факторам риска посттрансплантационного ГПТ относятся вторичный ГПТ в предтрансплантационном периоде, гипомагниемия и сниженная функция почечного трансплантата. Представляется целесообразным коррекция дефицита витамина D с целью профилактики развития и замедления прогрессирования посттрансплантационного ГПТ.

*Ограничение исследования.* Небольшое число пациентов, включенных в исследование, с недлительным сроком динамического наблюдения за параметрами минерально-костного метаболизма. Отсутствие данных о содержании в крови бикарбоната – параметра, включенного Национальными рекомендациями в перечень лабораторных показателей минерального обмена, а также специальных узкоспецифических тестов, отражающих состояние минерального обмена и костного метаболизма. Необходимо продолжить исследования в этом направлении с вовлечением большей когорты реципиентов с длительным сроком динамического наблюдения и расширенным спектром параметров, информирующих о состоянии минерально-костного метаболизма.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Kinnaert P, Nagy N, Decoster-Gervy C et al. Persistent Hyperparathyroidism Requiring Surgical Treatment after Kidney Transplantation. *World J Surg* 2000; 24: 1391–1395
2. Evenepoel P, Claes K, Kuypers D et al. Natural history of parathyroid function and calcium metabolism after kidney transplantation: A single-centre study. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 1281–1287
3. Kawarazaki H, Shibagaki Y, Fukumoto S et al. Natural History of Mineral and Bone Disorders After Living-Donor Kidney Transplantation: A One-Year Prospective Observational Study. *Ther Apher Dial* 2011; 15(5): 481–487
4. Bhan I, Shah A, Holmes J et al. Post-transplant hypophosphatemia: Tertiary Hyper-Phosphatonism? *Kidney Int* 2006; 70: 1486–1494
5. Evenepoel P, Naesens M, Claes K et al. Tertiary hyperphosphatonism accentuates hypophosphatemia and suppresses calcitriol level in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2007; 7: 1193–1200
6. Evenepoel P, Meijers BK, de Jonge H et al. Recovery of hyperphosphatonism and renal phosphorus wasting one year after successful renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 1829–1836
7. Есаян АМ, Каюков ИГ, Нимгирова АН и др. Фактор роста фибробластов 23-го типа у реципиентов почечного аллотрансплантата. *Нефрология* 2012; 16 (4): 50–54. [Esayan AM, Kayukov IG, Nimgirova AN i dr. Factor rosta fibroblastov 23 tipa u recipientov pochechnogo allotransplantata. *Nefrologija* 2012; 16 (4): 50–54]
8. Evenepoel P, Lerut E, Naesens M. Localization, etiology and impact of calcium phosphate deposits in renal allografts. *A J Transplant* 2009; 9: 2470–2478
9. Bleskestad IH, Bergrem H, Leivestad T et al. Intact parathyroid hormone levels in renal transplant patients with normal transplant function. *Clin Transplant* 2011; 25: E566–E570
10. Dumoulin G, Hory B, Nguyen NU et al. No trend towards a spontaneous improvement of hyperparathyroidism and high bone turnover in normocalcemic long-term renal transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 1997; 29: 746–753
11. Torres A, Rodriguez AP, Concepcion MT et al. Parathyroid function in long-term renal transplant patients: importance of pre-transplant PTH concentrations. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13 [Suppl 3]: 94–97
12. National kidney foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42 (Suppl. 3): S1–S202
13. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the

evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Supp* 2013; 3(1): 1–150

14. Нефрология. Клинические рекомендации. Ред.: Шилов ЕМ, Смирнов АВ, Козловская НЛ. ГЭОТАР-Медиа, М., 2016, 816 с. [Nefrologija. Klinicheskie rekomendacii. Red.: Shilov EM, Smirnov AV, Kozlovskaja NL. GEOTAR-Media, M., 2016, 816 s.]

15. Добронравов ВА. Современный взгляд на патофизиологию вторичного гиперпаратиреоза: роль фактора роста фибробластов 23 и Klotho. *Нефрология* 2011; 15 (4): 11–20 [Dobronravov VA. Sovremenniy vzgliad na patofiziologiyu vtorichnogo giperparatireoza: rol' faktora rosta fibroblastov 23 i Klotho. *Nefrologija* 2011; 15 (4): 11–20]

16. Гребенникова ТА, Белая ЖЕ, Цориев ТТ и др. Эндокринная функция костной ткани. *Остеопороз и остеопатии* 2015; 1: 28–37 [Grebennikova TA, Belaya Zhe, Tsoriev TT i dr. Endocrinnaya funkciya kostnoy tkani. *Osteoporoz i osteopatii* 2015; 1: 28–37]

17. Fukumoto S, Martin TJ. Bone as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab* 2009; 20 (5): 230 – 236. doi: 10.1016/j.tem.2009.02.001

18. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA et al. Endocrine Society. Evolution, treatment and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 1911–1930; PMID: 21646368; <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2011-0385>

19. Kim SM, Choi HJ, Lee JP et al. Prevalence of vitamin D deficiency and effects of supplementation with cholecalciferol in patients with chronic kidney disease. *J Renal Nutr* 2014; 24 (1): 20–25; <http://dx.doi.org/10.1053/j.jrn.2013.07.003>

20. Никольская ИГ, Ветчинникова ОН. Влияние беременности и хронической болезни почек на минерально-костный метаболизм. VIII съезд Научного общества нефрологов России. Сборник тезисов. Москва, 11-13 ноября 2015 г. С. 76 [Nikol'skaya IG, Vetchinnikova ON. Vliyanie beremennosti i chronicheskoy bolezni pochek na mineral'niy i kostniy metabolism. VIII s'ezd Nauchnogo obshchestva nefrologov Rossii. Sbornik tezisov. Moskva. S. 76]

21. Wacker M, Holick MF. Vitamin D – effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. *Nutrients* 2013; 5: 111–148; PMID: 23306192; <http://dx.doi.org/10.3390/nu5010111>

22. Schottker B, Haug U, Schomburg L et al. Strong association of 25-hydroxyvitamin D concentrations with all-cause, cardiovascular, cancer and respiratory disease mortality in a large cohort study. *Am J Clin Nutr* 2013; 97: 782–793; PMID: 23446902; <http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.112.047712>

#### Сведения об авторах:

Ветчинникова Ольга Николаевна, д.м.н.

129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», хирургическое отделение трансплантологии и диализа, кафедра трансплантологии, нефрологии и искусственных органов факультета усовершенствования врачей. Тел.: 8 (495) 684-57-91, E-mail: [olg-vetchinnikova@yandex.ru](mailto:olg-vetchinnikova@yandex.ru)

Olga N. Vetchinnikova MD, DMedSci

Affiliations: 129110, Russia, Moscow, Schepkina Str. 61/2, build. 6. M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute, Surgical Department of Transplantology and Dialysis, Department of Transplantology, Nephrology and Artificial Organs Faculty of Postgraduate Medical. Phone 8 (495) 684-57-91, E-mail: [olg-vetchinnikova@yandex.ru](mailto:olg-vetchinnikova@yandex.ru)

Шестеро Елена Владимировна

129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», кафедра трансплантологии, нефрологии и искусственных органов факультета усовершенствования врачей, клинический ординатор. Тел.: 8 (495) 684-57-91, E-mail: [alenca0606@mail.ru](mailto:alenca0606@mail.ru)

Elena V. Shestero MD

Affiliations: 129110, Russia, Moscow, Schepkina Str. 61/2, build. 6. M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute, Department of Transplantology, Nephrology and Artificial Organs Faculty of Postgraduate Medical. Phone 8 (495) 684-57-91 E-mail: [alenca0606@mail.ru](mailto:alenca0606@mail.ru)

Егорова Екатерина Александровна

129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», лабораторный отдел, врач лабораторной диагностики. Тел.: 8 (495) 684-57-91 Ekaterina A. Egorova, MD

Affiliations: 129110, Russia, Moscow, Schepkina Str. 61/2, build. 6. M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute, Laboratory Department. Phone 8 (495) 684-57-91

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Поступила в редакцию: 17.05.2016 г.

Принята в печать: 12.09.2016 г.

© В.А.Федулкина, А.В.Ватазин, А.В.Кильдюшевский, Е.С.Столяревич, Е.Е.Круглов, Р.О.Кантария, 2016  
УДК 616.61-089.843- 085.831 – 076

*В.А. Федулкина<sup>1</sup>, А.В. Ватазин<sup>1</sup>, А.В. Кильдюшевский<sup>1</sup>, Е.С. Столяревич<sup>2</sup>,  
Е.Е. Круглов<sup>1</sup>, Р.О. Кантария<sup>1</sup>*

## ПРОТОКОЛЬНАЯ БИОПСИЯ ПОЧЕЧНОГО АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА КАК КРИТЕРИЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ФОТОХИМИОТЕРАПИИ

<sup>1</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», <sup>2</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская клиническая больница №52 Департамента здравоохранения г. Москвы», Московский городской нефрологический центр

*V.A. Fedulkina<sup>1</sup>, A.V. Vatazin<sup>1</sup>, A.V. Kildjushevskiy<sup>1</sup>, E.S. Stolyarevich<sup>2</sup>,  
E.E. Kruglov<sup>1</sup>, R.O. Kantariya<sup>1</sup>*

## PROTOCOL RENAL ALLOGRAFT BIOPSY AS A CRITERION OF EXTRACORPOREAL PHOTOCHEMOTHERAPY EFFICIENCY

<sup>1</sup> Moscow Regional Research and Clinical Institute named after M.F.Vladimirskiy, <sup>2</sup> City Clinical Hospital №52, «Moscow City Nephrology Center», Russia

### РЕФЕРАТ

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ.** Проанализировать гистологические результаты применения метода экстракорпоральной фотохимиотерапии при аллотрансплантации трупной почки. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Экстракорпоральная фотохимиотерапия была применена для предупреждения острого отторжения почечного аллотрансплантата в раннем послеоперационном периоде у 20 пациентов. Контрольную группу составили 20 пациентов с парными основной группе трансплантатами без применения данного метода. Пациентам обеих групп проводили протокольную биопсию трансплантата на 30-е и 180-е сутки после трансплантации или при наличии показаний с последующим гистологическим заключением согласно классификации Banff 2007 года. Также приведен клинический случай использования экстракорпоральной фотохимиотерапии в качестве терапии гломерулонефрита трансплантата. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Установлено, что в основной группе по результатам биопсии ни у одного пациента не выявлено признаков отторжения трансплантата, в то же время у 4 пациентов группы сравнения гистологически подтверждено отторжение пересаженного органа различной степени по Banff 2007, два из которых в результате привели к потере трансплантата. Применение экстракорпоральной фотохимиотерапии в качестве терапии гломерулонефрита трансплантата показало, что метод может быть использован с целью нормализации функции трансплантата и способен остановить процесс развития фокального и сегментарного гломерулосклероза, что подтверждено данными гистологического исследования биоптата до и после проведения процедур. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Экстракорпоральная фотохимиотерапия обладает эффективностью и может быть использована в качестве адьювантной терапии для предупреждения отторжения почечного аллотрансплантата и в качестве терапии возвратного гломерулонефрита трансплантата.

**Ключевые слова:** аллотрансплантация трупной почки, острое отторжение почечного аллотрансплантата, экстракорпоральная фотохимиотерапия, протокольная биопсия.

### ABSTRACT

**THE AIM:** is to analyze the histological results of the method extracorporeal photochemotherapy in cadaveric kidney allotransplantation. **PATIENTS AND METHODS.** Extracorporeal photochemotherapy has been used as a prevention of acute renal allograft rejection in the early postoperative period in 20 patients. The control group consisted of 20 patients with paired to basic group transplants without using of this method. Patients in both groups carried out the transplant protocol biopsies at 30 and 180 days after transplantation or when indicated, followed by the conclusion of histological classification according to the Banff 2007. Also showed a clinical case of the use of extracorporeal photochemotherapy as a therapy of transplant glomerulonephritis. **RESULTS.** It was established that in the basic group biopsy did not show any evidence of the transplant rejection, at the same time in 4 patients in comparison group histology confirmed rejection of the transplanted organ varying degrees of Banff 2007, two of which have resulted ingraft loss. Applications of extracorporeal photochemotherapy as the treatment of transplant glomerulonephritis showed that the method can be used to normalize graft function and is able to stop the development of focal and segmental glomerulosclerosis, that was confirmed by histological examination of a biopsy sample before

Федулкина В.А. 129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Тел.: 8-495-684-54-53, E-mail: v.fedulkina@mail.ru

and after treatment. **CONCLUSION.** Extracorporeal photochemotherapy is effective and can be used as adjuvant therapy for the prevention of renal allograft rejection and as a therapy of returned transplant glomerulonephritis.

**Key words:** allotransplantation of cadaveric kidney, acute rejection of renal allograft, extracorporeal photochemotherapy, protocol biopsy.

## ВВЕДЕНИЕ

Частота развития острого отторжения почечного аллотрансплантата (ПАТ) остается весьма значительной и составляет по нашим данным от 23,1 до 32,5%, некупируемые кризы отторжения почечного аллотрансплантата составляют от 3,2 до 12,4% [1]. Почти 50% всех неудач в процессе трансплантации обусловлены отторжением, и большая часть реципиентов трупной почки имеют, по крайней мере, один эпизод острого отторжения в течение первых 2 лет после аллотрансплантации трупной почки (АТП) [2]. Известно, что немедленная функция трансплантата и отсутствие острой реакции отторжения в первые 6 мес после трансплантации почки практически в 2 раза увеличивают период полужизни ПАТ [3]. Патогенетической основой острого отторжения является повреждение ПАТ, обусловленное клеточным и/или гуморальным аллоиммунным механизмом с лимфоцитарной, моноцитарной и нейтрофильной инфильтрацией интерстиция. Морфологическими признаками являются гломерулит, капиллярит и тубулит. При этом у 80% пациентов отторжение происходит с привлечением гуморальных механизмов, причем у 65% пациентов имеет место сочетание гуморального и клеточного механизмов [4].

В том, что эпизоды острого отторжения трансплантата неблагоприятно влияют на результаты ТП, сходятся все исследователи. Пяти- и десятилетняя выживаемость ПАТ составляет 75 и 17% в группе больных, перенесших кризы отторжения, а в группе больных без кризов – 93 и 87% соответственно. Кризы отторжения способствуют развитию активного хронического отторжения и формированию хронической дисфункции ПАТ [5–7].

В этой связи дальнейшая разработка и внедрение в клиническую практику новых иммуномодулирующих методик остаются в настоящее время главной стратегией предупреждения и лечения острого отторжения и продления жизни трансплантата [8–10].

Нами исследован новый адаптивный (от англ. *adaptive* – в данном контексте – восприимчивый) метод предупреждения и лечения острого отторжения почечного трансплантата – экстра-

корпоральная фотохимиотерапия (ЭФХТ). В его основе лежит воздействие активированных ультрафиолетовым светом молекул специфического фотосенсибилизатора на лимфоциты крови. Эффективность ЭФХТ была доказана на основании проведения многоцентровых исследований при различных вариантах аутоиммунных дерматозов [11–14], при реакции трансплантат против хозяина при трансплантации аллогенных стволовых гемопоэтических клеток у больных с гемобластомами [15–17], в том числе у детей [18], и при трансплантации сердца, легких и печени [19–22].

Известны результаты нескольких исследований с участием в общей сложности до 50 пациентов после аллотрансплантации трупной почки, где курсы ЭФХТ были с успехом использованы для купирования устойчивых эпизодов острого отторжения [23–29]. При этом авторы пришли к заключению, что ЭФХТ может иметь значение в качестве адъювантной терапии или как метод выбора для предотвращения отторжения при пересадке солидного органа [27]. Имеются также единичные публикации о применении данного метода в качестве профилактики острого отторжения почечного аллотрансплантата [30, 31].

Помимо признанного клинического преимущества экстракорпоральной фотохимиотерапии, необходимым является предоставление гистологических доказательств эффективности метода. На 11-й Банфф – конференции в 2011 году, посвященной актуальным вопросам патологии аллотрансплантатов солидных органов, широко обсуждалась роль протокольных биопсий в трансплантологии. Большое внимание коллектив доктора D. Seron уделил установлению прогностического значения субклинических изменений в трансплантате, поскольку, по имеющимся данным, частота субклинического острого отторжения составляет 60,8; 45,7; 25,8 и 17,7% через 1, 3, 12 и более 12 мес после трансплантации соответственно [32].

Целью исследования является сравнительное проспективное изучение гистологических результатов протокольной биопсии почечного аллотрансплантата при включении в протокол медикаментозной иммуносупрессивной терапии метода экс-

тракорпоральной фотохимиотерапии в качестве профилактики острого отторжения трансплантата и терапии возвратного гломерулонефрита.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В число пациентов основной (первой) группы ( $n=20$ ) вошли 12 мужчин в возрасте от 31 года до 56 лет и 8 женщин в возрасте от 27 до 50 лет ( $40,4 \pm 11,2$ ), которые получали стандартную медикаментозную иммуносупрессивную терапию в сочетании с экстракорпоральной фотохимиотерапией. Группу сравнения (вторую) ( $n=20$ ) составили 12 мужчин в возрасте от 21 года до 55 лет и 8 женщин в возрасте от 37 до 48 лет ( $39,1 \pm 12,1$ ), которые являлись реципиентами парных основной группе трансплантатов и получали только общепринятую медикаментозную иммуносупрессию. Процедуры экстракорпоральной фотохимиотерапии в качестве терапии возвратного гломерулонефрита получал 1 мужчина в возрасте 38 лет.

Причинами ХБП у реципиентов почечных аллотрансплантатов в двух группах больных явились практически идентичные заболевания: хронический гломерулонефрит (у 19), поликистоз почек (у 9), артериолосклеротический нефросклероз (у 4), хронический пиелонефрит (у 7). У 1 больного группы сравнения диагностирован антифосфолипидный синдром. Длительность заместительной почечной терапии перед трансплантацией у пациентов первой группы составила, в среднем,  $23,2 \pm 8,2$  мес, в группе сравнения –  $24,6 \pm 7,4$  мес. Индекс совместимости в двух группах оказался сопоставим и составил 9 (5;13) и 8 (4;13) в основной и контрольной группах соответственно. Рандомизация пациентов осуществлялась методом слепой случайной выборки.

Процедуры ЭФХТ проводились пациентам первой группы в первые 2 нед после трансплантации почки с кратностью 2 раза в неделю, в последующие 2 нед – 1 раз в неделю, в течение 2-го месяца – 1 раз в 2 нед, 1 раз в течение 3-го месяца и завершались одной процедурой на 180-е сутки после трансплантации почки. Пациенту с целью терапии фокального и сегментарного гломерулосклероза проведено 7 сеансов с кратностью 2–3 раза в неделю.

В качестве фотосенсибилизатора использовали Аммифури в дозе 0,6 мг/кг массы тела, который принимал пациент за 2 ч до проведения процедуры. Методика ЭФХТ заключалась в сепарации и накоплении в экстракорпоральном контуре мононуклеарных клеток с помощью аппарата для цитоплазмафереза «MSC+ «Heamonetics» с последую-

ющим их облучением ультрафиолетовым светом (А-спектр 365 нм) в течение 90 мин со скоростью 10 мл/мин. Далее клетки подвергались инкубации в течение 90 мин при температуре 37°C, после чего проводилась реинфузия клеток пациенту.

Протокольное морфологическое исследование биоптатов трансплантационных почек проводилось на 30-е и 180-е сутки после аллотрансплантации или при наличии показаний в ГБУЗ «Городская клиническая больница №52 Департамента здравоохранения г. Москвы», Московский городской нефрологический центр (Е.С. Столяревич). Гистологическое исследование биоптатов трансплантата почки включало в себя световую микроскопию и иммунофлюоресцентное исследование на замороженных срезах. При проведении световой микроскопии проводили окраску гематоксилином и эозином, ШИК-реакцию и окраску трихромом по Массону. Морфологическую диагностику проводили в соответствии с классификацией острого отторжения трансплантата Banff 2007 [33]. Морфолог не имел информации о том, к какой группе относится пациент.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

Необходимо отметить, что все пациенты первой группы выписаны после аллотрансплантации трупной почки в удовлетворительном состоянии с достаточным диурезом и средним уровнем сывороточного креатинина  $0,15 \pm 0,02$  ммоль/л, сохранили удовлетворительную функцию почечного аллотрансплантата до 6 мес после АТПП со средней скоростью клубочковой фильтрации  $59,7 \pm 3,2$  мл/мин против  $31,5 \pm 4,1$  мл/мин в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). Анализ клинических и лабораторных данных позволяет выявить незначительно более раннее восстановление функции почечного трансплантата в основной группе, о чем свидетельствуют меньшая продолжительность олигоанурии ( $5,3 \pm 1,1$  против  $7,8 \pm 1,2$  сут), более уверенные темпы снижения цифр азотемии ( $23 \pm 3,1$  против  $26,4 \pm 4,2$  сут) и меньшая длительность проведения заместительной почечной терапии ( $10,6 \pm 1,2$  против  $14,6 \pm 2,4$  сут) у пациентов группы с применением ЭФХТ.

По данным гистологического исследования биоптатов почечных аллотрансплантатов морфологические изменения, характерные для остаточных явлений ишемического и реперфузионного повреждения трансплантата, были выявлены у 12 реципиентов основной группы и у 3 реципиентов контрольной: гиалиново-капельная и гидрорическая дистрофия эпителия проксимальных

Таблица 1  
**Результаты протокольной биопсии ПАТ у пациентов основной и контрольной группы на 30-е и 180-е сутки после АТПП**

Диагностические категории	Первая группа (n=20)		Вторая группа (n=20)	
	30-е сутки	180-е сутки	30-е сутки	180-е сутки
Патологии не выявлено	6	18	7	13
Острый канальцевый некроз	12	0	9	0
IA Banff 2007	0	0	1*	0
IB Banff 2007	0	0	0	1*
IIA Banff 2007	0	0	0	0
IIB Banff 2007	0	0	1**	0
III Banff 2007	0	0	1**	0
Фокальный сегментарный гломерулосклероз	0	0	0	1**
Хроническая трансплантационная нефропатия 1–2 ст.	2	2	1	2
Хроническая трансплантационная нефропатия 3 ст.	0	0	0	3*

\* Результаты, угрожавшие функциональному состоянию почечного трансплантата и потребовавшие дополнительной терапии; \*\* результаты, приведшие к трансплантатэктомии.

извитых канальцев, единичные очаги некроза эпителия канальцев, признаки регенеративного процесса канальцах (наличие митозов в эпителиальных клетках), расширение просвета канальцев с белковыми цилиндрами и десквамированными эпителиальными клетками в их просвете, а также минимальная мононуклеарная инфильтрация интерстиция (i1).

У одного пациента группы сравнения через 6 мес после АТПП при биопсии диагностирован фокальный сегментарный гломерулосклероз, а еще у троих – хроническая трансплантационная нефропатия III степени: выраженный склероз интерстиция и атрофия канальцев, склероз клубочков (ci 3, ct 2–3, cg 2).

Ни у одного пациента основной группы не было выявлено признаков острого отторжения трансплантата. Изменения, обнаруженные в трансплантате через 1 мес после операции, соответствовали остаточным явлениям острого канальцевого некроза, а через 6 мес – начальным проявлениям хронической трансплантационной нефропатии: ci 1–2, ct 1, cg 1.

У 4 реципиентов пациентов группы сравнения было диагностировано острое отторжение трансплантата, подтвержденное морфологическим исследованием биоптатов. У троих реципиентов

группы сравнения криз отторжения диагностирован при протокольной биопсии через 1 мес после АТПП, а у одного реципиента – через 6 мес после операции (табл. 1).

В первом случае отторжению ПАТ присвоена IA категория согласно Banff 07 (рис. 1A). Помимо явлений клеточного интерстициального отторжения (i2–3, t2, v0), отмечались также признаки микроциркуляторного воспаления (перитубуляррит), однако свечение C4d на перитубулярных капиллярах отсутствовало. При этом отторжение имело субклиническое течение и не сопровождалось яркой клинической симптоматикой. Этому пациенту группы сравнения проведена пульс-терапия метилпреднизолоном. При контрольной биопсии трансплантата изменения соответствовали остаточным явлениям острого отторжения и хронической трансплантационной нефропатии II степени, а на 180-е сутки после АТПП – хронической трансплантационной нефропатии III степени.

При исследовании биоптата парной почки (у реципиента основной группы) обнаружена лишь небольшая очаговая инфильтрация интерстиция лимфоцитами без явлений тубулиты (i1, t0), имелись также незначительные признаки острого повреждения канальцевого эпителия (см. рис. 1Б).

Сосудистая форма острой реакции отторжения имела место у одного из пациентов группы сравнения (III категория по классификации Banff 07). У этого больного отторжение сопровождалось яркой клинической симптоматикой: резкие боли в области трансплантата, повышение температуры тела, при пальпации – плотный, увеличенный в размерах трансплантат, в анализе крови – лейкоцитоз, который имел тенденцию к нарастанию (13, затем  $15 \times 10^9/\text{л}$ ). Помимо этого, отмечено снижение гемоглобина с 110 до 75 г/л. В связи с подозрением на разрыв трансплантата выполнена экстренная ревизия забрюшинного пространства, в ходе которой обнаружены линейные разрывы капсулы трансплантата, паранефральная гематома объемом до 300 мл и обширная имбибиция забрюшинной клетчатки. Произведены эвакуация гематомы, ушивание линейных разрывов трансплантата. Интраоперационно выполнена биопсия ПАТ. Биопсийный материал был представлен практически полностью разрушенной тканью почки, некоторые клубочки склерозированы, а оставшиеся выглядели гиперклеточными за счет явлений гломерулита. В одном клубочке капиллярные петли частично разрушены, окружены сегментарным клеточным полулунием, еще в двух клубочках определяются более старые фиброзно-клеточные

полулуния. Отмечалась также диффузная инфильтрация интерстиция лимфоцитами с примесью нейтрофилов, многие канальцы полностью разрушены. В участках относительно сохранной паренхимы – тяжелое повреждение канальцевого эпителия, явления тубулита до 6–8 клеток на срез канальца. В просвете канальцев многочисленные воспалительные клетки и слущенные клетки канальцевого эпителия. Перитубулярные капилляры резко расширены, содержат стазы крови. Артерии с трансмуральным артериитом (рис. 2) расширены, содержат стазы крови. Артерии с трансмуральным артериитом (см. рис. 2А, Б).

Этому пациенту назначена терапия антигипертензивным препаратом в дозе 4 мг/кг (введено 300 мг препарата). На следующий день у больного появились признаки пневмонии: жалобы на малопродуктивный кашель, подъем температуры тела до 37,8 °С, одышка при минимальной физической нагрузке, при аускультации жесткое дыхание и сухие хрипы в базальных отделах правого легкого. Диагноз был подтвержден рентгенологически. От дальнейшего введения препарата пришлось отказаться. В дальнейшем на фоне пульс-терапии метилпреднизолоном в суммарной дозе 1,5 г за неделю этому больному группы сравнения проведено 4 сеанса каскадной плазмафильтрации, после которых внутривенно вводился иммуноглобулин. Назначена антимикробная, противогрибковая и противовирусная терапия, на фоне чего явления пневмонии были купированы. Пациент был выписан в удовлетворительном состоянии на 53-и сутки после АТП, креатинин крови составил 100 мкмоль/л.

Однако через полгода пациент был вновь госпитализирован в связи с тяжелой дисфункцией трансплантата: креатинин крови – 1100 мкмоль/л, мочевины – 52 ммоль/л, суточная протеинурия – 32 г/сут, скорость клубочковой фильтрации составила до 6 мл/мин. По данным биопсии ПАТ был диагностирован фокальный сегментарный гломерулосклероз (коллабирующий вариант): спавшиеся капиллярные петли 2 из 7 клубочков, окруженные гипертрофированными подоцитами с вакуолизированной цитоплазмой, в двух клубочках – ишемия капиллярных петель. Отмечены небольшой очаговый склероз интерстиция и атрофия канальцев, занимающие около 10–15% площади паренхимы, с сопутствующей интерстициальной инфильтрацией без явлений тубулита, артериосклероз. Были проведены пульс-терапия метилпреднизолоном в суммарной дозе 2,25 г, 4 сеанса плазмафереза. Однако терапия была не-

эффективна. В связи с тяжелым нефротическим синдромом была выполнена трансплантатэктомия и сформирована артериовенозная фистула, после чего больной вернулся на гемодиализ.

На протокольной биопсии парного трансплантата на 30-е сутки у больного основной группы выявлены небольшой очаговый склероз интерстиция и атрофия канальцев, занимающие менее 5% почечной паренхимы, умеренная очаговая инфильтрация интерстиция лимфоцитами без явлений тубулита. В отдельных канальцах отмечалось расширение просвета, в других канальцах – частичная утрата «щеточной каймы» с образованием фестончатого контура канальцевого эпителия. Имеются канальцы с явлениями регенерации и образованием многоядного эпителия. Данные изменения соответствовали остаточным явлениям острого канальцевого некроза (см. рис. 2В).

На протокольной биопсии трансплантата на 180-е сутки после трансплантации отмечены диффузно-очаговый склероз интерстиция и атрофия канальцев, занимающие около 25–30% паренхимы почки, что соответствует хронической трансплантационной нефропатии II степени.

У третьего реципиента группы сравнения с кризом отторжения в раннем послеоперационном периоде отсутствовала функция ПАТ на протяжении двух недель. При этом в анализах крови сохранялись лейкоцитоз до  $14 \times 10^9$ /л, отек трансплантата, обедненный сосудистый рисунок, стабильно повышенный индекс резистивности, отсутствие диастолического кровотока в сосудах трансплантата по данным доплерографии. Проведены пульс-терапия метилпреднизолоном в общей дозе 1,5 г, 4 сеанса каскадной плазмафильтрации с внутривенным введением иммуноглобулина. Несмотря на проводимую терапию, функция трансплантата не восстановилась, в связи с чем была выполнена биопсия, по результатам которой диагностировано острое отторжение ПАТ (Banff 07 IV) по смешанному типу (клеточное и гуморальное). При гистологическом исследовании трансплантата – картина микроциркуляторного воспаления (гломерулит с преобладанием нейтрофилов) с элементами тромботической микроангиопатии (тромбоз приносящей артериолы одного из клубочков) и участками ишемического инфаркта почки, а также признаки тяжелого интимального артериита с выраженным сужением просвета. По данным иммунофлюоресценции – свечение C4d-компонента комплемента в капиллярах клубочков и перитубулярных капиллярах (рис. 3А).

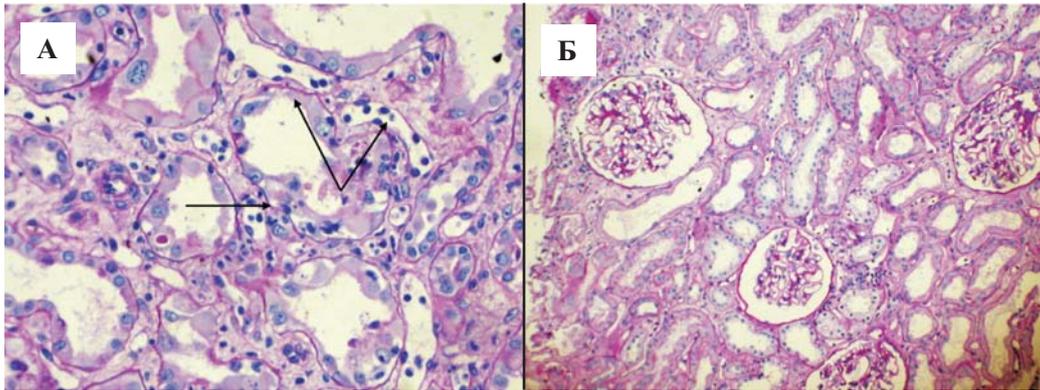


Рис. 1. Морфологическое исследование парных аллографтов у реципиента контрольной группы (А) и реципиента основной группы (Б). А – результаты биопсии ПАТ реципиента группы сравнения (ЭФХТ-) на 38-е сутки после АТПП. Признаки отторжения IA по Banff (окраска PAS. Ув. 100): отек интерстиция с его инфильтрацией лимфоцитами и явлениями тубулита до 5–7 клеток на сечение канальца (стрелка), перитубулярные капилляры расширены, содержат воспалительные клетки (двойная стрелка). Б – результаты биопсии ПАТ реципиента основной группы (ЭФХТ+) на 30-е сутки после АТПП. Признаков отторжения нет, остаточные явления острого канальцевого некроза (окраска PAS. Ув. 100). Интерстициальная инфильтрация практически отсутствует, снижение высоты канальцевого эпителия за счет диффузной/частичной утраты «щеточной каймы».

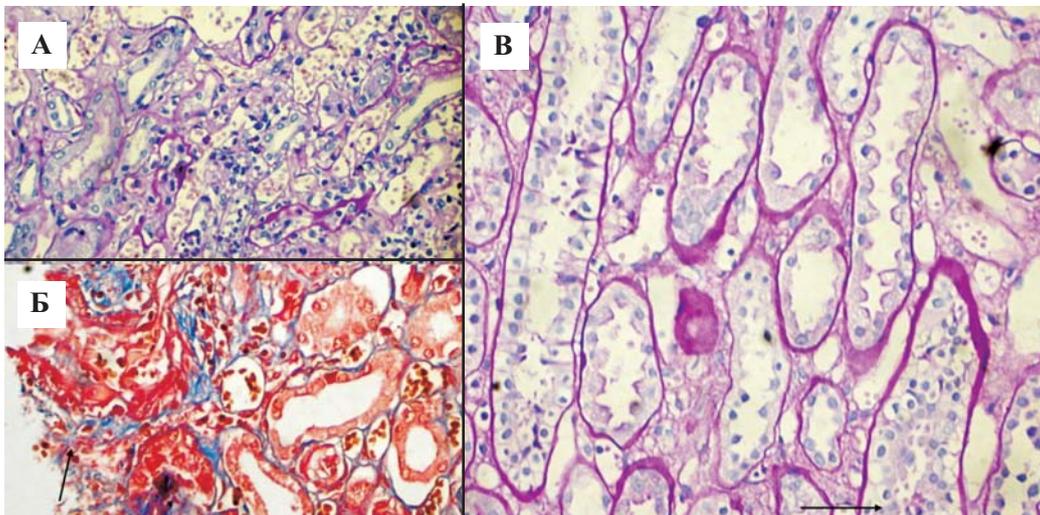


Рис. 2. Морфологическое исследование парных аллографтов у реципиента контрольной группы (А,Б) и реципиента основной группы (В). А – биопсия ПАТ пациента группы сравнения (ЭФХТ-) с отторжением III по Banff (38-е сутки после АТПП): интерстициальная инфильтрация с явлениями тубулита, интерстициальные геморрагии (окраска PAS. Ув. 100). Б – биопсия ПАТ пациента группы сравнения (ЭФХТ-) с отторжением III по Banff (38-е сутки после АТПП): артерия малого калибра с явлениями трансмурального некротизирующего артериита (депозиты фибрина в стенке сосуда – стрелка) (окраска Трихром по Массону. Ув. 200). В – результаты биопсии ПАТ пациента основной группы (ЭФХТ+) с остаточными явлениями острого канальцевого некроза (30-е сутки после АТПП) (окраска PAS. Ув. 200). Канальцы с частичной утратой «щеточной каймы» и образованием фестончатого контура канальцевого эпителия. Имеются канальцы с явлениями регенерации и образованием многоядного эпителия (стрелка).

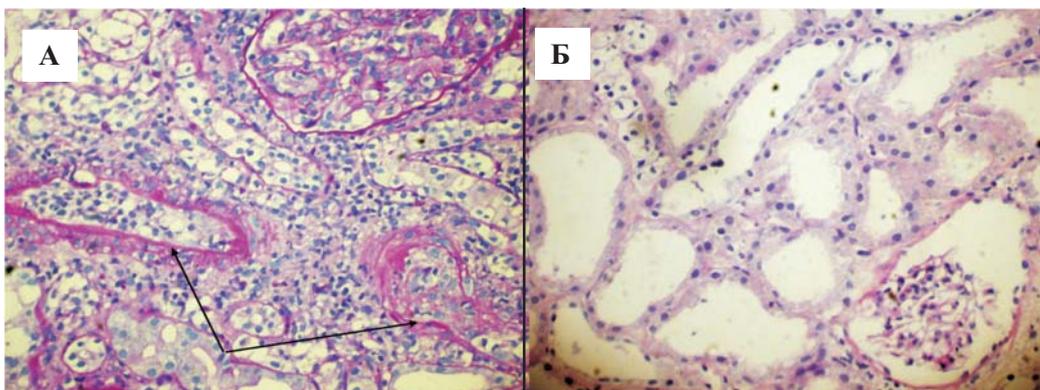


Рис. 3. Морфологическое исследование парных аллографтов у реципиента контрольной группы (А) и реципиента основной группы (Б). А – биопсия ПАТ пациента группы сравнения (ЭФХТ-) с отторжением IIB по Banff (7-е сутки после АТПП) (окраска PAS. Ув. 100). Стрелками указаны артерии с выраженным интимальным артериитом и выраженным сужением просвета сосудов. Б – результаты биопсии ПАТ пациента основной группы (ЭФХТ+) с остаточными явлениями острого канальцевого некроза (30-е сутки после АТПП) (гематоксилин-эозин. Ув. 100). Просвет канальцев расширен за счет снижения высоты канальцевого эпителия с диффузной утратой «щеточной каймы».

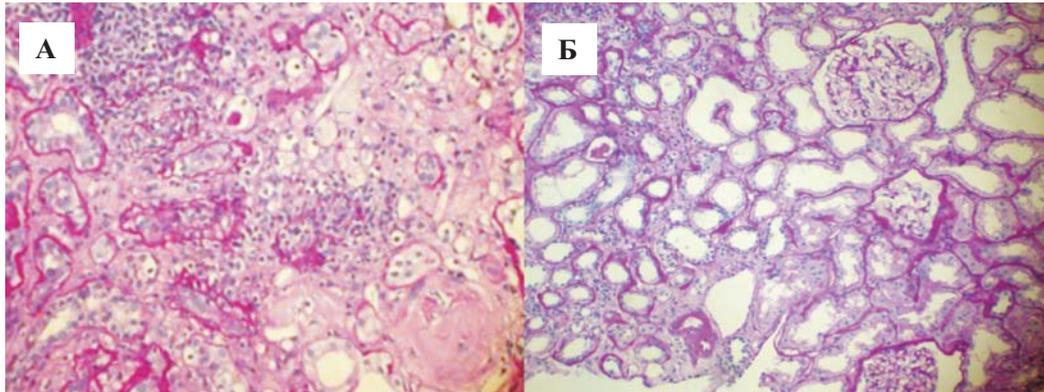


Рис. 4. Морфологическое исследование парных аллографтов у реципиента контрольной группы (А) и реципиента основной группы (Б). А – результаты биопсии ПАТ пациента контрольной группы (ЭФХТ-) с отторжением IV по Banff (180-е сутки после АТПП) (окраска PAS. Ув. 100). Видны диффузно-очаговый интерстициальный склероз и атрофия канальцев, отек, лимфоцитарная инфильтрация с явлениями тубулита до 10 клеток и более на сечение канальца как в атрофичных, так и в относительно сохраненных канальцах. Б – результаты биопсии ПАТ пациента основной группы (ЭФХТ+) с хронической трансплантационной нефропатией I степени (180-е сутки после АТПП) (окраска PAS. Ув. 100). Видны очаговый интерстициальный склероз, очаговая инфильтрация в зонах склероза без явлений тубулита.

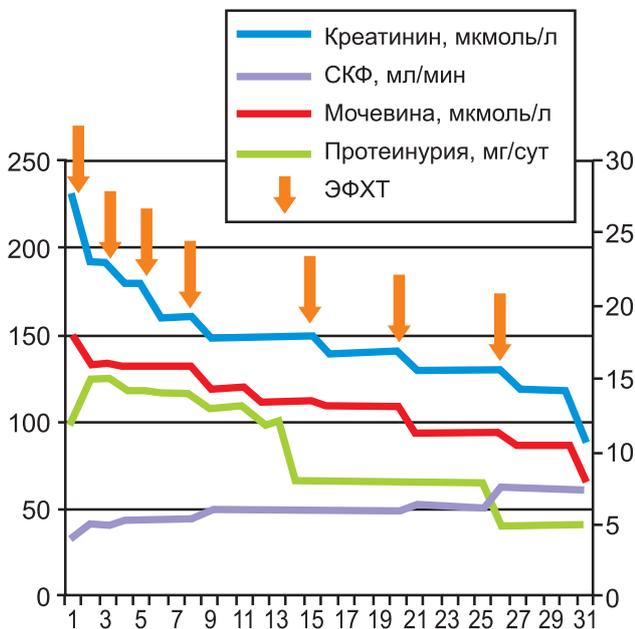


Рис. 5. Динамика показателей функции трансплантата на фоне процедур ЭФХТ.

Назначена терапия ритуксимабом, однако, функция трансплантата не восстановилась, и трансплантат был удален.

У реципиента основной группы, получившего парный орган, при проведении протокольной биопсии трансплантата на 30-е сутки изменения соответствовали остаточным явлениям острого канальцевого некроза (см. рис. 3Б).

Четвертый случай криза отторжения у реципиента группы сравнения был выявлен случайно, при протокольной биопсии через полгода после АТПП, по данным которой было диагностировано острое отторжение ПАТ (Banff 07 IV) на фоне хронической трансплантационной нефропатии II–III степени (рис. 4А). Пациенту проведена пульс-

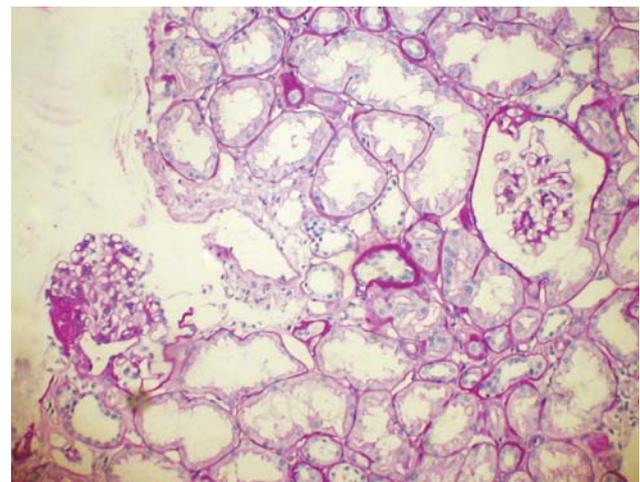


Рис. 6. Результаты биопсии ПАТ пациента с гломерулонефритом трансплантата через 1 год после АТПП (окраска PAS. Ув. 100). Клубочки с участками сегментарного склероза капиллярных петель. Интерстиций не изменен.

терапия метилпреднизолоном в общей дозе 1,5 г. При контрольной биопсии после курса лечения признаки отторжения отсутствовали. Функция ПАТ восстановилась.

У парного реципиента основной группы в биоптате на 180-е сутки после АТПП выявлена хроническая трансплантационная нефропатия I степени: умеренный очаговый интерстициальный склероз, занимающий около 20% паренхимы почки, очаговая интерстициальная инфильтрация в зонах склероза без явлений тубулита (см. рис. 4Б).

**Клинический пример терапии возвратного гломерулонефрита у пациента после трансплантации почки.**

Пациент через 1 год после АТПП на амбулаторном приеме отметил повышение АД, прибавку массы тела на 3 кг, отеки голеней, стоп. Лабораторно выявлена протеинурия до 12 г/сут, повышение уровня сывороточного креатинина до 0,23 ммоль/л и мочевины до 17,9 ммоль/л, снижение СКФ до 33,8 мл/мин. Пациент был госпитализирован, сделана биопсия. По результатам: в препарате 13 клубочков, в одном из них капиллярные петли коллабированы, окружены гипертрофированными подоцитами. Еще в двух клубочках определяются участки сегментарного склероза капиллярных петель с пенистыми клетками в этих участках и образованием сращений с капсулой Боумена. Оставшиеся клубочки увеличены в размерах, пролиферативных изменений нет. Стенки капиллярных петель не утолщены, одноконтурные. Очаговый фиброз интерстиция и атрофия канальцев, занимающие около 10% почечной паренхимы. Интерстициальная инфильтрация практически отсутствует. Артерии и артериолы – без особенностей. Заключение: гломерулонефрит трансплантата (фокальный и сегментарный гломерулосклероз).

Проводилась пульс-терапия метилпреднизолоном в суммарной дозе 2 г. Проведен 1 сеанс плазмафереза, после которого усилилась протеинурия (до 15 г/сут), появилась гипопроteinемия (альбумин 22 г/л). В связи с отсутствием положительного эффекта принято решение провести курс ЭФХТ по стандартному протоколу 2 раза в неделю.

На фоне проведенной терапии отмечена положительная динамика: суточная протеинурия после 4 сеансов составила 12 г/сут, отмечено снижение креатинина крови до 0,15 ммоль/л, мочевины до 13,4 ммоль/л, улучшение кровотока до коры почки по данным УЗИ, индексы сопротивления – в пределах нормальных значений. Пациент выписан на амбулаторное наблюдение, однако при динамическом наблюдении сохранялись умеренные отеки ног, артериальная гипертензия до 160/90 мм рт. ст., суточная протеинурия колебалась около значения 8 г/сут. В связи с недостаточно выраженным эффектом решено продолжить лечение ЭФХТ и пациенту проведено еще 4 сеанса в течение 2 нед. По окончании лечения суточная протеинурия снизилась до 5 г/сут, нормализовались цифры азотемии (креатинин 0,12 ммоль/л, мочевина 10,4 ммоль/л, СКФ 61,8 мл/мин), параллельно стабилизировалось АД и к моменту выписки не требовало коррекции гипотензивными препаратами, пропали пастозность голеней и стоп. Динамика снижения показателей уремии, про-

теинурии и нормализации скорости клубочковой фильтрации на фоне проведения процедур ЭФХТ представлена на рис. 5.

Через 6 мес после лечения выполнена контрольная биопсия трансплантата, выявившая гломерулонефрит трансплантата (фокальный и сегментарный гломерулосклероз) без признаков прогрессирования (рис. 6).

Через 4 года после АТПП состояние пациента остается удовлетворительным. АД не выше 140/90 мм рт. ст., отеков не отмечается, креатинин крови – 0,09 ммоль/л, мочевина – 10 ммоль/л, СКФ – 80,5 мл/мин, суточная протеинурия – 0,69 г/сут.

Таким образом, показано, что ЭФХТ способна привести к нормализации функции трансплантата без прогрессирования возвратного гломерулонефрита.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные гистологические результаты протокольной биопсии ПАТ на 30-е и 180-е сутки после АТПП не оставляют сомнения в преимуществе включения метода ЭФХТ в общепринятый медикаментозный протокол иммуносупрессивной терапии для предупреждения острого отторжения почечного аллотрансплантата в ранние сроки после операции, что подтверждено полным отсутствием эпизодов острого отторжения в группе с применением ЭФХТ с одновременным наличием их в трансплантатах, парных исследуемой группе.

Полученные результаты применения метода в качестве терапии возвратного гломерулонефрита позволяют охарактеризовать ЭФХТ как метод, способный предотвратить прогрессирование признаков фокального и сегментарного гломерулосклероза и стабилизировать функцию трансплантата без применения дополнительной медикаментозной иммуносупрессивной терапии.

Однако, если иммунологические механизмы предотвращения отторжения трансплантата методом ЭФХТ уже немного изучены [34, 35], вместе с тем остается не совсем ясным механизм действия ЭФХТ при лечении возвратного гломерулонефрита, подобных случаев не встречается ни в зарубежных, ни в отечественных публикациях.

И наконец, наиболее важным выводом проведенного исследования является необходимость отметить, что протокольная биопсия способна не только показать значимые отличия в ткани пересаженной почки между исследуемыми, но также и помогает предотвратить субклинические изменения в трансплантате и способствует, таким об-

разом, раннему выявлению патологии почечного трансплантата [4, 6, 36, 37].

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ватазин АВ, Василенко ИА, Валов АЛ и др. Витальная компьютерная морфометрия лимфоцитов в диагностике острого отторжения почечного аллотрансплантата. *Вестн трансплантол и искусственных органов* 2009; 11(4): 18-26. [Vatazin AV, Vasilenko IA, Valov AL i dr. Vital'naja komp'yuternaja morfometrija limfocitov v diagnostike ostrogo otorzhenija pochechnogo allotransplantata. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov* 2009; 11(4): 18-26]
2. Cornell LD, Smith RN, Colvin RB. Kidney Transplantation: Mechanisms of Rejection and Acceptance. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2008;(3):189-220. doi: 10.1146/annurev.pathmechdis.3.121806.151508
3. Halloran PF, de Freitas DG, Einecke G et al. An integrated view of molecular changes, histopathology and outcomes in kidney transplants. *Am J Transplant* 2010. (10):2223-2230. doi: 10.1111/j.1600-6143.2010.03268.x
4. Cornell LD, Smith RN, Colvin RB. Kidney Transplantation: Mechanisms of Rejection and Acceptance. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2008;(3):189-220. doi: 10.1146/annurev.pathmechdis.3.121806.151508
5. Волынчик ЕП, Каабак ММ, Стенина ИИ и др. Некоторые аспекты изучения качества жизни реципиентов после трансплантации почки. *Вестн трансплантол и искусственных органов* 2009;11(4):26-30 [Volynchik EP, Kaabak MM, Stenina II i dr. Nekotorye aspekty izucheniya kachestva zhizni recipientov posle transplantacii pochki. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov* 2009;11(4):26-30]
6. Halloran PF, de Freitas DG, Einecke G et al. An integrated view of molecular changes, histopathology and outcomes in kidney transplants. *Am J Transplant* 2010;(10):2223-2230. doi: 10.1111/j.1600-6143.2010.03268.x
7. Nafar M, Farrokhi F, Vaezi M et al. Pre-transplant and post-transplant soluble CD30 for prediction and diagnosis of acute kidney allograft rejection. *Int Urol Nephrol* 2008;(12):2114-2115. doi: 10.1007/s11255-008-9505-x
8. Cattaneo D, Baldelli S, Perico N. Pharmacogenetics of immunosuppressants: progress, pitfalls and promises. *Am J Transplant* 2008;(8):1374. doi: 10.1111/j.1600-6143.2008.02263.x
9. Sahin G, Akay OM, Bal C et al. The effect of calcineurin inhibitors on endothelial and platelet function in renal transplant patients. *Clinical Nephrology* 2011;76(3):218-225. doi: 10.5414/CN106931
10. Mohamed H, Sayegh MD, Laurence A et al. The role of T-cell costimulatory activation pathways in transplant rejection. *N Engl J Med* 1998;338:1813-1821. doi: 10.1056/NEJM199806183382506
11. Adamski J, Kinar T, Ipe T, Cooling L. Extracorporeal photopheresis for the treatment of autoimmune diseases. *Transfus Apher Sci* 2015;52(2):171-82. doi: 10.1016/j.transci.2015.02.005
12. Kenna KE, Whittaker S, Rhodes LE et al. Evidence – based practice of photopheresis 1987 – 2001: a report of a workshop of the British Photodermatology group and the U.K. skin lymphoma group. *Br J Dermatol* 2006;154(1):7-20
13. Bulat V, Situm M, Dedioli I et al. The mechanisms of action of phototherapy in the treatment of the most common dermatoses. *Coll Antropol* 2011;35(2):147-151
14. Кильдюшевский АВ, Федулкина ВА, Фомина ОА, Фомин АМ. Применение экстракорпоральной фотохимиотерапии при лимфомах кожи и трансплантации солидных органов. *Альманах клин мед* 2014; (30): 61-69. [Kil'djushevskij AV, Fedulkina VA, Fomina OA, Fomin AM. Primenenie jekstrakorporal'noj fotohimioterapii pri limfomah kozhi i transplantacii solidnyh organov. *Al'manah klinicheskoj mediciny* 2014;( 30): 61-69]
15. Jung AG, Bertsch HP, Schoen MP, Lippert U. A rare case of a sclerodermoid chronic graft versus host disease. Successful treatment with extracorporeal photopheresis (ECP). *Hautarzt* 2010;61(6):514-517. doi: 10.1007/s00105-010-1924-9
16. Kitko CL, Levine JE. Extracorporeal photopheresis in prevention and treatment of acute GVHD. *Transfus Apher Sci* 2015;52(2):151-156. doi: 10.1016/j.transci.2015.02.001
17. Radojicic V, Pletneva MA, Couriel DR. The role of extracorporeal photopheresis in chronic graft-versus-host disease *Transfus Apher Sci* 2015;52(2):157-161. doi: 10.1016/j.transci.2015.02.002
18. Calore E, Marson P, Pillon M et al. Treatment of Acute Graft-versus-Host Disease in Childhood with Extracorporeal Photochemotherapy/Photopheresis: The Padova Experience. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; Nov;21(11):1963-1972. doi: 10.1016/j.bbmt.2015.07.007
19. Dieterlen MT, Bittner HB, Pierzchalski A et al. Immunological monitoring of extracorporeal photopheresis after heart transplantation. *Clin Exp Immunol* 2014 Apr;176(1):120-128. doi: 10.1111/cei.12254
20. Barten MJ, Dieterlen MT. Extracorporeal photopheresis after heart transplantation. *Immunotherapy* 2014;6(8):927-944. doi: 10.2217/imt.14.69
21. Rummler S, Barz D. Extracorporeal photopheresis – a beneficial treatment for cardiac and lung transplant rejection. *Transplant international* 2011;(24):5. doi: 10.2217/imt.14.69
22. Urbani L, Mazzoni A, Colombatto P et al. Potential applications of extracorporeal photopheresis in liver transplantation *Transplant Proc* 2008 May;40(4):1175-1178. doi: 10.1016/j.transproceed.2008.03.071
23. Roberto Dall' et al. Successful Treatment of Recurrent Rejection in Renal Transplant Patients with Photopheresis. *J Am Soc Nephrol* 1998 Jan;9(1):121-127
24. Baron ED, Heeger PS, Hricik DE et al. Immunomodulatory effect of extracorporeal photopheresis after successful treatment of resistant renal allograft rejection. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2001;(17):79-82
25. Fernandez EJ, Lopez C, Ramirez A et al. Role of photopheresis in the treatment of refractory cellular rejection in kidney transplantation. *Nefrologia* 2016 May-Jun;36(3):327-328. doi: 10.1016/j.nefro.2015.06.023
26. Lai Q, Pretagostini R, Gozzer M et al. Multimodal treatment for acute antibody-mediated renal transplant rejection: successful rescue therapy with combined plasmapheresis, photopheresis and intravenous immunoglobulin. *G Ital Nefrol* 2012 Jan-Feb;29(54):S31-35
27. Jardine MJ, Bhandari S, Wyburn KR et al. Photopheresis Therapy for Problematic Renal Allograft Rejection. *J Clin Apher* 2009;24(4):161-169. doi: 10.1002/jca.20199
28. Lamioni A, Carsetti R, Legato A et al. Induction of regulatory T cells after prophylactic treatment with photopheresis in renal transplant recipient. *Transplantation* 2007 May 27;83(10):1393-1396
29. Genberg H, Kumlien G, Shanwell A, Tydén G. Refractory acute renal allograft rejection successfully treated with photopheresis. *Transplant Proc* 2005 Oct;37(8):3288-3289
30. Kuzstal M, Kościelska-Kasprzak K, Gdowska W et al. Extracorporeal photopheresis as an antirejection prophylaxis in kidney transplant recipients: preliminary results. *Transplant Proc* 2011 Oct;43(8):2938-2940. doi: 10.1016/j.transproceed.2011.08.061
31. Kuzstal M, Kiak R, Krajewska M et al. Application of extracorporeal photopheresis in kidney transplant recipients: technical considerations and procedure tolerance. *Transplant Proc* 2011 Oct;43(8):2941-2942. doi: 10.1016/j.transproceed.2011.08.034
32. Траилин АВ, Никоненко ТН, Никоненко АС. Обзор материалов Банфф-конференции 2011 года. *Вестн трансплантол и искусственных органов* 2012;(1):114-122 [Trailin AV, Nikonenko TN, Nikonenko AS. Obzor materialov Banff – konferencii 2011 goda. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov* 2012;(1):114-122]
33. Solez K, Colvin RB, Racusen LS et al. Banff 07 Classification of Renal Allograft Pathology: Updates and Future Directions. *Am J Transplant* 2008 Apr;8(4):753-760. doi: 10.1111/j.1600-6143.2008.02159.x
34. Schmid D, Grabmer C, Streif D et al. T-cell death,

phosphatidylserine exposure and reduced proliferation rate to validate extracorporeal photochemotherapy. *Vox Sang.* 2015 Jan;108(1):82-88. doi: 10.1111/vox.12200

35. Ватазин АВ, Зулькарнаев АБ, Кильдюшевский АВ и др. Некоторые механизмы действия экстракорпоральной фотохимиотерапии при трансплантации солидных органов. *Вестн трансплантол и искусственных органов* 2014;16(1):76-84. [Vatazin AV, Zul'karnaev AB, Kil'djushevskij AV i dr. Nekotorye mehanizmy dejstvija jekstrakorporal'noj fotohimioterapii pri transplantacii solidnyh organov. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov* 2014;16(1):76-84]

36. Ibernón M, Goma M, Moreso F et al. Subclinical rejection impairs glomerular adaptation after renal transplantation. *Kidney Int* 2006 Aug;70(3):557-561

37. Сухоруков ВА, Юшинский ЯЛ, Штрумфа И, Розенталь РЛ. Значение протокольных биопсий в раннем периоде после трансплантации почки. *Вестн трансплантол и искусственных органов* 2010;12(4):33-36 [Suhorukov VA, Jushinskis JaL, Shtrumfa I, Rozental' RL. Znachenie protokol'nyh biopsij v rannem periode posle transplantacii pochki. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov* 2010;12(4):33-36]

#### Сведения об авторах:

Федулкина Вероника Андреевна, к.м.н.

129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Старший научный сотрудник хирургического отделения трансплантологии и диализа. Тел.: 8-495-684-54-53, E-mail: v.fedulkina@mail.ru  
Veronica A. Fedulkina, PhD,  
Senior Researcher of the Surgical department of Transplantation and Dialysis, Moscow Regional Research Clinical Institute named of MF Vladimirsky. Address: 129110 Russia, Moscow, Shchepkina st., 61/2, build. 6. Phone (495) 684-54-53, E-mail: v.fedulkina@mail.ru

Ватазин Андрей Владимирович, д.м.н., профессор  
129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Руководитель отдела трансплантологии, нефрологии и хирургической гемокоррекции. Тел.: 8-495-684-54-53, E-mail: vatazin@yandex.ru  
Andrey V. Vatzin, Prof. MD, PhD, DMedSci,  
Head of the department of Transplantation, nephrology and Surgical hemocorrection, Moscow Regional Research Clinical Institute named of MF Vladimirsky. Address: 129110 Russia, Moscow, Shchepkina st., 61/2, build. 6. Phone 8-495-684-54-53, E-mail: vatazin@yandex.ru

Кильдюшевский Александр Вадимович, д.м.н., профессор  
129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 11. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский кли-

нический институт им. М.Ф. Владимирского. Ведущий научный сотрудник отделения хирургической гемокоррекции и детоксикации. Тел.: (495) 631-72-82, E-mail: kildushev@yandex.ru

Alexander V. Kildushevskiy, Prof, MD, PhD, DMedSci,  
Leading researcher of the department of Surgical hemocorrection and detoxification, Moscow Regional Research Clinical Institute named of MF Vladimirsky. Address: 129110 Russia, Moscow, Shchepkina st., 61/2, build. 11. Phone (495) 631-72-82, E-mail: kildushev@yandex.ru

Столяревич Екатерина Сергеевна, д.м.н.

123182, Москва, ул. Пехотная, д. 3. ГБУЗ «Городская клиническая больница №52 Департамента здравоохранения г. Москвы», Московский городской нефрологический центр. E-mail: Stolyarevich@ya.ru

Ekaterina S. Stolyarevich, MD, City Clinical Hospital №52 Department of Health in Moscow, «Moscow City Nephrology Center», 123182 Moscow, Russia. Pehotnaya str., d. 3, Moscow, Russia, E-mail: Stolyarevich@ya.ru

Круглов Евгений Ефимович, д.м.н., профессор

129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 1. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Главный врач. Тел.: (495) 681-41-70, e-mail: kruglov@monikiweb.ru

Kruglov Evgeniy E., MD, Professor,  
Chief Physician Moscow Regional Research Clinical Institute named of MF Vladimirsky. Address: 129110 Russia, Moscow, Shchepkina st., 61/2, build. 1, tel: (495) 681-41-70 e-mail: kruglov@monikiweb.ru

Кантария Русудана Отаровна, к.м.н.

129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, корп. 6. ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского. Врач-нефролог хирургического отделения трансплантологии и диализа. Тел.: 8 (495) 684-57-91, e-mail: rusiko\_k@mail.ru

Kantariya Rusudana O., PhD,  
physician-nephrologist of the Surgical department of Transplantation and Dialysis, Moscow Regional Research Clinical Institute named of MF Vladimirsky. Address: 129110 Russia, Moscow, Shchepkina st., 61/2, build. 6. Tel: 8 (495) 684-57-91, e-mail: rusiko\_k@mail.ru

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Поступила в редакцию: 25.04.2016 г.

Принята в печать: 12.09.2016 г.

© Е.С.Столяревич, Л.Ю.Артюхина, Е.С.Иванова, Н.А.Томилина, 2016  
УДК 616.61 – 089.843.168.6 – 08.382.014.45 + 616.153.962

*Е.С. Столяревич<sup>1,2,3</sup>, Л.Ю. Артюхина<sup>3</sup>, Е.С. Иванова<sup>3</sup>, Н.А. Томилина<sup>1,2,3</sup>*

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ПЛАЗМАФЕРЕЗОМ, ВНУТРИВЕННЫМ ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ ИММУНОГЛОБУЛИНОМ И РИТУКСИМАБОМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ОТТОРЖЕНИЯ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ ПОЧКИ

<sup>1</sup>Отделение нефрологических проблем трансплантации почки Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова; <sup>2</sup>кафедра нефрологии факультета дополнительного профессионального образования Московского медико-стоматологического университета, Россия; <sup>3</sup>Городская клиническая больница №52, Москва, Россия

*E.S. Stolyarevich<sup>1,2,3</sup>, L.Yu. Artyukhina<sup>3</sup>, E.S. Ivanova<sup>3</sup>, N.A. Tomilina<sup>1,2,3</sup>*

## USE OF COMBINED THERAPY BY PLASMAPHERESIS, HUMAN INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN AND RITUXIMAB FOR CHRONIC RENAL ALLOGRAFT REJECTION

<sup>1</sup>Department of renal transplantation nephrology problems, Federal center of Transplantology and Artificial Organs n.a V.I. Shumakov, <sup>2</sup>Department of Nephrology supplementary vocational education Moscow University of Medicine and Dentistry, <sup>3</sup>Moscow city hospital №52, Russia

### РЕФЕРАТ

**ЦЕЛЬ** – оценить эффективность использования комбинации внутривенного человеческого иммуноглобулина (ВВИГ) с плазмаферезом и ритуксимабом для лечения трансплантационной гломерулопатии в поздние сроки после трансплантации почки. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** В исследование было включено 50 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом трансплантационной гломерулопатии, 24 из которых получали лечение плазмаферезом в сочетании с ВВИГ и ритуксимабом. Контрольную группу составили 26 пациентов, не получавших антигуморального лечения. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** На момент постановки диагноза СКФ в исследуемой и контрольной группах не различалась ( $44,9 \pm 21,3$  и  $41,2 \pm 14,6$  мл/мин,  $p=0,47$ ), однако последующие темпы снижения функции трансплантата были ниже в группе получавших лечение по сравнению с контролем:  $-0,47 \pm 0,6$  мл/мин/мес и  $1,31 \pm 1,6$  мл/мин/мес ( $p=0,02$ ). 3-летняя выживаемость трансплантатов, таким образом, составила 21,3% и 64,8% у пациентов, получавших лечение ( $p=0,01$ ). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Наше исследование показало, что трансплантационная гломерулопатия, будучи наиболее частым вариантом хронического гуморального отторжения, характеризуется неблагоприятным прогнозом, который мало зависит от особенностей морфологической картины и активности процесса на момент постановки диагноза. Комплексное лечение, включающее сеансы плазмафереза, внутривенный человеческий иммуноглобулин и ритуксимаб, позволяет замедлить темпы прогрессирования хронического отторжения по крайней мере у части пациентов с хроническим гуморальным отторжением, выявленным в поздние сроки после АТП.

**Ключевые слова:** антитело-опосредованное отторжение, трансплантационная гломерулопатия, плазмаферез, внутривенный человеческий иммуноглобулин, ритуксимаб.

### ABSTRACT

**AIM** – to evaluate efficiency of use of combined human intravenous immunoglobulin (IVIg) with plasmapheresis and rituximab for transplantation glomerulopathy in late period after kidney transplantation. **PATIENTS AND METHODS.** The study included 50 patients with morphologically verified transplantation glomerulopathy, 24 of which received plasmapheresis with IVIg and rituximab. Control group consisted of 26 patients without antihumoral treatment. **RESULTS.** At diagnosis GFR in study and control groups has no differ ( $44.9 \pm 21.3$  vs  $41.2 \pm 14.6$  ml/min,  $P=0.47$ ), but following graft function depression rate was lower in group which received treatment in comparison with control group:  $-0.47 \pm 0.6$  ml/min/month and  $-1.31 \pm 1.6$  ml/min/month ( $p=0.02$ ). Therefore 3-year survivability of graft was 21.3% vs 64.8% in patients receiving treatment ( $P=0,01$ ). **CONCLUSION.** Our study showed that transplantation glomerulopathy as the most often variant of chronic humoral rejection is characterized by unfavorable prognosis regardless of its morphological case and process activity at diagnosis. Combined treatment including plasmapheresis, human intravenous immunoglobulin and rituximab makes it possible to delay the progression of chronic rejection at least in some patients with chronic humoral rejection revealed in late period after renal allotransplantation.

**Key words:** antibody-mediated rejection, transplant glomerulopathy, plasmapheresis, human intravenous immunoglobulin, rituximab.

Столяревич Е.С. 123182, Москва, ул. Пехотная, д. 3. ГБУЗ «Городская клиническая больница №52 Департамента здравоохранения г. Москвы», Московский городской нефрологический центр. E-mail: Stolyarevich@ya.ru

## ВВЕДЕНИЕ

Исследования последних лет показали, что основной причиной потерь почечного трансплантата в поздние сроки после аллотрансплантации почки (АТП) является гуморальное отторжение, наиболее частым вариантом которого принято считать трансплантационную гломерулопатию (ТГ). На ранней стадии гуморальное отторжение проявляется признаками микроциркуляторного воспаления с задержкой воспалительных клеток в капиллярах клубочков и перитубулярных капиллярах (ПТК), ведущего к повреждению клеток эндотелия и последующему ремоделированию капиллярной стенки с формированием двойных контуров капилляров клубочка и расслоением базальной мембраны ПТК, характерных уже для хронического гуморального отторжения [1, 2]. Вышеперечисленные морфологические признаки в сочетании со свечением С4d и выявлением DSA составляют спектр изменений, характерных для гуморального отторжения, при этом признаки микроциркуляторного воспаления могут предшествовать либо сосуществовать с хроническими изменениями [3–6]. Тем не менее, выявление даже единичных двойных контуров капиллярных петель позволяет диагностировать хроническое отторжение, которое считается активным в случаях свечения С4d на ПТК. Таким образом, острое гуморальное отторжение, наряду с активным и неактивным хроническим отторжением, представляет разные стадии одного и того же процесса, ведущего к дисфункции почечного трансплантата и, в конечном счете, его потере. При этом эффективность лечения и прогноз нефропатии при остром и хроническом гуморальном отторжении в значительной степени различаются. Для лечения гуморального отторжения традиционно используется терапия, направленная на элиминацию донорспецифических антител (ДСА) и предупреждение их продукции. Действительно, комбинированная терапия, включавшая высокие дозы человеческого иммуноглобулина (ВВИГ) в сочетании с плазмаферезом и ритуксимабом, оказалась достаточно эффективной для лечения эпизодов острого гуморального отторжения, что было продемонстрировано в ряде исследований [7–10]. В случаях же хронического отторжения результаты лечения, как правило, неудовлетворительны. На сегодняшний день опубликованы данные лишь нескольких небольших исследований, результаты которых крайне противоречивы [11–15]. Несмотря на не вполне очевидный эффект лечения в целом, авторы отмечают стабилизацию функции

почечного трансплантата у некоторых пациентов даже в случаях сформировавшихся хронических изменений, в том числе по типу трансплантационной гломерулопатии.

Целью настоящего исследования было оценить эффективность использования комбинации человеческого иммуноглобулина с плазмаферезом и ритуксимабом для лечения трансплантационной гломерулопатии в поздние сроки после трансплантации почки.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 50 пациентов с морфологически подтвержденной хронической трансплантационной гломерулопатией, выявленной в поздние сроки после АТП. Срок с момента трансплантации составлял от 7,3 до 285 мес (в среднем 81,4 мес). У всех пациентов показанием к биопсии почек была дисфункция почечного трансплантата (средний уровень креатинина крови –  $0,21 \pm 0,08$  ммоль/л), изолированно либо в сочетании с протеинурией (в среднем  $2,1 \pm 1,9$  г/сут). Диагноз хронического гуморального отторжения ставился в случаях выявления морфологических признаков ТГ и хотя бы одного из следующих условий: свечение С4d-фрагмента комплемента на ПТК и выявление анти-HLA-антител. Пациенты с изолированной ТГ из исследования были исключены [6].

Средний возраст пациентов составлял  $40,6 \pm 12,5$  лет (М : Ж / 60 : 40%). Большинство из них (n=44) получали 3-компонентную ИСТ, включавшую циклоспорин (n=28) либо такролимус (n=16) в сочетании с кортикостероидами (у всех), микофенолатами (n=41) или азатиоприном (n=3), 2 пациента получали 3-компонентную терапию на базе ингибиторов пролиферативного сигнала (сертикан) и 4 были на 2-компонентной терапии СуА и кортикостероидами (табл. 1).

В зависимости от проводимого лечения была выделена группа исследования, включавшая 24 пациентов, получивших лечение плазмаферезом, внутривенным человеческим иммуноглобулином и ритуксимабом (ПФ+ВВИГ+Рит), контрольную группу составили 26 пациентов, не получивших специфическую терапию.

Гистологическое исследование биоптатов трансплантата почки включало в себя световую микроскопию и иммунофлюоресцентное исследование на замороженных срезах. При проведении световой микроскопии проводились окраски гематоксилином и эозином, ШИК-реакция и окраска трихромом по Массону. Морфологическая диа-

гностика отторжения проводилась в соответствии с Banff классификацией [3]. Трансплантационная гломерулопатия диагностировалась при выявлении двойных контуров в >10% капиллярных петель хотя бы в одном клубочке (Banff cg1).

Определение C4d выполнялось на замороженных срезах методом непрямой иммуофлюоресценции с использованием FITC-меченых моноклональных антител к C4d-фрагменту компонента (Quidel Corporation, San Diego, CA). Свечение оценивалось как диффузное в случаях выявления экспрессии более чем в 50% перитубулярных капилляров либо как фокальное при вовлечении в процесс 10–50% ПТК [3].

Всем пациентам выполнялось также определение анти-HLA-антител I и II класса методом ELISA (у 78% пациентов) либо Luminex (у 50% пациентов). В 28% случаев для определения анти-HLA-антител выполнялись оба метода.

#### **Характеристика пациентов с трансплантационной гломерулопатией**

Из 50 пациентов, включенных в исследование, 31 имели все три признака (ТГ+ C4d+ анти-HLA-антитела), что позволило говорить об активном хроническом гуморальном отторжении. У 15 пациентов имело место C4d-негативное хроническое отторжение, еще в 4 случаях нам не удалось выявить анти-HLA-антитела на момент биопсии несмотря на очевидную картину ТГ и диффузное свечение C4d-фрагмента компонента на ПТК.

Тяжесть ТГ расценивалась как минимальная, умеренная и выраженная в 24, 20 и 6 случаях соответственно. Свечение C4d-фрагмента компонента на ПТК было диффузным у 26 человек и фокальным – у 9. У 13 пациентов, наряду с ТГ, имелись также признаки острого клеточного отторжения, интерстициального (7 случаев) либо сосудистого (6 случаев). Анти-HLA-антитела были представлены преимущественно II классом, выявлявшимся изолированно у 30 человек и в сочетании с антителами I класса – еще у 12. Лишь в 4 случаях антитела I класса выявлялись изолированно. Клинико-лабораторные и морфологические характеристики пациентов приведены в табл. 1. Как видно из таблицы, эти показатели на момент диагностики отторжения не различались в подгруппах, выделенных в зависимости от проводимого лечения.

#### **Протокол лечения**

После верификации диагноза хронического гуморального отторжения все пациенты, получавшие двухкомпонентную ИСТ либо иммуносупрессию на базе циклоспорина или эверолимуса,

были переведены на трехкомпонентную терапию, включавшую такролимус, препараты микофеноловой кислоты и кортикостероиды. В случаях сопутствующего клеточного отторжения, имевшего место у 13 пациентов интерстициального (7 случаев) либо сосудистого (6 случаев) (см. табл. 1) проводилась пульс-терапия метилпреднизолоном по 250–500 мг №3. В последующем 22 пациента исследуемой группы получили комплексное лечение плазмаферезом (№4–6), внутривенным человеческим иммуноглобулином (0,5–1 г/кг) и ритуксимабом (однократно 500 мг). У двух пациентов, имевших C4d-негативное отторжение, проявлявшееся изолированной протеинурией, проводилось лечение только внутривенным человеческим иммуноглобулином в дозе 0,5 мг/кг. Контрольную группу составили 26 пациентов, не получавших специфического антигуморального лечения.

Оценка эффективности лечения проводилась в сравнении с контрольной группой по выживаемости почечных трансплантатов к 2 годам наблюдения с момента диагностики ХОТ, вычисленной методом Каплана–Майера. Функция трансплантата оценивалась по уровню креатинина крови и скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по Кокрафту–Голту. Темпы снижения функции трансплантата рассчитывались по изменению СКФ за месяц (СКФ к концу наблюдения – СКФ исходная / длительность наблюдения в месяцах). Относительный риск потери трансплантата оценивался в многофакторной регрессионной модели Кокса.

При статистическом анализе данных использовали «SPSS Statistics 17.0» («SPSS Inc: An IBM Company», США) переменные, имеющие нормальное распределение, описывались как среднее  $\pm$  среднее квадратичное отклонение. При сравнении средних значений использовали критерий Стьюдента. Для оценки достоверности различий качественных признаков применялся точный критерий Фишера и  $\chi^2$ -критерий. Для переменных с распределением, отличным от нормального, вычислялись медиана и интерквартильный размах. Для сравнения этих переменных использовались критерии Манна–Уитни и Краскела–Уолиса. Нулевую статистическую гипотезу об отсутствии различий и связей отвергали при  $p < 0,05$ .

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ**

В целом выживаемость трансплантатов при хроническом отторжении оказалась низкой, составляя 41,2% к трем годам после верификации диагноза, причем этот показатель значимо не различался в зависимости от характера свечения C4d

**Клинико-лабораторные и морфологические характеристики пациентов на момент диагностики отторжения**

Показатель	Всего (n=50)	ПФ/ИБВИГ/Рит (n=24)	Контроль (n=26)	p
Возраст (среднее±SD, годы)	40,6±12,5	42,7±12,0	38,7±12,9	NS
Срок после АТП (среднее ±SD, мес)	81,4±51,8	82,6±67,5	80,4±49,1	NS
Креатинин крови (среднее ±SD ммоль/л)	0,21±0,08	0,2±0,06	0,2±0,09	NS
СКФ (среднее ±SD, мл/мин)	43,1±18,3	41,2±14,6	44,9±21,3	NS
Протеинурия (среднее ±SD, г/сут)	2,07±1,9	2,6±2,1	1,7±1,7	NS
Анти-HLA-антитела				
I класса	4 (8)	2 (8)	2 (8)	NS
II класса	30 (60)	16 (67)	14 (54)	
I+II класса	12 (24)	5 (21)	7 (27)	
Негативно	4 (8)	1 (4)	3 (11)	
Выраженность ТГ (cg)				
1	24 (48)	12 (50)	12 (46)	NS
2	20 (40)	8 (33)	12 (46)	
3	6 (12)	4 (17)	2 (8)	
(Banff score)	1,6±0,7	1,7±0,8	1,6±0,6	
C4d на ПТК, n (%)				
негативно	15 (30)	6 (25)	9 (35%)	NS
фокально	9 (18)	3 (13)	6 (23%)	
диффузно	26 (52)	15 (62)	11(42%)	
Перитубулярит (ptc)				
0	19 (38)	8 (33)	11 (42)	NS
1	19 (38)	11 (46)	8 (31)	
2	9 (18)	4 (17)	5 (19)	
3	3 (6)	1 (4)	2 (8)	
(Banff score)	0,92±0,9	0,92±0,9	0,92±1,0	
Гломерулит				
0	8 (16)	3 (13)	5 (19)	NS
1	25 (50)	13 (54)	12 (46)	
2	10 (20)	6 (25)	4 (16)	
3	7 (14)	2 (8)	5 (19)	
(Banff score)	1,32±0,9	1,29±0,8	1,35±1,0	
Интимальный артерии, n (%)				
0	44 (88)	22 (92%)	22 (85)	NS
1	6 (12)	2 (8%)	4 (15)	
2	0	0	0	
3	0	0	0	
Тубулит				
0	26 (52)	16 (67)	10 (39)	NS
1	13 (26)	4 (16)	9 (34)	
2	9 (18)	3 (13)	6 (23)	
3	2 (4)	1 (4)	1 (4)	
(Banff score)	0,74±0,9	0,54±0,9	0,92±0,9	
Гломерулосклероз, s (%)	22,4±25,3	14,8±20,1	28,8±27,6	0,05
Интерстициальный фиброз (%)	25,6±18,3	23,8±14,9	27,4±21,2	NS
(Banff score)	1,54±0,9	1,54±0,8	1,54±0,9	

Примечание. NS – различия недостоверны.

и признаков сопутствующего острого клеточного отторжения, которое наблюдалось у 13 пациентов [в 7 случаях – интерстициальное (Banff 1 a–b) и в 6 – сосудистое (Banff 2a)] (рис.1).

За время наблюдения в группе в целом отмечалось прогрессирующее снижение функции трансплантата: СКФ снизилась с 43,1±18,3 мл/мин на момент верификации диагноза до 33,6±18,9 мл/мин к концу исследования.

На момент постановки диагноза СКФ в исследуемой и контрольной группах не различалась (44,9 ± 21,3 и 41,2 ± 14,6 мл/мин, p=0,47) и после-

дующее снижение функции трансплантата также отмечалось в обеих группах. Тем не менее, темпы снижения СКФ были значительно ниже в группе получавших лечение по сравнению с контролем:  $-0,47 \pm 0,6$  и  $-1,31 \pm 1,6$  мл/мин/мес соответственно (p = 0,02) (рис. 2).

В целом на протяжении всего периода наблюдения было отмечено 22 потери почечного трансплантата, 15 из них были в группе контроля и 7 – в исследуемой группе. Таким образом, 3-летняя выживаемость трансплантатов составила 21,3 и 64,8% у пациентов, получавших лечение (p=0,01).

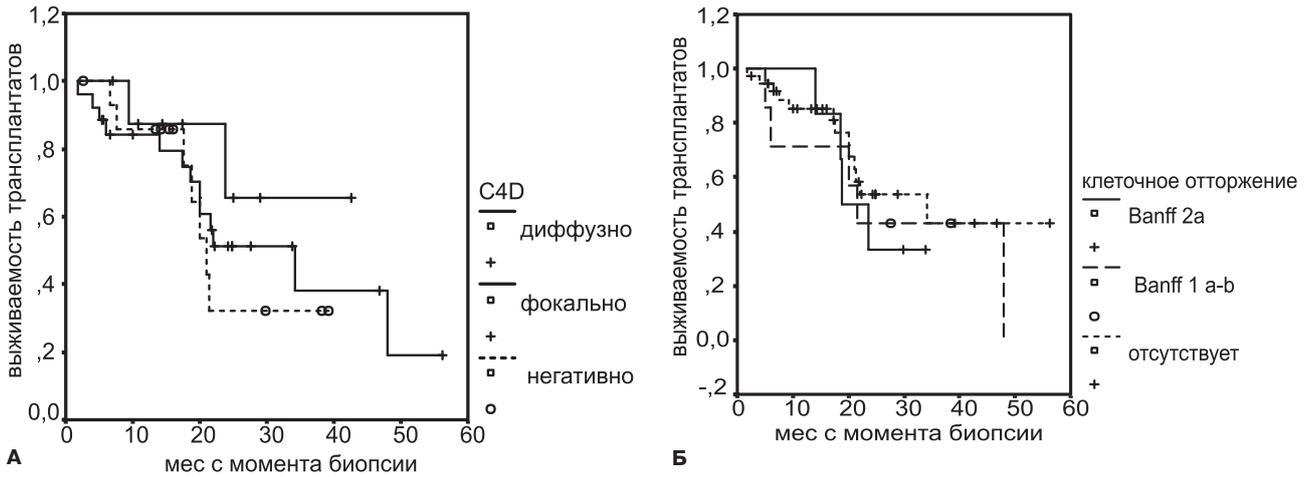


Рис. 1. Выживаемость трансплантатов в зависимости от характера свечения C4d (А) и признаков сопутствующего острого клеточного отторжения (Б).

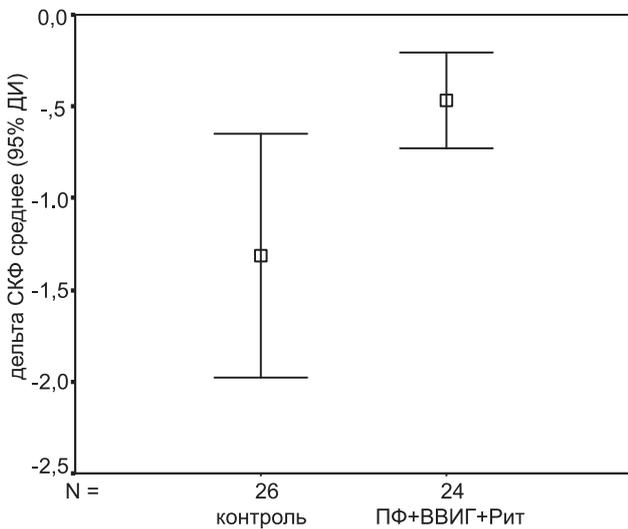


Рис. 2. Темпы снижения СКФ, оцененные как (СКФ<sub>конечн</sub>-СКФ<sub>исх</sub>)/ длительность наблюдения (мес).

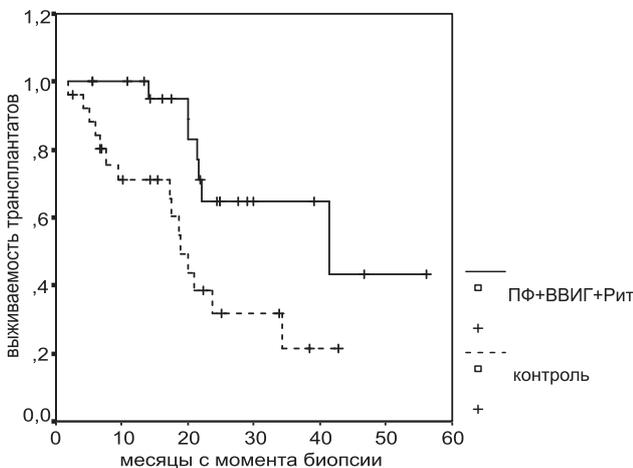


Рис. 3. Выживаемость трансплантатов в зависимости от проводимого лечения.

При оценке прогностического значения отдельных клинико-лабораторных и морфологических факторов в многофакторной регрессионной модели Кокса оказалось, что самостоятельное влияние на прогноз нефропатии оказывали лишь выраженность дисфункции на момент постановки диагноза и характер проводимого лечения (табл. 2).

Среди побочных эффектов терапии преобладали инфекционные осложнения, отмечавшиеся у 8 пациентов из 24 (33%), в том числе бактериальные либо вирусные пневмонии, имевшие место у 6 человек. В контрольной группе инфекционные осложнения отмечались реже (16%), однако эти различия не достигали статистической значимости ( $p=0,06$ ). Неинфекционные осложнения проводимого лечения включали в себя аллергические реакции на свежзамороженную плазму (у 3 человек) и изменения со стороны системы крови (анемия, лейкопения), отмечавшиеся у 2 человек. В целом частота побочных эффектов составила 33% в исследуемой группе, тогда как в группе контроля этот показатель составил 16% ( $p<0,05$ ).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования последних лет показали, что трансплантационная гломерулопатия является наиболее часто встречающимся вариантом хронического гуморального отторжения и характеризуется плохим прогнозом с быстрым прогрессированием до терминальной ХПН.

Наши данные о выживаемости трансплантатов при ХТГ согласуются с существующими представлениями о течении данной патологии, так 2-летняя выживаемость составила лишь 42,9%. Этот показатель оказался несколько более низ-

Таблица 2

**Прогностическое значение отдельных клинико-лабораторных и морфологических факторов в многофакторной модели Кокса, морфологических факторов в многофакторной модели Кокса**

Показатель	p	ОШ	95,0% ДИ	
			min	max
Лечение	0,002	0,106	0,026	0,439
ТГ	0,398	0,644	0,232	10,787
ИФ (%)	0,263	10,020	0,985	10,056
ГС (%)	0,120	0,972	0,937	10,008
С4D	0,765	0,899	0,446	10,811
Возраст	0,789	10,007	0,955	10,062
Срок после АТП	0,749	10,002	0,990	10,015
Клеточный компонент	0,270	10,552	0,711	30,389
Протеинурия	0,557	10,095	0,809	10,482
СКФ	0,010	0,947	0,909	0,987

Примечание. ТГ – выраженность трансплантационной гломерулопатии (степень); ИФ – распространенность интерстициального фиброза (%); ГС – выраженность гломерулосклероза (% полностью склерозированных клубочков); С4D – наличие и характер свечения С4D; ДИ – доверительный интервал; ОШ – отношение шансов.

ким, чем было представлено J.M. Gloor и соавт. [16], описавшими естественное течение ТГ на материале 55 пациентов с этой патологией, может объясняться меньшей тяжестью исходного повреждения за счет преобладания субклинических форм. В других же исследованиях, включавших клинически манифестные случаи ТГ, выживаемость трансплантатов оказалась столь же низкой, как и в нашем наблюдении, и не превышала 50% к 2 годам наблюдения [15,17]. В целом же особенности течения этой патологии могут в значительной степени различаться за счет гетерогенности морфологической картины.

Несмотря на четко определенные морфологические критерии диагноза, морфологическая картина при ХОТ может существенно различаться в зависимости как от стадии самой ТГ, так и от распространенности интерстициального фиброза, от присутствия и характера свечения С4d на ПТК, а также от выраженности сопутствующего клеточного компонента отторжения. Несмотря на то, что эти особенности коррелировали с клиническими проявлениями отторжения, в нашем исследовании не удалось обнаружить ни одного морфологического фактора, оказывающего влияние на течение ТГ и ее отдаленный прогноз. Так, выявление сопутствующего клеточного отторжения, наблюдавшееся у 14 пациентов, потребовало дополнительного лечения высокими дозами кортикостероидов, но в конечном счете не оказало значимого

влияния на прогноз нефропатии. Не различалась выживаемость трансплантата и в зависимости от активности процесса, оценивавшейся по характеру экспрессии С4d.

Согласно Banff-классификации, для диагностики гуморального отторжения рассматривается лишь диффузное свечение С4d на ПТК [3], как наиболее тесно коррелирующее с продукцией ДСА и прогнозом нефропатии. Однако эта взаимосвязь была убедительно продемонстрирована прежде всего для случаев острого гуморального отторжения, тогда как в случаях ХОТ С4d в целом выявляется реже и оказывает меньшее влияние на течение заболевания. Так, в исследовании A. Haririan и соавт. не наблюдалось значимых различий в течении отторжения в зависимости от характера свечения [18], другие исследователи отмечают несколько более благоприятный прогноз при фокальном характере экспрессии С4d [19, 20]. В нашем исследовании прогноз ТГ практически не различался в зависимости от характера свечения С4d, что заставило нас рассматривать различные варианты его экспрессии как проявление различных стадий одного и того же процесса, а не как самостоятельные формы отторжения. Таким образом, прогноз ХОТ практически не зависел от особенностей морфологической картины, что требовало сходных подходов к терапии этого заболевания независимо от его стадии и активности процесса.

Существующие представления о возможном лечении гуморального отторжения включают в себя целый комплекс мер, направленных на удаление имеющихся антидонорских антител и на предупреждение их образования в последующем. Наиболее часто с этой целью используются сеансы плазмафереза, человеческий иммуноглобулин и анти-CD20-антитела (ритуксимаб), применяемые в различных комбинациях и режимах. Эта стратегия уже доказала свою эффективность в лечении эпизодов острого гуморального отторжения [7–10]. Напротив, сформировавшаяся хроническая трансплантационная гломерулопатия отличается резистентностью к проводимой терапии. На сегодняшний день опубликованы результаты лишь нескольких подобных исследований, и результаты их крайне противоречивы. Как правило, речь идет о небольших сериях наблюдений, описывающих частичный эффект от проводимого лечения, приводящего к стабилизации функции трансплантата у части пациентов. Так, по данным Billing, применение комбинированной терапии ВВИГ в дозе 1 г/кг с последующим введением ритуксима-

ба (325 мг/м<sup>2</sup>) привело к стабилизации функции трансплантата у 14 из 20 детей с активным ХОТ [12]. Сходную эффективность подобного лечения продемонстрировал и T. Fehr и соавт. у 4 пациентов взрослого возраста [13]. В другом исследовании было отмечено замедление темпов снижения СКФ в течение 6 мес после лечения ВВИГ и Ритуксимабом у 12 из 18 пациентов с ХОТ в сравнении с динамикой СКФ у этих же пациентов на протяжении 6 месяцев до начала лечения [21, 22]. Большинство авторов, применявших различные методы лечения ХОТ, отмечают эффект от лечения лишь у части пациентов, однако ни в одном из исследований не удалось достоверно определить факторы, ассоциирующиеся с ответом на лечение. При этом существуют и объективные причины, объясняющие резистентность пациентов с ХОТ к лечению. Так, выраженные структурные изменения стенок капилляров, характерные для поздней стадии ХОТ и проявляющиеся клинически массивной протеинурией, прогрессируют в направлении терминальной ХПН даже в отсутствие иммунологической активности [21, 22]. С другой стороны – преобладание В-клеток памяти и плазматических клеток у взрослых в сравнении с детьми делает их менее восприимчивыми к лечению ритуксимабом [23].

Несмотря на то, что большинство авторов склоняются к целесообразности антигуморального лечения при ХОТ, в отсутствие контрольной группы оценить истинную эффективность такого лечения в представленных исследованиях представляется затруднительным, поскольку естественное течение ТГ может характеризоваться чередованием периодов прогрессирования с периодами относительной стабилизации процесса.

В пользу такого предположения говорят и данные недавно опубликованного исследования Vachelet и соавт., не продемонстрировавшее значимых различий в 2-летней выживаемости между пациентами, получавшими терапию ВВИГ и ритуксимабом по сравнению с контрольной группой (47 и 40% соответственно,  $p=0,69$ ) [16]. Наше исследование имело сходный дизайн исследования и схожие клиничко-морфологические характеристики пациентов, напротив продемонстрировало различия в выживаемости между группами – 64,8 и 21,3% ( $p = 0,01$ ). Одним из возможных объяснений может быть включение в протокол лечения сеансов плазмафереза, которые позволяют быстро вывести уже имеющиеся антидонорские антитела и потенцируют эффект ВВИГ. Несмотря на то, что использование плазмафереза по Cedars-Sinai

Medical Center протоколу [7] плазмафереза считается необходимым лишь в случаях, когда картина гуморального отторжения сопровождается признаками тромботической микроангиопатии, исследования Lefaucheur и соавт. показали преимущество протоколов лечения гуморального отторжения, включавших плазмаферез с применением только ВВИГ и ритуксимаба [24].

Интересно, что критическим сроком в лечении ХОТ представляется двухлетний период: так в 3 случаях из 4 потеря трансплантата в исследуемой группе произошла в период от 20 до 22 мес с момента начала лечения. Это наблюдение позволяет предположить, что двухлетний период наблюдения является недостаточным для точной оценки эффективности лечения хронического гуморального отторжения.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование показало, что трансплантационная гломерулопатия, будучи наиболее частым вариантом хронического гуморального отторжения, характеризуется неблагоприятным прогнозом, который мало зависит от особенностей морфологической картины и активности процесса на момент постановки диагноза. Комплексное лечение, включающее сеансы плазмафереза, внутривенный человеческий иммуноглобулин и ритуксимаб, позволяет замедлить темпы прогрессирования хронического отторжения по крайней мере у части пациентов с хроническим гуморальным отторжением, выявленным в поздние сроки после АТП.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Colvin RB et al. Diagnostic Pathology: Kidney Diseases. Amirsys; Salt Lake City: 2011
2. Colvin RB, Nickenleit V. Heptinstall's Pathology of the Kidney. Jennette JC, Olson JL, Schwartz MM, Silva FG editors. Vol. 2. Lippincott-Raven; Philadelphia: 2006. P.1347-1490
3. Racusen LC, Colvin RB, Solez K et al. Antibody-mediated rejection criteria – an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 2003; 3: 708–714
4. Sis B, Mengel M, Haas M et al. Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. *Am J Transplant* 2010;10(3):464-471
5. Gloor J, Cosio F, Lager DJ et al. The spectrum of antibody-mediated renal allograft injury: Implications for treatment. *Am J Transplant* 2008; 8: 1367–1373
6. Sis B, Campbell PM, Mueller T et al Transplant glomerulopathy, late antibody-mediated rejection and the ABCD tetrad in kidney allograft biopsies for cause. *Am J Transplant* 2007 Jul;7(7):1743-1752
7. Jordan SC, Quartel AW, Czer LS et al. Posttransplant therapy using high-dose human immunoglobulin (intravenous gammaglobulin) to control acute humoral rejection in renal and cardiac allograft recipients and potential mechanism of action. *Transplantation* 1998 Sep 27;66(6):800-805
8. Everly MJ, Everly JJ, Arend LJ et al. Reducing De Novo

Donor-Specific Antibody Levels during Acute Rejection Diminishes Renal Allograft Loss. *American Journal of Transplantation* 2009; 9(5): 1063–1071

9. Montgomery RA, Zachary AA, Racusen LC et al. Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match-positive recipients. *Transplantation* 2000 Sep 27;70(6):887–895

10. Rocha PN, Butterly DW, Greenberg A et al. Beneficial effect of plasmapheresis and intravenous immunoglobulin on renal allograft survival of patients with acute humoral rejection. *Transplantation* 2003; 75: 1490–1495

11. Smith RN, Malik F, Goes N et al Partial therapeutic response to Rituximab for the treatment of chronic alloantibody mediated rejection of kidney allografts. *Transpl Immunol* 2012;27(2-3):107–113. doi: 10.1016/j.trim.2012.08.005. Epub 2012 Aug 30

12. Billing H, Rieger S, Susal C et al. IVIG and rituximab for treatment of chronic antibody-mediated rejection: a prospective study in paediatric renal transplantation with a 2-year follow-up. *Transpl Int* 2012; 25: 1165

13. Fehr T1, Rüsi B, Fischer A et al. Rituximab and intravenous immunoglobulin treatment of chronic antibody-mediated kidney allograft rejection. *Transplantation* 2009 Jun 27;87(12):1837–1841

14. Rostaing L, Guilbeau-Frugier C, Fort M et al. Treatment of symptomatic transplant glomerulopathy with rituximab. *Transpl Int* 2009; 22: 906

15. Bachelet T, Nodimar C, Taupin J-L. Intravenous immunoglobulins and rituximab therapy for severe transplant glomerulopathy in chronic antibody-mediated rejection: a pilot study. *Clin Transpl* 2015; 29 (5): 439–446

16. Gloor JM, Sethi S, Stegall MD et al. Transplant glomerulopathy: subclinical incidence and association with alloantibody. *Am J Transplant* 2007; 7: 2124

17. Kieran N, Wang X, Perkins J et al Combination of Peritubular C4d and Transplant Glomerulopathy Predicts Late Renal Allograft Failure. *J Am Soc Nephrol* 2009 October; 20(10): 2260–2268

18. Haririan A, Kiangkitiwan B, Kukuruga D et al. The impact of c4d pattern and donor-specific antibody on graft survival in recipients requiring indication renal allograft biopsy. *Am J Transplant* 2009; 9: 2758

19. Kedainis RL, Koch MJ, Brennan DC et al. Focal C4d+ in renal allografts is associated with the presence of donor-specific antibodies and decreased allograft survival. *Am J Transplant* 2009; 9: 812–819

20. Kayler LK, Kiss L, Sharma V et al. Acute renal allograft rejection: diagnostic significance of focal peritubular capillary C4d. *Transplantation* 2008;85(6):813–820

21. Hong YA, Kim HG, Choi SR et al. Effectiveness of rituximab and intravenous immunoglobulin therapy in renal transplant recipients with chronic active antibody-mediated rejection. *Transplant Proc* 2012;44:182–184

22. An GH, Yun J, Hong YA. The effect of combination therapy with rituximab and intravenous immunoglobulin on the progression of chronic antibody mediated rejection in renal transplant recipients. *J Immunol Res* 2014;2014:828732. doi: 10.1155/2014/828732. Epub 2014 Jan 29

23. Zarkhin V, Lovelace PA, Li L et al. Phenotypic evaluation of B-cell subsets after rituximab for treatment of acute renal allograft rejection in pediatric recipients. *Transplantation* 2011;91(9):1010–1018

24. Lefaucheur C, Nochy D, Andrade J et al. Comparison of Combination Plasmapheresis/IVIg/Anti-CD20 Versus High-Dose IVIg in the Treatment of Antibody-Mediated Rejection. *Am J Transplant* 2009; 9 (5): 1099–1107

#### Сведения об авторах:

Столяревич Екатерина Сергеевна, д.м.н.

Россия, 123182, Москва, Щукинская ул., д. 1. ФБГУ «ФНЦ Трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Россия, 123182, Москва, ул. Пехотная, д. 3. ГБУЗ «Городская клиническая больница №52 Департамента здравоохранения г. Москвы», Московский городской нефрологический центр. Тел. +7(499) 196-19-51, E-mail: Stolyarevich@ya.ru

Ekaterina S. Stolyarevich, MD, DMedSci.

Affiliations: Russia 123182 Moscow, Shchukinskaya Str., d. 1. Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs; 123182 Moscow, Pehotnaya str., d. 3. City Clinical Hospital №52 Department of Health in Moscow, «Moscow City Nephrology Center». Phone: +7(499)1961951, E-mail: Stolyarevich@ya.ru

Артюхина Людмила Юрьевна

Россия, 123182, Москва, ул. Пехотная, д. 3. ГБУЗ «Городская клиническая больница №52 Департамента здравоохранения г. Москвы», Московский городской нефрологический центр. Тел. +7(499)1961794, E-mail: arlyu-1404@yandex.ru

Ludmila Y. Artyukhina, MD

Affiliations: 123182, Moscow, Pehotnaya str., d. 3. City Clinical Hospital №52 Department of Health in Moscow, «Moscow City Nephrology Center». Phone: +7(499)1961794, E-mail: arlyu-1404@yandex.ru

Иванова Екатерина Сергеевна

Россия, 123182, Москва, ул. Пехотная, д. 3. ГБУЗ «Городская клиническая больница №52 Департамента здравоохранения г. Москвы», Московский городской нефрологический центр. Тел. +7(499)1961794, E-mail: katerineiv@mail.ru

Ekaterina S. Ivanova, MD

Affiliations: 123182 Moscow, Pehotnaya str., d. 3. City Clinical Hospital №52 Department of Health in Moscow, «Moscow City Nephrology Center». Phone: +7(499)1961794, E-mail: katerineiv@mail.ru

Томилина Наталья Аркадьевна, д.м.н., профессор

Россия, 123182, Москва, Щукинская ул., д. 1. ФБГУ «ФНЦ Трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Россия, 123182 Москва, ул. Пехотная, д. 3, ГБУЗ «Городская клиническая больница №52 Департамента здравоохранения г. Москвы», Московский городской нефрологический центр. Тел. +7(499) 196-19-51, E-mail: natomilina@yandex.ru

Prof. Natalia A. Tomilina, MD, DMedSci

Affiliations: Russia, 123182, Moscow, Shchukinskaya Str., d. 1. Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs; 123182 Moscow, Pehotnaya str., d. 3. City Clinical Hospital №52 Department of Health in Moscow, «Moscow City Nephrology Center». Phone: +7(499)1961951, E-mail: natomilina@yandex.ru

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Поступила в редакцию: 18.05.2016 г.

Принята в печать: 12.09.2016 г.

© М.М.Каабак, В.А.Горайнов, А.К.Зокоев, Н.Н.Бабенко, Ю.Н.Вьюнкова, М.М.Морозова, А.Г.Аганесов, Е.Н.Платова, О.В.Дымова, В.В.Панин, 2016  
УДК [616.61 – 089.843: 615.382.014.45] – 036.8 – 053.32

*М.М. Каабак, В.А. Горайнов, А.К. Зокоев, Н.Н. Бабенко, Ю.Н. Вьюнкова, М.М. Морозова, А.Г. Аганесов, Е.Н. Платова, О.В. Дымова, В.В. Панин*

## ВЛИЯНИЕ РАННЕГО ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННОГО ПЛАЗМАФЕРЕЗА НА ОТДАЛЁННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПЕРЕСАДКИ ПОЧЕК У ДЕТЕЙ

Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского, Москва

*M.M. Kaabak, V.A. Goryajnov, A.K. Zokojev, N.N. Babenko, Y.N. Vjyunkova, M.M. Morozova, A.G. Aganesov, E.N. Platova, O.V. Dymova, V.V. Panin*

## THE EFFECT OF EARLY POSTTRANSPLANT PLASMAPHERESIS ON LATE RESULTS OF KIDNEYS GRAFTING IN CHILDREN

Russian Scientific Center Of Surgery named after academician B.V.Petrovsky, Moscow

### РЕФЕРАТ

**ЦЕЛЬ:** оценка влияния плазмафереза, проводимого в непосредственном посттрансплантационном периоде, на 15-летние результаты трансплантации почки. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** 32 детям, оперированным в 1995–1996 годах, плазмаферез не проводили, эта группа больных названа «до ПА». 32 детям, оперированным в 1996–1997 годах, в непосредственном посттрансплантационном проводили плазмаферез. Группа была названа «ПА». 31 ребёнку, оперированному в 1997–1998 годах, плазмаферез также не проводили, но им интенсифицировали индукционную иммунодепрессию путём введения АТГ, внедрением микроэмульсии циклоспорина и СеллСепта. Эту группу назвали «после ПА». Оценивали выживаемость пациентов и трансплантатов в каждой из групп. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Наибольшей была актуаральная выживаемость как пациентов, так и трансплантатов в группах «ПА» и «после ПА» по сравнению с другими группами, разница статистически достоверна. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Плазмаферез, выполненный в непосредственном посттрансплантационном периоде может оказывать положительное влияние на отдаленные результаты трансплантации почки у детей.

**Ключевые слова:** трансплантация почки, плазмаферез, посттрансплантационный ишемически-реперфузионный синдром.

### ABSTRACT

**THE AIM:** to estimate an influence of plasmapheresis (PA), carried in early postoperative period, on 15-year results of renal transplantation. **PATIENTS AND METHODS.** In 32 children operated at 1995-1996 years PA was not carried. This group was called "before PA". In 32 children, operated at 1996-1997 years, PA was carried in early postoperative period. This group was called "PA". In 31 patients operated at 1997-1998 years, PA was not carried, but their inductive immunosuppression was intensified with ATG, introduction of cyclosporine microemulsion and CellSept. This group was called "after PA". **RESULTS.** Actuarial survival of both patients and grafts was highest in group "PA" and "after PA" compared to other groups. The difference was statistically significant. **CONCLUSION:** plasmapheresis done in the early posttransplant period may have a positive influence on long-term outcomes of kidney transplantation in children.

**Key words:** kidney transplantation, plasmapheresis, posttransplant ischemia-reperfusion syndrome.

### ВВЕДЕНИЕ

Отчеты российских регистров по отдаленным результатам трансплантации почки носят неудовлетворительный характер. Регистр Российского трансплантологического общества учитывает только количество выполняемых трансплантаций. По данным регистра Российского диализного

Горайнов В.А. 119991, Москва, Абрикосовский пер, д. 2. ФГБНУ РНЦХ. Тел: +7(499)248-11-12. E-mail: vik-kid@mail.ru

общества можно составить лишь условное представление об отдаленных результатах трансплантаций: под наблюдение нефрологов в течение года после трансплантации попадают не более половины пациентов, которым выполняется трансплантация почки, спустя четыре года после трансплантации известна судьба только 5% пациентов [1]. Мы пытаемся компенсировать нехватку информации об отдаленных результатах информации

посредством анализа данных регистра <http://baza.pochka.org>

Плазмаферез (ПА) для коррекции посттрансплантационного ишемическо-реперфузионного синдрома (ПИРС) впервые в России был применён в РДКБ в 1996 году, т.е. 20 лет тому назад. Накоплен солидный материал и назрела необходимость в его анализе, главная цель которого заключается, прежде всего, в получении ответа на вопрос: влияет ли плазмаферез на отдалённые результаты пересадки почки. Ранее были опубликованы работы, посвящённые влиянию этой процедуры на течение раннего посттрансплантационного периода, на характер восстановления функции пересаженной почки и её гемодинамики [2–5]. Рассматривалось влияние плазмафереза и на отдалённые результаты аллотрансплантации почки, но на тот момент наибольшая продолжительность наблюдения не превышала 10 лет [6].

При аллотрансплантации почек как от трупных, так и родственных доноров, неизбежно развитие ПИРС, степень выраженности которого различна в зависимости от источника донорского органа. При родственных пересадках продолжительность ишемии как тепловой, так и холодовой, значительно меньше, чем при трупных; поэтому и степень выраженности ПИРС при родственных пересадках также меньше, чем при трупных пересадках. Тем не менее, и в первом, и во втором случае он развивается и отражается на отдалённых результатах операции.

Для борьбы с последствиями реперфузионной травмы были предложены различные мероприятия, в том числе и медикаментозные препараты: «Маннитол», «Аллопуринол», «Верапамил», «Супероксид-дисмутаза» [7], «Триметазидин» [8], витамины [9] и др. Попытки уменьшить потерю массы функционирующих нефронов вследствие реперфузионного повреждения патогенетически связаны с профилактикой острого отторжения и хронической нефропатии трансплантата. В частности, уменьшение реперфузионного повреждения приводит к снижению иммуногенности трансплантата (уменьшение экспрессии трансплантационных антигенов, молекул адгезии, провоспалительных цитокинов). В русскоязычной литературе последних лет подробный обзор патогенеза ПИРС и возможных фармакологических интервенций содержится в статье А.С. Ермолова и соавт. [10].

В патогенезе реперфузионного повреждения, помимо непосредственно межклеточных взаимодействий, существенную роль играют циркули-

рующие факторы, свидетельством чего являются экспериментальные работы, выполненные под руководством Rabb и Kivlighn [11,12], а также работа Ruschitzka [13]. Следовательно, эффективным способом коррекции ПИРС может оказаться плазмаферез. ПИРС неизбежно сказывается не только на ранней функции трансплантированной почки, но и на отдалённых результатах пересадки. В связи с тем, что исполнилось более 15 лет со дня проведения первого плазмафереза пациентам с пересаженными почками, мы решили проследить их судьбу и опубликовать отдалённые результаты.

Детально изучение механизма влияния плазмафереза на течение ПИРС проведено в отделении трансплантации почки ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского РАМН.

В раннем посттрансплантационном периоде у реципиентов аллогенных почек изучали динамику параметров кислотно-основного состояния (КОС) и перекисного окисления липидов (ПОЛ) [4].

Через 15 мин после включения донорской почки в кровотоки отмечено повышение коэффициента антиоксидантной активности (кАОА) в оттекающей от органа крови свидетельствовало о выходе в кровь внутриклеточных антиоксидантов. Выявленное через 1 ч после пуска кровотока некоторое нарастание свободнорадикальной активности в артериальной крови было обусловлено, по нашему мнению, истощением факторов антиоксидантной защиты, что подтверждалось снижением значений кАОА.

Применение ПА способствовало коррекции гомеостаза: подавлялась активность свободных радикалов кислорода, и существенно снижалось содержание токсических продуктов, что подтверждалось неизменной интенсивностью хемилюминесценции (ХЛ) и значительным падением уровней СМ и МДА.

Помимо изучения динамики КОС и ПОЛ, в РНЦХ проведен клинико-лабораторный анализ динамики основных про- и противовоспалительных цитокинов на фоне реперфузии трансплантата. Установлено, что наиболее значительные изменения концентрации цитокинов происходят в первые 3 ч после реперфузии (TNF – в 6 раз, IL-6 – в 3 раза, IL-8 – в 3,5 раза, IL-10 – в 10 раз) и несколько менее выраженные – в период от 3 до 6 ч после реперфузии (IL-8 – в 2 раза, IL-10 – в 5 раз) [5].

Приведенные данные дают основания полагать, что процедура ПА, начатая не ранее чем через 1 ч и не позднее 3–5 ч после реперфузии оказывала положительное воздействие на функцио-

Таблица 1  
**Причины терминальной почечной недостаточности в исследуемой и контрольных группах**

Диагноз	«До ПА», n(%)	«ПА», n(%)	«После ПА», n(%)
Хронический гломерулонефрит	8(25)	9(28)	7(22)
Поликистоз	5(15,6)	3(9,4)	2(6,5)
Рефлюкс-нефропатия	3(9,4)	3(9,4)	6(19,4)
Гидронефроз	2(6,25)	1(3,1)	1(3,2)
Гипоплазия/дисплазия почек	12(37,5)	12(37,5)	10(32,3)
Синдром Альпорта	-	1(3,1)	3(9,8)
Геморрагический васкулит	1(3,1)	1(3,1)	1(3,2)
Оксалоз	-	1(3,1)	-
Гемолитико-уремический синдром	-	1(3,1)	-
Нефропатия неясной этиологии	1(3,1)	-	1(3,2)
Всего	32(100)	32(100)	31(100)

Примечание. Статистически значимых различий между группами выявлено не было.

нальное состояние почечных трансплантатов как в раннем, так и в отдаленном послеоперационном периодах.

Цель нашего исследования: оценка влияния плазмафереза, проводимого в непосредственном посттрансплантационном периоде, на 15-летние результаты трансплантации почки.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В работе проанализированы результаты 95 трансплантаций трупной почки, последовательно выполненных в РДКБ с 1995 по 1998 г. Всего за это период было выполнено 97 трансплантаций, две из которых не были включены в исследование: в одном случае по техническим причинам не удалось восстановить венозный отток крови от трансплантата (плазмаферез выполнялся), в другом случае трансплантат удален через несколько

часов после операции по причине сверхострого отторжения (плазмаферез не выполнялся).

Тридцать два ребёнка были оперированы в 1995–1996 годах, им плазмаферез не проводили, эта группа больных обозначена как «до ПА». Другие 32 ребёнка были оперированы в 1996–1997 годах, им плазмаферез проводили. Эта группа обозначена как «ПА». Ещё 31 ребёнок был оперирован в 1997–1998 гг. Им плазмаферез не проводили, но у них был изменён протокол иммунодепрессивной терапии: чаще использовали АТГ, сандиммун заменен на сандиммун-неорал, более широко стал применяться селлСепт. Эта группа обозначена как «после ПА» и включена в анализ, чтобы учесть влияние модифицирования протокола на актуарную выживаемость пациентов и трансплантатов, а также определить, что оказывает более выраженное положительное влияние на выживаемость: плазмаферез или оптимизация протокола иммунодепрессии. Причины терминальной почечной недостаточности (ТПН) у больных данных групп представлены в табл. 1.

Плазмаферез начинали сразу после перевода пациента в отделение реанимации, т.е. через 2–3 ч после включения трансплантата в кровоток реципиента. Плазмаферез проводили на плазмодифильтрах фирмы «Fresenius PF1» и «PF2» с использованием перфузионных блоков фирм «Gambro» и «Fresenius». Удаляли 1750–3550 мл плазмы за одну процедуру (1–2 объема циркулирующей крови) со скоростью 600–1200 мл/ч. В качестве сосудистого доступа использовали артериовенозную фистулу или катетер в центральной вене.

Удаляемый объем плазмы рассчитывали согласно должному ОЦК, определяемому по таблице Moore, и гематокриту на момент начала процедуры. Как правило, на момент процедуры он колебался в пределах 25–35%. Заместительная

Таблица 2

#### Демографическая характеристика детей контрольных и исследуемой групп

Группы больных	«До ПА», n=32	«ПА», n=32	«После ПА», n=32
Возраст больных, годы (M±m)	8–20 (14,01±0,7)	9–19 (14,03±0,7)	10–20 (14,2±0,7)
Пол больных (М/Ж)	12 / 20	17 / 15	16 / 15
Продолжительность диализа, мес (M±m)	4–47 (16,3±0,9)	3–31 (14,5±0,7)	1–80 (19,6±0,8)
Число HLA-несовместимостей АВ/DR (M±m)	2,6±0,3/–	2,7±0,3/1,0±0,2	2,9±0,3/1,1±0,2
Срок холодовой ишемии, ч (M±m)	9–25 (18,6±0,8)	10–30 (18,5±0,8)	8–23 (17,1±0,7)
Пол донора, М/Ж	30 / 2	28 / 4	23 / 8
Возраст донора, годы (M±m)	9–55 (33,7±1,04)	17–50 (36,5±1,1)	19–55 (35,3±1,1)
Повторные пересадки, n (%)	10(31)	8(25)	5(16)
АТГ для индукции иммуносупрессии, n (%)	0	9(28)	14(45)
Уровень лимфоцитотоксическими АТ, % (M±m)	0–80 (14,9±0,8)	0–35 (4,9±0,4)	0–47 (5,5±0,4)
Больные с лимфоцитотоксическими АТ>30%	5 (16%)	2 (6%)	2 (7%)

Примечание. Статистически значимых различий между группами выявлено не было.

терапия составляла 70–150% от объема удаленной плазмы. Объем и характер замещения определялся состоянием гемодинамики, величиной диуреза, характером и темпом отделяемого по дренажу. Более 50% объема заместительной терапии составлял 5% раствор альбумина, 10–25% свежезамороженная донорская плазма, около 25% объема – растворы кристаллоидов.

Статистический анализ результатов выполняли с использованием пакета прикладных статистических программ «STATISTICA 6.0» («StatSoft Inc.», США). Результаты представлены в виде среднего арифметического ± ошибка средней. Статистическую значимость различий двух средних определяли с помощью t-критерия Стьюдента; частот –  $\chi^2$ -критерия Пирсона. Оценку силы взаимосвязи между количественными признаками проводили с помощью коэффициента корреляции (r) Пирсона. Нулевую статистическую гипотезу об отсутствии различий и связей отвергали при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Есть основания полагать, что чем менее выражена степень реперфузионного синдрома, тем скорее восстанавливается функция пересаженной почки. Именно, исходя из этого положения, нами была проанализирована частота встречаемости отсроченной функции трансплантатов, эти сведения приведены в табл. 3. Функция трансплантата расценивалась как отсроченная, если в течение первой недели после трансплантации больному проводилось не менее двух сеансов гемодиализа. Существенное снижение доли трансплантатов с отсроченной функцией в исследуемой группе по сравнению со всеми контрольными является, вероятно, самым очевидным доказательством возможности коррекции реперфузионной травмы с помощью плазмафереза.

В группе ПА отмечено снижение частоты отсроченной функции трансплантата до 19% в сравнении с 47 и 29% в группах «до ПА» и «после ПА» соответственно ( $p < 0,005$ ).

Таблица 3

### Первичная функция трансплантатов

Показатель	«До ПА»	«ПА»	«После ПА»
Доля трансплантатов с отсроченной функцией (%)	47*	19	29*

\* Различия статистически значимы по сравнению с группой «ПА» ( $p < 0,005$ ).

Поскольку с начала работы прошло более 10 лет (пациенты оперированы в 1995–1998 годах), то мы имеем возможность посчитать отдаленную кумулятивную выживаемость реципиентов и аллотрансплантатов для каждой группы.

Кумулятивная выживаемость трансплантатов представлена на рис. 1 и в табл. 4, выживаемость пациентов – на рис. 2 и в табл. 5. В табл. 4 и 5 сведения о выживаемости трансплантатов представлены вместе с доверительными интервалами и количеством пациентов под наблюдением для каждого периода, величина  $p$  дана для пар «до ПА» – «ПА» и «ПА» – «после ПА» для каждого периода времени.

Преимущества группы «ПА» очевидны и практически не нуждаются в комментариях. Выживаемость трансплантатов в группе «до ПА» все время была существенно ниже этого показателя в группе «ПА», различие утрачивает достоверность после 6 лет наблюдения вследствие увеличения доверительного интервала в группе «до ПА», вызванного большими потерями трансплантатов. В группе «после ПА» ситуация иная. Хотя выживаемость трансплантатов в этой группе все время оставалась более низкой, чем в группе «ПА», статистически значимым различие было только в 5 и 10 лет. Отсутствие достоверного различия по однолетнему выживанию трансплантатов между группами «ПА» и «после ПА» говорит о том, что повышение эффективности трансплантации может быть достигнуто не только эффективной коррекцией реперфузионной травмы посредством плазмафереза, но и усилением иммуносупрессии (АТГ, микроэмульсия циклоспорина, ММФ). К сожалению, усиление иммуносупрессии сопровож-

Таблица 4

### Актuariальная выживаемость трансплантатов

Срок после пересадки почки		1 год	5 лет	10 лет	15 лет
«До ПА»	Пациенты под наблюдением	20	15	4	0
	Выживаемость, %	65,3±8	39,2±9,1	16,24±7,0	-
p		< 0,05	< 0,05	< 0,05	
«ПА»	Пациенты под наблюдением	28	25	15	6
	Выживаемость, %	90,5±4,9	78,7±9,0	55,0±8,0	32,2±9,5
p		> 0,05	< 0,05	< 0,05	> 0,05
«После ПА»	Пациенты под наблюдением	28	19	8	6
	Выживаемость, %	83,5±6,6	60,3±8,9	44,6±0	34,7±20,9

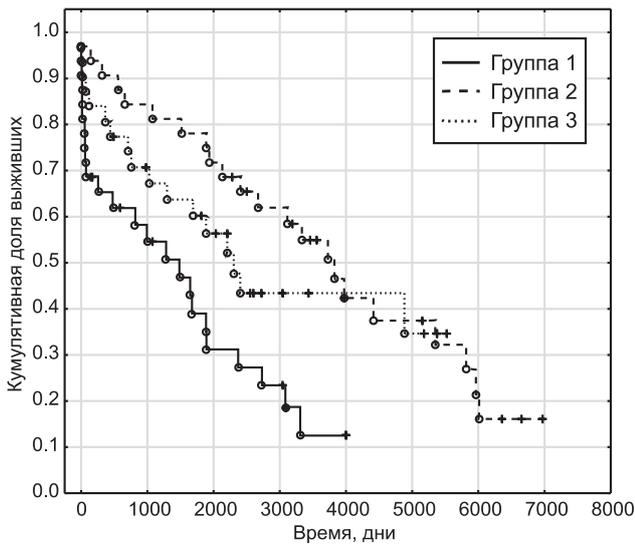


Рис. 1. Кумулятивная выживаемость трансплантированных почек. Группа 1 «до плазмафереза», группа 2 «плазмаферез», группа 3 «после плазмафереза».

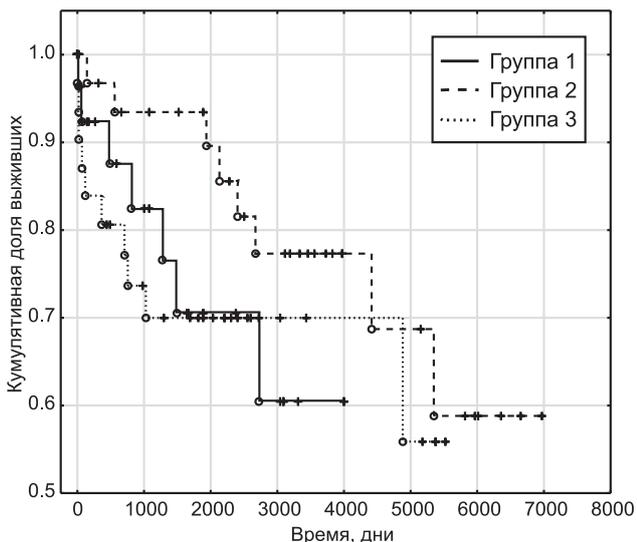


Рис. 2. Кумулятивная выживаемость реципиентов трансплантированных почек. Обозначения как на рис. 1.

ждалось достоверным повышением летальности в группе «после ПА» (см. табл. 5, рис. 2).

По летальности группы «до ПА» и «ПА» статистически достоверного различия не имеют в течение первых четырех лет наблюдения, через пять лет после трансплантации различие становится статистически достоверным ( $p < 0,05$ ). В группе «после ПА» отмечена самая высокая летальность, различие с группой «ПА» статистически достоверно в интервалах 5, 10 лет. Через 15 лет в группе «до ПА» не осталось ни одного больного, в группах «ПА» и «после ПА» осталось по 6 больных, выживаемость трансплантатов в этих группах  $32,9 \pm 2,5\%$  и  $35,7 \pm 0\%$  соответственно, разница статистически недостоверна ( $p > 0,05$ ). Что касается выживаемости пациентов, то она составляла в группах «ПА» и «после ПА»  $63,79 \pm 12,9$  и  $57,32 \pm 0\%$  соответственно через 15 лет после трансплантации, разница между этими группами статистически недостоверна ( $p > 0,05$ ).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Нами была поставлена задача – определить оказывает ли плазмаферез, проводимый непосредственно после операции, влияние на дальнейшее течение раннего и отдаленного посттрансплантационного периода. Представленные данные показывают, что плазмаферез, проведенный в первые часы после пересадки, связан с улучшением функционального состояния трансплантированной почки и в раннем, и в отдаленном послеоперационном периоде. При небольшой статистической силе исследования, обусловленной ограниченным числом случаев в сравниваемых группах, нам удалось продемонстрировать более высокую выживаемость аллографтов в течение 10 лет после трансплантации почки у реципиентов, получивших ПА.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Плазмаферез, выполненный в непосредственном посттрансплантационном периоде может

Таблица 5

#### Актuariальная выживаемость пациентов

Срок после пересадки почки		1 год	5 лет	10 лет	15 лет
«До ПА»	Пациенты под наблюдением	20	15	4	0
	Выживаемость, %	$92,8 \pm 5$	$70,38 \pm 10$	$70,32 \pm 0$	-
p		$> 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$	
«ПА»	Пациенты под наблюдением	28	25	15	6
	Выживаемость, %	96,77	93,31	81,95	$63,79 \pm 12,9$
p		$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$	$> 0,05$
«После ПА»	Пациенты под наблюдением	28	19	18	6
	Выживаемость, %	83,87	71,33	$70,38 \pm 0$	$57,31 \pm 0$

оказывать положительное влияние на результаты трансплантации почки у детей.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Бикбов БТ, Томилина НА. Заместительная терапия больных с хронической почечной недостаточностью методами перитонеального диализа и трансплантации почки в Российской Федерации в 1998-2011 г. (Отчет по данным Российского регистра заместительной почечной терапии. Часть вторая). *Нефрология и диализ* 2014; 16 (2): 192-227 [Bikbov BT, Tomilina NA. Zamestitel'naya terapiia bol'nykh s khronicheskoi pochechnoi nedostatochnost'iu metodami peritoneal'nogo dializa i transplantatsii pochki v Rossiiskoi Federatsii v 1998-2011 g. (Otchet po dannym Rossiiskogo registra zamestitel'noi pochechnoi terapii. Chast' vtoraiia). *Nefrologiia i dializ* 2014; 16 (2): 192-227]
2. Каабак ММ, Горяйнов ВА, Соловьева ИН и др. Влияние посттрансплантационного плазмафереза на результаты пересадки трупной почки. *Хирургия* 2002; (12): 30-34 [Kaabak MM, Goriai'nov VA, Solov'eva IN i dr. Vliianie posttransplantatsionnogo plazmafereza na rezul'taty peresadki trupnoi' pochki. *Hirurgiia* 2002; (12): 30-34]
3. Горяйнов ВА, Каабак ММ, Молчанова ЕА. Плазмаферез для лечения реперфузионной травмы при пересадке почки – влияние на ближайшие и отдаленные результаты. *Вестник РАМН* 2002; (5): 43-45 [Goriai'nov VA, Kaabak MM, Molchanova EA. Plazmaferез dlia lecheniia reperfuzionnoi' travmy' pri peresadke pochki – vliianie na blizhai'shie i otdalyonny'e rezul'taty'. *Vestnyk RAMN* 2002; (5): 43-45]
4. Синютин АА. Влияние послеоперационного плазмафереза на функцию и внутриорганный кровоток почечного аллотрансплантата. Автореф. ... дис. канд. мед. наук. М., 2005
5. Салимов ЭЛ. Эффективность раннего плазмафереза после пересадки почки. Автореф. ... дис. канд. мед. наук. М., 2005 [Salimov E'L. E'ffektivnost' rannego plazmafereza posle peresadki pochki. Avtoreferat dissertatsii na soiskanie uchyonoj stepeni kandidata meditsinskikh nauk. Moskva, 2005]
6. Каабак ММ, Горяйнов ВА, Зокоев АК и др. Десятилетний опыт применения раннего плазмафереза после пересадки почки. *Вестн трансплантол и искусственных органов* 2009; 11 (1): 28-33 [Kaabak MM, Goriai'nov VA, Zokoev AK i dr. Desiatiletney' opyt' primeneniia rannego plazmafereza posle peresadki pochki. *Vestnyk transplantologii i iskusstvenny'kh organov* 2009; 11 (1): 28-33]
7. Land W, Zweker JL. Prevention of reperfusion-induced, free radical-mediated acute endothelial injury by superoxide dismutase as an effective tool to delay/prevent chronic renal allograft failure: a review. *Transplant Proc* 1997; 29(6): 2567-2568
8. Hauet T, Mothes D, Goujon JM et al. Trimetazidine prevents renal injury in the isolated perfused pig kidney exposed to prolonged cold ischemia. *Transplantation* 1997; 15, 64(7), 1082-1086
9. Nagel E, Meyer zu Vilzendorf A, Bartels M et al. Antioxidative vitamins in prevention of ischemia/reperfusion injury. *Int J Vitamin Nutr Res* 1997; 67 (5): 298-306
10. Ермолов АС, Гуляев ВА, Погребниченко ИВ и др. Доноры с небьющимся сердцем при трансплантации печени. *Вестн трансплантол и искусственных органов* 2005; (4): 43-51 [Ermolov AS, Guliaev VA, Pogrebniichenko IV i dr. Donory' s neb'iushchimsia serdtsem pri transplantatsii pecheni. *Vestnyk transplantologii i iskusstvenny'kh organov* 2005; (4): 43-51]
11. Kramer AA, Postler G, Salhab KF et al. Renal ischemia/reperfusion leads to macrophage-mediated increase in pulmonary vascular permeability. *Kidney Int* 1999; 55: 2362-2367
12. Krause SM, Walsh TF, Greenlee WJ et al. Renal Protection by a Dual ETA/ETb Endothelin Antagonist, L-754,142, after Aortic Cross-Clamping in the Dog. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8 (7): 1061-1071
13. Ruschitzka F, Shaw S, Gycl D et al. Endothelial dysfunction in acute renal failure: role of circulating and tissue endothelin-1. *J Am Soc Nephrol* 1999 (10): 953-962

*J Am Soc Nephrol* 1999 (10): 953-962

14. Каабак ММ, Горяйнов ВА, Дьяченко ИВ. Использование плазмафереза для коррекции реперфузионной травмы при пересадке почек. *Нефрология и диализ* 2001; (3): 345-354 [Kaabak MM, Goriai'nov VA, D'iachenko IV. Ispol'zovanie plazmafereza dlia korrektsii reperfuzionnoi' travmy' pri peresadke pochek. *Nefrologiia i dializ* 2001; (3): 345-354]

15. Горяйнов ВА, Каабак ММ, Бабенко НН и др. Аллотрансплантация родственных почек у детей. *Хирургия. Журн им. Н.И. Пирогова* 2008; (6): 58-62 [Goriai'nov VA, Kaabak MM, Babenko NN i dr. Allostransplantatsiia rodstvenny'kh pochek u detei'. *Hirurgiia. Zhurnal im. N.I. Pirogova* 2008; (6): 58-62]

16. Садовников ВИ, Сандриков ВА, Каабак ММ. Влияние плазмафереза на функцию и внутриорганный кровоток почечного аллотрансплантата в раннем послеоперационном периоде. *Вестн трансплантол и искусственных органов* 2003; (3): 21 [Sadovnikov VI, Sandrikov VA, Kaabak MM. Vliianie plazmafereza na funktsiiu i vnutriorgannyi' krovotok pochechnogo allostransplantata v rannem posleoperatsionnom periode. *Vestnyk transplantologii i iskusstvenny'kh organov* 2003; (3): 21]

#### Сведения об авторах:

Горяйнов Виктор Андреевич, д-р мед. наук 119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2. Ведущий научный сотрудник отделения пересадки почки ФГБНУ РНЦХ. Тел.: +7(499)248-11-12, моб. тел.: 8-926-532-70-04, e-mail: vik-kid@mail.ru

Victor A. Goryainov MD, DMedSci.

Affiliations: Department for kidney transplantation: 119991 Russia, Moscow, Abricosovsky 2. FSBSI "Petrovsky NRCS". Phone.: +7(499) 248-11-12. E-mail: vik-kid@mail.ru

Каабак Михаил Михайлович, д-р мед. наук профессор 119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2. Зав. отделением пересадки почки ФГБНУ РНЦХ. Тел.: +7(499)248-13-44 Prof. Michael M. Kaabak MD, DMedSci.

Affiliations: Chief of Department for kidney transplantation: 119991 Russia, Moscow, Abricosovsky 2. FSBSI "Petrovsky NRCS". Phone.: +7(499) 248-13-14

Бабенко Надежда Николаевна, канд. мед. наук, 119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2. Старший научный сотрудник отделения пересадки почки ФГБНУ РНЦХ. Тел.: +7(499)248-13-44

Nadezhda N. Babenko, MD, CMedSci, SRF.

Affiliations: Department for kidney transplantation: 119991 Russia, Moscow, Abricosovsky 2. FSBSI "Petrovsky NRCS". Phone.: +7(499) 248-13-14

Морозова Маргарита Мироновна, канд. мед. наук 119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2. Ведущий научный сотрудник патологоанатомического отделения ФГБНУ РНЦХ. Тел.: +7(499)248-60-66.

Marguerite M. Morozova, MD, CMed SCI, LRF.

Affiliations: Department for Pathological anatomy.: 119991 Russia, Moscow, Abricosovsky 2. FSBSI "Petrovsky NRCS". Phone.: +7(499) 248-60-66.

Панин Василий Владимирович, канд. мед. наук 119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2. Ведущий научный сотрудник лаборатории клинической биохимии ФГБНУ РНЦХ. Тел.: +7(499)248-58-33

Basil V. Panin, MD, CMS, SRF.

Affiliations: Laboratory for clinical biochemistry: 119991 Russia, Moscow, Abricosovsky 2. FSBSI "Petrovsky NRCS". Phone.: +7(499)248-58-33

Платова Елена Николаевна, канд. мед. наук  
119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2. Ведущий научный сотрудник отдела клинической физиологии, инструментальной и лучевой диагностики ФГБНУ РНЦХ. Тел.: +7(499)248-58-66  
Helene N. Platova, MD, CMS, LRF.  
Affiliations: department for clinical physiology, instrumental and radial diagnostic: 119991 Russia, Moscow, Abricosovsky 2. FSBSI "Petrovsky NRCS". Phone.: +7(499) 248-58-66

Аганесов Александр Георгиевич, профессор д-р мед. наук  
119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2. Зав. отделением вертебрологии ФГБНУ РНЦХ. Тел.: +7(499)248-54-36  
Prof. Aleksandr G, Aganesov: MD, DMedSci.  
Affiliations: chief of department for vertebrology: 119991 Russia, Moscow, Abricosovsky 2. FSBSI "Petrovsky NRCS". Phone.: +7 499) 238-54-36.

Зокоев Алан Кимович, д-р мед. наук  
119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2. Главн. научн. сотр. отделения трансплантации почки ФГБНУ РНЦХ имени академика Б.В. Петровского. Тел.: 8-499-248-11-12  
Allan K. Zokoev: MD, DMedSci.  
Affiliations: department for kidney transplantation 119991 Russia, Moscow, Abricosovsky 2. FSBSI "Petrovsky NRCS". Phone.: +7 (499) 248-11-12

Дымова Ольга Викторовна, канд. мед. наук  
119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2. Ведущий научный сотрудник лаборатории клинической биохимии ФГБНУ РНЦХ. Тел.: +7(499)248-58-33  
Olga V. Dymova DM, CMedSCI.  
Affiliations: Laboratory for clinical biochemistry: 119991 Russia, Moscow, Abricosovsky 2. FSBSI "Petrovsky NRCS". Phone.: +7(499)248-58-33

Вьюнкова Юлия Николаевна  
119991, Москва, Абрикосовский пер., д. 2. Врач-педиатр отделения трансплантации почки ФГБНУ РНЦХ имени акад. Б.В. Петровского. Тел.: +7(499)248-11-12  
Yuly N. Viewnkova, MD,  
pediatr in department for kidney transplantation  
Affiliations: department for kidney transplantation 119991 Russia, Moscow, Abricosovsky 2. FSBSI "Petrovsky NRCS". Phone.: +7 (499) 248-11-12.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Поступила в редакцию: 03.05.2016 г.  
Принята в печать: 12.09.2016 г.

© В.А.Добронравов, М.С.Храброва, А.О.Мухаметдинова, В.Г.Сиповский, 2016  
УДК 616.61 – 089.168.6-036.8

*В.А. Добронравов<sup>1,2</sup>, М.С. Храброва<sup>1</sup>, А.О. Мухаметдинова<sup>1</sup>, В.Г. Сиповский<sup>2</sup>*

## ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ И ПРОГНОЗ АНТИТЕЛЬНО-ОПОСРЕДОВАННОГО ОТТОРЖЕНИЯ ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

<sup>1</sup>Кафедра пропедевтики внутренних болезней, <sup>2</sup>Научно-исследовательский институт нефрологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

*V.A. Dobronravov<sup>1,2</sup>, M.S. Khrabrova<sup>1</sup>, A.O. Mukhametdinova<sup>3</sup>, V.G. Sipovskiy<sup>1,2</sup>*

## INCIDENCE AND PROGNOSIS OF ANTIBODY-MEDIATED REJECTION IN KIDNEY ALLOGRAFTS

<sup>1</sup>Department of propedeutics of internal diseases and <sup>2</sup>Research Institute of Nephrology of the Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Russia

### РЕФЕРАТ

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:** определить частоту выявления и исходы антително-опосредованного отторжения (AMR, antibody-mediated rejection) при рутинном морфологическом и иммунологическом мониторинге. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** В исследование вошли 55 реципиентов аллографта почки (АП) согласно критериям включения: совместимость с донором по группе крови, отрицательный цитотоксический кросс-матч-тест, как минимум, три биопсии АП. Все реципиенты получили стандартную иммуносупрессивную терапию: глюкокортикостероиды, базиликсимаб, ингибиторы кальциневрина, микофенолата мофетил. Пациентам выполняли протокольные биопсии (3, 6, 12 мес и далее ежегодно) и/или по показаниям: отсроченная функция АП, подъем креатинина  $\geq 25\%$ , протеинурия  $\geq 1$  г/сут или ее нарастание. Биопсии оценивали согласно критериям Banff 2013. Скрининг донор-специфических антител выполняли иммуноферментным анализом, а мониторинг – с помощью мультиплексного анализа Luminex (xMAP Technology). Терапия AMR включала глюкокортикостероиды, плазмаобмен, внутривенный иммуноглобулин, ритуксимаб, бортезомиб. Утрату функции АП и возврат на диализ учитывали как исход. Прогноз аллотрансплантации (АТП) оценивали на основе анализа выживаемости методом Каплана–Мейера. Медиана периода наблюдения от АТП составила 65 (47; 80) мес. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Морфологические признаки AMR были выявлены в 13% биопсий (n=390), а критерии AMR Banff 2013 – у 45% реципиентов (n=25) в разные сроки посттрансплантационного периода. Острое AMR (aAMR) регистрировали у 13 реципиентов, а хроническое активное (cAMR) – у 12. Субклиническим течением AMR было в 48% случаев. Персистенцию AMR выявили у 56% больных, а хронификацию – у 77%, несмотря на проводимую терапию. Кумулятивная выживаемость пациентов в общей группе за период наблюдения составила 94,5%, выживаемость АП – 79%. Выживаемость АП при AMR была ниже, чем у больных без AMR (73% и 100%, plog-rank=0,016). Различий в выживаемости АП в группах с aAMR и cAMR, а также с клиническим и субклиническим течением AMR выявлено не было. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** AMR может быть распространенной и недооцениваемой клинической проблемой, связанной со снижением сроков функционирования АП и эффективности АТП в целом. Своевременное выявление и лечение этого типа иммунного конфликта требует рутинного проведения иммунологического и морфологического мониторинга.

**Ключевые слова:** трансплантация почки, антително-опосредованное отторжение, протокольная биопсия, субклиническое отторжение, гломеруллопатия.

### ABSTRACT

**THE STUDY** was aimed to define the incidence rate and outcomes of antibody-mediated rejection (AMR) in the routine morphological and immunological monitoring. **PATIENTS AND METHODS.** 55 recipients of kidney allograft (KA) were enrolled into the study according to inclusion criteria (AB0-compatibility, negative cytotoxic crossmatch, minimum 3 kidney allograft biopsies in posttransplant period). All patients were on standard immunosuppressive regimen: glucocorticosteroids, basiliximab, calcineurin inhibitors, mycophenolate mofetil. Protocol (on 3, 6, 12 months and then annually) and indicative (delayed graft function, increase of serum creatinine level of  $\geq 25\%$ , proteinuria  $\geq 1$  g/24h) KA biopsies were evaluated according to Banff classification 2013. Enzyme-linked immunosorbent and multiplex (Luminex; xMAP Technology) assays were applied for donor-specific antibodies screening and monitoring, respectively. The treatment of AMR included glucocorticosteroids, plasma exchange, intravenous immunoglobulin, rituximab, bortezomib. KA loss and return to dialysis were defined as an outcome. Long-term KA prognosis was estimated by Kaplan–Meier survival analysis. The median posttransplant follow-up was 65 (47; 80) months. **RESULTS.** Morphological features of AMR was established in 13% of biopsies (n=390) and 45% of patients met Banff 2013 AMR criteria. Acute AMR

Добронравов В.А. 197022 Россия, Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого, д. 17. Научно-исследовательский институт нефрологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова. E-mail: [dobronravov@nephrolog.ru](mailto:dobronravov@nephrolog.ru)

(aAMR) and chronic active (cAMR) were found in 13 and 12 KA recipients, respectively. 48% of cases showed subclinical type of AMR. Persistence and chronification of AMR were established in 56% and 77% of patients, respectively. Cumulative 9-year patient survival in the group studied (n=55) for the follow-up period was 94,5%, cumulative survival of KA was 79%. KA survival was worse in AMR patients when compared with the control group without AMR (73% vs 100%, plog-rank=0,016). There were no difference in KA survival in aAMR and cAMR as far as in clinical and subclinical types of AMR. **CONCLUSION:** AMR is supposed to be the frequent and under-recognized clinical problem associated with inferior KA survival and overall effectiveness of kidney allotransplantation. The approach to early diagnostic and treatment of this type of immune conflict requires the immunological and morphological monitoring of KA on a regular basis.

**Key words:** kidney transplantation, antibody-mediated rejection, protocol biopsy, subclinical rejection, glomerulopathy.

## ВВЕДЕНИЕ

В соответствии с Banff 2013 [1] диагноз антительно-опосредованного отторжения (AMR, antibody-mediated rejection), одного из основных факторов потери аллогraftа почки (АП) [2, 3], может быть установлен только при выполнении морфологического исследования. В большинстве исследований частота выявления AMR низкая (4–10%) [2, 4, 5]. Однако эти данные могут не полностью отражать истинную ситуацию по распространенности AMR, поскольку основаны на результатах индикаторных биопсий. В подтверждение представлено несколько работ, в которых по данным протокольных биопсий АП частота выявления отторжения значительно выше (18–40%) [6–9]. Целью исследования было определить частоту выявления AMR при рутинном морфологическом и иммунологическом мониторинговании и его исходы у пациентов, получивших стандартную иммуносупрессивную терапию (ИСТ).

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

### *Исследуемая группа пациентов.*

В исследование были включены 55 пациентов, которым была выполнена аллогенная трансплантация почки в НИИ нефрологии ПСПБГМУ им. акад. И.П. Павлова в 2007–2012 гг. Критериями включения были: совместимость с донором по группе крови, отрицательный цитотоксический кросс-матч-тест и, как минимум, три биопсии АП. Основные клинко-демографические показатели исследуемой группы (n=55) представлены в табл. 1.

### *Морфологический и иммунологический мониторинг.*

В соответствии с программой морфологического мониторинга состояния АП всем пациентам выполняли протокольные биопсии (3, 6, 12 мес после АТП и далее ежегодно). Показаниями к выполнению индикаторных биопсий (в промежутки между протокольными) были: отсроченная функция АП, нарастание креатинина сыворотки крови  $\geq 25\%$  от предыдущего уровня, появление

протеинурии  $\geq 1$  г/сут или ее нарастание на 50%, а также морфологический контроль проведенной терапии Т-клеточного и В-клеточного отторжения. Биопсии трансплантата выполняли под контролем сонографии в В-режиме с цветовым картированием и контролем биопсийного канала иглой для пункции 18G.

*Морфологический анализ.* Для светооптического исследования 4 мкм серийные срезы биоптата окрашивали гематоксилином и эозином, реактивом Шиффа (PAS), трихромальной окраской. Выраженность морфологических изменений АП оценивали в соответствии с Banff 2013 [1]. Персистирующим гуморальное отторжение считали при наличии гломерулита и/или перитубулярного капиллярита (рис. 1) в следующей биопсии, выполненной в срок  $>5$  нед после первой с признаками AMR. Иммунофлюоресцентное исследование C4d в перитубулярных капиллярах (C4d-rtc) выполняли на замороженных срезах с FITC-мечеными моноклональными антителами.

Таблица 1

### Основные клинко-демографические показатели в исследуемой группе

Показатель	Пациенты (n=55)
Пол, Ж/М	29/26
Возраст реципиента, годы, M $\pm$ SD	35 $\pm$ 12
Возраст донора, годы, M $\pm$ SD	44 $\pm$ 10
АТП от живого донора, %	36
Повторная АТП, %	3,6
Продолжительность ЗПТ, мес, m (25–75%)	10 (5;35)
HLA mismatch, m (25–75%)	5 (3;5)
HLA mismatch $\geq 3$ , %	87,3
ПРА перед АТП, %	7,2
ВХИ, мин, M $\pm$ SD	463 $\pm$ 378
ВТИ, мин, M $\pm$ SD	65 $\pm$ 29
Отсроченная функция АП, %	45

Примечание. АП – аллогraftа почки; АТП – аллотрансплантация почки; ВХИ – время холодовой ишемии; ВТИ – время тепловой ишемии; ЗПТ – заместительная почечная терапия; ПРА – предсуществующие антитела; HLA mismatch – несовпадение по локусам системы генов HLA.

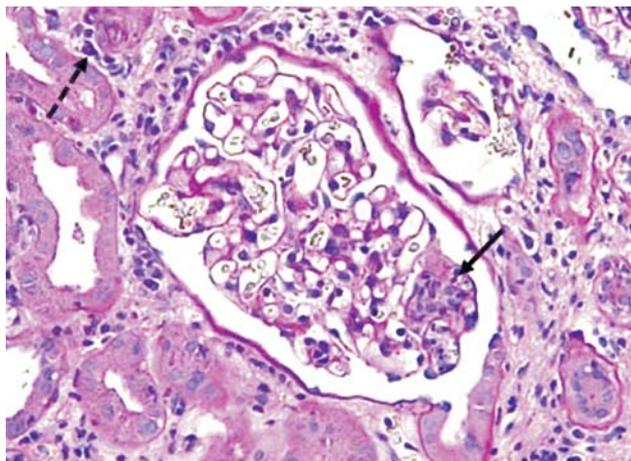


Рис. 1. Морфологические проявления антительно-опосредованного отторжения: микроваскулярное воспаление аллогraftа почки. Сплошная стрелка – гломерулит; пунктирная стрелка – перитубулярный капиллярит. Окраска ШИК (реактив Шиффа). Ув.  $\times 100$ .

**Иммунологический анализ.** Количество несоответствий по системе генов HLA (HLA mismatch) стандартно определяли при типировании донора и реципиента по локусам A, B, DR, а в 20% случаев ( $n=11$ ) было выполнено типирование по локусам HLA C, -DQ, -DP. Предсуществующие антитела (ПРА) определяли иммуноферментным анализом (ИФА). Скрининг ДСА выполняли ИФА, а последующий контроль при ДСА-позитивности, рутинный мониторинг, а также в случае выявления морфологических признаков AMR при отрицательном результате ИФА – с помощью мультиплексного анализа Luminex (xMAP Technology). Реакцию на ДСА (Luminex) считали позитивной при средней интенсивности флуоресценции (MFI, mean fluorescence intensity)  $\geq 500$ .

#### **Иммуносупрессивная терапия и терапия отторжения.**

Индукционная и базисная терапия у всех пациентов включала пульсовое введение глюкокортикоидов (ГКС), анти-CD25 моноклональное антитело (базиликсимаб), ингибиторы кальциневрина и микофенолата мофетил (ММФ). В связи с высоким уровнем сенсибилизации двум пациентам (ПРА 67 и 25%) перед АТП был выполнен плазмаобмен (ПО) и введен внутривенный иммуноглобулин (ВВИГ). При первичном выявлении AMR проводили лечение ГКС (500–250–125 мг внутривенно с переходом на пероральный прием 0,5 мг/кг и снижением до поддерживающей дозы в течение 2 нед) в сочетании с ПО (с замещением 1–1,5 объема циркулирующей плазмы; № 3–6 с интервалом 2–3 дня) и введением ВВИГ в суммарной дозе 1 г/кг массы. Если пациент получал циклоспорин А, выполняли конверсию на

такролимус. При сохраняющихся признаках AMR по данным иммуноморфологического контроля продолжали терапию ПО и ВВИГ с присоединением анти-CD20-агента (ритуксимаб) однократно в дозировке 375 мг/м<sup>2</sup>. В случае персистенции МВВ и ДСА выполняли повторное введение ритуксимаба и/или проводили курсы бортезомиба (1,3 мг/м<sup>2</sup> 2-кратно с интервалом 2 нед). При отсутствии признаков активности AMR при контрольной биопсии продолжали рутинный клинико-морфологический и иммунологический мониторинг.

#### **Исходы и клинические показатели.**

На момент биопсии с отторжением оценивали клинические признаки дисфункции АП: суточную протеинурию, креатинин и расчётную СКФ<sub>СКД-EP1</sub>. Окончанием периода наблюдения считалась дата последнего морфологического исследования для пациентов без AMR и дата последнего клинического обследования для пациентов с AMR. Исходом считали полную потерю функции АП и возврат на диализ.

#### **Статистический анализ.**

Для анализа различий между оцениваемыми параметрами в группах применялись критерий  $\chi^2$ , точный тест Фишера, t-критерий, критерий Манна–Уитни. Для анализа выживаемости был использован метод Каплана–Мейера. Статистическую значимость различий между кривыми выживаемости оценивали с помощью Log-rank-теста. При анализе выживаемости АП случаи потери трансплантата не по причине отторжения ( $n=3$ : рецидив фокально-сегментарного гломерулосклероза, стеноз артерии трансплантата, апостематозный пиелонефрит) учитывали как цензурированные наблюдения. Достоверными различия считали при значениях  $p < 0,05$ . Обработку данных производили с помощью пакетов программ прикладного статистического анализа (XLSTAT 2016 for Windows для анализа кумулятивной частоты, Statistica 8.0 для анализа остальных данных). Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ) или среднего значения и стандартной ошибки среднего ( $M \pm SEM$ ) и в виде медианы и интерквартильного интервала [ $m$  (25–75%)].

## **РЕЗУЛЬТАТЫ**

### **Распространенность и структура антительно-опосредованного отторжения.**

Медиана периода наблюдения от трансплантации до конца наблюдения составила 65 (47; 80) мес. Признаки AMR были выявлены в 13% от всех

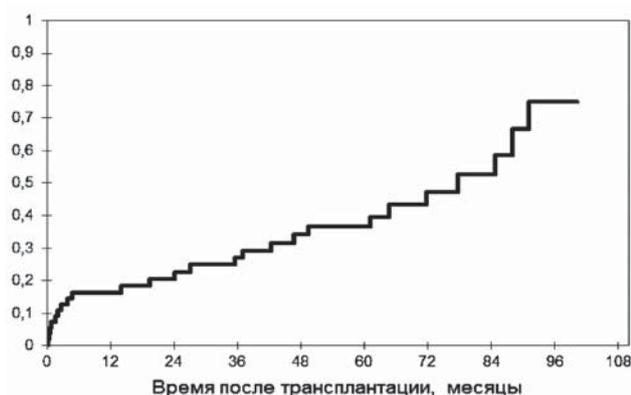


Рис. 2. Кумулятивная частота развития антительно-опосредованного отторжения у реципиентов аллографта почки (n=55). AMR – антительно-опосредованное отторжение (antibody-mediated rejection).

выполненных (индикационных и протокольных) биопсий (n=390). В результате диагноз AMR был установлен в те или иные сроки посттрансплантационного периода у 45% реципиентов (n=25). Кумулятивная частота AMR в исследуемой группе равномерно нарастала, достигнув 76% к 100 мес после АТП (рис. 2).

У 13 реципиентов АП имели место морфологические признаки острого AMR (aAMR), а у 12 – AMR впервые выявлено уже с признаками хронификации в виде развития гломеруллопатии (ГП) (хроническое активное AMR; cAMR). По основным клинко-демографическим показателям предтрансплантационного периода пациенты с AMR не отличались от пациентов без гуморального отторжения, как и группы aAMR и cAMR (табл. 2).

Микроваскулярное воспаление (МВВ), основное морфологическое проявление AMR, в большинстве случаев было представлено сочетанным поражением капилляров клубочка и интерстиция (см. рис. 1). Случаи изолированных гломерулита или перитубулярного капиллярита находили значительно реже (табл. 3). Хроническое активное гуморальное отторжение закономерно регистрировали в более поздние сроки после АТП, чем острое AMR (55 (35;78) мес и 3 (1;14) мес, соответственно,  $p < 0,001$ ). В группе cAMR выраженность интерстициального фиброза и тубулярной атрофии была закономерно выше. Среднее значение балла Banff для ГП в группе cAMR составило  $1,33 \pm 0,19$ . Отложения C4d-pts достоверно чаще выявляли при aAMR, чем при cAMR (84 и 42%,  $p = 0,013$ ). По другим морфологическим и клиническим показателям, указанным в табл. 3, группы aAMR и cAMR достоверно не отличались.

Персистенцию МВВ в последующей биопсии регистрировали в 56% случаев AMR (табл.3). В группе aAMR в 77% случаев определяли хронификацию процесса, несмотря на проводимую терапию. Медиана периода от момента диагностики aAMR до выявления ГП при последующем морфологическом исследовании составила 13 (10; 22) мес. Кумулятивная частота выявления ГП в биоптатах АП представлена на рис. 3.

Предсуществующие ДСА регистрировали у 9 пациентов, а сформировавшиеся *de novo* – у 16. Из 9 случаев предсуществующих ДСА 4 были к анти-HLA-антителам I класса, 5 – к анти-HLA-антителам II класса. У 5 пациентов регистрирова-

Таблица 2

### Основные клинко-демографические показатели в исследуемых группах

Показатель	AMR- (n=30)	AMR+ (n=25)	$P_{AMR+ vs AMR-}$	aAMR (n=13)	cAMR (n=12)	$p_{aAMR и cAMR}$
Пол, Ж/М	18/12	11/14	0,181	5/8	6/6	0,43
Возраст реципиента, годы, M±SD	36±12	34±11	0,691	32±9	40±13	0,115
Возраст донора, годы, M±SD	43±9	44±11	0,706	44±13	44±9	0,589
АТП от живого донора, %	40	32	0,371	38	33	0,387
Повторная АТП, %	0	8	0,202	15	0	0,26
Продолжительность ЗПТ, мес, m (25–75%)	9,5 (4;36)	10 (6;24)	0,852	11 (6;24)	10 (6;31,5)	0,849
HLA mismatch, m (25–75%)	5 (3;6)	4 (3;5)	0,214	4 (2;5)	4 (3;5)	0,744
HLA mismatch≥3, %	90	84	NS	69	100	NS
Наличие ПРА перед АТП, %	3,3	12	0,239	23	0	0,124
ВХИ, мин, M±SD	438±358	493±407	0,726	416±377	578±438	0,242
ВТИ, мин, M±SD	71±31	58±24	0,057	54±24	62±25	0,325
Отсроченная функция АП, %	43	48	0,72	31	67	0,07

Примечание. AMR – антительно-опосредованное отторжение (antibody-mediated rejection); aAMR – острое антительно-опосредованное отторжение; cAMR – хроническое активное антительно-опосредованное отторжение; HLA mismatch – несоответствие по локусам системы генов HLA; NS – статистически незначимые различия (not significant); АТП – аллотрансплантация почки; АП – аллографт почки; ВХИ – время холодной ишемии; ВТИ – время тепловой ишемии; ЗПТ – заместительная почечная терапия; ПРА – предсуществующие антитела.

Таблица 3

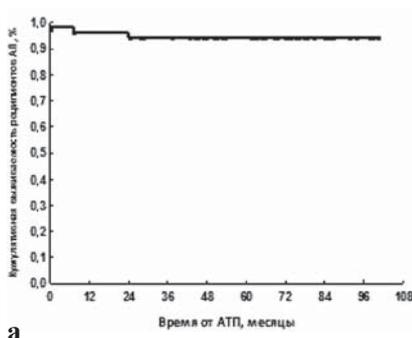
### Клинико-морфологические параметры у пациентов с антительно-опосредованным отторжением

Клинические параметры	Все случаи AMR (n=25)
Среднее число биопсий на пациента, M±SD	8±3
AMR с клиническими проявлениями, %	52
Время от АТП до выполнения биопсии с AMR, мес, m (25–75%)	27 (3;61)
Раннее (до 1 года)/позднее (более 1 года после АТП), n/n	9/16
СКФ <sub>СКД-ЕРП</sub> , мл/мин/1,73 м <sup>2</sup> , M±SD	36±15
Протеинурия, г/сут, m (25–75%)	0,3 (0,1; 0,9)
Морфологические параметры	
Гломерулит (g), баллы по Vanff, M±SEM	1,9±0,24
Перитубулярный капиллярит (ptc), баллы по Vanff, M±SEM	1,3±0,18
ИФТА, баллы по Vanff, M±SEM*	1,2±0,15
C4d-ptc, баллы по Vanff, M±SEM	1,3±0,23
C4d-ptc позитивность, %	64
MVB (g+ptc)/только g /только ptc, %	64/20/16
Персистенция MVB в следующей биопсии, %	56
В сочетании с Т-клеточным отторжением, %	16

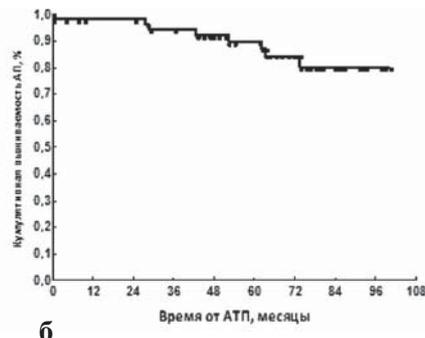
Примечание. АТП – аллотрансплантация почки; ИФТА\* – интерстициальный фиброз и тубулярная атрофия (среднее значение баллов по Vanff); MVB – микроваскулярное воспаление; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; AMR – антительно-опосредованное отторжение (antibody-mediated rejection); C4d-ptc – результат реакции иммуногистохимии на C4d в перитубулярных капиллярах; g (glomerulitis) – гломерулит; M±SEM – среднее ± стандартная ошибка среднего; n/n – количество случаев, имеющих признак/количество случаев без признака; ptc (peritubular capillaritis) – перитубулярный капиллярит.

ли *de novo* ДСА к I классу, у 8 – ко II классу (в том числе анти-HLA-DQ ДСА у трех пациентов), у 2 пациентов – к обоим классам анти-HLA-антител. У одного пациента были обнаружены *de novo* анти-MICA-антитела.

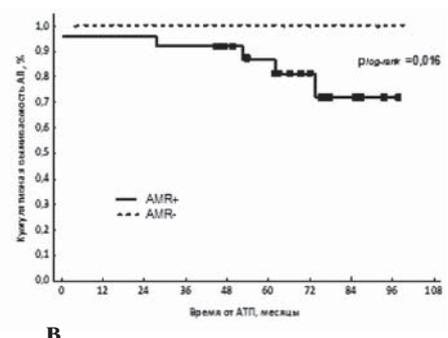
Терапия AMR в группах aAMR и cAMR достоверно не отличалась, ритуксимаб получили 38% пациентов с aAMR и 33% с cAMR, а бортезомиб – 15 и 25% соответственно.



а



б



в

Рис. 4. а – выживаемость реципиентов АП (n=55); б – выживаемость АП в общей группе (n=55); в – выживаемость АП в группах с/без AMR. АП – аллографт почки; АТП – аллотрансплантация почки; AMR – антительно-опосредованное отторжение.

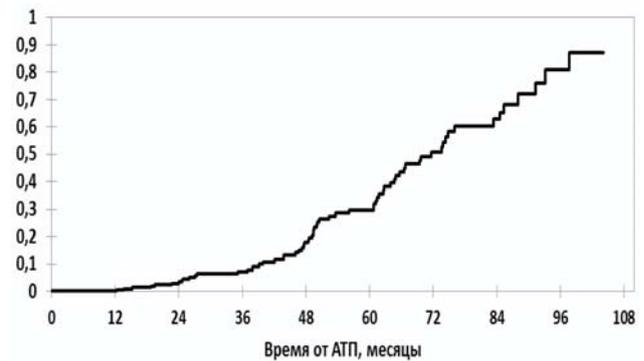


Рис. 3. Кумулятивная частота выявления гломерулопатии в биоптатах аллографта почки (n=390). АТП – аллотрансплантация почки.

### Выживаемость пациентов и аллографта почки.

9-летняя кумулятивная выживаемость пациентов составила 94,5% (рис. 4а), а выживаемость АП – 79% (см. рис. 4б). 9-летняя выживаемость АП у пациентов с AMR была ожидаемо ниже 73% (см. рис. 4в). Различий в выживаемости АП в подгруппах aAMR и cAMR ( $p_{\log\text{-rank}}=0,1$ ), так же как и между подгруппами клинического/субклинического течения AMR ( $p_{\log\text{-rank}}=0,1$ ), не выявили. Случаев потери АП у пациентов с C4d-ptc-негативным гуморальным отторжением не было ( $p_{\log\text{-rank}}=0,038$ ). Кумулятивная выживаемость АП при наличии ГП была достоверно ниже ( $p_{\log\text{-rank}}=0,018$ ), чем при отсутствии этого вида хронического повреждения, и за весь период наблюдения составила 72%.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Суждения о развитии той или иной степени иммунного конфликта лежат в основе представления об аллогенной трансплантации, когда формирование иммунных реакций возникает вследствие выраженного полиморфизма системы HLA, определяющего несовпадения по ее локусам у подавляющей пропорции реципиентов АП.

AMR является грозным осложнением пост-

трансплантационного периода, зачастую приводя к потере АП при сверхостром или остром течении. Эти риски на практике заложены в определение совместимости цитотоксическим кросс-матч-тестом, положительная реакция которого рассматривается как стандартное противопоказание к АТП, поскольку в отсутствие превентивных мер практически всегда сопровождается развитием острого или сверхострого течения отторжения по гуморальному типу и потерей трансплантированного органа.

В течение длительного периода времени существовало весьма спокойное отношение к развитию реакций отторжения, которое стимулировалось очевидным улучшением ближайших результатов (снижением частоты и клинической значимости отторжений в раннем посттрансплантационном периоде на фоне введения в широкую клиническую практику ингибиторов кальциневрина, ММФ и деплетирующих агентов) [10, 11].

Основу для такого подхода создает распространенная терминология, которая упрощает представления о сути иммунологического конфликта, сводя к общему термину «отторжение» без уточнения его механизмов, делая ведение «отторжения», основанное на эмпирической клинической диагностике и лечении, неоправданным и губительным для трансплантата.

Вместе с тем, очевидно существование по крайней мере 2 архетипов отторжения – опосредованного преимущественно Т- и В-лимфоцитами (клеточное и гуморальное соответственно). Более того, в пределах каждого могут быть выделены различные клинико-морфологические фенотипы, имеющие разное прогностическое значение [5, 12–14]. В клинической практике под отторжением зачастую понимают ситуацию с клиническими проявлениями в виде развития дисфункции АП. Однако также очевидно, что за исключением острых вариантов могут существовать и более медленно развивающиеся случаи иммунного конфликта, протекающие субклинически до тех пор, пока объем повреждения за счет клеточной инфильтрации, МВВ и фиброза не достигнет критического [13].

В представляемом исследовании внимание было сфокусировано на клинических и субклинических вариантах AMR, возникающих у реципиентов АП с отрицательным цитотоксическим кросс-матч-тестом и низким уровнем предсуществующих анти-HLA-антител. Примененный подход представлял собой тщательный иммунологический и морфологический мониторинг с контролем анти-HLA-антител и выполнением про-

токольных исследований АП, помимо биопсий со стандартными клиническими показаниями.

Во-первых, нами было установлена неожиданно высокая частота развития AMR – почти у половины реципиентов АП выявлены признаки этого типа отторжения в те или иные сроки посттрансплантационного периода. Почти при каждом седьмом морфологическом исследовании АП, большинство из которых составили протокольные биопсии, выявляли признаки МВВ – типичного проявления AMR. Эти данные находятся в соответствии с наблюдениями других, немногочисленных исследований, в которых для поиска AMR были использованы аналогичные подходы [9, 13, 15]. Напротив, в исследованиях с анализом морфологических данных на основе выполненных по клиническим показаниям биопсий АП частота AMR составляет от 3 до 18% [2, 5, 8] и, на наш взгляд, является существенно заниженной за счет выпадения субклинических случаев и случаев с минимальными клиническими проявлениями.

AMR – явно неоднородное состояние, а суть поиска стратегий эффективного ведения, сводится к необходимости стратификации, основанной на клинических, морфологических и молекулярно-генетических подходах [16, 17]. В рамках выявленных случаев AMR очевидно наличие, по крайней мере, двух клинико-иммуноморфологических фенотипов. Один из них – острый, чаще выявляемый в индикационных биопсиях в виде МВВ, в более ранние сроки посттрансплантационного периода и, как правило, сопровождающийся снижением функции АП, депозитами C4d-ptc. Другой вариант AMR, наблюдавшийся нами, может быть охарактеризован как «первично хронический». В этом случае морфологические проявления активно текущего AMR с поражением микроциркуляции АП сопровождались очевидными признаками хронификации в виде ГП, несмотря на отсутствие острых, клинически значимых эпизодов в прошлом. Такие субклинические изменения выявлялись в достоверно более поздние сроки после АТП в сравнении с острым AMR [55 (35;78) мес и 3 (1;14) мес], зачастую без классической депозиции C4d-ptc. Механизмы формирования ГП могут быть связаны с постоянным воздействием небольших концентраций ДСА на аллографт в течение всего посттрансплантационного периода, приводящим к расщеплению базальной мембраны и экспансии lamina rara interna с субэндотелиальной депозицией материала, включающего иммунные комплексы при потере способности эндотелия к аккомодации [13, 18, 19].

МВВ, основное морфологическое проявление AMR, в большинстве случаев было представлено сочетанным поражением капилляров клубочка и интерстиция. В некоторых случаях находили изолированное поражение капилляров интерстиция или клубочка. Прогностическое значение последнего нуждается в уточнении, однако ряд данных указывают на то, что гломерулит, включая его изолированные формы, может иметь более важное значение для выживаемости АП, требуя своевременной верификации и соответствующей настроенности [20, 21].

В целом, AMR, безусловно, связано с резким ухудшением прогноза выживаемости АП, в то время как значение Т-клеточного отторжения не столь очевидно и остается предметом дискуссий [2, 22]. Полученные нами при длительном наблюдении реципиентов АП исследованной группы данные полностью подтверждают такие представления. При 9-летней выживаемости АП в общей группе, составившей 79%, Т-клеточное отторжение не было причиной потери АП ни в одном случае. В то же время, кумулятивная выживаемость АП при развитии AMR была достоверно более низкой. Приведенные наблюдения позволяют считать причиной потери АП при AMR отчетливую склонность к персистенции и хронификации, несмотря на достаточно агрессивную терапию, направленную на основные патогенетические механизмы этого типа отторжения [13, 14, 23–25]. Вместе с тем, следует учесть, что выживаемость АП при ГП составила 72% за 9-летний период, что сравнимо с данными эталонных международных обсервационных исследований [26] и отечественных данных [27] для неселекционированных по наличию отторжения групп реципиентов АП. Это является косвенным свидетельством того, что настойчивое лечение, включавшее элиминацию циркулирующих анти-HLA-антител, контроль Т- и В-клеточных иммунных реакций, угнетение популяции плазматиков, может приводить к улучшению прогноза таких больных и повышать эффективность АТП. Подтверждение таких предположений нуждается в проведении контролируемых исследований.

Более радикальным подходом в будущем может быть стратегия выявления реципиентов с повышенным риском, основанная на поиске и идентификации факторов прогноза развития разных фенотипов AMR [21] и проведения превентивной терапии, эффективность которой уже продемонстрирована на примере АВО-несовместимых АП [23].

Ограничениями исследования являются относительно небольшое число реципиентов АП, а также отсутствие предтрансплантационного типирования HLA по всем локусам, что могло занижить данные о частоте отторжения. Об этом свидетельствует выявление у некоторых реципиентов анти-HLA-антител, направленных к нетипируемым в рутинной трансплантационной практике локусам DP, DQ, C, а также MICA. Примененный подход с регулярным морфологическим и иммунологическим мониторингом относится к сильным сторонам исследования и в настоящее время применяется лишь в единичных трансплантационных центрах [9, 13, 14].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные определенно указывают на то, что AMR может быть распространенной и недооцениваемой проблемой, связанной со снижением сроков функционирования АП и эффективности АТП, в целом. Своевременное выявление и лечение этого типа иммунного конфликта требует рутинного проведения иммунологического и морфологического мониторинга.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Haas M, Sis B, Racusen LC et al. Banff 2013 Meeting Report: Inclusion of C4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant* 2014; 14 (2): 272-283
2. Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D et al. Antibody mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *Lancet* 2013; 9863: 313-319
3. Orandi BJ, Chow EH, Hsu A et al. Quantifying renal allograft loss following early antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2015; 15 (2): 489-498
4. Lionaki S, Panagiotellis K, Iniotaki A et al. Incidence and clinical significance of de novo donor specific antibodies after kidney transplantation. *Clin Dev Immunol* 2013; 2013: <http://www.hindawi.com/journals/jir/2013/849835>
5. Dörje C, Midtvedt K, Holdaas H et al. Early versus late acute antibody-mediated rejection in renal transplant recipients. *Transplantation* 2013; 96 (1): 79-84
6. Böhmig GA, Regele H, Hörl WH. Protocol biopsies after kidney transplantation. *Transpl Int* 2005; 18 (2): 131-139
7. Yamamoto T, Watarai Y, Takeda A et al. De Novo Anti-HLA DSA Characteristics and Subclinical Antibody-Mediated Kidney Allograft Injury. *Transplantation* 2015; Epub ahead of print
8. Sellarés J, de Freitas DG, Mengel M et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant* 2012; 12 (2): 388-399
9. Loupy A, Vernerey D, Tinel CJ et al. Subclinical Rejection Phenotypes at 1 Year Post-Transplant and Outcome of Kidney Allografts. *Am Soc Nephrol* 2015; 26 (7): 1721-1731
10. Woodroffe R, Yao GL, Meads C et al. Clinical and cost-effectiveness of newer immunosuppressive regimens in renal transplantation: a systematic review and modelling study. *Health Technol Assess* 2005; 9 (21): 1-179, iii-iv
11. Kyriakides G, Miller J. Use of cyclosporine in renal transplantation. *Transplant Proc* 2004; 36 (2 Suppl): 167S-172S
12. Einecke G, Sis B, Reeve J et al. Antibody-mediated mi-

crocirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant* 2009; 9 (11): 2520-2531

13. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD et al. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant* 2012; 12 (5): 1157-1167

14. Papadimitriou JC, Drachenberg CB, Ramos E et al. Antibody-mediated allograft rejection: morphologic spectrum and serologic correlations in surveillance and for cause biopsies. *Transplantation* 2013; 95 (1): 128-136

15. Yamanaga S, Watarai Y, Yamamoto T et al. Frequent development of subclinical chronic antibody-mediated rejection within 1 year after renal transplantation with pre-transplant positive donor-specific antibodies and negative CDC crossmatches. *Hum Immunol* 2013; 74 (9): 1111-1118

16. Halloran PF, Merino Lopez M, Barreto Pereira A. Identifying subphenotypes of antibody-mediated rejection in kidney transplants. *Am J Transplant* 2016; 16 (3): 908-920

17. Halloran PF, Famulski KS, Chang J. A probabilistic approach to histologic diagnosis of antibody-mediated rejection in kidney transplant biopsies. *Am J Transplant* 2016; Jun 24: Epub ahead of print

18. Fotheringham J, Angel CA, McKane W. Transplant glomerulopathy: morphology, associations and mechanism. *Nephron Clin Pract* 2009; 113 (1): c1-7

19. Drachenberg CB, Papadimitriou JC. Endothelial injury in renal antibody-mediated allograft rejection: a systematic view based on pathogenesis. *Transplantation* 2013; 95 (9):1073-1083

20. Nabokov A, Dobronravov VA, Khrabrova M et al. Long-term kidney allograft survival in patients with transplant glomerulitis. *Transplantation* 2015; 99 (2): 331-339

21. Храброва МС, Добронравов ВА, Набоков АВ и др. Микроваскулярное воспаление как прогностический фактор при трансплантации почки. *Нефрология* 2015; 19 (5): 34-41 [Khrabrova MS, Dobronravov VA, Nabokov AV i dr. Mikrovaskulyarnoe vospalenie kak prognosticheskiy faktor pri transplantacii pochki. *Nefrologiya* 2015; 19 (5): 34-41]

22. Naesens M, Kuypers DR, De Vusser K et al. The histology of kidney transplant failure: a long-term follow-up study. *Transplantation* 2014; 98 (4): 427-435

23. Bagnasco SM, Zachary AA, Racusen LC et al. Time course of pathologic changes in kidney allografts of positive crossmatch HLA-incompatible transplant recipients. *Transplantation* 2014; 97 (4): 440-445

24. Tsuji T, Yanai M, Itami H et al. Microvascular inflammation in early protocol biopsies of renal allografts in cases of chronic active antibody-mediated rejection. *Nephrology (Carlton)* 2015; 20 Suppl 2: 26-30

25. Miura M, Harada H, Fukasawa Y et al. Long-term histopathology of allografts in sensitized kidney recipients. *Clin Transplant* 2012; 26 Suppl 24: 32-36

26. Collaborative Transplant Study [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.ctstransplant.org/public/graphics/sample.shtml>

27. Бикбов БТ, Томилина НА. Заместительная терапия больных с хронической почечной недостаточностью методами перитонеального диализа и трансплантации почки в Российской Федерации в 1998-2011 г. (Отчет по данным Российского регистра заместительной почечной терапии. Часть вторая). *Нефрология и диализ* 2014; 16 (2): 192-227 [Bikbov BT, Tomilina NA. Zamestitelnaya terapiya bolnich s

khronicheskoy pochechnoy nedostatochnosti metodami peritonealnogo dializa i transplantacii pochki v Rossiyskoy Federacii v 1998-2011 g. (Otchet po dannim Rossiyskogo registra zamestitelnoy pochechnoy terapii. Chast vtoraya). *Nefrologiya i dializ* 2014; 16 (2): 192-227]

#### Сведения об авторах:

Храброва Мария Сергеевна, к.м.н.

197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, кафедра пропедевтики внутренних болезней, ассистент. Тел.: (812) 3380165, E-mail: [hbravovamc@gmail.com](mailto:hbravovamc@gmail.com)

Maria S. Khrabrova, MD, PhD

Affiliations: 197022, Russia, Saint-Petersburg, Str. Leo Tolstoy, 17 build 54. First Pavlov St.-Petersburg State Medical University, Department of Propedeutics of Internal Diseases Assistant prof. Phone: +78123380165

Мухаметдинова Анастасия Олеговна

197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова. E-mail: [muhametdinovanastya@mail.ru](mailto:muhametdinovanastya@mail.ru)

Anastasiya O. Muhametdinova

Affiliations: 197022, Russia, Saint-Petersburg, Str. Leo Tolstoy, 6/8. First Pavlov St.-Petersburg State Medical University.

Доц. Сиповский Василий Георгиевич, к.м.н.

197089, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17. Научно-исследовательский институт нефрологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова. Тел./факс: +7 812 234-67-23 Associate prof. Vassili G. Sipovski MD, PhD.

Affiliations: 197089, Russia, Saint-Petersburg, Str. Leo Tolstoy, 17. Research Institute of Nephrology I.P.Pavlov Medical State University. Phone: +7 812 234 67 23

Проф. Добронравов Владимир Александрович, д.м.н.

197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17. Научно-исследовательский институт нефрологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова. заместитель директора. E-mail: [dobronravov@nephrolog.ru](mailto:dobronravov@nephrolog.ru)

Prof. Vladimir A. Dobronravov, MD, PhD, DSc

Affiliations: 197022, Russia, Lva Tostogo str. 17, Research Institute of Nephrology Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, vice director. E-mail: [dobronravov@nephrolog.ru](mailto:dobronravov@nephrolog.ru)

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Поступила в редакцию: 20.05.2016 г.

Принята в печать: 12.09.2016 г.

© А.Е.Скворцов, И.В.Логинов, А.А.Кукушкин, А.Н.Ананьев, А.А.Кутенков, Д.О.Кузьмин, В.С.Дайнеко, И.В.Ульянкина, М.Ю.Шиганов, О.Н.Резник, 2016  
УДК 616.61 – 089.843 : 616.12 – 036.8 – 091.1

*А.Е. Скворцов<sup>1</sup>, И.В. Логинов<sup>2</sup>, А.А. Кукушкин<sup>2</sup>, А.Н. Ананьев<sup>1</sup>,  
А.А. Кутенков<sup>2</sup>, Д.О. Кузьмин<sup>2</sup>, В.С. Дайнеко<sup>2</sup>, И.В. Ульянкина<sup>2</sup>,  
М.Ю. Шиганов<sup>1</sup>, О.Н. Резник<sup>1</sup>*

## ДОНОРЫ С НЕОБРАТИМОЙ ОСТАНОВКОЙ СЕРДЦА: ПОЛНОЦЕННЫЙ РЕСУРС РЕНАЛЬНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

<sup>1</sup>Клиника Научно-исследовательского института хирургии и неотложной медицины, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова; <sup>2</sup>Городской центр координации органного донорства Санкт-Петербургского научно-исследовательского института им. И.И. Джанелидзе, Россия

*A.E. Skvortsov<sup>1</sup>, I.V. Loginov<sup>2</sup>, A.A. Kukushkin<sup>2</sup>, A.N. Ananiev<sup>1</sup>, A.A. Kutenkov<sup>2</sup>,  
D.O. Kuzmin<sup>2</sup>, V.S. Daineko<sup>2</sup>, I.V. Uljankina<sup>2</sup>, M.Y. Shiganov<sup>1</sup>, O.N. Reznik<sup>1</sup>*

## DONORS WITH CARDIAC DEATH: FULL RESOURCE OF KIDNEY TRANSPLANTATION

<sup>1</sup>Hospital Research Institute of Surgery and Emergency Medicine, First Pavlov State Medical University, St Petersburg, Russia, <sup>2</sup> Organ Procurement Center, St. Petersburg State Research Institute for Emergency, St Petersburg, Russia

### РЕФЕРАТ

**ЦЕЛЬ.** Предложить трансплантационному сообществу надежный протокол получения полноценных ренальных трансплантатов от доноров с необратимой остановкой сердца, основанный на оценке 5-летних результаты пересадок почек, полученных с помощью нормотермической перфузии и экстракорпоральной оксигенации. **МЕТОДЫ.** В исследование были включены 29 АСД почек [время первичной тепловой ишемии – 58,1 (19,39) мин], полученных с использованием предложенного протокола, и оценены результаты пересадок таких трансплантатов у 58 реципиентов. Полученные данные были валидированы путем сравнения с результатами пересадок 112 почек от 115 доноров со смертью мозга (ДСМ). **РЕЗУЛЬТАТЫ.** НФТ в исследуемой группе была у 28 реципиентов из 58 (48,3%), в контрольной группе – 63,4% (71 реципиент). Было четыре случая ПНФТ, эти пациенты не были включены в исследуемую группу. 5-летняя выживаемость трансплантатов составила 82,8% (n = 48), в отличие от 87,5% (n=98) (ДСМ) (p>0,05). Уровень сывороточного креатинина через пять лет после трансплантации в среднем у реципиентов почек от АСД – 0,094(0,06)и 0,103(0,07) ммоль/л (от ДСМ) (p>0,05). **ВЫВОДЫ.** Восстановление и сохранение жизнеспособности донорских органов у внезапно умерших с критическим периодом асистолии с помощью экстракорпоральной перфузии in situ является многообещающим протоколом. Обязательным является применение тромболитиков и механического перфузионного удаления лейкотромбоагломератов, образующихся в период отсутствия кровообращения. Пятилетние результаты пересадки почек, полученных от АСД, с использованием экстракорпоральной перфузии in situ, не отличаются от результатов трансплантаций почек от ДСМ.

**Ключевые слова:** ишемия-реперфузия донорских органов, доноры с внезапной необратимой остановкой кровообращения, трансплантация почки.

### ABSTRACT

**THE AIM.** To offer procurement society reliable protocol of full kidney transplants from donors with heart death based on 5-year results of kidney transplants received via protocol normothermic hemoperfusion with extracorporeal oxygenation. **PATIENTS AND METHODS.** The study included 29 DCD kidneys (primary warm ischemic time – 58,1 (19,39) minutes), received with use of suggested protocol and estimated results of such grafts transplantation to 58 recipients. Received data were validated by comparison with outcomes of 112 kidney transplantations from 115 brain death donors (BDDs). **RESULTS.** In study group IGF was observed in 28 (48.3%) of the 58 recipients, in control group – 63,4% (71 recipient). There were 4 cases of PNFT, these patients were not included into study group. The actuarial 5-year graft survival rate was 82,8% (n=48) as contrasted with 87,5% (n=98) (BDDs) (p>0,05). Serum creatinine levels over 5 years after transplantation were 0,094(0,06)mmol/l in recipients of DCD kidneys and 0,103(0,07)mmol/l – BDD kidneys (p>0,05). **CONCLUSION.** Reconstruction and survival of procurement organs from unexpectedly died persons with critical asystole period with extracorporeal perfusion in situ is promising protocol. Use of thrombolytics and mechanical perfused removal of leukothromboagglomerates formed during lack of blood circulation are necessary. The 5-years outcomes of kidney transplantation received from DCD with use of extracorporeal perfusion in situ did not differ from outcomes of kidney transplantation from BDDs.

**Key words:** ischemia, procurement organs reperfusion, donors with a sudden cardiac death, kidney transplantation.

Резник О.Н. 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, клиника Научно-исследовательского института хирургии и неотложной медицины. Тел.: (812) 346-39-26, E-mail: onreznik@gmail.com

## ВВЕДЕНИЕ

Общеизвестно, что главной проблемой трансплантации является дефицит донорских органов. В Российской Федерации ежегодно производится более 1500 трансплантаций органов, или 10,4 на 1 млн населения, в то время как приблизительное число нуждающихся пациентов оценивается в 15,2 тыс человек [1, 2]. Приходится констатировать, что в настоящее время большинству потенциальных реципиентов такой вид помощи недоступен, несмотря на усилия по организации донорства федерального и регионального порядка. Так, до недавних пор государственное задание являлось основным механизмом финансирования трансплантаций органов в России, его доля в общем числе трансплантаций органов с 2010 г. увеличилась на 27,9% при увеличении в абсолютных значениях на 516 (+65%) трансплантаций органов, при этом органное донорство оставалось без внимания, в настоящее время появляются методы материального стимулирования и этих программ, что не менее важно в условия существующей нехватки донорских органов [2–6].

По данным «United Network for Organ Sharing» («UNOS», США), на январь 2016 года в листе ожидания донорских органов состояло 121 299 пациентов, в то время как количество доноров составило 15 068, и было выполнено лишь 30 970 операций по пересадке [7]. Схожая ситуация наблюдается в странах Евросоюза, по данным организации Eurotransplant, на январь 2016 года в листе ожидания находилось 14 560 пациентов, за 2015 год выполнено 7 145 трансплантаций [8]. Причины дефицита донорских органов хорошо изучены и освещены в работах как зарубежных, так и отечественных авторов [6, 9–12].

«Золотой стандарт» донорства – это умершие с установленным диагнозом смерти мозга, работающим сердцем и функционирующими органами. Однако число таких доноров во всем мире ограничено и постоянно снижается. В то же время, недостаточно используются доноры, смерть которых наступает внезапно, от необратимой остановки сердечной деятельности. Причиной сдержанного отношения к такого рода донорам является время, проходящее от остановки сердца до прибытия донорских служб, которое не позволяет сохранить жизнеспособность органов. Причина заключается в способе осуществления консервации органов до пересадки.

В практике неотложной кардиологии и неврологии широко используются программы применения тромболитика, которые приводят к купи-

рованию в большинстве случаев сосудистых катастроф миокарда и ткани мозга [13–17]. Наилучшие результаты были достигнуты, если помощь оказывалась в течение так называемого «золотого часа». Нами был осуществлен «трансфер» подобной стратегии в практику работы с донорами с внезапной необратимой остановкой кровообращения. Коллективом Центра координации органного донорства НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе был в 2009 г. разработан протокол перфузионной реабилитации донорских органов у такой категории пациентов *in situ*, до эксплантации, при сроках асистолии до одного часа, с помощью проведения экстракорпоральной мембранной оксигенации и абдоминального тромболитика. В данной статье приводится опыт применения новой технологии получения трансплантатов и публикуются 5-летние результаты их пересадок.

Цель исследования – доказательство клинической полноценности пересадки почек, полученных от доноров с внезапной необратимой остановкой сердечной деятельности и критическим уровнем первичной тепловой ишемии при применении субнормотермической экстракорпоральной перфузии «*in situ*» у доноров почек.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Протокол проведенного исследования (применение экстракорпоральной нормотермической гемоперфузии *in situ*, процедуры изъятия и трансплантации почек) был утвержден этическим комитетом СПбНИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе №6 от 15.07.2011 г. и разрешением на использование новой медицинской технологии Росздравнадзора РФ №2010/299. Патент № 2441608 от Роспатента на «Способ восстановления и поддержания жизнеспособности ишемически поврежденного донорского органа».

По данным Бюро судебной медицины, за 2009 год от повреждений головного мозга погиб 571 пациент – потенциальный донор, в то же время изъятие проводилось только у 47 эффективных доноров, что соответствует 10,5 донора на 1 млн населения. Количество потенциальных доноров, которые умерли от внезапной необратимой остановки сердца в первые сутки нахождения в стационаре, о которых донорская служба не была оповещена заранее, составило 173 пациента с повреждением и заболеванием головного мозга. Это те доноры, почки которых могли бы быть пересажены, однако изъятие которых невозможно без применения специальных перфузионных технологий. В период с 2009 по 2014 год было проведено изъятие у

29 доноров с внезапной необратимой остановкой сердечной деятельности (соответствующим донорам II категории по Маастрихтской классификации, 1993). Критериями включения в исследование доноров были следующие – возраст их не старше 55 лет, причина смерти – тяжелая травма или заболевание головного мозга, приведшая к остановке сердечной деятельности; отсутствие ярко выраженной сосудистой патологии, время первичной тепловой ишемии (время от констатации смерти до начала перфузии *in situ*) не более 90 мин. Основные характеристики доноров представлены в табл. 1.

Констатация смерти пациента производилась в установленном порядке после проведения полного комплекса реанимационных мероприятий и их неэффективности, а процедура эксплантации – после получения официального разрешения на изъятие от судебно-медицинского эксперта.

После констатации смерти пациента и безуспешных реанимационных мероприятий, дежурным врачом отделения реанимации донорского стационара или госпитальным трансплантационным координатором осуществлялся вызов бригады Центра органного донорства в стационар. Согласно протоколу, дежурный врач уже после констатации смерти пациента внутривенно через подключичный катетер вводил гепарина 25000 ЕД («Gedeon Richter», Germany) и осуществлял несколько компрессионных движений грудной клетки умершего, как при непрямом массаже сердца, для равномерного распределения антикоагулянта в организме донора. Производился забор крови для экспресс-диагностики инфекций (гепатит В, С, ВИЧ, RW). Расстояние от НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе до донорских стационаров составляет от 12 до 25 км. Перфузионная и эксплантационная бригады прибывали в стационар в течение 25–45 мин, после получения разреше-

ния на изъятие у администрации больницы и вызова судебно-медицинского эксперта (СМЭ). Тело умершего пациента (рассматриваемого как потенциального асистолического донора) перемещалось в операционную, где в случае получения отрицательных результатов экспресс-диагностики инфекций хирургом службы забора органов выполнялся доступ к бедренным сосудам в правом бедренном треугольнике. Осуществлялась катетеризация аорты двухбаллонным трехпросветным катетером («Balton», Warsaw, Польша) для изоляции сосудистого бассейна брюшной полости. В бедренную вену вставлялся катетер для отвода венозной крови из бассейна абдоминальной перфузии. Затем к этим катетерам подсоединялся контур экстракорпорального перфузионного комплекса для проведения изолированной абдоминальной гемоперфузии. Перфузионный контур включал в себя: мехатронный перфузионный модуль, разработка НИИ робототехники и технической кибернетики (Санкт-Петербург); портативный источник кислорода с системой понижающих редукторов («Alternative Science», Санкт-Петербург, Россия); венозный резервуар и оксигенатор («Gish Vision Biomedical», Rancho Santa Margarita, CA, США); набор экстракорпоральных перфузионных систем (трубок) («Tianjin Plastics Research Institute», Tianjin, Китай). Критически важным мы считаем включение в перфузионный контур лейкоцитарного фильтра, для экстракорпорального, по сути, дистанционного, удаления из перфузируемых донорских органов тромбов, конгломератов лейкоцитов и тромбоцитов. В нашем случае мы использовали LeukoGuard-6, т.е. фильтр с пропускной способностью 6 л/мин («Pall GmbH», Dreieich, Германия). На фоне продолжающейся нормотермической гемоперфузии *in situ* начиналась операция эксплантации донорских органов только после прибытия СМЭ и получения

Таблица 1

### Характеристики доноров

Характеристики	АСД (n=29), M (SD)	ДСМ (n=115), M (SD)	p
Возраст, года	41,07 (9,32)	44,07 (10,96)	>0,05
Пол:			
Мужчины	19 (65,5%)	78 (67,8%)	<0,05
Женщины	10 (34,5%)	37 (32,2%)	>0,05
Причина смерти:			
Повреждение головного мозга	16 (55,2%)	31 (26,9%)	>0,05
Сосудистые заболевания головного мозга	13 (44,8%)	84 (73,1%)	<0,05
Доза дофамина, мкг/кг/мин	5,72 (2,64)	3,93 (1,30)	<0,05
Креатинин, ммоль/л	0,078 (0,02)	0,073 (0,02)	>0,05
Диурез в последний час, мл	0,45 (0,38)	0,60 (0,28)	<0,05
Время тепловой ишемии, мин	58,1 (19,39)	0	

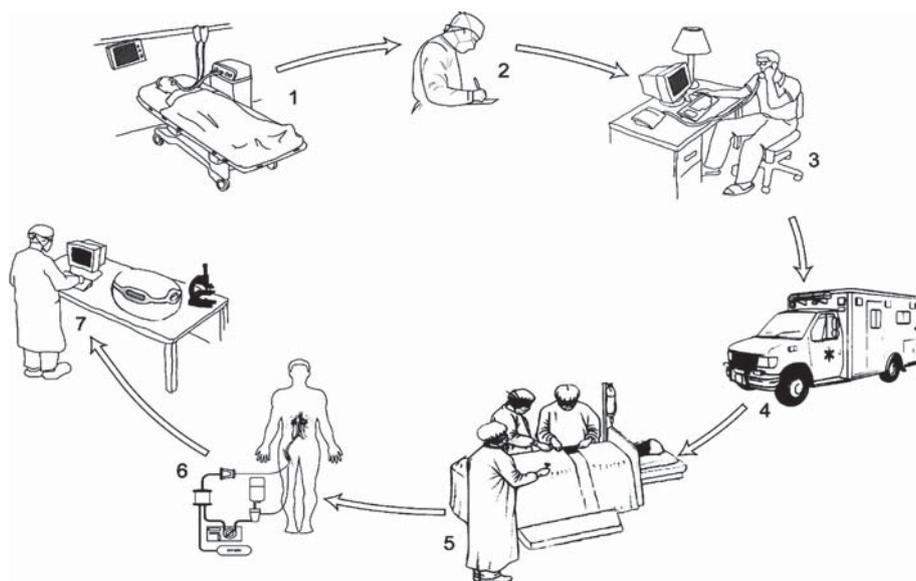


Рис. 1. Новая логистическая модель асистолического донорства. 1. Смерть пациента после внезапной необратимой остановки кровообращения и неэффективности реанимационных мероприятий. 2. Госпитальный трансплантационный координатор заполняет документацию. 3. Активация программы донорства после звонка регионального трансплантационного координатора. 4. Прибытие специального транспорта с перфузионной и хирургической командой из ЦОТД. 5. Выделение и канюляция бедренных сосудов донора. 6. Проведение процедуры экстракорпоральной перфузии в теле донора. 7. Оформление протокола изъятия донорских органов и оценка качества донорских органов после процедуры изъятия.

разрешения на изъятие, в среднем на это уходило от 1,5 до 2 ч. Логистическая схема такой модели донорства представлена на рис. 1.

Обязательными компонентами процедуры восстановления жизнеспособности донорских органов являлись: 1. тромболитическая терапия; 2. гепаринизация абдоминального бассейна перфузии; 3. гемодилюция крови в перфузионном контуре; 4. экстракорпоральная трансмембранная оксигенация перфузата; 5. элиминация активированных лейкоцитов из перфузионного контура; 6. применение нормо- (суб)термического режима перфузии (27–32 °С). В качестве перфузата была использована модифицированная кровь асистолического донора. Общая формула перфузата выглядела следующим образом: кровь асистолического донора,

Таблица 2

#### Клинические параметры перфузии

Данные	M (SD) N = 29
Гемоглобин, g/L	34,93 (12,39)
Гематокрит	0,33 (0,16)
pH перфузата	7,34 (0,27)
Перфузионное давление, начальное, ml/min	500
Перфузионное давление, в конце, ml/min	3500
Оксигенация, начальное, ml/min	150
Оксигенация, в конце, ml/min	350
Среднее pO <sub>2</sub> * перфузата, mmHg	408,4 (49,6)
Среднее pCO <sub>2</sub> ** перфузата, mmHg	89,30 (28,86)
Продолжительность ЭНАП и УЛ***, min	139 (28,22)
Кол-во лейкоцитов в перф. контуре, начало	15,72 (4,47)
Кол-во лейкоцитов в перф. контуре, в конце	0,84 (0,59)

Примечание. \*pO<sub>2</sub>: парциальное давление кислорода, \*\*pCO<sub>2</sub>: парциальное давление углекислого газа, \*\*\*ЭНАП и УЛ: экстракорпоральная нормотермическая аппаратная перфузия с удалением лейкоцитов.

кустоидол до 2 л, гепарин 25 000 ЕД, стрептокиназа 1,5 млн ЕД, перфторан не менее 400 мл, солумедрол 500 мг, изоптин 5 мг, нитроглицерин 5 мг. Общая схема перфузионного комплекса и схема его подключения представлены на рис. 2.

Длительность «сеанса восстановления» функционального состояния донорских почек и время начала изъятия определялось нами на основании результатов исследования содержания лейкоцитов в перфузионном контуре, при достижении значения в  $1 \times 10^9/\text{л}$  и ниже результаты проведения перфузии признавались удовлетворительными (см. табл. 2). Среднее время от момента остановки сердечной деятельности до начала экстракорпоральной гемоперфузии абдоминального региона составило (время тепловой ишемии) 58,1 (19,39) (min. 45, max. 92). Начало операции эксплантации выполнялось на фоне продолжающейся перфузии, которая заканчивалась непосредственно перед извлечением органов.

После окончания перфузии донорские почки извлекались, выполнялась тонкоигольная биопсия (рис. 3), и затем производилась традиционная консервация охлажденным до 4 °С раствором кустодиол, а затем бесперфузионным способом по общепринятой методике в стерильных пластиковых пакетах раствором кустодиола до момента пересадки. Трансплантации почек, полученных с использованием предложенного протокола, были выполнены 58 реципиентам с терминальной хронической почечной недостаточностью, находившихся на заместительной почечной терапии. Характеристика реципиентов представлена в табл. 3.

Полученные данные были валидированы путем сравнения с результатами пересадок 112

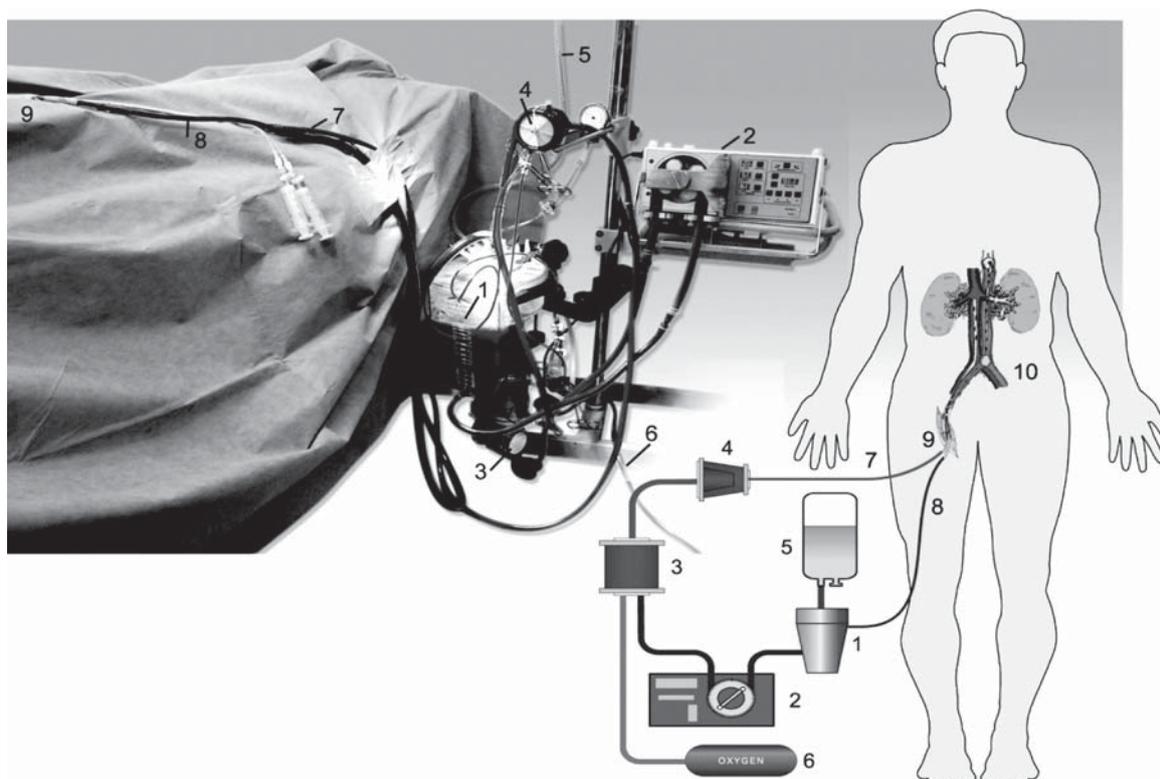


Рис. 2. Схема применения перфузионного протокола. Перфузионный контур включает в себя: 1 – венозный резервуар; 2 – механический перфузионный модуль; 3 – оксигенатор; 4 – лейкоцитарный фильтр; 5 – перфузионный раствор; 6 – источник кислорода; 7 – артериальная линия перфузионного контура; 8 – венозная линия; 9 – хирургический доступ к бедренным сосудам; 10 – «абдоминальный» регион перфузии.

Таблица 3

### Характеристики реципиентов, М (SD)

Характеристики	АСД, n=58	ДСМ, n=112	p
Возраст, лет	48,94 (9,14)	42,33 (10,56)	>0,05
Вид диализа			
Гемодиализ (ГД)	47 (81,03%)	89 (79,5%)	>0,05
Перитонеальный диализ (ПД)	11 (18,97%)	15 (13,4%)	>0,05
ГД/ПД	0	8(7,1%)	
Время на диализе до трансплантации почки, лет	3,92 (2,82)	3,74 (4,09)	>0,05
Причина хронической болезни почек			
Гломерулонефрит	50 (86,2%)	86 (76,9%)	>0,05
Пиелонефрит	2 (3,44%)	11 (9,8%)	<0,05
Поликистоз почек и др.	6 (10,3%)	15 (13,3%)	<0,05
Время холодной ишемии до Тх почки, ч	13,31 (4,11)	13,37 (5,54)	>0,05
Функция трансплантата			
НФТ <sup>1</sup>	28 (48,3%)	71 (63,4%)	<0,05
ОФТ <sup>2</sup>	26 (44,8%)	39 (34,8%)	>0,05
ПНФТ <sup>3</sup>	4(6,9%)	2(1,8%)	<0,05
Креатинин через 1 год после Тх, ммоль/л	0,108 (0,04)	0,112 (0,04)	>0,05
Креатинин через 5 лет после Тх, ммоль/л	0,094 (0,06)	0,103 (0,07)	>0,05
рСКФ <sup>4</sup> , мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	76,3 (25,1)	71,2 (25,9)	>0,05
Ранние острые реакции отторжения, 3 мес	6 (10,3%)	16 (14,3%)	<0,05
Поздние реакции отторжения, 12 мес	9 (12,1%)	26 (23,2%)	<0,05
Выживаемость реципиентов, %	56 (96,5%)	108 (96,4%)	>0,05
Выживаемость трансплантатов, %	48 (82,8%)	98 (87,5%)	>0,05
Хирургические осложнения	3 (5,2%)	6 (5,4%)	<0,05

Примечание. <sup>1</sup>НФТ – немедленная функция трансплантата; <sup>2</sup>ОФТ – отсроченная функция трансплантата; <sup>3</sup>ПНФТ – первично нефункционирующий трансплантат; <sup>4</sup>рСКФ – расчетная скорость клубочковой фильтрации по Cockcroft =  $((140 - \text{age}) * \text{mass (kg)} [ * 0,85 \text{ if female} ]) / 72 * \text{serum creatinine (mg/dl)}$ .

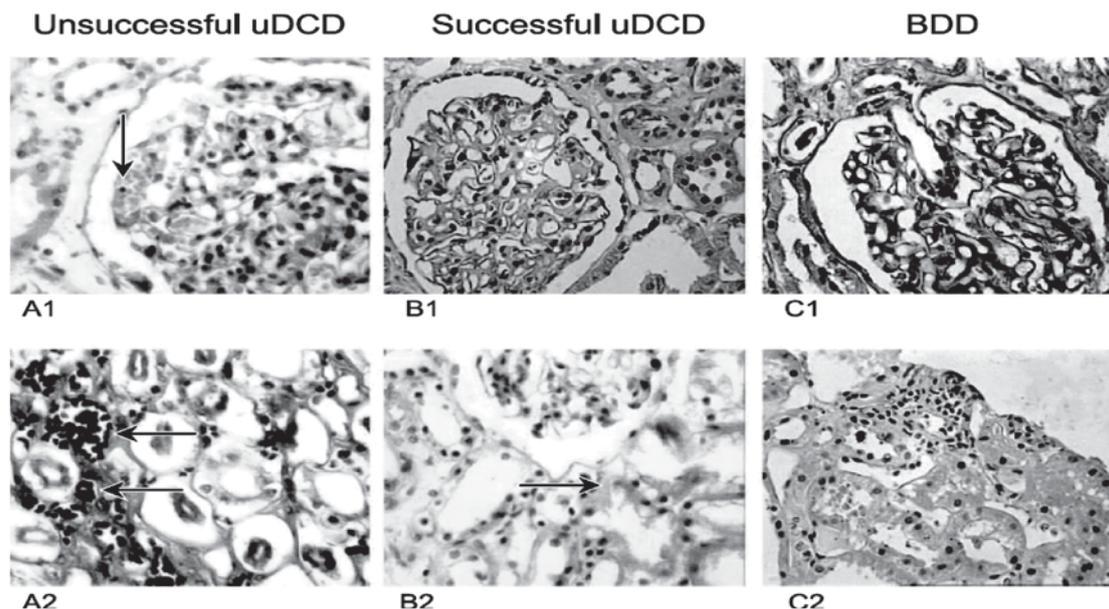


Рис. 3. Результаты «нулевой» биопсии материала, полученного из почечных трансплантатов (после изъятия), световая микроскопия. А1, А2 – образцы неудачной перфузии АСД; В1, В2 – биопсия почек от ДСМ; С1, С2 – результаты морфологических исследований трансплантатов от АСД. Окраска Hematoxylin – Eosin и по Shiff.

почек от 115 доноров со смертью мозга (ДСМ), полученных в тот же период. Все реципиенты получали стандартную трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию с индукцией базиликсимабом («Симулектом») 20 мг до реперфузии и на 4-е сутки после операции.

Статистический анализ данных выполняли с использованием пакета прикладных статистических программ «Microsoft Excel 2010» («Microsoft Corporation», США) и «STATISTICA 8.0» («StatSoft Inc.», США). Результаты представлены в виде среднего арифметического ± стандартное отклонение. Статистическую значимость различий двух средних определяли с помощью t-критерия Стьюдента; частот –  $\chi^2$ -критерия Пирсона. Оценку силы взаимосвязи между количественными признаками проводили с помощью коэффициента корреляции (r) Пирсона. Нулевую статистическую гипотезу об отсутствии различий и связей отвергали при  $p < 0,05$ .

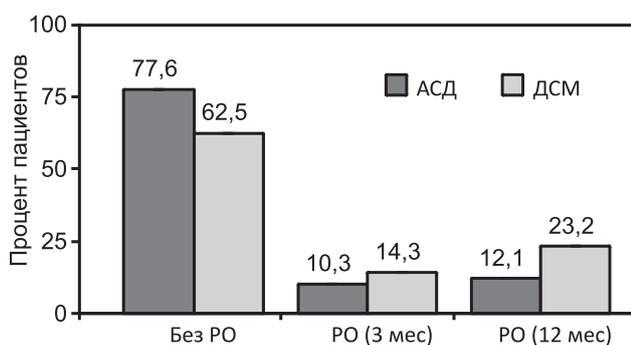


Рис. 4. Ранние и поздние реакции отторжения (ПО) (подтвержденные биопсией) ( $p < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Среднее время первичной тепловой ишемии в исследуемой группе АСД составило 58,1 (19,39) (min 45, max 92), а длительность проведения нормотермической экстракорпоральной гемоперфузии in situ – 139 (28,22) (min = 120, max = 210). В контрольной группе – 0 мин. Однако, несмотря на значительный период отсутствия кровообращения у донора, после выполнения описанных выше мероприятий, как правило, во время операции эксплантации цвет и консистенция органов брюшной полости соответствовали прижизненному или точно такому же, какой мы привыкли видеть при работе с донорами с констатированной смертью мозга, т.е. отмечалась живая перистальтика кишечника и мочеточников в ответ на механические стимулы, у 14 доноров было зафиксировано выделение мочи от 100 до 400 мл в ходе выполнения эксплантации.

Немедленная функция трансплантатов почек в исследуемой группе наблюдалась у 28 из 58 (48,3%) реципиентов. Было зафиксировано четыре случая первично-нефункционирующих трансплантатов. К концу первого года после трансплантации было диагностировано 9 эпизода острого Т-клеточного отторжения (12,1%) в группе АСД против 26 эпизодов отторжения (23,2%) в группе ДСМ (доказанного биопсией) (рис. 4).

Скорость клубочковой фильтрации составила в группе АСД 76,3 (25,1) и 71,2 (25,9) в группе от ДСМ, статистической разницы получено не было ( $p > 0,05$ ). Актуаральная выживаемость

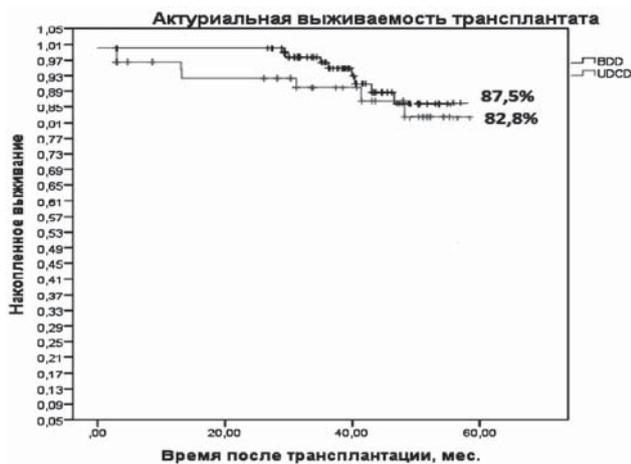


Рис. 5. 5-летняя выживаемость трансплантатов по Kaplan–Meier ( $p < 0,312$ ,  $SE = 0,041$ ). BDD – трансплантаты от доноров со смертью мозга, UDCD – трансплантаты от асистолических доноров.

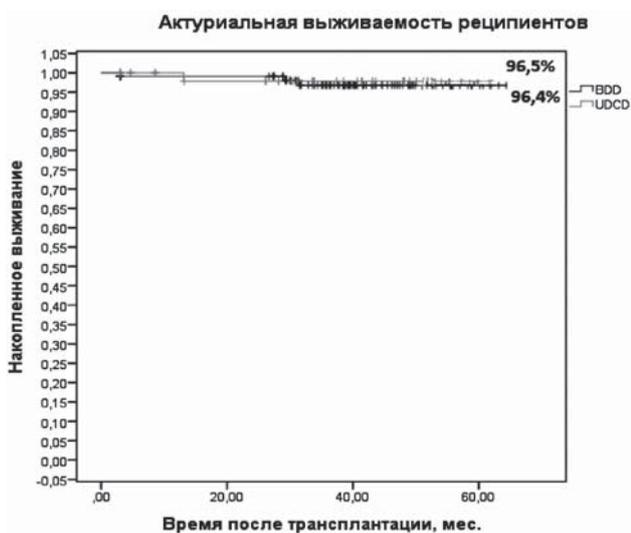


Рис. 6. 5-летняя выживаемость реципиентов по Kaplan–Meier ( $p < 0,312$ ,  $SE = 0,041$ ). BDD – трансплантаты от доноров со смертью мозга, UDCD – трансплантаты от асистолических доноров.

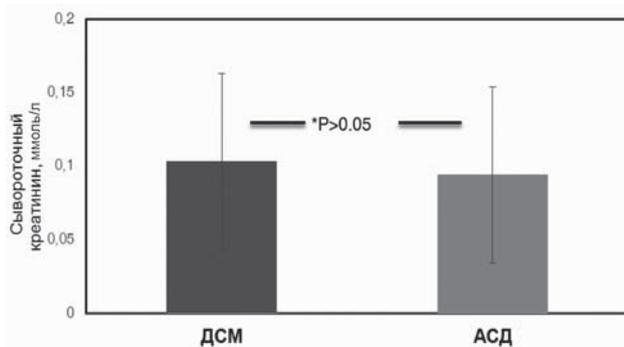


Рис. 7. Сравнение уровня сывороточного креатинина в группах реципиентов от АСД и ДСМ через 5 лет после Tx ( $p < 0,965$ ).

трансплантатов через 5 лет составила 82,8% ( $n = 48$ ) в группе АСД и 87,5% ( $n = 98$ ) в группе ДСМ (рис. 5, 6). Уровень сывороточного креатинина к концу пятого года был  $0,094 \pm 0,06$  и  $0,103 \pm 0,07$

ммоль/л в группах реципиентов от АСД и ДСМ, соответственно ( $p > 0,05$ ) (рис. 7). Хирургические осложнения в группе реципиентов от АСД были отмечены в трех (5,2%) случаях, в группе реципиентов от ДСМ в 6 (5,4%) ( $< 0,05$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Современной трансплантации присущ «врожденный порок развития» – дефицит донорских органов. Причины донорского дефицита многосторонни [5, 6, 9–11], однако в последнее десятилетие обнаруживаются новые, закономерные факторы, препятствующие эффективному развитию посмертного донорства. Быстрый прогресс в области организации скорой нейрохирургической и неврологической помощи кроется парадоксальная угроза развитию трансплантологии, так как неизменно сокращается число умерших от острых заболеваний ЦНС. Успешность трансплантационных программ в западном полушарии достигается за счет государственных программ, многие из которых не приживаются на отечественной почве, – это и донорство после эвтаназии [18], и широко распространённое в странах Евросоюза и США донорство органов при контролируемом наступлении смерти у обреченных пациентов от асистолии [19, 20]. «Медицинским алиби» для трансплантологов здесь служит широко обсуждаемая сегодня практика прижизненного волеизъявления [21], которая неоднозначно может «читаться» с этической точки зрения. Более оправданным является интерес к использованию для трансплантации таких органов, получение которых не вызывает вопросов об определении момента смерти человека. Таковыми являются органы, полученные от доноров с необратимой остановкой кровообращения. Непреодолимым же препятствием для их использования до последнего времени являлось неизбежное ишемическое повреждение, отчего такие трансплантаты относят к «полученным от доноров с расширенными критериями» (ДРК) [22–27]. Внезапно умершие пациенты считались перспективным ресурсом трансплантации еще в 2006 году, по сообщению Института Медицины, США (Institute of Medicine, IOM), общее число таких доноров могло бы составить 22 000 [28].

Главными в патогенезе ишемически-реперфузионной травмы являются адгезивный каскад [29, 30] и активация системы комплемента [31] и лейкоцитов с последующим тромбообразованием [32] в системе микро- и макроциркуляторного русла органов, что делает их непригодными к повторному запуску кровотока в теле реципиен-

та. Использование устройств для экстракорпоральной гемоперфузии *in situ* с удалением лейкоцитов, тромболизисом и оксигенацией донорской крови достоверно позволяет восстанавливать и поддерживать жизнеспособность донорских органов от доноров с внезапной необратимой остановкой сердечной деятельности (АСД). В то же время, максимально быстрое восстановление кровотока с помощью перфузионного модуля в теле донора дает возможность полноценного использования данного донорского пула [33]. Усилия в этом направлении предпринимаются с 60-х годов прошлого столетия, они сводятся к попыткам обеспечить более близкие к физиологическим условия хранения органов, что достигалось при помощи проточной аппаратной гипотермической перфузии. Однако основным и решающим недостатком таких устройств выступает акцент именно на гипотермической перфузии, при которой происходит лишь понижение кислородного запроса и, соответственно, замедление метаболизма. Устройства для проведения аппаратной перфузии целого региона в теле донора *in situ* или изолированных донорских органов *ex vivo* применяются сейчас в основном для продления сроков хранения трансплантатов, оценки их функционального состояния, механического воздействия на микроциркуляторное русло, проведения селекции органов на основе перфузионных характеристик [34].

Все больший интерес в мире вызывают программы нормотермической перфузии донорских органов, что является не совсем традиционным способом перфузии, так как основным ее принципом долгое время считалось понижение кислородного запроса тканей за счет их охлаждения [34]. В экспериментальных работах С. Fondevila приводятся аргументы в пользу нормотермической перфузии печеночных и почечных трансплантатов от доноров всех категорий. Искусственное кровообращение при температуре 37 °С, доставка кислорода в орган способствуют восстановлению функционального резерва трансплантатов и поддержанию в них уровня метаболизма, близкого к физиологическому [36, 37]. Нормотермическая перфузия изолированных почечных трансплантатов в сочетании с гипотермической рассматривается авторами из университета Лейстера как один из возможных способов реабилитации органов от доноров с расширенными критериями, применение которого позволит добиться снижения частоты развития отсроченной функции трансплантата сомнительного качества [38].

С появлением нормотермической перфузии до-

норских органов имеет смысл говорить об изменении термина, а вместе с ним и всей парадигмы современной трансплантации – на смену гипотермической перфузионной консервации органов приходит концепция восстановления, сохранения жизнеспособности органов, ремоделирования их свойств, вместо консервации зачастую поврежденного органа [33, 39, 40].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты нашего 5-летнего исследования показывают, что пересадка почек от асистолических доноров с критическим, до одного часа, временем тепловой ишемии могут успешно использоваться для трансплантации при условии применения перфузионного восстановления жизнеспособности донорских органов *in situ*, за счет тромболизиса и дистанционного удаления лейкоцитов и тромбов из циркуляторного русла. Иными словами, применение различных вариантов управляемой реперфузии донора может оказывать лечебное воздействие на донорские органы еще до их изъятия.

Требованием времени является разработка и внедрение в практику работы анестезиолога-реаниматолога портативных перфузионных устройств для экстренного восстановления кровообращения при внезапной остановке сердца и исчерпанности традиционных методов реанимации человека. В этом случае экстракорпоральные перфузионные методы управления кровообращением могут послужить «реанимации» донорских органов. Особое значение приобретают перфузионные технологии в контексте скорого принятия нового Закона о трансплантации, согласно которому необходимо будет соблюдать 2-часовой интервал после констатации смерти пациента для выяснения позиции близких умершего по отношению к процедуре эксплантации.

Реализация этого подхода может существенно расширить возможности использования органов от доноров с внезапной необратимой остановкой кровообращения и тем самым повысить доступность трансплантологической помощи.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Готье СВ, Хомяков СМ. Оценка потребности населения в трансплантации органов, донорского ресурса и планирование эффективной сети центров трансплантации. *Вестн трансплантол и искусственных органов* 2013; 3: 11-24 [Got'ye SV, Khomyakov SM. Otsenka potrebnosti naseleniya v transplantatsii organov, donorskogo resursa i planirovanie effektivnoy seti tsentrov transplantatsii. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov* 2013; 3: 11-24]

2. Готье СВ, Мойсюк ЯГ, Хомяков СМ. Донорство и

- трансплантация органов в Российской Федерации в 2014 году VII сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестн трансплантол и искусственных органов* 2015;17(2):7-22. DOI:10.15825/1995-1191-2015-2-7-22 [Got'ye SV, Moysyuk YaG, Khomyakov SM. Donorstvo i transplantatsiya organov v Rossiyskoy Federatsii v 2014 godu VII soobshchenie registra rossiyskogo transplantologicheskogo obshchestva. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov* 2015;17(2):7-22. DOI:10.15825/1995-1191-2015-2-7-22]
3. Распоряжения Комитета здравоохранения Санкт-Петербурга № 672-р от 11.08.2014 г. «О совершенствовании организации органного донорства в Санкт-Петербурге» [Rasporyazheniya Komiteta Zdravookhraneniya Sankt-Peterburga № 672-r ot 11.08.14 g. «O sovershenstvovanii organizatsii organnogo donorstva v Sankt-Peterburge»].
4. Николаев ГВ, Гордеев МЛ, Карпенко МА и др. Организационные аспекты органного донорства в Санкт-Петербурге. *Вестн трансплантол и искусственных органов* 2015;17(2):134-138. DOI:10.15825/1995-1191-2015-2-134-138 [Nikolaev GV, Gordeev ML, Karpenko MA i dr. Organizatsionnye aspekty organnogo donorstva v Sankt-Peterburge. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2015;17(2):134-138. DOI:10.15825/1995-1191-2015-2-134-138]
5. Логинов ИВ. Анализ причин дефицита доноров органов и основные направления его преодоления: автореф. ... дис. канд. мед. наук. НИИТ и ИО. М, 2011, С. 27 [Loginov IV. Analiz prichin defitsita donorov organov i osnovnye napravleniya ego preodoleniya: avtoreferat dis. k-t med. nauk /I.V. Loginov; NIIT i IO. M, 2011. – S. 27]
6. Логинов ИВ, Кечаева НВ, Резник ОН. Значение организационных факторов в преодолении дефицита донорских органов. *Вестн трансплантол и искусственных органов*. 2011; 13(1): 100-107 [Loginov IV, Kechaeva NV, Reznik ON. Znachenie organizatsionnykh faktorov v preodolenii defitsita donorskiikh organov. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov* 2011; 13(1): 100-107]
7. <http://www.UNOS.org>, доступ 16.03.2016
8. <http://www.eurotransplant.org/>, доступ 16.03.2016
9. Баженов СФ, Логинов ИВ, Резник ОН. Причины дефицита донорских органов и пути его преодоления. *Мед академ журн* 2011; 4 (11): 13-25 [Bagnenko SF, Loginov IV, Reznik ON. Prichiny defitsita donorskiikh organov i puti ego preodoleniya. *Meditsinskiy akademicheskii zhurnal* 2011; 4 (11): 13-25]
10. Rozenthal R. Organ Donation: Quo vadis? / R. Rozenthal. *Annals of Transplantation* 2006; 11(3): 49-51
11. Hanto DW, Veatch RM. Uncontrolled donation after circulatory determination of death (UDCDD) and the definition of death. *Am J Transplant* 2011; 11(7): 1351–1352. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03583.x
12. Mone TD. The business of organ procurement. *Curr Opin in Organ Transplant* 2002; 7: 60-64
13. Durandy Y. Warm pediatric cardiac surgery: European experience. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2010; 18(4): 386–395. doi: 10.1177/0218492310376675
14. Fan Y, Zhang AM, Xiao YB. Warm versus cold cardioplegia for heart surgery: a meta-analysis. *Eur J Cardiothorac Surg* 2010; 37(4): 912–919. doi: 10.1016/j.ejcts.2009.09.030
15. Jacob S, Kallikourdis A, Sellke F. Is blood cardioplegia superior to crystalloid cardioplegia? *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2008; 7(3): 491–498. doi: 10.1510/icvts.2008.178343
16. Одинак ММ, Вознюк ИА, Янишевский СН и др. Острый церебральный тромбоз – реканализация за пределами окна тромболитической терапии. В: Дисфункция эндотелия. Патогенетическое значение и методы коррекции, ред. Н.Н. Петрищев; ВМедА, СПб., 2007; 121-139 [Odinak MM, Voznyuk IA, Yanishevskiy SN i dr. Ostryy tserebral'nyy tromboz – rekanalizatsiya za predelami okna tromboliticheskoy terapii / Disfunktsiya endoteliya. Patogeneticheskoe znachenie i metody korrektsii / Pod red. N.N. Petrishcheva. SPb.: VMedA, 2007, 121-139]
17. Одинак ММ, Вознюк ИА, Кузнецов АН и др. Возможности реопозитивной терапии при острой ишемии головного мозга. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция* 2003; 2 (1):21-27. [Odinak MM, Voznyuk IA, Kuznetsov AN i dr. Vozmozhnosti reopozitivnoy terapii pri ostroy ishemii golovnogo mozga // *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya* 2003; 2 (1): 21-27]
18. van Dijk G, Giezeman A, Ultee F et al. Organ donation after active euthanasia in a patient with a neurodegenerative disease. *Ned Tijdschr Geneesk* 2013;157(39): A6548. PMID: 24063672
19. Dominguez-Gil B., Delmonico F.L., Faissal A. M. Shaheen et al. The critical pathway for deceased donation: reportable uniformity in the approach to deceased donation. *Transplant International European Society for Organ Transplantation* 2011; 24: 373–378
20. Dominguez-Gil B, Haase-Kromwijk B, Van Leiden H. Current situation of donation after circulatory death in European countries. *Transpl Int* 2011; 24(7): 676–686. doi: 10.1111/j.1432-2277.2011.01257.x
21. Bramhall S. Presumed consent for organ donation: a case against. *Ann R Coll Surg Engl* 2011; 93(4): 270–272. doi: 10.1308/147870811X571136b
22. White SL, Leichtman AB, O'Connor K et al. Predictors of liver donation without kidney recovery in a cohort of expanded criteria donors: identifying opportunities to improve expanded criteria donor kidney utilization. *Transplant Proc* 2012; 44(7):2223-2226. doi: 10.1016/j.transproceed.2012.07.103
23. Sung RS, Christensen LL, Leichtman AB et al. Determinants of discard of expanded criteria donor kidneys: impact of biopsy and machine perfusion. *Am J Transplant* 2008; 8(4):783-792. doi: 10.1111/j.1600-6143.2008.02157.x. Epub 2008 Feb 19.
24. Manara AR, Murphy PG, O'Callaghan G. Donation after circulatory death. *Br J Anaesth* 2012; 108(1): 1108–1121. doi: 10.1093/bja/aer357
25. Garcia CE, Bramhall S, Mirza DF. Use of marginal donors. *Current Opinion in Organ Transplantation* 2000; 5: 50–56
26. Reznik ON, Bagnenko SF, Skvortsov AE et al. Rehabilitation of Ischemically Damaged Human Kidneys by Normothermic Extracorporeal Hemoperfusion In Situ With Oxygenation and Leukocyte Depletion. *Transplantation proceedings* 2010; 42 (5): 1536-1538
27. Reznik ON, Bagnenko SF, Skvortsov AE. Uncontrolled Donors with Controlled Reperfusion after Sixty Minutes of Asystole: A Novel Reliable Resource for Kidney Transplantation. *PLoS One* 2013; 8(5): e64209
28. James F.C, Catharyn T.L. Organ Donation: Opportunities for Action. Institute of Medicine (U.S.). Committee on Increasing Rates of Organ Donation. 2006.
29. Xu H, Wang D, Peng C et al. Rabbit sera containing compound danshen dripping pill attenuate leukocytes adhesion to TNF-alpha-activated human umbilical vein endothelial cells by suppressing endothelial ICAM-1 and VCAM-1 expression through NF-kappaB signaling pathway. *J Cardiovasc Pharmacol* 2014; 63(4):323-332. doi: 10.1097/FJC.0000000000000046.
30. Toledo-Pereyra LH. Leukocyte depletion, ischemic injury, and organ preservation. *J of Surg Research* 2011; 169(2): 188–189. doi: 10.1016/j.jss.2010.09.048
31. Wang X, Xiong M, Zeng Y et al. Mechanistic studies of a novel mycophenolic acid-glucosamine conjugate that attenuates renal ischemia/reperfusion injury in rat. *Mol Pharm* 2014; 11(10):3503-3514. doi: 10.1021/mp500282g
32. Duehrkop C, Rieben R. Ischemia/reperfusion injury: effect of simultaneous inhibition of plasma cascade systems versus specific complement inhibition. *Biochem Pharmacol* 2014; 88(1):12-22. doi: 10.1016/j.bcp.2013.12.013
33. Резник ОН, Скворцов АЕ, Резник АО. Теоретическое обоснование концепции реабилитации донорских органов. *Мед академ журн*;12(4): 25-41 [Reznik ON, Skvortsov AE, Reznik AO. Teoreticheskoe obosnovanie kontseptsii reabilitatsii donorskiikh organov. *Meditsinskiy akademicheskii zhurnal*; 12(4): 25-41]
34. Reznik ON, Bagnenko SF, Skvortsov AE et al. Rehabilitation of Ischemically Damaged Human Kidneys by Normothermic Extracorporeal Hemoperfusion In Situ With Oxygenation and Leukocyte Depletion. *Transplantation proceedings* 2010; 42 (5): 1536-1538
35. Vogel T, Brockmann JG, Friend PJ. Ex-vivo normothermic liver perfusion: an update. *Current Opinion in Organ Transplanta-*

tion 2010; 15(2): 167-172

36. Fondevila C, Hessheimer AJ, Garcia-Valdecasas JC. Extracorporeal machine liver perfusion: are we warming up? *Current Opinion in Organ Transplantation* 2012; 17(2): 143-147

37. Fondevila C, Garcia-Valdecasas JC. In-vivo normothermic recirculation: an update. *Current Opinion in Organ Transplantation* 2010; 15 (2): 173-176

38. Hosgood SA, Nicholson ML. Normothermic kidney preservation. *Current Opinion in Organ Transplantation* 2011; 16 (2): 169-173

39. Cypel M, Yeung J, Waddell T et al. Successful emergent lung transplantation after remote ex vivo perfusion optimization and transportation of donor lungs. *Am J Transplant* 2012; 12 (10):2838-2844

40. Баранова АВ, Резник ОН, Скоблов МЮ и др. Перспективы применения предтрансплантационной антисмысловой генной терапии донорских органов для подавления апоптоза при проведении нормотермической изолированной перфузии ex vivo. *Мед академ журн*; 12 (4): 79-84 [Baranova AV, Reznik ON, Skoblov MYu i dr. Perspektivy primeneniya predtransplantatsionnoy antismyslovooy gennoy terapii donorskikh organov dlya podavleniya apoptoza pri provedenii normotermicheskoy izolirovannoy perfuzii ex vivo. *Meditsinskiy akademicheskij zhurnal*; 12 (4): 79-84]

#### Сведения об авторах:

Скворцов Андрей Евгениевич, канд. мед. наук  
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, клиника научно-исследовательского института хирургии и неотложной медицины. Тел.: (812) 346-39-26, E-mail: skvortsov.spb@gmail.com

Andrey E. Skvortsov, PhD;  
197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st. 17, build. 54. The First Pavlov St. Petersburg State Medical University. Hospital Research Institute of Surgery and Emergency Medicine; Tel.: (812) 3463926, E-mail: skvortsov.spb@gmail.com

Логинов Игорь Валентинович, канд. мед. наук  
192242, Санкт-Петербург, Будапештская ул., д. 3, лит. А. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт им. И.И. Джанелидзе, Городской центр органного и тканевого донорства. Тел.: (812) 774-86-75, E-mail: loginiviv@gmail.com

Igor V. Loginov, PhD;  
192242, St. Petersburg, Budapeshstskaya st., build 3, Lit. A; Janelidze St. Petersburg Research Institute. St. Petersburg Organ procurement center; Tel.: (812) 774-86-75, E-mail: loginiviv@gmail.com

Кукушкин Андрей Александрович  
192242, Санкт-Петербург, Будапештская ул., д. 3, лит. А. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт им. И.И. Джанелидзе, Городской центр органного и тканевого донорства. Тел.: (812) 774-86-75, E-mail: andreikuku@yandex.ru

Andrey A. Kukushkin,  
192242, St. Petersburg, Budapeshstskaya st., build 3, Lit. A Janelidze St. Petersburg Research Institute. St. Petersburg Organ procurement center, Tel.: (812) 774-86-75, E-mail: andreikuku@yandex.ru

Ананьев Алексей Николаевич, канд. мед. наук  
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный

медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, клиника научно-исследовательского института хирургии и неотложной медицины. Тел.: (812) 346-39-26, E-mail: alananiev@yandex.ru

Alexey N. Ananiev, PhD;  
197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st. 17, build. 54. The First Pavlov St. Petersburg State Medical University. Hospital Research Institute of Surgery and Emergency Medicine; Tel.: (812) 3463926, E-mail: alananiev@yandex.ru

Кутенков Алексей Анатольевич  
192242, Санкт-Петербург, Будапештская ул., д. 3, лит. А. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт им. И.И. Джанелидзе, Городской центр органного и тканевого донорства. Тел.: (812) 774-86-75, E-mail: alexqut@gmail.com

Alexey A. Kutenkov  
192242, St. Petersburg, Budapeshstskaya st., build 3, Lit. A Janelidze St. Petersburg Research Institute. St. Petersburg Organ procurement center; Tel.: (812) 774-86-75, E-mail: alexqut@gmail.com

Кузьмин Денис Олегович  
192242, Санкт-Петербург, Будапештская ул., д. 3, лит. А. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт им. И.И. Джанелидзе, Городской центр органного и тканевого донорства. Тел.: (812) 774-86-75, E-mail: saintdeni@gmail.com

Denis O. Kuzmin  
192242, St. Petersburg, Budapeshstskaya st., Lit. A Janelidze St. Petersburg Research Institute. St. Petersburg Organ procurement center, Tel.: (812) 774-86-75, E-mail: saintdeni@gmail.com

Дайнеко Василий Сергеевич  
192242, Санкт-Петербург, Будапештская ул., д. 3, лит. А. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт им. И.И. Джанелидзе, Городской центр органного и тканевого донорства. Тел.: (812) 774-86-75, E-mail: dvisis@rambler.ru

Vasily S. Dayneko  
192242, St. Petersburg, Budapeshstskaya st., build 3, Lit. A Janelidze St. Petersburg Research Institute. St. Petersburg Organ procurement center, Tel.: (812) 774-86-75, Email: dvisis@rambler.ru

Ульянкина Ирина Владимировна  
192242, Санкт-Петербург, Будапештская ул., д. 3, лит. А. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт им. И.И. Джанелидзе, Городской центр органного и тканевого донорства. Тел.: (812) 774-86-75, E-mail: irina-yl@mail.ru

Iryana V. Irina  
192242, St. Petersburg, Budapest Str., Building 3, Lit. A St. Petersburg Research Institute. Janelidze, town center of organ and tissue donation, Tel.: (812) 774-86-75, E-mail: irina-yl@mail.ru

Шиганов Михаил Юрьевич, канд. мед. наук  
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, кафедра анестезиологии и реаниматологии. Тел.: (812) 346-39-26, E-mail: orlanmaa@rambler.ru

Mikhail Y. Shiganov, PhD;  
197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st. 17, build. 54. The First Pavlov St. Petersburg State Medical University. Hospital Research Institute of Surgery and Emergency Medicine; Tel.: (812) 3463926, E-mail: orlanmaa@rambler.ru

Резник Олег Николаевич, д.м.н.  
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17,  
корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный  
медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, клиника  
научно-исследовательского института хирургии и неотложной  
медицины. Тел.: (812) 346-39-26, E-mail: onreznik@gmail.com  
Prof. Oleg N. Reznik, MD, PhD;  
197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st. 17, build. 54. The  
First Pavlov St. Petersburg State Medical University. Hospital

Research Institute of Surgery and Emergency Medicine; Tel.:  
(812) 3463926, E-mail: onreznik@gmail.com

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта  
интересов.*

Поступила в редакцию: 25.05.2016 г.

Принята в печать: 12.09.2016 г.

© Л.И.Аниконова, В.Ю.Ряснянский, Е.Ю.Макарьева, О.А.Воробьева, 2016  
УДК 616.611 – 002 – 004 + 616.1 – 036.12

*Л.И. Аниконова<sup>1</sup>, В.Ю. Ряснянский<sup>1</sup>, Е.Ю. Макарьева<sup>1</sup>, О.А. Воробьева<sup>2</sup>*

## ФОКАЛЬНО-СЕГМЕНТАРНЫЙ ГЛОМЕРУЛОСКЛЕРОЗ, АССОЦИИРОВАННЫЙ С ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ И ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

<sup>1</sup>Кафедра внутренних болезней и нефрологии, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова, Россия; <sup>2</sup>Национальный центр клинической морфологической диагностики, Санкт-Петербург, Россия

*L.I. Anikonova<sup>1</sup>, V.U. Ryasnyanskiy<sup>1</sup>, E.U. Makarjyeva<sup>1</sup>, O.A. Vorobjyeva<sup>2</sup>*

## FOCAL SEGMENTAL GLOMERULOSCLEROSIS ASSOCIATED WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKAEMIA: CASE REPORT AND LITERATURE REVIEW

<sup>1</sup>Department of internal diseases and nephrology Mechnikov North-West State Medical University, Russia; <sup>2</sup> National centre of clinicomorphologic diagnostics, Saint-Petersburg, Russia

### РЕФЕРАТ

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – самый частый вид лейкозов в Западной Европе. Несмотря на относительную частоту этого вида лейкоза, публикации о поражении почек при ХЛЛ встречаются редко. Нефробиопсии рутинно не выполняются этим больным при появлении нефротического синдрома или неясной почечной недостаточности, в результате о механизмах почечного поражения при ХЛЛ известно мало. К настоящему времени в литературе описано всего около 130 случаев гломерулярных и интерстициальных поражений почек при ХЛЛ, подтвержденных результатами нефробиопсий. Наиболее частой формой гломерулопатии, вызывающей нефротический синдром при ХЛЛ, является мембранно-пролиферативный гломерулонефрит, реже встречаются болезнь минимальных изменений, мембранозная нефропатия; фокально-сегментарный гломерулосклероз (ФСГС) является редкостью, и к настоящему времени опубликовано 6 случаев ФСГС, ассоциированного с ХЛЛ. Мы представляем клинический случай, описывающий пациента, страдавшего ХЛЛ, у которого развился нефротический синдром, вызванный ФСГС, успешно леченный ритуксимабом, а также литературный обзор по паранеопластическим гломерулопатиям, ассоциированным с ХЛЛ, проявляющимся нефротическим синдромом.

**Ключевые слова:** нефротический синдром, хронический лимфолейкоз, паранеопластические гломерулопатии, фокально-сегментарный гломерулосклероз, ритуксимаб.

### ABSTRACT

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most frequent form of leukemia in Western Europe. Despite of high frequency of this type of leukemia, kidney involvement associated with CLL is rarely reported in the literature. Renal biopsies are not routinely performed in patients with CLL to evaluate unexplained renal insufficiency or nephrotic syndrome (NS). As a consequence, little is known about mechanisms causing renal abnormalities in CLL. Collectively, 130 cases of biopsy-proven glomerular or interstitial renal abnormalities due to CLL have been reported in the literature to date. The most common type of glomerulonephritis causing NS during CLL is membranoproliferative glomerulonephritis, less frequent causes include membranous nephropathy, minimal-change disease. Focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) is a rarity; we met only 6 observations of FSGS associated with CLL that have been published to date. We present a rare case of CLL-associated FSGS with clinical resolution of the NS after successful treatment with rituximab and literature review on various nephrotic glomerulonephropathies associated with CLL manifestative with NS.

**Key words:** nephrotic syndrome, chronic lymphocytic leukemia, paraneoplastic glomerulopathies, focal segmental glomerulosclerosis, rituximab.

### ВВЕДЕНИЕ

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – самый частый вид лейкозов в Западной Европе, диагноз которого устанавливается при выявлении более

$5 \times 10^9$ /л лимфоцитов в периферической крови и результатов иммунофенотипического исследования (клетки ХЛЛ экспрессируют антиген CD5 и В-клеточные маркеры CD19, CD20 и CD23) [1]. Медиана возраста пациентов на момент установления диагноза 65 лет; мужчины болеют чаще. Течение ХЛЛ переменное, около 40% пациентов имеют медленно-прогрессирующее течение, про-

Аниконова Л.И. 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский, д. 47. Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, кафедра внутренних болезней и нефрологии. Тел.: +7(921) 963-99-22; e-mail: anikonovaspb@mail.ru

должительность их жизни близка к общепопуляционной. В этой связи при ХЛЛ принята тактика выжидательного наблюдения до появления показаний к терапии [1].

Несмотря на относительную частоту этого вида лейкозов, публикаций о почечных поражениях при ХЛЛ мало. В 1957 г. Scott первым сообщил о связи нефротического синдрома (НС) с ХЛЛ. С конца 1960-х годов стали появляться статьи, описывающие различные морфологические формы нефропатий в ассоциации с ХЛЛ, проявляющихся НС или почечной дисфункцией. Однако общее количество представленных в литературе больных остается небольшим.

ХЛЛ, как и множественная миелома, относятся к В-клеточным лимфопрлиферативным заболеваниям. При множественной миеломе злокачественный клон В-лимфоцитов характеризуется пролиферацией плазматических клеток, которые продуцируют в повышенном количестве моноклональный иммуноглобулин (Mg) в виде свободных легких/тяжелых цепей или интактного Mg. Почки являются органом-мишенью при множественной миеломе, и при этой опухоли формы их поражения изучены достаточно хорошо и связаны или с закупоркой канальцев свободными легкими цепями (цилиндрическая нефропатия), или депонированием Mg в гломерулах (AL-/AN-/ALH-амилоидоз, Randel- и не-Randel-тип отложения Mg, иммунотактоидный гломерулонефрит и др.) [2]. При ХЛЛ и лимфоме из малых лимфоцитов (аналог ХЛЛ, отличается от ХЛЛ отсутствием лимфоцитоза в периферической крови) субстратом опухоли являются В-лимфоциты, которые не дифференцируются до плазматических клеток, и соответственно Mg не продуцируется или секретируется в небольших количествах. Как следствие, гломерулярные поражения при ХЛЛ возникают значительно реже, чем при множественной миеломе, причем спектр поражений при ХЛЛ более разнообразный, а пути патогенеза не всегда понятны, имея гипотетический характер.

В результате того, что НС сравнительно нечасто развивается при ХЛЛ и редкости выполнения нефробиопсий у этих больных, в литературе накопилось всего около 130 случаев поражений почек при ХЛЛ, доказанных биопсией, из которых приблизительно у 80 пациентов выявили клубочковые поражения, у остальных – интерстициальные [3, 4].

Наиболее частой формой паранеопластических гломерулопатий, ассоциированных с ХЛЛ, на светооптическом уровне является мембранно-пролиферативный гломерулонефрит (МБПГН), за

которым следуют болезнь минимальных изменений (БМИ), мембранозная нефропатия (МН), AL-амилоидоз. В литературе нам встретилось всего 6 случаев фокально-сегментарного гломерулосклероза (ФСГС) как причины НС при ХЛЛ [4–9].

Представляемый нами клинический случай описывает пациента, у которого через 6 лет после установления диагноза ХЛЛ развился тяжелый НС с острым повреждением почек, а по результатам нефробиопсии были диагностированы ФСГС и острые канальцевые повреждения. НС регрессировал до полной ремиссии, почечная функция восстановилась вслед за нормализацией числа лимфоцитов при лечении ритуксимабом.

Описываемый пациент обследовался и получал лечение в нефрологическом и гематологическом отделениях СЗГМУ им. И.И. Мечникова. Проанализированы опубликованные клинические случаи и обзоры, индексированные в PubMed как «нефротический синдром, ассоциированный с хроническим лимфолейкозом».

#### КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Мужчина, 51 год, поступил в нефрологическую клинику 22.09.2015 года с жалобами на появление и быстрое нарастание отеков с прибавкой массы тела в 15 кг в течение последних двух недель, одышку при незначительной физической нагрузке.

**История заболевания.** В марте 2009 г. при диспансеризации выявлен лейкоцитоз с абсолютным лимфоцитозом (лимфоцитов  $77 \times 10^9/\text{л}$ ), увеличение шейных, подмышечных, паховых лимфатических узлов. В ноябре 2009 г. обследован в гематологическом отделении, где диагностирован хронический лимфолейкоз II стадии по Rai. Диагноз был подтвержден результатами проточной цитофлюориметрии – иммунологический фенотип: CD5<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD23<sup>+</sup>, с коэкспрессией на части клеток CD22. Цитогенетическое исследование – 46XY, ПЦР-диагностика на 13q14, 17p13, 11q13, CEP12- патологии не выявила. В дальнейшем наблюдался гематологом по месту жительства. В период с марта 2009 г. по сентябрь 2015 г. в клинических анализах крови отмечались колебания лимфоцитов в диапазоне  $37\text{--}70 \times 10^9/\text{л}$ ; год тому назад было рекомендовано начало специфической терапии, однако от лечения пациент уклонялся. Сопутствующая патология: ИБС, постинфарктный кардиосклероз (не-Q-ИМ в 2002 г.), гипертоническая болезнь III стадии, степень II (диагностирована в 2002 г.).

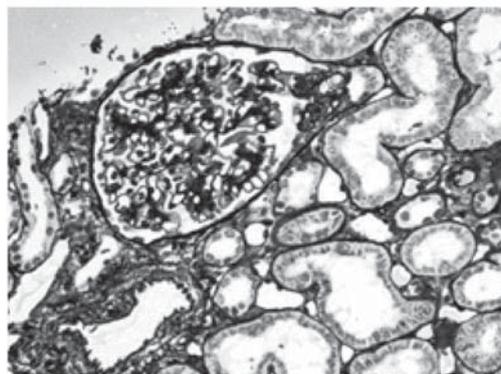
С 05.09.2015 г. отметил прогрессирующее нарастание описанных выше жалоб, выявлены изменения в анализах мочи, в связи с чем был госпитализирован. Постоянно принимает конкор 5 мг/сут, эналаприл 10 мг/сут, тромбo-ACC 100 мг/сут.

**Объективные данные.** Общее состояние средней тяжести. Рост – 185 см, масса тела – 101,7 кг. Периферические отеки степени анасарки. Множественные подчелюстные, шейные, подмышечные, паховые лимфатические узлы размером до 3–4 см. Пульс 84 уд/мин, АД

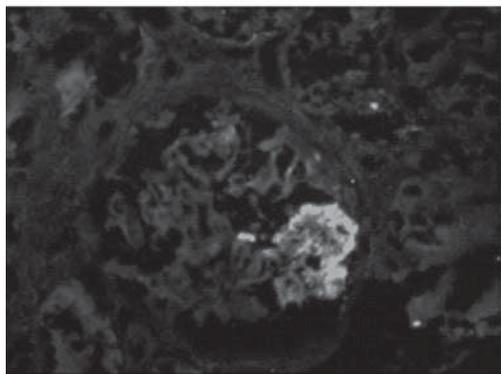
150/100 мм рт. ст. ЧД – 18 в 1 мин, при аускультации – жесткое дыхание. Ординаты печени по Курлову 16×12×10 см. В остальном без значительных отклонений от нормы.

**Лабораторные и инструментальные исследования.**

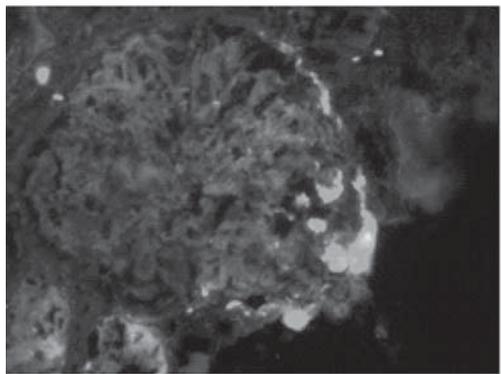
В клиническом анализе крови гемоглобин – 144 г/л, лейкоциты –  $108,3 \times 10^9$ /л, лимфоциты –  $84,4 \times 10^9$ /л, тромбоциты –  $243 \times 10^{12}$ /л, СОЭ – 20 мм/ч. Суточная потеря белка (СПБ) – 5,3 г; в осадке мочи – микрогематурия. В биохимическом анализе крови: общий белок – 47 г/л, альбумин – 22 г/л, креатинин – 108 мкмоль/л (рСКФ-ЕРІ – 69 мл/мин), общий холестерин – 9,8 ммоль/л, мочевая кислота – 525 мкмоль/л. УЗИ почек: размеры правой почки – 128×52 мм, левой – 130×54 мм; изменений экоструктуры почек и деформации чашечно-лоханочной системы не отмечено.



а



б



в

Рис. 1. Пациент, 51 год, диагноз ХЛЛ. а – световая микроскопия. Клубочек с сегментарным склерозом в тубулярном полюсе – «пенистые» клетки, инсудативные изменения, формирование синехии. Гломерулярная базальная мембрана без патологических изменений (импрегнация солями серебра по Джонсу. Ув. 200). б – иммунофлюоресцентная микроскопия. б – экспрессия IgM в участке сегментарного гломерулосклероза (IgM. Ув. 200); в – экспрессия C3 в участке сегментарного гломерулосклероза (C3. Ув. 200).

В течение ближайших 2–3 нед отмечалось прогрессирующее нарастание числа лейкоцитов с абсолютным лимфоцитозом, их максимальные значения составили  $162 \times 10^9$ /л и  $144,1 \times 10^9$ /л соответственно. Параллельно прогрессировали НС и почечная дисфункция – СПБ возросла до 32,9 г/24 ч; уровень креатинина – до 0,247 ммоль/л, альбумин крови снизился до 20 г/л. Пациент был обследован на титр антинейтрофильных цитоплазматических антител (АНЦА), наличие антител к гломерулярной базальной мембране (анти-ГБМ), АНФ, уровень комплемента С3, С4, которые были в пределах референтных значений; криоглобулины также не выявлены. Концентрация свободных легких цепей в сыворотке крови к-типа – в пределах нормы, λ- типа – 14,4 мкг/мл (при норме 2–10 мкг/мл), в моче – превышение нормы в два раза: к-тип – 19 мкг/мл, λ- тип – 8,5 мкг/мл (при норме 3–8 и 0,3–4,2 мкг/мл соответственно). Серологические маркеры HCV-/HIV-инфекции не выявлены. МСКТ грудной клетки, брюшной полости: картина внутригрудной, забрюшинной и тазовой лимфоденопатии (лимфатические узлы размером до 6,8 см); двусторонний гидроторакс (слой жидкости 22 мм). Вертикальный размер правой доли печени 164 мм; селезенка – 63×109×146 мм. Нефробиопсия была отложена из-за тяжести состояния больного.

В связи с признаками прогрессирования гематологического заболевания пациент переведен в гематологическое отделение, где при стерильной пункции отмечена субтотальная лимфоидная инфильтрация костного мозга (78,8%), преимущественно за счет зрелых лимфоидных элементов и единичных переходных форм (1,4%), с присутствием лимфоидных элементов макрогенерации (0,8%) с неправильными ядрами, сглаженной структурой хроматина, серо-голубой цитоплазмой. Данные миелограммы и периферической крови указывали на возможную лейкомизацию зрелой лимфоидной опухоли, однако результаты проведенной далее проточной цитофлюориметрии соответствовали диагнозу В-клеточного ХЛЛ/лимфоме из малых лимфоцитов. Суммарный фенотип клеток периферической крови: CD19<sup>+</sup> CD5<sup>+</sup> sKappa<sup>+</sup> CD23<sup>+</sup> CD200<sup>+</sup> CD22dim<sup>+</sup> CD20dim<sup>-/+</sup> CD79b<sup>-</sup> FMC7<sup>-/+</sup> CD38. 15.12.2015 г. пациенту сделана нефробиопсия (на фоне лечения).

**Биопсия почки.** Светооптическое исследование выполнено на парафиновых срезах с использованием следующих окрасок: гематоксилин-эозин, PAS-реакция, трихром по Массону, импрегнация солями серебра по Джонсу, конго красный. В материале нефробиопсии представлены корковый и мозговой слои ткани почки; 23 клубочка (СМ-10, ИФ-13), из них полностью склерозированы 3 (13%) клубочка (СМ-1, ИФ-2). Клубочки значительно увеличены; с одноконтурной капиллярной стенкой; с фокальным и сегментарным незначительным расширением мезангиального пространства за счет внеклеточного матрикса и его слабовыраженной гиперклеточности; без признаков эндокapиллярной гиперклеточности и формирования полулуний (рис. 1А).

Гломерулярные базальные мембраны визуально не утолщены; равномерно импрегнированы солями серебра. В тубулярном полюсе 5 (22%) клубочков (СМ-3, ИФ-2) – сегментарный склероз в промежуточной и поздней стадиях эволюции: умеренная гипертрофия подоцитов, «пенистые» клетки в просветах вовлеченных капилляров, инсудативные изменения и формирование сращений с капсулой клубочков (см. рис. 1). Цитоплазма эпителия канальцев крупнозернистая; мультифокальное острое повреждение эпителия канальцев в виде утраты щеточной каймы и частичного уплотнения клеток. В просветах канальцев мозгового слоя немногочисленные цилиндры, представленные патологическим белком. Диффузно-очаговая незначительная атрофия канальцев с утолщением и сморщиванием тубулярной базальной мембраны (20%). Диффузно-очаговый слабовыраженный интерстициальный фиброз (20%). Стенки артериол и артерий мелкого калибра значительно утолщены за счет выраженной гипертрофии мышечного слоя и неравномерных очаговых инсудативных изменений. Стенки артерий среднего калибра резко утолщены за счет тяжелого фиброза интимы.

Иммунофлюоресцентное исследование выполнено на криостатных срезах с использованием FITC-конъюгированных антител к человеческим IgA, IgG, IgM, C3, Clq, фибрину, легким цепям карра и lambda. В участках сегментарного гломерулосклероза — экспрессия IgM 3+ и C3 4+ (см. рис. 1б-в). В стенках артериол – диффузная субэндотелиальная экспрессия C3 3+.

**Заключение.** Гистологическая картина фокального сегментарного гломерулосклероза (22%), вариант «tip-lesion», с мультифокальным острым повреждением канальцев, незначительным тубулоинтерстициальным фиброзом (20%) и выраженным артериоло-артериосклерозом; полный склероз 13% клубочков. Признаков иммунокомплексного и парапротеинемического поражения в представленном материале нет.

**Окончательный диагноз:** паранеопластический фокально-сегментарный гломерулосклероз, вариант «tip-lesion». Нефротический синдром. Острый канальцевый некроз. ОПП С2 от 28.09.2015 г.

**Терапия и проспективное наблюдение.** Учитывая развитие тяжелого нефротического синдрома с нарастающим снижением почечной функции на фоне прогрессирования лимфопролиферативного заболевания, было принято решение о начале специфической терапии. С 15.10.2015 г. начата монотерапия ритуксимабом; всего в качестве ини-

циальной терапии пациент получил 5 введений ритуксимаба по 800 мг ( $375 \text{ мг/м}^2$ ): 4 из них с интервалами в неделю и последнее – 22.12.2015 г. С момента госпитализации назначены малосолевая диета, и-АПФ (принимает с 2002 г.), статины, петлевые диуретики (фуросемид). Сопутствующая терапия включала профилактический прием котримоксазола по 960 мг 2 раза в день через день, кардиотропные препараты.

На 2-й день после введения ритуксимаба лимфоцитоз упал в 3 раза (с 144,1 до  $52,3 \times 10^9/\text{мл}$ ). Спустя 2 нед общий лейкоцитоз составил  $10 \times 10^9/\text{мл}$ , число лимфоцитов –  $5,4 \times 10^9/\text{мл}$ , значения оставались практически такими же через месяц и моменту окончания инициальной терапии (лейкоцитоз –  $9,5 \times 10^9/\text{мл}$ , лимфоциты –  $5,2 \times 10^9/\text{мл}$ ). Динамика креатинина была более замедленной. На 2–3-й день после введения ритуксимаба отмечалось даже его нарастание с 0,247 до 0,332 ммоль/л, затем началось снижение, и спустя неделю уровень креатинина упал до 0,165 ммоль/л, а через месяц колебался в диапазоне 0,08 – 0,09 ммоль/л (рис. 2 а,б). Быстро наметился регресс отеочного синдрома. Спустя 2 нед масса тела снизилась на 10 кг, периферические отеки были минимальными. Тем не менее, у пациента сохранялась протеинурия нефротического уровня: через 2 нед СПБ была 25,6 г/сут, после окончания инициального курса лечения – 8,5 г/сут. В то же время, наметилась положительная динамика уровня альбумина, уровень которого после курса терапии был 26,8 г/л.

Пациент был выписан на амбулаторное лечение 28.12.2015 г. с рекомендациями продолжения поддерживающей терапии ритуксимабом 1 раз в 3 мес, соблюдения малосолевой диеты, приема и-АПФ, фуросемида (по потребности), сопутствующей терапии в прежнем объеме. В апреле 2016 г. выполнено плановое введение ритуксимаба (800 мг). Спустя 5 мес от начала лечения ритуксимабом отмечено снижение протеинурии до 1,8 г/24 ч с нормализацией концентрации альбумина сыворотки крови (38 г/л), общего холестерина (4,5 ммоль/л); лимфоциты периферической крови –  $3,96 \times 10^9/\text{мм}^3$ ; креатинин сыворотки – 0,09 ммоль/л (см. рис. 2 а-д). Пациент соблюдал прежние рекомендации. Через 8 мес от начала курса ритуксимаба получены следующие результаты: СПБ – 0,046 г/л, альбумин крови – 41 г/л, холестерин – 5,1 ммоль/л, креатинин крови – 0,11 ммоль/л (рСКФ-ЕРІ – 67 мл/мин). Диагностирована полная ремиссия НС, ХБП 2 стадии.

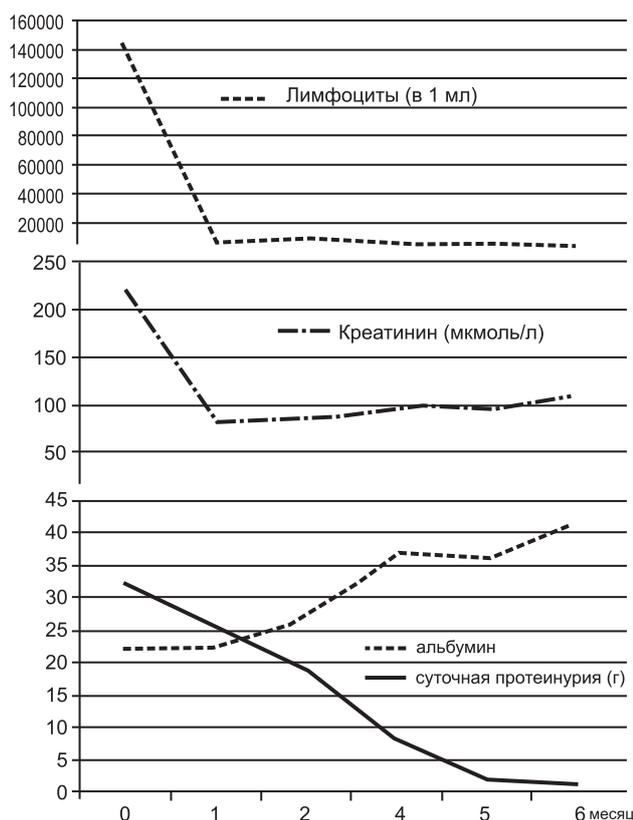


Рис. 2. Динамика показателей числа лимфоцитов (клеток/мл), креатинина (мкмоль/л), суточной потери белка (г/сут), альбумина (г/л) с начала курса ритуксимаба.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Понятие паранеопластической гломерулопатии было введено в 1922 г. J. Galloway, описавшим пациента с лимфомой Ходжкина, осложнившейся протеинурией. В современном понимании концепция паранеопластической гломерулопатии пришла от P.M.Ronco, отметившего, что манифестация паранеопластического синдрома не связана непосредственно с бурным ростом опухоли, инвазией или метастазами ее в почку, а вызывается секрецией опухолевыми клетками гормонов, факторов роста, цитокинов, опухолевого антигена [6]. Классическими критериями паранеопластической гломерулопатии считаются: 1) существование хронологической связи между диагнозом гломерулярного синдрома и опухоли; 2) параллельная эволюция опухоли и синдрома достигнутой специфической цитотоксической терапией; 3) существование патогенетической связи между гломерулопатией и опухолью (например, продукция опухолью Mlg, криоглобулинов, «фактора проницаемости») [6, 10, 31]. На практике до 50% случаев паранеопластического НС опережает проявления опухоли, нередко способствуя ее выявлению; не всегда отмечается параллелизм между рецидивами опухоли и почечным синдромом, также

не всегда удается установить молекулярную связь между опухолью и почечным поражением.

Длительное время публикации по почечным осложнениям ХЛЛ были представлены описанием единичных случаев. Первая самая большая серия, включившая 13 пациентов, была представлена В. Moulin и соавт. в 1992 году [7]. В 2015 г. было опубликовано исследование A.L. Poitou-Verkinder и соавт. из Франции и работа P.Strati и соавт. из клиники Мэйо, представивших серии из 15 и 49 пациентов соответственно [3, 4].

К настоящему моменту суммарно в литературе имеется описание около 130 пациентов с почечными поражениями, ассоциированными с ХЛЛ, которым выполнялась нефробиопсия в связи НС или неясной почечной дисфункцией. Из этих пациентов у 104 диагностированы гломерулярные поражения, а у 26 – тубулоинтерстициальные (лимфоидная инфильтрация без гломерулопатии, тубулоинтерстициальный нефрит).

В таблице суммированы случаи гломерулярных поражений, описанных в литературе как клинические случаи, серии или упомянутые в обзорах [3–9, 12–30].

Как следует из таблицы, пациенты с ХЛЛ являются гетерогенными по характеру почечного поражения. Из гломерулопатий наиболее часто встречается МБПГН (36%), за которым следует БМИ (16%) и мембранозная нефропатия (14%). Остальные случаи представлены другими формами пролиферативных гломерулонефритов, ФСГС,

Таблица

### Спектр гломерулярных поражений, ассоциированных с хроническим лимфолейкозом/лимфомой из малых лимфоцитов [3–9, 12–30]

Варианты гломерулопатий по результатам морфологического исследования	Количество пациентов, n (%)
Мембраннопролиферативный гломерулонефрит	37 (36)
Болезнь минимальных изменений	17 (16)
Мембранозная нефропатия	15 (14)
Фокально-сегментарный гломерулонефрит	7* (7)
Другие пролиферативные гломерулонефриты	12 (11)
Амилоидоз	11 (11)
Болезнь отложения моноклонального иммуноглобулина	3 (3)
Иммунотактоидный гломерулонефрит	8** (8)
Фибриллярный гломерулонефрит	4** (4)
Неклассифицируемые изменения	2 (2)
Всего	104 (100)

\*Вместе с описываемым пациентом; \*\*случаи, классифицированные до ультратруктурного исследования как другие морфологические формы гломерулонефритов.

AL-/АН-амилоидозом, болезнью отложения моноклонального иммуноглобулина (преимущественно легких цепей).

Связь гломерулопатии с ХЛЛ наиболее убедительно удается подтвердить, когда появляется В-клон, секретирующий криоглобулины (криоглобулинемия I или II типа) или некриопреципитирующий Mlg (интактный или фрагменты в виде свободных цепей). Повреждение клубочков может вызываться прямым депонированием Mlg (пролиферативный ГН с депозитами моноклонального IgG, иммунотактоидный ГН, AL-/АН-амилоидоз, болезнь депонирования Mlg), моноклонального криоглобулина (криоглобулинемический ГН) или другими, непрямыми путями (МБПГН без депозитов Mlg и криоглобулинов, опосредованный дисрегуляцией альтернативного пути комплемента).

Использование световой, иммунофлюоресцентной, электронной микроскопии и клинико-лабораторных показателей позволяет диагностировать следующие клинико-морфологические варианты МБПГН, ассоциированного с ХЛЛ: 1) криоглобулинемический ГН; 2) пролиферативный ГН с депозитами моноклонального иммуноглобулина IgG1; 3) иммунотактоидный ГН с моноклональными IgG-депозитами; 4) фибриллярный ГН, преимущественно с поликлональными IgG-депозитами; 5) С3-гломерулонефрит [3, 4, 6, 13, 15].

Следует отметить, что у пациентов с депозитами Mlg в клубочках (по результатам иммунофлюоресценции) Mlg в сыворотке (методом иммунофиксации) выявляется не у всех, но часто обнаруживается нарушенное соотношение свободных цепей к:λ.

Гломерулярные поражения, связанные с криоглобулинами, вызываются иммунными комплексами или присоединением моноклонального криоглобулина к местному или внешнему, осевшему ранее антигену *in situ*, с последующей активацией комплемента. Криоглобулинемический МБПГН имеет некоторые морфологические особенности: наличие внутрикапиллярных тромбов, состоящих из преципитатов криоглобулинов и имеющих вид микротрубчатых структур при электронной микроскопии; массивная инфильтрация клубочков макрофагами; васкулиты артерий мелкого и среднего калибра [29].

Иммунотактоидный ГН – редкая форма ГН, однако в ассоциации с ХЛЛ встречается значительно чаще (8%), более того – преимущественно при ХЛЛ [30]. Диагноз устанавливается при элек-

тронной микроскопии; ультраструктурным признаком являются организованные депозиты в виде микротрубочек (в отсутствие криоглобулинемии). Микротубулярные депозиты монотипные, их интенсивность связана с количеством Mlg, секретируемого В-клеточным клоном (Mlg при иммунофиксации выявляется в 63–86%). Аналогичные микротубулярные образования находят в аппарате Гольджи злокачественных лимфоцитов. В отличие от криоглобулинового МБПГН для иммунотактоидного ГН не характерны макрофагальная инфильтрация, тромбы и сосудистые повреждения [4, 30].

Дисфункцию Т-лимфоцитов рассматривают в качестве причины развития БМИ/ФСГС, которые находят у части больных с ХЛЛ в отсутствие криоглобулинов и Mlg. Патогенез БМИ и ФСГС часто обсуждается вместе, как вариантов подоцитопатии, и, как в случае первичной БМИ/ФСГС, до конца не понят. Основной является гипотеза, что НС при БМИ/ФСГС является результатом Т-клеточной дисфункции с последующей продукцией цитокинов, нарушающих проницаемость клубочкового фильтра, в первую очередь, поражающих подоциты. Множество молекул являются кандидатом на роль фактора проницаемости, вызывающих дисфункцию подоцитов, включая лимфокины.

БМИ/ФСГС ассоциируется преимущественно с опухолями, исходящими из В-клеток (94,4%), в 1-ю очередь, с лимфомой Ходжкина (встречается у 1% больных), поэтому внимание исследователей сфокусировалось на этой болезни. Было показано, что уровень интерлейкина-13 при лимфоме Ходжкина повышен в несколько раз [10, 32]. Также обнаружено, что C-maf – индуцирующий белок, препятствующий взаимодействию нефрина с тирозинкиназой *fun*, что приводит к дезорганизации цитоскелета и слиянию ножек подоцитов, избирательно повышается в подоцитах и в клетках Березовского–Рид–Штернберга (клетки В-клеточного происхождения, гистологический признак лимфомы Ходжкина) только тех больных лимфомой, у кого диагностирована БМИ/ФСГС [31, 32]. Отсутствие эффекта от стандартной терапии НС при лимфоме Ходжкина и быстрый результат после начала специфического лечения опухоли являются сильным аргументом в пользу того, что злокачественные клетки продуцируют токсический фактор. Нарушения в продукции цитокинов находят и при неходжкинских лимфомах, включая ХЛЛ, также осложняющихся БМИ/ФСГС. Может показаться странным, что БМИ и ФСГС встре-

чаются в основном при В-клеточных опухолях, хотя все больше данных в пользу дисфункции Т-клеток [23, 31]. Однако следует учитывать, что В-клетки играют важную роль как иммунорегуляторные клетки, тесно взаимодействуют с Т-клетками, антиген-представляющими клетками, сами участвуют в процессинге и презентации антигена, секретируют цитокины. Злокачественные В-клетки могут продуцировать свой профиль цитокинов, поэтому сочетанная дисфункция Т-клеток и В-клеток может рассматриваться как основной фактор в патогенезе БМИ/ФСГС при В-клеточных опухолях [23, 31].

В литературе описано 17 случаев БМИ и 7 случаев ФСГС (вместе с нашим пациентом) при ХЛЛ/лимфоме из малых лимфоцитов [3–9, 11–15, 23, 33]. Низкая встречаемость ФСГС, по сравнению с БМИ, может быть связана с гиподиагностикой ФСГС, особенно если биопсия выполняется на ранних стадиях болезни. НС может предшествовать (за 3 мес) диагностике опухоли, появляться одновременно (50%) или в течении ХЛЛ.

В нашем случае тяжелый НС (протеинурия до 32 г/сут, альбумин 20 г/л, холестерин 9,8 ммоль/л, резистентные отеки степени анасарки) развился через 6 лет после диагноза ХЛЛ, на фоне прогрессирования опухоли. Нефробиопсия выявила ФСГС со склерозом 13% клубочков на фоне сосудистых изменений. Электронная микроскопия не выполнялась, так как при иммунофлюоресценции не было обнаружено депозитов Ig.

У пациента была получена полная ремиссия НС на фоне лечения ритуксимабом. Ритуксимаб – химерное моноклональное антитело, специфически связывающееся с CD20 на В-лимфоцитах, с доказанной эффективностью при ХЛЛ. Связывание ритуксимаба с CD20 на В-лимфоцитах вызывает лизис В-клеток. В литературе имеется описание клинических случаев эффективности ритуксимаба при резистентном ФСГС. Однако столь быстрый эффект терапии, направленной на В-клетки, полученный у нашего пациента, дает основание считать, что произошло восстановление функции подоцитов, поскольку прекратилась продукция злокачественными клетками нефротоксического циркулирующего цитокина.

Мембранозная нефропатия встречается при ХЛЛ/лимфоме из малых лимфоцитов в 15–19% случаев среди других гломерулопатий [7–9, 15–22, 34]. Паранеопластическая МН типично ассоциируется с солидными опухолями [10]. Следующие механизмы могут участвовать в развитии МН: 1) образование иммунных комплексов (ИК) *in*

*situ*, когда антитела образуются против опухолевого антигена (например ПСА), локализованного в субэпителиальном пространстве, или против подоцитарного антигена, идентичного или схожего с опухолевым; 2) способность опухолевых антигенов формировать циркулирующие ИК, оседающие затем в клубочках; 3) воздействие внешних факторов или нарушение иммунной функции, вызывающие параллельно опухоль и ГН [10, 31].

Эти же механизмы могут учитываться при МН, ассоциированной с ХЛЛ. Кроме того, развитию МН в этом случае могут способствовать усиление аутоиммунитета вследствие Т-клеточной дисрегуляции, гиперглобулинемия, цитокин-обусловленное повышение клубочковой проницаемости [34].

У части пациентов светооптически находят атипичную форму мембранозной нефропатии, а при ультраструктурном анализе – субэпителиальные депозиты, организованные в микротрубочки, или в других случаях – фибриллярные депозиты, соответствующие критериям иммунотактоидного или фибриллярного ГН [6, 7].

AL-/AN--амилоидоз встречается при ХЛЛ реже, чем можно было бы ожидать, учитывая, что до 35% больных ХЛЛ имеют нарушенное соотношение свободных легких цепей. Теоретическим объяснением может быть то, что количество свободных цепей обычно умеренное, и клон В-клеток при ХЛЛ чаще продуцирует kappa-цепи, которые менее амилоидогенные, чем lambda [25, 26]. Реже почечная патология проявляется признаками, характерными для болезни отложения Mlg (MIDD) или Randell-типа отложения Mlg [4, 7].

Острое повреждение почек (ОПП) – нередкое осложнение при ХЛЛ, встречается в 7,5% на момент диагноза и еще в 16,2% в течение болезни [35]. Патогенез ОПП может быть различным. Причиной, непосредственно связанной с ХЛЛ, является инфильтрация паренхимы опухолевыми лимфоцитами, которая при обычном морфологическом исследовании имеет много общего с острым тубулоинтерстициальным нефритом (ОТИН) [4]. В пользу опухолевого инфильтрата свидетельствуют большие скопления малых, мономорфных лимфоцитов; диагноз подтверждается или исключается при иммуногистохимическом окрашивании на CD3, CD20, CD5 и CD23. Опухолевая инфильтрация в 44–90% случаев выявляется на аутопсии, однако при жизни чаще бессимптомна. Несмотря на то, что показаниями для нефробиопсии у описываемых больных с ХЛЛ, как уже отмечалось, были НС или неясная ОПП, в

литературе имеются менее двух десятков случаев, когда инфильтрация являлась главной причиной почечной патологии [3]. Другие потенциальные причины ОПП – контраст-индуцированная нефропатия (КИН); синдром лизиса опухоли, токсичность химиопрепаратов, обструкция мочеточников увеличенными лимфатическими узлами.

В нашем случае у пациента в период максимальной протеинурии (32 г/24 ч) отмечена ОПП II стадии (AKIN). Исследование нефробиоптата (биопсия, выполненная после восстановления почечной функции на фоне лечения ритуксимабом, но сохраняющимся НС), помимо ФСГС, показало наличие слабовыраженного диффузно-очагового интерстициального фиброза на фоне значительно утолщенных стенок артериол, артерий мелкого калибра и среднего калибра, что согласуется с диагнозом гипертонической болезни, а также признаки мультифокального острого повреждения канальцев в виде утраты эпителием щеточной каймы и частичного уплощения клеток, генез которого остался не вполне ясным. Предположительно острое повреждение эпителия канальцев могло быть вызвано массивной протеинурией в сочетании с редукцией кровотока (артериоло- и артериосклероз), что присутствовало у нашего пациента и с чем мы на практике нередко встречаемся. С другой стороны – повреждения могли быть спровоцированы ишемией почки, поскольку у пациента с предсуществующей редукцией кровотока нельзя исключить дополнительный фактор гиповолемии в период тяжелого и резистентного к диуретикам отека. Далее пациенту выполнялась МСКТ брюшной полости и грудной клетки с введением рентгеноконтрастного препарата (профилактика КИН проводилась в виде инфузии физраствора до и после исследования, приема ацетилцистеина), что, безусловно, могло быть причиной ОПП.

Стандартом терапии ХЛЛ у относительно молодых пациентов с хорошим соматическим статусом является режим FCR (флударабин, циклофосфан, ритуксимаб), который является наиболее эффективным, однако флударабин может оказывать выраженное иммуносупрессивное действие. Препарат на 40–60 % выводится почками, поэтому при снижении скорости клубочковой фильтрации противопоказан из-за усиления токсичности; оптимальным выбором терапии в таких случаях является схема BR (бендамустин + ритуксимаб). Для лиц преклонного возраста первой линией терапии является хлорамбуцил; используют также более эффективные без усиления токсичности

схемы Chl-R (хлорамбуцил + ритуксимаб) или FCR-Lite. По показаниям назначаются другие, основанные на ритуксимабе, режимы: R-HDMP (ритуксимаб + высокие дозы метиопреднизолона), R-CD (ритуксимаб, циклофосфан, дексаметазон/преднизолон), R-CD с добавлением винкристина и т.д.

По данным литературы, при МБПГН эффективными (с параллельной гематологической ремиссией и резольцией НС) были режимы, содержащие алкилирующие препараты: R-CD ( $\pm$  винкристина), монотерапия хлорамбуцилом или хлорамбуцил + стероиды, Chl-R. Также отмечено, что при монотерапии ритуксимабом или сочетании ритуксимаба с кортикостероидами эффект наблюдался у меньшей части пациентов [3, 4, 7]. Всем пациентам назначались малосолевая диета, диуретики, и-АПФ.

У больных с ХЛЛ с БМИ использовались разные схемы лечения: ритуксимаб + преднизолон, монотерапия в виде обинтузумаба (гуманизованное моноклональное антитело к SD20) или хлорамбуцила, ритуксимаба, преднизолона [3, 4, 23]. Ремиссии НС были получены у всех больных, однако при монотерапии преднизолоном чаще, чем при специфической и комбинированной терапии, развивались рецидивы (77,8 и 25% соответственно) [23].

Полная ремиссия ФСГС, согласно предыдущим наблюдениям, отмечалась при комбинированной терапии по схеме FCR [5]. В нашем случае резольция НС была получена при монотерапии ритуксимабом через 8 мес от начала лечения, на фоне нормализации числа лимфоцитов.

При лечении мембранозной нефропатии, ассоциированной с ХЛЛ, отмечено, что наиболее активным препаратом был флударабин, который в настоящее время рекомендован как препарат первой линии при этом заболевании [34].

В целом, единичные наблюдения и анализ всех опубликованных случаев свидетельствуют, что агрессивная химиотерапия является наиболее эффективной, чтобы индуцировать полную и продолжительную ремиссию НС, связанную с ХЛЛ [3–5, 7, 10, 21, 23, 34].

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Для ХЛЛ характерен широкий спектр почечных поражений, и ФСГС – редкая форма гломерулопатии, ассоциируемая с этим видом опухоли. Развитие ФСГС при ХЛЛ не является случайностью, учитывая появление НС на фоне прогрессирования ХЛЛ. Параллельная регрессия опухоли

и НС на фоне терапии ритуксимабом, направленной на злокачественные клетки, является косвенным, но убедительным аргументом в пользу того, что секреция токсического фактора опухолевыми клетками может быть причиной дисфункции и повреждения подоцитов, а прекращение синтеза лимфокинов под действием препарата приводит к восстановлению функции подоцитов.

Нефробиопсия предоставляет важную информацию, особенно в случаях почечной патологии, протекающих с НС или ОПП, позволяющую исключить у больных с ХЛЛ потенциально токсическую и обычно неэффективную в этих случаях стандартную терапию гломерулонефритов и с учетом накопленного межнационального опыта провести в содружестве с гематологами специфическое лечение с оптимальным результатом.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. Под руководством проф. ИВ Поддубной, проф. ВГ Савченко. Медиа Медика, М., 2013; 108-118 [Rossii'skie klinicheskie rekomendacii po diagnostike i lecheniiu limfoproliferativny'kh zabolovanii'. Pod rukovodstvom prof. IV Poddubnoi', prof. VG Savchenko. M.: Media Medika, 2013; 108-118]
2. Радченко ВГ, Аниконова ЛИ, Полякова ВВ. Поражение почек при множественной миеломе и моноклональных гаммапатиях почечного значения (научный обзор). *Профилактическая и клин мед* 2014; 4 (53): 97-106 [Radchenko VG, Anikonova LI, Poliakova VV. Porazhenie почек pri mnozhestvennoi' mielome i monoclonal'ny'kh gammapatiiakh pochechnogo znachenii (nauchny'i' obzor). *Profilakticheskaia i klinicheskaia medicina* 2014; 4 (53): 97-106]
3. Strati P, Nasr SH, Leung N et al. Renal complications in chronic lymphocytic leukemia and monoclonal B-cell lymphocytosis: the Mayo Clinic experience. *Haematologica* 2015; 100(9). doi:10.3324/haematol.2015.128793
4. Poitou-Verkinder AL, Francois A, Drieux F et al. The spectrum of kidney pathology in B-cell chronic lymphocytic leukemia / small lymphocytic lymphoma: a 25-year multicenter experience. *PLoS One* 2015; 10 (3): e0119156. doi:10.1371/journal.pone.0119156
5. Arampatzis S, Giannakoulas N, Liakopoulos V et al. Simultaneous clinical resolution of focal segmental glomerulosclerosis associated with chronic lymphocytic leukaemia treated with fludarabine, cyclophosphamide and rituximab. *BMC Nephrol* 2011; 12:33
6. Ronco PM. Nephrology Forum: Paraneoplastic glomerulopathies: new insights into an old entity. *Kidney Int* 1999; 56: 355-377
7. Moulin B, Ronco PM, Mougenot B et al. Glomerulonephritis in chronic lymphocytic leukemia and related B-cell lymphoma. *Kidney Int* 1992; 42:127-135
8. Kowalewska J, Nicosia RF, Smith KD et al. Patterns of glomerular injury in kidneys infiltrated by lymphoplasmacytic neoplasms. *Hum Pathol* 2011; 42(6):896-903. doi: 10.1016/j.humpath.2010.09.009
9. Da'as N, Polliack A, Cohen Y et al. Kidney involvement and renal manifestations in non-Hodgkin's lymphoma and lymphocytic leukemia: a retrospective study in 700 patients. *Eur J Hematol* 2001; 67:158-164
10. Latcha S, Sechan SV. Paraneoplastic Glomerulopathy. In: Finkel KW, Howard SC, eds. *Renal Disease in Cancer Patients*, 1<sup>st</sup> ed. Academic Press, New York, 2013; 209-249
11. Eagen JW, Lewis EJ. Glomerulopathies of neoplasia. *Kidney Int* 1977; 11:297-306
12. Alpers CE, Cotran RS. Neoplasia and glomerular injury. *Kidney Int* 1986; 30:465-473
13. Moulin B, Chantrel F, Petitjean P et al. Chronic lymphoproliferative disorders and glomerular diseases: Review of the literature and pathophysiologic considerations. *J Nephrol* 1995; 8:20-26
14. Seney FD, Federgreen WR, Stein H et al. A review of nephrotic syndrome associated with chronic lymphocytic leukemia. *Arch Intern Med* 1986; 146:137-141
15. Touchard G, Preud'homme JL, Aucouturier P et al. Nephrotic syndrome associated with chronic lymphocytic leukemia: An immunological and pathological study. *Clin Nephrol* 1989; 31:107-116
16. Cameron S, Ogg CS. Nephrotic syndrome in chronic lymphatic leukaemia. *Br Med J* 1974; 4:164
17. Ziakas PD, Giannouli S, Psimenou E et al. Membranous glomerulonephritis in chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol* 2004; 76(3):271-274
18. Row PG, Cameron JS, Turner DR et al. Membranous nephropathy. Long-term follow up and association with neoplasia. *Q J Med* 1975; 44:207-239
19. White CA, Dillman RO, Royston I. Membranous nephropathy associated with an unusual phenotype of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 1983; 52:2253-2255
20. Eisterer W, Neyer U, Hilbe W, et al. Effect of cyclosporin A in a patient with refractory nephrotic syndrome associated with B chronic lymphocytic leukemia. *Nephron* 1996; 72: 468-471
21. Butty H, Asfoura J, Cortese F et al. Chronic lymphocytic leukemia-associated membranous glomerulopathy: remission with fludarabine. *Am J Kidney Dis* 1999; 33:E8
22. Abdel-Raheem MM, Jamil MG, Potti A et al. Fludarabine therapy in chronic lymphocytic leukemia associated severe nephrotic syndrome. *Hematologica* 2000; 85(11): 1224-1225
23. Kofman T, Zhang SY, Copie-Bergman C et al. Minimal Change Nephrotic Syndrome Associated With Non-Hodgkin Lymphoid Disorders. *Medicine* 2014;93:350-358 DOI: 10.1097/MD.0000000000000206
24. Dabbs DJ, Striker LM, Mignon F et al. Glomerular lesions in lymphomas and leukemias. *Am J Med* 1986; 80:63-70. PMID: 3510541
25. Sanchorawala V, Blanchard E, Seldin DC et al. AL amyloidosis associated with B-cell lymphoproliferative disorders: frequency and treatment outcomes. *Am J Hematol* 2006; 81:692-695. PMID: 16795060
26. Dou X, Hu H, Ju Y et al. Systemic amyloidosis associated with chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. *Am J Hematol* 2013; 88: 375-378. doi: 10.1186/1746-1596-6-99
27. Sethi S, Fervenza FC, Zhang YZ et al. Proliferative Glomerulonephritis secondary to dysfunction of the alternative pathway of complement. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6(5):1009-1017
28. Barbour SJ, Beaulieu MC, Zalunardo NY et al. Proliferative glomerulonephritis with monoclonal IgG deposits secondary to chronic lymphocytic leukemia. Report of two cases. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26(8):2712-2714
29. Козловская ЛВ, Гордовская НБ, Коротчаева ЮВ. Гломерулонефрит при HBV-, HCV-инфекциях, включая гломерулонефрит при криоглобулинемическом васкулите. В: Шилов ЕМ, Смирнов АВ, Козловская ЛВ. *Нефрология. ГЭОТАР-Медиа, М., 2016* [Kozlovskaja LV, Gordovskaia NB, Korotchaeva IUV. Glomerulonefrit pri HBV-, HCV-infekciiakh, vcluchaia glomerulonefrit pri krioglobulinemicheskom vaskulite. V: Shilov EM, Smirnov AV, Kozlovskaja NL. *Nefrologiia. GE'OTAR-Media, M., 2016*]
30. Leung N, Nasr S. Myeloma-related Kidney Disease. *Advances in Chronic Kidney Disease* 2014; 2(1): 36-41
31. Jhaveri KD, Shah HH, Patel C et al. Glomerular Diseases Associated With Cancer, Chemotherapy, and Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Advances in Chronic Kidney Disease* 2014; 21(1):48-55. doi.org/10.1053/j.ackd.2013.08.003
32. Kuppers R, Schwering I, Brauning A et al. Biology of Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2002; 13 (suppl 1):11-18

33. Dabbs DJ, Striker LM, Mignon F et al. Glomerular lesions in lymphomas and leukemias. *Am J Med* 1986; 80:63–70

34. Rocca AR, Giannakakis C, Serriello I et al. Fludarabine in Chronic Lymphocytic Leukemia with Membranous Nephropathy. *Renal Failure* 2013; 35(2): 282–285

35. Shanafelt TD, Rabe KG, Hanson CA, et al. Renal disease in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Blood* 2013; 122(21):abstr.

**Сведения об авторах:**

Аниконова Людмила Ивановна, к.м.н., доцент  
195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47. Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, кафедра внутренних болезней и нефрологии. Тел.: +7(921) 963-99-22; e-mail: anikonovasp@mail.ru

Associate prof. Liudmila I. Anikonova MD PhD  
Affiliations: 195067, Russia, St. Petersburg, Piskarevskij prospect, 47 North-western State Medical University named after I.I.Mechnikov department of internal diseases and nephrology. Phone +7(921) 963-99-22; E-mail: anikonovasp@mail.ru

Рясянский Владимир Юрьевич, к.м.н., доцент  
195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47. Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, кафедра внутренних болезней и нефрологии. Тел.: (921) 908-42-47; e-mail: ryasn2006@rambler.ru

Associate prof. Vladimir Iu. Ryasnyanskiy MD, PhD  
Affiliations: 195067, Russia, St. Petersburg, Piskarevskij prospect, 47 North-western State Medical University named after I.I.Mechnikov department of internal diseases and nephrology. Phone +7(921) 908-42-47; E-mail: ryasn2006@rambler.ru

Воробьева Ольга Алексеевна, к.м.н.

192283, Санкт-Петербург, ул. Олеко Дундича, д. 8, корп. 2. ООО «Национальный центр клинической морфологической диагностики», нефропатолог. Тел.: (812) 244-02-50; e-mail: olgavor1970@yahoo.com

Olga A. Vorobyeva MD PhD

Affiliations 192283, Russia St. Petersburg Oleko Dundich str. 8 cor. 2 National center of clinical and morphological diagnostics. Phone (812) 244-02-50; E-mail: olgavor1970@yahoo.com

Макарьева Екатерина Юрьевна

195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47. Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, больничный ординатор отделения диализа № 2 кафедры внутренних болезней и нефрологии. Тел.: +7 (952) 269-10-44

Ekaterina U. Makaryeva MD

Affiliations 195067, Russia, St. Petersburg, Piskarevskij prospect, 47 North-western State Medical University named after I.I.Mechnikov department of internal diseases and nephrology division of dialysis №2 Phone +7 (952) 269-10-44

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

Поступила в редакцию: 30.04.2016 г.

Принята в печать: 12.09.2016 г.

© Е.И.Прокопенко, А.В.Ватазин, Е.О.Щербакова, 2016  
УДК [616.61-008.64-036.11+616.1]:616.61-089.843

*Е.И. Прокопенко, А.В. Ватазин, Е.О. Щербакова*

## ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПОЧКИ У ПАЦИЕНТОВ С АТИПИЧНЫМ ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ (лекция)

Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Россия

*E.I. Prokopenko, A.V. Vatazin, E.O. Shcherbakova*

## KIDNEY TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH ATYPICAL HAEMOLYTIC URAEMIC SYNDROME (lection)

Moscow Regional Research Clinical Institute n.a. M.F.Vladimirsky, Moscow, Russia

### РЕФЕРАТ

Трансплантация почки (ТП) до недавнего времени считалась противопоказанной пациентам с терминальной почечной недостаточностью в исходе атипичного гемолитико-уремического синдрома (аГУС) из-за высокого риска рецидива основного заболевания и потери трансплантата. Однако в настоящее время разработаны новые подходы к профилактике и лечению рецидива аГУС в посттрансплантационном периоде, что способствовало значительному улучшению результатов ТП у этой категории больных. В статье рассматриваются принципы оценки риска рецидива аГУС после ТП, подбора органного донора, особенности иммуносупрессивной терапии, профилактики и лечения эпизодов аГУС у реципиентов ренального трансплантата.

**Ключевые слова:** атипичный гемолитико-уремический синдром, хроническая болезнь почек, терминальная почечная недостаточность, трансплантация почки.

### ABSTRACT

Kidney transplantation (KT) until recent time was considered contraindicated to patients with end stage kidney failure due to atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) because of high risk of recurrence of the underlying disease and graft loss. However, it has now developed new approaches to prevention and treatment aHUS relapse in posttransplantation period, which significantly improved KT results in these patients. This article discusses the principles of risk assessment aHUS relapse after transplantation, the donor organ selection, features of immunosuppressive therapy, prevention and treatment of aHUS episodes in renal transplant recipients.

**Key words:** atypical haemolytic uraemic syndrome, chronic kidney disease, end stage kidney failure, kidney transplantation.

### Введение

Атипичный гемолитико-уремический синдром (аГУС) представляет собой орфанное заболевание, вызванное генетически обусловленной или приобретенной (антительной) дисрегуляцией альтернативного пути активации комплемента, и проявляющееся морфологически тромботической микроангиопатией (ТМА), а клинически – триадой в виде тромбоцитопении, неиммунной микроангиопатической гемолитической анемии и острой почечной недостаточности [1–3]. Нередко у пациентов с аГУС развивается полиорганная недостаточность с высокой вероятностью летального исхода. Поражение почек, обусловленное комплемент-опосредованной ТМА, при отсут-

ствии своевременно начатого специфического лечения в большинстве случаев прогрессирует до терминальной почечной недостаточности (тПН). аГУС имеет крайне неблагоприятный прогноз при «естественном» течении: 50–75% пациентов с аГУС, имеющих мутации генов фактора Н (CFH), фактора I (CFI), фактора В (CFB), С3-компонента комплемента или тромбомодулина (THBD), достигают тПН или умирают в течение 3–5 лет после первого эпизода ТМА [1]. Плазмаобмен (ПО), традиционно применявшийся для лечения пациентов с аГУС до конца 2000-х годов как единственный доступный тогда метод лечения, эффективен у части больных, но в ряде случаев при использовании ПО отмечаются плазмарезистентность, плазмазависимость и/или серьезные нежелательные явления, в том числе у пациентов с трансплантированной почкой [4–6].

Новая эра в лечении пациентов с аГУС нача-

Прокопенко Е.И. 129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2. Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, факультет усовершенствования врачей, кафедра трансплантологии, нефрологии и искусственных органов. Тел.: (495)684-57-91; e-mail: renalnephron@gmail.com

лась в 2011 г., когда для терапии этого жизнеугрожающего заболевания в США и Европе был одобрен экулизумаб – препарат моноклональных антител против C5-компонента комплемента, предотвращающий образование C5a (мощного анафилатоксина) и мембраноатакующего комплекса, вызывающего лизис клеток. Уже сейчас можно подвести первые итоги, которые свидетельствуют об улучшении исходов аГУС при использовании специфической комплемент-подавляющей терапии [7]. Экулизумаб рекомендуют как препарат первой линии детям с установленным диагнозом аГУС, семейном характере заболевания, наличии экстраренальных проявлений; в то же время у взрослых пациентов, особенно при сомнениях в диагнозе, в качестве стартового лечения может быть использована плазматерапия (инфузии свежемороженой плазмы или, предпочтительнее, ПО), а к назначению экулизумаба существуют специальные показания [8, 9].

Тем не менее, несмотря на успехи в лечении аГУС, существует когорта пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) С5 стадии в исходе поражения почек в рамках аГУС, нуждающихся в ТП. Особенно актуальна ТП у педиатрических пациентов, поскольку диализные методы лечения не способны обеспечить условия для нормального роста и развития детей с тПН. Но если у больных с типичным ГУС (СТЕС ГУС), ассоциированным с шига-токсином *E. coli*, результаты ТП принципиально не отличаются от таковых у пациентов с другими нефропатиями [10], то у больных с аГУС риск ранней потери ренального трансплантата (РТ) был до недавнего времени значимо выше, поэтому аГУС считался даже противопоказанием к ТП [11].

#### **Результаты трансплантации почки у пациентов с аГУС до начала применения экулизумаба и оценка риска рецидива аГУС в посттрансплантационном периоде**

Результаты ТП у пациентов с тПН в исходе аГУС при отсутствии специфической профилактики нельзя назвать обнадеживающими: 5-летняя выживаемость РТ у взрослых больных с аГУС, по данным французского регистра, составила только 51%, т.е. оказалась существенно хуже по сравнению с общей популяцией реципиентов [6]. Основной причиной потери трансплантатов являются рецидивы аГУС в трансплантате, а также тромбозы магистральных сосудов трансплантированной почки. У педиатрических пациентов частота рецидивов после ТП составляет около 50% в общей группе пациентов и 80% – у больных с наиболее

неблагоприятной мутацией, затрагивающей ген *CFH* [12].

Особенностью течения послеоперационного периода у реципиентов ренального трансплантата с аГУС является также достаточно высокая частота острого отторжения трансплантата, достигающая 30%, что значительно превышает данный показатель в общей популяции больных с трансплантированной почкой. К возможным причинам повышенной предрасположенности пациентов с аГУС к острому отторжению РТ можно отнести стремление клиницистов к минимизации ингибиторов кальцинейрина (циклоспорина, такролимуса) с учетом известного эффекта этих иммуносупрессантов вызывать почечную ТМА при высокой их концентрации в крови, более высокую частоту НЛА-сенсibilизации из-за предшествующих гемотрансфузий, а также участие компонентов комплемента (C3a, C5a) в активации Т-клеток и модуляции аллоиммунного ответа [6, 13].

Кроме того, у взрослых реципиентов наблюдается достаточно высокая частота смерти с функционирующим трансплантатом от сердечно-сосудистых катастроф, даже у молодых больных без кардиоваскулярных факторов риска [6]. Описан также случай смерти ребенка 6,5 лет, страдавшего аГУС, с хорошо функционирующим ренальным трансплантатом от массивного ишемического инсульта по причине стеноза крупных мозговых сосудов, обусловленного основным заболеванием [14]. Следует отметить, что недавно описанным у детей, страдающих аГУС, комплемент-опосредованным поражением крупных сосудов с развитием мозговых инсультов, гангрены пальцев сейчас уделяется большое внимание.

Вероятно, по причине указанных выше проблем, связанных с ТП, этот вид лечения у пациентов с аГУС и тХПН применяется пока в 3 раза реже, чем гемодиализ или перитонеальный диализ [15].

Риск рецидива аГУС после ТП в значительной степени зависит от характера мутаций генов, кодирующих белки-регуляторы комплемента, а в случаях антительного аГУС – от титра антител к фактору Н. Но следует учитывать, что рецидивы в посттрансплантационном периоде могут развиваться и у тех больных, у которых не выявлены известные к настоящему времени мутации [11, 23, 24]. Наиболее высокий риск рецидива аГУС после ТП – 75–90% – имеется у пациентов с мутациями фактора Н, особенно если мутации связаны с его С-терминальным доменом или с образованием гибридного гена *CFH/CFHR1* [6, 16, 17,

18]. Достаточно высокий риск возврата в трансплантате (40–80%) наблюдается у реципиентов с мутациями С3 и фактора I. При мутациях фактора В выполнено пока очень небольшое число трансплантаций, но рецидивы были отмечены практически во всех случаях [19, 20]. Понятно, почему высокая частота рецидивов аГУС после ТП отмечается при мутациях упомянутых выше плазменных факторов, синтез мутантных форм которых продолжает осуществляться печенью реципиента и в посттрансплантационном периоде. Напротив, мембранный кофакторный протеин (MCP) является связанным с мембраной белком, и его дефицит может восполняться самим донорским органом, имеющим нормальный MCP-фенотип. Поэтому частота рецидивов аГУС после ТП у пациентов с мутациями MCP относительно невысока – менее 20%, хотя нужно помнить о том, что 23% таких больных имеют также мутации циркулирующих в плазме факторов, а мультигенные нарушения повышают риск рецидива [21, 22]. Степень риска посттрансплантационного рецидива для пациентов с мутациями THBD, который существует в двух формах – и циркулирующей (плазменной), и связанной с мембраной, пока не установлена.

При аГУС, опосредованном антителами к CFH, риск рецидива после ТП зависит от титра антител, длительности их персистенции в плазме пациента и наличия дополнительных мутаций генов-регуляторов комплемента [11, 23, 24]. Низким риск можно считать только при нулевом титре анти-CFH-антител в течение длительного времени и отсутствии дополнительных мутаций. Даже при невысоком титре антител риск становится средним. А наличие любых дополнительных мутаций белков, контролирующей активность комплемента, как и высокий титр антител к CFH, обуславливает высокий риск посттрансплантационного рецидива аГУС.

#### **Триггеры рецидива аГУС после трансплантации почки и дифференциальный диагноз ТМА *de novo* и рецидива аГУС в ренальном трансплантате**

Известно, что рецидив аГУС после ТП обычно происходит достаточно рано – уже в первые месяцы после операции, в то же время первый в жизни пациента эпизод аГУС с поражением нативных почек может наблюдаться в подростковом и даже во взрослом возрасте. Этот факт обусловлен тем, что сама операция трансплантации и иммуносупрессивная терапия создают целый ряд специфических триггеров развития ТМА, как развивающейся *de novo*, так и в форме рецидива аГУС [6, 11, 21]. К

этим триггерам относятся смерть мозга органного донора, вызывающая воспалительный ответ с системной и локальной (в том числе в почечной ткани) активацией комплемента; ишемически-реперфузионное повреждение; применение ингибиторов кальциейрина и mTOR-ингибиторов, обладающих эндотелиотоксическим свойством и при совместном применении – синергизмом в индуцировании рецидива аГУС после ТП; гуморальное отторжение, всегда сопровождающееся активацией комплемента; разнообразные инфекционные осложнения, прежде всего – вирусные [25–28]. При гуморальном отторжении трансплантата эндотелий является первичной мишенью анти-HLA-антител, при этом каскад комплемента активируется в основном по классическому пути, но и активация по альтернативному пути способна усугублять эндотелиальное повреждение. Гуморальное отторжение трансплантационной почки может провоцировать развитие ТМА даже при невысокой генетической предрасположенности к аГУС [29]. Важную роль в развитии рецидива аГУС у реципиентов РТ играют инфекции, как специфичные для иммуносупрессивных пациентов – цитомегаловирусная инфекция и другие герпесвирусные инфекции, ВКВ-инфекция, инфекция, вызванная парвовирусом В19, так и нередко встречающиеся в общей популяции – грипп, респираторные инфекции, кишечные инфекции [11]. Инфекции провоцируют рецидив аГУС за счет системного воспалительного ответа, а также за счет непосредственного эндотелиотоксического действия некоторых возбудителей.

Известно, что ТМА после ТП может развиваться *de novo*, а также являться рецидивом аГУС. По мнению ряда авторов, посттрансплантационный рецидив аГУС и ТМА *de novo* имеют общие патогенетические механизмы, важнейшим из которых является нарушение регуляции системы комплемента, но различаются по вкладу генетических факторов и триггеров. При рецидиве аГУС пациенты имеют, как правило, мутации высокого риска, а вклад триггерного фактора может быть небольшим, напротив, при ТМА, впервые развившейся после трансплантации, главная роль принадлежит мощному триггеру, а мутации обнаруживаются не всегда [17]. Концепция общности патогенеза этих состояний подтверждается обнаружением мутаций генов *CFH* и *CFI* у 30% реципиентов с посттрансплантационной системной ТМА, индуцированной ингибиторами кальциейрина, и хорошим ответом такой ТМА на комплемент-подавляющее лечение [30, 31].

Предложены дифференциально-диагностические признаки рецидива аГУС после ТП и ТМА, развившейся *de novo* (таблица).

Основные признаки, отличающие рецидив аГУС от ТМА *de novo*, заключаются в наличии эпизода ТМА в анамнезе и более тяжелом течении с системными проявлениями и потерей трансплантата во многих случаях.

#### **Особенности обследования пациентов с ТМА нативных почек перед включением в «лист ожидания» трансплантации почки и выбор донора**

Для первичного установления диагноза аГУС и начала терапии не требуется генетическое исследование, поскольку, во-первых, оно требует слишком много времени (а клиническая ситуация в большинстве случаев требует немедленно начала лечения), во-вторых, отрицательный результат поиска мутаций не противоречит диагнозу аГУС, так как не все мутации пока известны [7–9]. В то же время, большинством авторов пациентам с аГУС – кандидатам на ТП перед включением в «Лист ожидания» настоятельно рекомендуется генетическое исследование [6, 8, 9, 11, 22]. Целью такого исследования служит оценка риска рецидива аГУС после трансплантации и необходимости специфической профилактики. Следует особо отметить, что обследование должны пройти не только пациенты с установленным диагнозом аГУС, но и больные с ТМА, этиология которых трактовалась ранее не как аГУС: пациенты с тяжелым или необычным течением STEC-ГУС, с послеродовым или индуцированным лекарствами ГУС. В этой группе могут оказаться больные с мутациями регуляторов комплемента, ассоциированных с высоким риском посттрансплантационного рецидива. Исследование должно включать выявление мутаций генов *C3*, *CFH*, *CFI*, *CFB*, *MCP*, выявление гибридного гена *CFH/CFHR1*, скрининг на анти-*CFH*-антитела, а также по возможности – определение уровня факторов *C3*, *CFH*, *CFI*, *CFB* в крови и экспрессии *MCP* на

лейкоцитах периферической крови. Если аГУС развился на первом году жизни (и в особенности, если заболевание сопровождалось высокой протеинурией), рекомендуется также поиск мутаций гена, кодирующего диацилглицеролкиназу  $\epsilon$  (*DGKE*), дефицит которой способствует развитию аГУС, хотя сам белок не имеет отношения к каскаду комплемента [32].

При выборе типа донора надо иметь в виду, что трансплантация от погибшего донора является более безопасной, хотя качество донорского органа при этом, безусловно, хуже, чем почки от живого донора. Однако трансплантация от живого неродственного донора в нашей стране запрещена законодательно, а ТП от живого родственного донора возможна только в тех случаях, когда соблюдены следующие условия: у донора не выявлены мутации генов, ответственные за развитие аГУС у реципиента; имеется возможность применять экулизумаб; пара донор/реципиент хорошо информирована о возможных рисках [4, 8, 11]. Понятно, что если возможный реципиент и родственник донор имеют общие мутации, имеется высокий риск как рецидива аГУС у реципиента, так и дебюта аГУС у донора после изъятия почки. Если никакие ассоциированные с аГУС мутации не выявлены у реципиента и потенциального родственного донора, следует также отказаться от родственной трансплантации, поскольку оценить риск для обоих участников трансплантационного процесса в этой ситуации невозможно.

#### **Возможности комбинированной трансплантации почки и печени у пациентов с аГУС**

Идея комбинированной трансплантации почки и печени у пациентов с аГУС, вызванным мутациями генов, кодирующих факторы регуляции комплемента, преимущественно синтезирующиеся в печени (*CFH*, *CFI*, *CFB*), состоит в том, что донорская печень будет синтезировать нормальные факторы, предотвращая рецидив аГУС. К настоящему времени выполнено более 20 комбинированных трансплантаций почки и печени у

Таблица 1

#### **Дифференциальная диагностика ТМА у пациентов с трансплантированной почкой**

Показатель	ТМА <i>de novo</i>	Рецидив аГУС
ГУС/ТМА в анамнезе	Нет	Да
Системность поражения	Нет	Характерно
Тяжесть клинической картины	Умеренная	Выраженная
Начало	Постепенное	Внезапное
Тяжесть гематологических симптомов	Легкая	Тяжелая
Обратимость	Да	Нет (потеря трансплантата)

Примечание. Адаптировано по: J. Zuber, J.M. Campistol [8, 11]. ТМА – тромботическая микроангиопатия, аГУС – атипичный гемолитико-уремический синдром.

пациентов с аГУС и мутациями циркулирующих факторов, однако первые пять реципиентов (не получивших специфического лечения – плазмотерапии или экулизумаба) погибли, в том числе трое больных – от комплемент-опосредованного коагуляционного некроза трансплантата печени [33, 34]. Оказалось, что даже у пациентов без аГУС при трансплантации печени после реперфузии органа наблюдается выраженная активация комплемента преимущественно по альтернативному пути [35], а в условиях выраженного дефицита регуляторов комплемента развивается необратимое комплемент-опосредованное поражение трансплантированной печени, так как донорская печень не успевает выработать достаточное количество нормальных белков – регуляторов комплемента. В последующем при комбинированной трансплантации почки и печени у пациентов аГУС начали профилактически использовать плазмотерапию, низкомолекулярные гепарины и аспирин, а позже – экулизумаб, что позволило значительно улучшить результаты таких операций [36–38]. Тем не менее, комбинированная трансплантация почки и печени при аГУС остается операцией повышенного риска, и с появлением новых возможностей профилактики рецидива аГУС после ТП круг показаний к комбинированной трансплантации значительно сузился. В настоящее время комбинированная трансплантация печени и почки может быть рекомендована как лечение второй линии отдельным пациентам с аГУС. Изолированная трансплантация печени с целью предотвращения рецидивов аГУС пациентам, имеющим сохранную функцию почек, не рекомендуется из-за того, что риск постоянной иммуносупрессивной терапии превышает риск применения экулизумаба [11].

#### **Лечение и профилактика рецидива аГУС после трансплантации почки**

Пациентам с аГУС выполнять ТП без специфической профилактики можно только при низком риске рецидива, а именно: при изолированной мутации MCP (без дополнительных мутаций), при мутации DGKE, в случае нулевого титра анти-CFH-антител при антительном аГУС [8, 11]. При высоком и среднем риске рецидива необходимо проведение специфической профилактики.

В качестве профилактики ранее использовалась плазмотерапия, в ряде случаев успешно [11]. Однако лечение свежезамороженной плазмой не всегда предотвращает рецидив аГУС, нередко ТМА развивается при урежении сеансов ПО, а качество жизни страдает практически всегда из-

за необходимости сохранения постоянного сосудистого доступа и зависимости от ПО [4–6, 39]. К настоящему времени накоплен позитивный опыт профилактического опыта применения экулизумаба для предотвращения рецидива аГУС после ТП, позволяющий считать изолированную ренальную трансплантацию в сочетании с использованием данного препарата эффективным и безопасным методом лечения пациентов с тХПН в исходе аГУС [4, 11, 40–42]. Результаты профилактического применения экулизумаба после ТП у наиболее крупной группы пациентов с аГУС недавно были опубликованы J. Zuber и соавт.: из 9 пациентов у 8 был достигнут благоприятный исход без рецидивов заболевания [43]. Первое введение экулизумаба должно быть выполнено не позже чем за 1 ч до реперфузии трансплантированной почки, а второе – в первые сутки после ТП [43]. Однократная доза для взрослых составляет 900 мг, а у детей – рассчитывается в соответствии с массой тела. Последующие введения осуществляются 1 раз в неделю не менее 1 мес с последующим переходом на стандартный режим введения 1 раз в 2 нед (в дозе 1200 мг для взрослых) по индивидуальному плану. Оптимальная общая продолжительность применения экулизумаба после ТП пока не определена, но однозначно не рекомендуется однократное применение препарата или лечение коротким курсом [11].

Лечение уже развившегося рецидива аГУС представляет собой непростую задачу и является urgentной клинической проблемой. Ранее единственным методом лечения посттрансплантационного рецидива была плазмотерапия, но при использовании ПО далеко не всегда удается сохранить функционирующий трансплантат. Более того, на основании ретроспективного анализа группы, включавшей 44 пациента с посттрансплантационным рецидивом из французского регистра аГУС (33 получали плазмотерапию, а 11 – не получали), было показано, что проведение ПО/инфузий плазмы не улучшало выживаемость трансплантатов. Этот показатель составил через 5 лет менее 50% – как у получавших лечение свежезамороженной плазмой, так и у не получавших плазмотерапию [6]. Группой французских исследователей для лечения рецидива аГУС после ТП у пациентов с отягощенным трансплантационным анамнезом (у 9 из 13 больных в прошлом 14 трансплантатов были потеряны из-за рецидива, а 2 – из-за тромбоза сосудов) был успешно применен экулизумаб [43]. После лечения экулизумабом у всех 13 пациентов был получен полный гематологический ответ, 11

из 13 больных (84,6%) сохранили функционирующий РТ. Необходимо обратить внимание, что у 2 реципиентов, у которых трансплантат утратил функцию, было выполнено только одно введение экулизумаба. К настоящему времени появились и другие публикации, свидетельствующие об эффективности экулизумаба в лечении посттрансплантационного рецидива аГУС или аГУС *de novo* после ТП, в том числе – при плазморезистентности [44–46]. Лечение посттрансплантационного рецидива аГУС экулизумабом необходимо начинать как можно раньше, поскольку даже при относительно непродолжительной задержке старта терапии (более 4 нед с начала рецидива) уже не всегда удается полностью восстановить функцию ренального трансплантата [43].

#### **Профилактика инфекционных осложнений и принципы защиты эндотелия при трансплантации почки у пациентов с аГУС**

Сочетанная терапия экулизумабом, блокирующим С5-компонент комплемента, и иммуносупрессантами, традиционно применяющимися после ТП (ингибиторами кальцинейрина, микофенолатами и кортикостероидами), закономерно вызывает опасение повышения частоты инфекционных осложнений. Однако блокада С5 нарушает формирование мембраноатакующего комплекса, но не препятствует С3-зависимой опсонизации микроорганизмов, поэтому общая частота бактериальных и грибковых инфекций после ТП у пациентов с аГУС, получающих экулизумаб, не возрастает [4]. В то же время, имеется значимое повышение риска менингококкового менингита и инфекций, вызванных пневмококком и гемофильной палочкой, что характерно для любых пациентов, получающих экулизумаб. Поэтому до ТП обязательна вакцинация тетравалентной вакциной против менингококка (А, С, Y, W135), а также вакцинация против пневмококковой и гемофильной инфекции не только у детей, но и у взрослых пациентов [4, 47]. Некоторые авторы рекомендуют контролировать в динамике титр защитных антител против менингококка [48]. Ежедневная антибактериальная профилактика менингита у больных после ТП не используется рутинно, но ее проведение возможно у отдельных пациентов с крайне высоким риском менингококковой инфекции. Безусловно, сам реципиент и его родственники должны быть информированы о симптомах менингококкового менингита и порядке действий в случае возникновения таких симптомов.

Особое внимание следует уделять также профилактике вирусных инфекций у пациентов с

аГУС после ТП, особенно герпес-вирусных инфекций (цитомегаловирусная инфекция, простой и опоясывающий герпес, инфекция, вызванная вирусом Эпштейна–Барр) и гриппа, поскольку вирусные инфекции являются важнейшим триггером ТМА. С целью предотвращения цитомегаловирусной инфекции применяется профилактический прием валганцикловира в течение 3–6 мес, а для профилактики гриппа – сезонная вакцинация только инактивированными вакцинами (любые живые ослабленные вакцины противопоказаны пациентам с трансплантированными органами) [49].

Для минимизации эндотелиального повреждения у пациентов с аГУС при ТП рекомендуется избегать ситуаций, потенциально способствующих поражению эндотелия: трансплантации при положительной перекрестной пробе (даже виртуальной), при наличии предрасполагающих («панель-реактивных») анти-НLA-антител, применения высоких доз ингибиторов кальцинейрина, использования сочетания ингибиторов кальцинейрина и mTOR-ингибиторов [11].

#### **Заключение**

Таким образом, ТП, до недавнего времени считавшаяся противопоказанной пациентам с аГУС, благодаря новым подходам к подбору пары донор–реципиент, оценке риска рецидива аГУС после трансплантации, профилактике и лечению рецидивов ТМА в посттрансплантационном периоде стала эффективным и относительно безопасным методом лечения тХПН у этой категории больных. Важнейшую роль в улучшении результатов ТП при аГУС играет предтрансплантационное генетическое обследование потенциального реципиента и донора (если планируется трансплантация от живого родственного донора), которое позволяет адекватно оценить риск рецидива аГУС после ТП и безопасность изъятия почки у родственного донора. В случае антительного аГУС, помимо генетического обследования, при подготовке к трансплантации необходим мониторинг титра антител к фактору Н. Применение экулизумаба – препарата моноклональных антител против С5-компонента комплемента – для профилактики посттрансплантационного рецидива аГУС у пациентов, имеющих высокий и средний риск рецидива, а также максимально раннее начало лечения экулизумабом развившегося рецидива аГУС, при условии тщательной профилактики инфекционных осложнений и соблюдении принципов эндотелиопротекции позволяет добиться хороших показателей выживаемости реципиентов и ренальных трансплантатов.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Constantinescu AR, Bitzan M, Weiss LS et al. Non-entropathic hemolytic uremic syndrome: causes and short-term course. *Am J Kidney Dis* 2004;43: 976–982. doi: 10.1053/j.ajkd.2004.02.010
2. Sullivan M, Eric Z, Hoffmann MM et al. Epidemiological approach to identifying genetic predispositions for atypical hemolytic uremic syndrome. *Ann Hum Genet* 2010;74:17–26. doi: 10.1111/j.1469-1809.2009.00554.x
3. Loirat C, Fremeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:60. doi: 10.1186/1750-1172-6-60
4. Zuber J, Fakhouri F, Roumenina LT et al. Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies. *Nat Rev Nephrol* 2012;8(11):643–657. doi: 10.1038/nrneph.2012.214
5. Davin JC, Buter N, Groothoff J et al. Prophylactic plasma exchange in CD46-associated atypical haemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2009;24(9):1757–1760. doi: 10.1007/s00467-009-1188-8
6. Le Quintrec M, Zuber J, Moulin B et al. Complement genes strongly predict recurrence and graft outcome in adult renal transplant recipients with atypical hemolytic and uremic syndrome. *Am J Transplant* 2013;13(3):663–675. doi: 10.1111/ajt.12077
7. Davin JC, van de Kar N. Advances and challenges in the management of complement-mediated thrombotic microangiopathies. *Ther Adv Hematol* 2015;6(4): 171–185. doi: 10.1177/2040620715577613
8. Campistol JM, Arias M, Ariceta G et al. An update for atypical haemolytic uraemic syndrome: diagnosis and treatment. A consensus document. *Nefrologia* 2015;35(5):421–447. doi: 10.1016/j.nefro.2015.07.005
9. Козловская НЛ, Прокопенко ЕИ, Эмирова ХМ, Серикова СЮ. Клинические рекомендации по диагностике и лечению атипичного гемолитико-уремического синдрома. *Нефрология и диализ* 2015;17(3): 242–264 [Kozlovskaya NL, Prokopenko EI, Emirova KhM, Serikova SYu. Klinicheskije rekomendacii po diagnostike i lecheniju atipichnogo gemolitiko-uremicheskogo sindroma. *Nefrologija i dializ* 2015;17(3): 242–264]
10. Ferraris JR, Ramirez JA, Ruiz S et al. Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: absence of recurrence after renal transplantation. *Pediatr Nephrol* 2002;17(10):809–814. doi: 10.1007/s00467-002-0936-9
11. Zuber J, Le Quintrec M, Morris H et al. Targeted strategies in the prevention and management of atypical HUS recurrence after kidney transplantation. *Transplant Rev (Orlando)* 2013;27(4):117–125. doi: 10.1016/j.trre.2013.07.003
12. Sellier-Leclerc AL, Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA et al. Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(8): 2392–2400. doi: 10.1681/ASN.2006080811
13. Raedler H, Heeger PS. Complement regulation of T-cell alloimmunity. *Curr Opin Organ Transplant* 2011;16(1):54–60. doi: 10.1097/MOT.0b013e3283425419
14. Ażukaitis K, Loirat C, Malina M et al. Macrovascular involvement in a child with atypical hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2014; 29(7):1273–1277. doi: 10.1007/s00467-013-2713-3
15. Licht C, Ardissino G, Ariceta G et al. 1. The global aHUS registry: methodology and initial patient characteristics. *BMC Nephrol* 2015;16:207. doi: 10.1186/s12882-015-0195-1
16. Noris M, Caprioli J, Bresin E et al. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:1844–1859. doi: 10.2215/CJN.02210310
17. Zuber J, le Quintrec M, Sberro-Soussan R et al. New insights into postrenal transplant hemolytic uremic syndrome. *Nat Rev Nephrol* 2011;7:23–35. doi: 10.1038/nrneph.2010.155
18. Venables JP, Strain L, Routledge D et al. Atypical haemolytic uraemic syndrome associated with a hybrid complement gene. *PLoS Med* 2006;3:e431. doi: 10.1371/journal.pmed.0030431
19. Roumenina LT, Jablonski M, Hue C et al. Hyperfunctional C3 convertase leads to complement deposition on endothelial cells and contributes to atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2009; 114:2837–2845. doi: 10.1182/blood-2009-01-197640
20. Goicoechea de Jorge E, Harris CL, Esparza-Gordillo J et al. Gain-of-function mutations in complement factor B are associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:240–245. doi: 10.1073/pnas.0603420103
21. Bresin E, Daina E, Noris M et al. Outcome of renal transplantation in patients with non-Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: prognostic significance of genetic background. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:88–99. doi: 10.2215/CJN.00050505
22. Loirat C, Fremeaux-Bacchi V. Hemolytic uremic syndrome recurrence after renal transplantation. *Pediatr Transplant* 2008;12: 619–629. doi: 10.1111/j.1399-3046.2008.00910
23. Le Quintrec M, Zuber J, Noel LH et al. Anti-factor H autoantibodies in a fifth renal transplant recipient with atypical hemolytic and uremic syndrome. *Am J Transplant* 2009;9:1223–1229. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02586
24. Dragon-Durey MA, Sethi SK, Bagga A et al. Clinical features of anti-factor H autoantibody-associated hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:2180–2187. doi: 10.1681/ASN.2010030315
25. van Werkhoven MB, Damman J, van Dijk MC et al. Complement mediated renal inflammation induced by donor brain death: role of renal C5a-C5aR interaction. *Am J Transplant* 2013;13(4): 875–882. doi: 10.1111/ajt.12130
26. Błogowski W, Dołęgowska B, Sałata D et al. Clinical analysis of perioperative complement activity during ischemia/reperfusion injury following renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012;7(11):1843–1851. doi: 10.2215/CJN.02200312
27. Naesens M, Kuypers DR, Sarwal M. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4(2):481–508. doi: 10.2215/CJN.04800908
28. Lovric S, Kielstein JT, Kayser D et al. Combination of everolimus with calcineurin inhibitor medication resulted in post-transplant haemolytic uraemic syndrome in lung transplant recipients--a case series. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26(9):3032–3038. doi: 10.1093/ndt/gfq842
29. Noone D, Al-Matrafi J, Tinkam K et al. Antibody mediated rejection associated with complement factor h-related protein 3/1 deficiency successfully treated with eculizumab. *Am J Transplant* 2012;12(9):2546–2553. doi: 10.1111/j.1600-6143.2012.04124
30. Le Quintrec M, Lionet A, Kamar N et al. Complement mutation-associated de novo thrombotic microangiopathy following kidney transplantation. *Am J Transplant* 2008;8(8):1694–1701. doi: 10.1111/j.1600-6143.2008.02297
31. Wilson CH, Brown AL, White SA et al. Successful treatment of de novo posttransplant thrombotic microangiopathy with eculizumab. *Transplantation* 2011;92(8):e42–43. doi: 10.1097/TP.0b013e318230c0bd
32. Bruneau S, Néel M, Roumenina LT et al. Loss of DGK induces endothelial cell activation and death independently of complement activation. *Blood* 2015;125(6):1038–1046. doi: 10.1182/blood-2014-06-579953
33. Loirat C, Saland J, Bitzan M. Management of hemolytic uremic syndrome. *Presse Med* 2012;41(3 Pt 2):e115–135. doi: 10.1016/j.lpm.2011.11.013
34. Saland JM, Ruggenti P, Remuzzi G; Consensus Study Group. Liver-kidney transplantation to cure atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2009;20(5):940–949. doi: 10.1681/ASN.2008080906
35. Koskinen AR, Tukiainen E, Arola J et al. Complement activation during liver transplantation-special emphasis on patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Transplant* 2011;11(9):1885–1895. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03612
36. Saland JM, Shneider BL, Bromberg JS et al. Successful split liver-kidney transplant for factor H associated hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:201–206. doi: 10.2215/CJN.02170508
37. Wilson C, Torpey N, Jaques B et al. Successful simultaneous liver-kidney transplant in an adult with atypical hemo-

lytic uremic syndrome associated with a mutation in complement factor H. *Am J Kidney Dis* 2011;58(1):109-112. doi: 10.1053/j.ajkd.2011.04.008

38. Tran H, Chaudhuri A, Concepcion W, Grimm PC. Use of eculizumab and plasma exchange in successful combined liver-kidney transplantation in a case of atypical HUS associated with complement factor H mutation. *Pediatr Nephrol* 2014;29(3):477-480. doi: 10.1007/s00467-013-2630-5

39. Chatelet V, Frémeaux-Bacchi V, Lobbedez T et al. Safety and long-term efficacy of eculizumab in a renal transplant patient with recurrent atypical hemolytic-uremic syndrome. *Am J Transplant* 2009;9(11):2644-2645. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02817

40. Zimmerhackl LB, Hofer J, Cortina G et al. Prophylactic eculizumab after renal transplantation in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2010;362(18):1746-1748. doi: 10.1056/NEJM1001060

41. Weitz M, Amon O, Bassler D et al. Prophylactic eculizumab prior to kidney transplantation for atypical hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2011;26(8):1325-1329. doi: 10.1007/s00467-011-1879-9

42. Román-Ortiz E, Mendizabal Oteiza S, Pinto S et al. Eculizumab long-term therapy for pediatric renal transplant in aHUS with CFH/CFHR1 hybrid gene. *Pediatr Nephrol* 2014;29(1):149-153. doi: 10.1007/s00467-013-2591-8

43. Zuber J, Le Quintrec M, Krid S et al. Eculizumab for atypical hemolytic uremic syndrome recurrence in renal transplantation. *Am J Transplant* 2012;12(12):3337-3354. doi: 10.1111/j.1600-6143.2012.04252

44. Matar D, Naqvi F, Racusen LC et al. Atypical hemolytic uremic syndrome recurrence after kidney transplantation. *Transplantation* 2014;98(11):1205-1212. doi: 10.1097/TP.0000000000000200

45. Broeders EN, Stordeur P, Rorive S, Dahan K. A 'silent', new polymorphism of factor H and apparent de novo atypical haemolytic uremic syndrome after kidney transplantation. *BMJ Case Rep* 2014 Dec 23;2014. pii: bcr2014207630. doi: 10.1136/bcr-2014-207630

46. Teixeira CI, Mota RG, Afonso BG et al. Use of Eculizumab in atypical hemolytic uremic syndrome after renal transplantation. *J Bras Nefrol* 2015;37(1):127-130. doi: 10.5935/0101-2800.20150018

47. Struijk GH, Bouts AH, Rijkers GT et al. Meningococcal sepsis complicating eculizumab treatment despite prior vaccination. *Am J Transplant* 2013;13(3):819-820. doi: 10.1111/ajt.12032

48. Zlamy M, Hofer J, Elias J, Vogel U. Immunogenicity of meningococcus C vaccination in a patient with atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) on eculizumab therapy. *Pediatr Transplant* 2012;16(6):E246-250. doi: 10.1111/j.1399-3046.2011.01585.x

49. Прокопенко ЕИ, Мойсюк ЯГ. Профилактика и лечение инфекционных осложнений у реципиентов солидных органов. В: Готье СВ, Мойсюк АГ, ред. *Трансплантология. Фармакотерапия без ошибок*. Е-нот, М., 2014: 257-380 [Prokopenko EI, Moysyuk Ya.G. Profilaktika i lechenije infektionnykh oslozhenenii u retsipientov solidnykh organov. V: Got'e SV, Moisiuk AG, red. *Transplantologija. Farmakoterapija bez oshibok*. E-noto, M., 2014: 257-380]

#### Сведения об авторах:

Прокопенко Елена Ивановна, д.м.н.

129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2. Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, факультет усовершенствования врачей, кафедра трансплантологии, нефрологии и искусственных органов. Тел.: (495)684-57-91; e-mail: renalnephron@gmail.com

Elena I. Prokopenko MD PhD

Affiliations: 129110 Russia, Moscow, Shchepkin st., 61/2. M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Postgraduate Medical Faculty, Department of transplantology, nephrology and artificial organs. Phone: (495)6845791; e-mail: renalnephron@gmail.com

Ватазин Андрей Владимирович, д.м.н., профессор

129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2. Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, факультет усовершенствования врачей, кафедра трансплантологии, нефрологии и искусственных органов. Тел.: (495)684-54-53; e-mail: vatazin@yandex.ru

Prof. Andrey V. Vatazin MD PhD

Affiliations: 129110 Russia, Moscow, Shchepkin st., 61/2. M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Postgraduate Medical Faculty, Department of transplantology, nephrology and artificial organs. Phone: (495)6845453; e-mail: vatazin@yandex.ru

Щербакоева Евгения Оттовна, к.м.н.

129110, Россия, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2. Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, факультет усовершенствования врачей, кафедра трансплантологии, нефрологии и искусственных органов. Тел.: (495)684-57-91; e-mail: cottovna@yandex.ru

Evgenia O. Shcherbakova MD PhD

Affiliations: 129110 Russia, Moscow, Shchepkin st., 61/2. M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Postgraduate Medical Faculty, Department of transplantology, nephrology and artificial organs. Phone: (495)6845791; e-mail: cottovna@yandex.ru

#### Конфликт интересов:

Прокопенко Е.И. является лектором образовательной программы компании «Алексин».

Остальные авторы не имеют конфликта интересов.

Поступила в редакцию: 03.05.2016 г.  
Принята в печать: 12.09.2016 г.

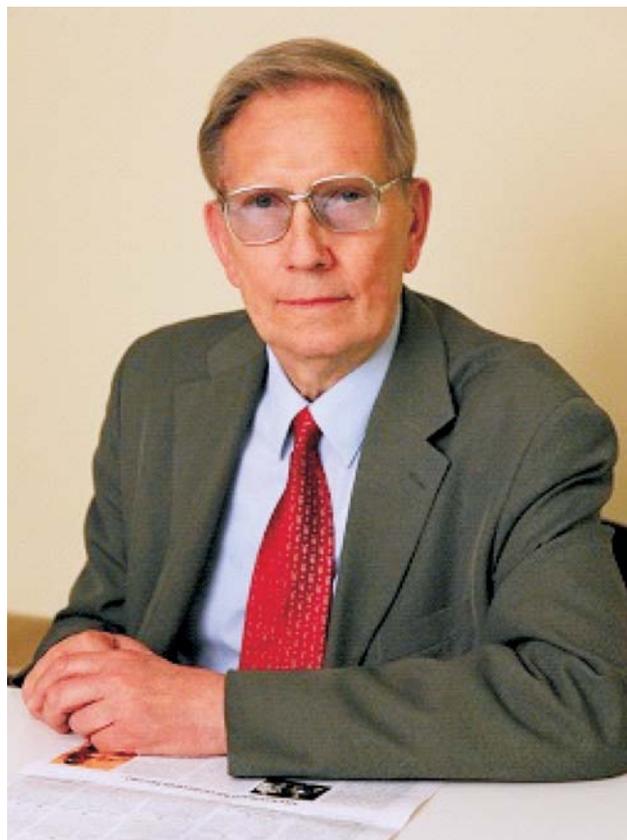
© Коллектив авторов, 2016  
УДК 616.61:92 Мухин

## К 80-ЛЕТИЮ АКАДЕМИКА РАН Н.А. МУХИНА

4 декабря 2016 г. исполнилось 80 лет со дня рождения одного из ведущих отечественных клиницистов, заведующего кафедрой внутренних, профессиональных болезней и пульмонологии, директора клиники нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, заведующего кафедрой терапии внутренних болезней факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, заслуженного деятеля науки РФ, дважды лауреата Государственной премии СССР, академика РАН, профессора Николая Алексеевича Мухина.

Окончив с отличием в 1960 году лечебный факультет 1-го Московского ордена Ленина медицинского института им. И.М. Сеченова (ныне Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова), Николай Алексеевич в течение двух лет работал врачом полярных станций Земли Франца-Иосифа. Вернувшись в Москву в 1962 году, он поступил в аспирантуру на кафедру академика АМН СССР Е.М. Тареева и прошел в клинике внутренних и профессиональных заболеваний путь от аспиранта до профессора. В 1986 году после смерти учителя Николай Алексеевич возглавил кафедру и многопрофильную клинику, в 1995 году по его инициативе клинике было присвоено имя основателя – Евгения Михайловича Тареева. В 2001 году Николай Алексеевич Мухин также возглавил кафедру внутренних болезней воссозданного в МГУ им. М.В. Ломоносова факультета фундаментальной медицины (выпускником медицинского факультета МГУ был академик Е.М. Тареев).

Воспитанный на принципах школы Е.М. Тареева – тщательном изучении этиологии, глубоком клиническом анализе, системной оценке заболеваний, применении новейших научных данных, персонифицированном подходе к лечению больного, Николай Алексеевич сохраняет, укрепляет и приумножает традиции школы своего учителя. Данные принципы нашли дальнейшее развитие и в работах его учеников. За многие годы руководства кафедрой и клиникой Николай Алексеевич сумел создать в коллективе атмосферу творчества,



культы науки и культуры, постоянного самосовершенствования, уважения к наследию отечественной медицины, доброжелательного отношения к коллегам и пациентам.

Николай Алексеевич Мухин – клиницист широкого профиля, человек энциклопедических знаний. Хорошо известен его интерес к проблемам внутренней медицины – нефрологии, кардиологии, гепатологии, пульмонологии, ревматологии, казуистически редким болезням. Это нашло отражение в многочисленных публикациях (более 400), монографиях, руководствах, учебниках, среди которых широко известные «Справочник по нефрологии», «Диагностика и лечение болезней почек», «Основы нефрологии», «Клиническая нефрология», «Нефрология», «Рациональная фармакотерапия в нефрологии», «Нефрология. Неотложные состояния», «Практическая гепатология», «Справочник по гепатологии», «Руководство по артериальной гипертензии», «Внутренние

болезни», «Пропедевтика внутренних болезней», «Основы клинической диагностики внутренних болезней», «Профессиональные болезни», «Интерстициальные болезни легких», «Клинические разборы, внутренние болезни» и др. Проводимые Николаем Алексеевичем консилиумы, клинические разборы и обходы неизменно привлекают внимание врачей не только в Первом МГМУ им. И.М. Сеченова, но и в других лечебных учреждениях Москвы и городов России.

Выдающийся клиницист Николай Алексеевич Мухин сочетает лечебную деятельность с фундаментальными научными исследованиями в самых разных областях медицины. Под руководством Н.А. Мухина выполнено 10 докторских и более 70 кандидатских диссертаций. Одним из главных направлений научной деятельности Н.А. Мухина является изучение проблем нефрологии. Амилоидозу почек были посвящены его кандидатская (1966 г.) и докторская (1980 г.) диссертации. На большом клиническом материале были отмечены изменения в структуре вторичного амилоидоза с повышением роли в его развитии ревматоидного артрита и опухолей, впервые определена реальная частота поражения почек при первичном и наследственном амилоидозе, дана детальная клиническая характеристика стадий амилоидной нефропатии, отражающих естественную эволюцию болезни. За разработку проблемы амилоидоза Н.А. Мухину вместе с Е.М. Тареевым, В.В. Серовым, О.М. Виноградовой присуждена Государственная премия СССР (1983 г.). В отечественной нефрологии Николай Алексеевич настойчиво внедряет этиологический принцип изучения механизмов прогрессирования нефрита, а также изучение неиммунных механизмов развития болезни, что легло в основу развиваемой Н.А. Мухиным нефропротективной стратегии. Под его руководством выполнены ряд работ по выявлению роли неинфекционных факторов прогрессирования, в частности алкоголя, нарушений обмена мочевой кислоты, экологических (свинец, кадмий), лекарственных (анальгетики) влияний. Эти исследования, по существу, легли в основу развивающегося в стране популяционно-профилактического направления в нефрологии с созданием программ популяционных исследований и разработкой мероприятий по профилактике. Важной в практическом отношении является впервые выдвинутая Н.А. Мухиным с группой сотрудников концепция гиперурикемического нефрита с выделением ранней урикозурической его стадии, установление факторов риска, мер про-

филактики и этиологического лечения. Изучение механизмов развития и прогрессирования нефропатий позволило Н.А. Мухину сформулировать концепцию интегрирующей роли почечной патологии во внутренних болезнях (ревматологии, эндокринологии, онкологии, кардиологии), а также выработать стратегию профилактики болезней. За вклад в разработку проблемы иммуновоспалительных заболеваний почек (гломерулонефритов) Николай Алексеевич в 1991 г. был повторно удостоен Государственной премии СССР. Особое место в широком спектре научных интересов Н.А. Мухина занимает направление, начатое Е.М. Тареевым, – изучение поражения почек в рамках системных проявлений хронических вирусных гепатитов (HBV- и HCV), в том числе ассоциированное с криоглобулинемией. Под руководством Н.А. Мухина были начаты и проводятся в настоящее время работы по изучению системных васкулитов, в том числе АНЦА-ассоциированных; показана возможность значительного улучшения прогноза больных системными васкулитами при своевременном применении активной иммуносупрессивной терапии. Одним из первых в России Н.А. Мухин начал изучение закономерностей развития кардиоренальных взаимоотношений, что легло в основу формирования современных принципов кардионефропротекции. В 1999 году Николай Алексеевич Мухин избран в академики Российской академии медицинских наук (РАМН), в 2011 году – Российской академии наук (РАН).

Много сил Николай Алексеевич Мухин отдает педагогической деятельности. Его лекции отличаются академизмом, практическая направленность и теоретическая глубина, они пользуются неизменной популярностью у студентов Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, медицинских вузов России. Обладая бесконечным трудолюбием и требовательностью к себе, Николай Алексеевич большое внимание уделяет воспитанию молодых специалистов – ординаторов, интернов, аспирантов, студентов. Всем, кому посчастливилось пройти обучение в клинике, возглавляемой академиком Н.А. Мухиным, памятны его обходы, клинические разборы. Николай Алексеевич бережно хранит традицию ежегодного проведения в клинике конференции «Эстафета поколений», подготовке к которой уделяется немало сил и времени. Молодые доктора выступают перед широкой врачебной аудиторией, в том числе перед приглашенными выпускниками клиники, с представлением и обсуждением казуистически редких

заболеваний, диагностически трудных случаев, с демонстрацией инновационных методов лечения, с которыми им пришлось ознакомиться в процессе обучения в ординатуре, интернатуре. На кафедре Николая Алексеевича в течение многих лет работает студенческий кружок, который тесно взаимодействует со студенческим научным обществом и советом молодых исследователей Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Николай Алексеевич обладает широкой эрудицией, увлекается классической музыкой и живописью, любит произведения П.И. Чайковского, С.В. Рахманинова, В.А. Моцарта, Ф. Шопена, К. Моне, О. Ренуара, О. Родена, К. Коровина. Николай Алексеевич терпеливо прививает эти качества молодым врачам и коллегам, воспитывая всесторонне развитое поколение специалистов.

В течение многих лет Николай Алексеевич Мухин активно участвует в общественной жизни

медицинского сообщества России, являясь президентом Научного общества нефрологов России (НОНР), членом Правления Российского научного медицинского общества терапевтов (РМНОТ) и Правления Московского городского научного общества терапевтов (МГНОТ), членом экспертного совета по терапии ВАК, членом профильной комиссии по нефрологии МЗ РФ, также членом редколлегии ведущих отечественных медицинских журналов «Терапевтический архив», «Клиническая медицина», «Клиническая фармакология и терапия», «Врач», «Нефрология», главным редактором журнала «Клиническая нефрология». Николаю Алексеевичу Мухину в 1996 г. присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки РФ». Он награжден орденом «знак Почёта» (1991 г.), медалью «За заслуги перед Первым Московским государственным медицинским университетом им. И.М. Сеченова» (2016 г.).

*Коллеги, ученики желают юбиляру здоровья, счастья  
и новых творческих успехов.  
Долгие лета, Николай Алексеевич!*

Поступила в редакцию: 01.06.2016 г.  
Принята в печать: 12.09.2016 г.

## СИСТЕМАТИЗИРОВАННЫЙ ПОРЯДКОВЫЙ УКАЗАТЕЛЬ СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В Т. 20 ЖУРНАЛА «НЕФРОЛОГИЯ» В 2016 г.

### ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

1. Батюшин М.М., Пасечник Д.Г. Ламинины в структуре гломерулярной базальной мембраны. №5, с. 9.
2. Добронравов В.А. Фосфат, почки, кости и сердечно-сосудистая система. №4, с. 10.
3. Ингелфингер Дж., Калантар-Заде К., Шефер Ф. Сосредоточим внимание на периоде детства, предотвратим последствия заболеваний почек. №2, с. 10.
4. Мершер С., Форнони А. Патология подоцитов и нефропатия – роль сфинголипидов в гломерулярных болезнях. №1, с. 10.
5. Монтсеррат Н., Гаррета Е., Бельмонте Х.К.И. Регенеративные стратегии реконструирования почки. №6, с. 10.
6. Папаян Л.П., Папаян К.А. Антифосфолипидный синдром как приобретенная аутоиммунная тромбофилия в педиатрической нефрологической практике. №3, с. 9.

### ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

7. Аль-Шукри С.Х., Гзгзян А.М., Боровец С.Ю., Белоусов В.Я., Торопов В.А. Прогностическая значимость микроделений локусов AZF и синдрома Клайнфельтера у мужчин с азооспермией в отношении результативности биопсии яичка и исходов вспомогательных репродуктивных технологий (обзор литературы). №4, с. 40.
8. Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б. Эндотоксин и хроническое воспаление при хронической болезни почек. №6, с. 26.
9. Ватазин А.В., Кильдюшевский А.В., Федулкина В.А., Фаенко А.П. Механизмы отторжения почечного аллотрансплантата и иммунологическая толерантность. №6, с. 33.
10. Костинов М.П., Руснак Ф.И. Вакцинация детей с заболеваниями почек. №1, с. 24.
11. Кузьмин О.Б., Жежа В.В., Белянин В.В., Ландарь Л.Н. Гломерулярная гипертензия: молекулярные механизмы повреждения подоцитов и мезангиальных клеток. №4, с. 31.
12. Латышев Д.Ю., Текутьева Н.А., Лобанов Ю.Ф., Зверев Я.Ф., Михеева Н.М. Дисплазия соединительной ткани и нервно-мышечная дисфункция мочевого пузыря у детей (обзор литературы). №2, с. 39.
13. Петросян Э.К. Болезнь минимальных изменений и стероид-чувствительный нефротический синдром у детей: одна или две болезни? №2, с. 33.
14. Руденко Т.Е., Кутырина И.М., Васильева М.П., Соломахина Н.И. Легочная гипертензия – новый аспект кардиоренального синдрома. №2, с. 48.
15. Селиверстова А.А., Савенкова Н.Д., Марченко С.П., Наумов А.Б. Кардиохирургически-ассоциированное острое повреждение почек у детей. №3, с. 17.
16. Смирнова Н.Н., Куприенко Н.Б. Инсулинорезистентность и нефропатия при ожирении у детей. №3, с. 28.

17. Фаенко А.П., Ватазин А.В., Кильдюшевский А.В., Федулкина В.А. Фотоферез при трансплантации почек. №6, с. 42.
18. Эмирова Х.М., Толстова Е.М., Каган М.Ю., Орлова О.М., Абасеева Т.Ю., Панкратенко Т.Е., Шпикалова И.Ю. Гемолитико-уремический синдром, ассоциированный с шига-токсин-продуцирующей *Esherichia coli*. №2, с. 18.
19. Ягудина Р.И., Шилов Е.М., Серпик В.Г., Абдраштова Г.Т. Методология проведения фармакоэкономического анализа в нефрологии. №4, с. 25.

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

#### Клинические исследования

20. Ананьин П.В., Комарова О.В., Вашурина Т.В., Зробок О.И., Зубкова И.В., Брзожовская Е.А., Панкратенко Т.Е., Музуров А.Л., Зверев Д.В., Цыгин А.Н. Роль фактора роста фибробластов-23 в патогенезе нарушений обмена фосфора при нефропатиях у детей. №2, с. 59.
21. Андреева Э.Ф. Катамнез детей и подростков с поликистозом почек. №3, с. 60.
22. Богданова Е.О., Галкина О.В., Зубина И.М., Добронравов В.А. Klotho, фактор роста фибробластов-23 и неорганический фосфат на ранних стадиях хронической болезни почек. №4, с. 54.
23. Василькова О.Н., Мохорт Т.В., Науменко Е.П., Пчелин И.Ю., Худякова Н.В. Клиническая оценка факторов риска каротидного атеросклероза у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа, осложненным хронической болезнью почек. №1, с. 57.
24. Ватазин А.В., Шилов Е.М., Хозяинова Н.Ю., Ермоленко В.М., Земченков А.Ю., Есян А.М., Моргунов Л.Ю., Михайлова Н.А., Смоляков А.А., Самсонов М.Ю. Новые возможности коррекции гиперкалиемии у пациентов с хронической болезнью почек. №4, с. 47.
25. Ветчинникова О.Н., Шестеро Е.В., Егорова Е.А. Минерально-костные нарушения у реципиентов почечно-го трансплантата. №6, с. 49.
26. Дзгоева Ф.У., Сопоев М.Ю., Бестаева Т.Л., Хамицаева О.В., Кцоева С.А., Сагеева Р.О., Саламова Э.Э. Взаимосвязь кардиоваскулярных осложнений и нарушений костно-минерального метаболизма у больных на гемодиализе. №5, с. 16.
27. Добронравов В.А., Васильева И.А., Бабарыкина Е.В. Качество жизни и отдаленная сердечно-сосудистая выживаемость больных на гемодиализе. №3, с. 78.
28. Добронравов В.А., Храброва М.С., Мухаметдинова А.О., Сиповский В.Г. Частота выявления и прогноз антительно-опосредованного отторжения при аллотрансплантации почки. №6, с. 82.
29. Земченков А.Ю., Герасимчук Р.П., Новокшинов К.Ю., Карелина Ю.В., Федотов Ю.Н., Черников Р.А., Слепцов И.В., Семенов А.А., Бубнов А.Н. Сравнительный анализ эффективности паратиреоидэктомии и мест-

ных инъекций активаторов рецепторов витамина D в парашитовидные железы. №4, с. 80.

30. Ибрагимов В.М., Алискандиев А.М., Батюшин М.М., Сарвилина И.В. Диагностический протеомный профиль мочи у пациентов с диабетической нефропатией I стадии при сахарном диабете 2-го типа. №5, с. 69.

31. Каабак М.М., Горяйнов В.А., Зокоев А.К., Бабенко Н.Н., Вьюнкова Ю.Н., Морозова М.М., Аганесов А.Г., Платова Е.Н., Дымова О.В., Панин В.В. Влияние раннего посттрансплантационного плазмафереза на отдаленные результаты пересадки почек у детей. №6, с. 75.

32. Козловская Н.Л., Коротчаева Ю.В., Боброва Л.А., Шилов Е.М. Акушерский атипичный гемолитико-уремический синдром: первый российский опыт диагностики и лечения. №2, с. 68.

33. Комарова О.В., Цыгин А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Баранов А.А. Скорость прогрессирования хронической болезни почек различной этиологии у детей. №2, с. 53.

34. Крутиков Е.С., Житова В.А. Эффективность метилэтилпиридинола при лечении нефропатии у больных с сахарным диабетом 1-го типа. №5, с. 24.

35. Лапина Е.С., Батюшин М.М. Растворимые рецепторы трансферрина и ферритиновый индекс в оценке метаболизма железа у диализных пациентов. №5, с. 50.

36. Левицкая Е.С., Батюшин М.М., Пасечник Д.Г., Антипова Н.В. Прогнозирование ремоделирования ткани почек с учетом структурных изменений почечных артерий малого диаметра. №5, с. 55.

37. Мамбетова А.М., Инарокова А.М., Шабалова Н.Н. Активность ренин-альдостероновой системы и формирование артериальной гипертензии у больных с врожденным пузырно-мочеточниковым рефлюксом и рефлюкс-нефропатией. №5, с. 30.

38. Мельникова Е.А., Зайцева Е.А., Лучанинова В.Н., Андреева Т.С., Вайсеро Н.С., Семешина О.В. Особенности инфекции мочевой системы у детей, ассоциированной с *Enterococcus faecalis*, с учетом его биологических свойств. №3, с. 42.

39. Милованова Л.Ю., Добросмыслов И.А., Милованов Ю.С. Влияние кетоаналогов незаменимых аминокислот в сочетании с малобелковой диетой на продукцию регуляторов фосфорно-кальциевого обмена – морфогенетических белков: фактора роста фибробластов (fgf-23) и альфа-Клото ( $\alpha$ -klotho) у больных с 3б–4 стадиями хронической болезни почек. №2, с. 81.

40. Набока Ю.Л., Коган М.И., Гудима И.А., Заруцкий С.А., Джалагония К.Т. Есть ли дневные вариации микробиоты мочи у здоровых женщин? №5, с. 36.

41. Нагибович О.А., Китачев К.В., Нагибович Р.О. Острое повреждение почек у больных после выполнения аортобедренных реконструкций: фокус на оперативное вмешательство. №4, с. 72.

42. Нечелоренко Н.В., Савенкова Н.Д., Калинина Н.М. Клинико-иммунологическая характеристика и терапия нефротического синдрома, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией типов 1/2, 4, 5, у детей с атопией. №3, с. 69.

43. Новокшенов К.Ю., Карелина Ю.В., Земченков А.Ю., Герасимчук Р.П., Федотов Ю.Н., Придвижкина Т.С., Черников Р.А., Слепцов И.В., Кислый П.Н., Тимо-

феева Н.И., Чинчук И.К., Успенская А.А., Семенов А.А., Макарьин В.А., Федоров Е.А., Малоогов Ю.Н., Бубнов А.Н. Результаты скрининга на маркеры минеральных и костных нарушений при хронической болезни почек среди диализных пациентов Северо-Западного Федерального округа. №1, с. 36.

44. Панова Л.Д., Чугунова О.Л., Ахметшин Р.З., Галиева Г.М., Климентьева М.М., Ярукова Е.В. Донозологическая диагностика заболеваний почек у новорожденных с инфекционно-воспалительной патологией. №3, с. 48.

45. Румянцев А.Ш., Шишкин А.Н., Минкин С.Р., Шевелева М.А. Особенности кардиоренального континуума у пациентов с метаболическим синдромом. №5, с. 75.

46. Сабодаш А.Б., Казанцева Н.С., Земченков А.Ю., Салихова К.А., Макарова О.В., Земченков Г.А., Скатерникова В.В., Банишевская А.В. Артериальная гипертензия и выживаемость у пациентов на гемодиализе. №4, с. 62.

47. Скворцов А.Е., Логинов И.В., Кукушкин А.А., Ананьев А.Н., Кутенков А.А., Кузьмин Д.О., Дайнеко В.С., Ульянкина И.В., Шиганов М.Ю., Резник О.Н. Доноры с необратимой остановкой сердца: полноценный ресурс реанальной трансплантации. №6, с. 90.

48. Стаценко М.Е., Дервянченко М.В., Шилина Н.Н., Титаренко М.Н., Пастухова О.Р. Функциональное состояние почек у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями и ожирением. №5, с. 43.

49. Столяревич Е.С., Артюхина Л.Ю., Иванова Е.С., Томилина Н.А. Использование комбинированной терапии плазмаферезом, внутривенным человеческим иммуноглобулином и ритуксимабом для лечения хронического отторжения трансплантированной почки. №6, с. 67.

50. Федулкина В.А., Ватазин А.В., Кильдюшевский А.В., Столяревич Е.С., Круглов Е.Е., Кантария Р.О. Протокольная биопсия почечного аллотрансплантата как критерий эффективности экстракорпоральной фотохимиотерапии. №6, с. 57.

51. Фомина Н.В., Егорова М.В. Особенности когнитивных нарушений у пациентов с хронической болезнью почек в зависимости от наличия артериальной гипертензии. №5, с. 62.

52. Хасун М., Каюков И.Г., Галкина О.В., Береснева О.Н., Парастаева М.М., Смирнов А.В. Уромодулин и экскреция ионов у пациентов с гломерулопатиями. №1, с. 51.

53. Чугунова О.Л., Думова С.В., Фоктова А.С., Шумилов П.В., Щербаков А.М. Диагностика и возможности терапевтической коррекции острого повреждения почек у новорожденных различного гестационного возраста. №3, с. 35.

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

### Экспериментальные исследования

54. Долوماتов С.И., Новиков Н.Ю., Клименко П.М., Касич И.Н., Мышко И.В. Влияние продолжительного введения 6-пропил-2-тиоурацила на динамику показателей функционального состояния почек у крыс. №4, с. 98.

55. Зайкова Н.М., Длин В.В., Петрович В.Г., Синицина Л.В., Корсунский А.А., Гацкан Ш.Г. Влияние ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента на уровень

профиброгенных факторов роста в моче и морфологические изменения в паренхиме почек у крыс с инфицированным пузырно-мочеточниковым рефлюксом. №3, с. 85.

56. Каюков И.Г., Иванова Г.Т., Зарайский М.И., Береснева О.Н., Парастаева М.М., Кучер А.Г., Смирнов А.В. Экспрессия микроРНК-21 в почечной ткани и моче у крыс с односторонней обструкцией мочеточника. №5, с. 84.

57. Кокаев Р.И., Брин В.Б. Нефропротекторные эффекты ацизола на фоне токсического действия сульфата кадмия. №5, с. 90.

58. Парастаева М.М., Береснева О.Н., Иванова Г.Т., Швед Н.В., Кучер А.Г., Зубина И.М., Каюков И.Г. Артериальная гипертензия и потребление соли: вклад в ремоделирование сердца. №5, с. 97.

59. Перфильев В.Ю., Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., Черданцева Т.М., Бобров И.П. Успешный опыт моделирования уратной нефропатии у крыс. №4, с. 93.

#### **ЖУРНАЛ В ЖУРНАЛЕ**

##### **Актуальные проблемы урологии**

60. Мосоян М.С., Аль-Шукри С.Х., Ильин Д.М. Пятилетний опыт лечения рака предстательной железы на роботе «Da Vinci». №4, с. 103.

61. Ткачук В.Н., Изиев М.М. Оценка эффективности и безопасности длительной терапии дутастеридом больных с доброкачественной гиперплазией предстательной железы. №1, с. 63.

#### **НАБЛЮДЕНИЯ ИЗ ПРАКТИКИ**

62. Аниконова Л.И., Ряснянский В.Ю., Макарьева Е.Ю., Воробьева О.А. Фокально-сегментарный гломерулосклероз, ассоциированный с хроническим лимфолейкозом: клинический случай и литературный обзор. №6, с. 101.

63. Савенкова Н.Д., Аничкова И.В., Левиашвили Ж.Г., Осипова О.С., Карпова Т.В., Имаева Л.Р., Галиева Г.М., Павлова М.Ю. Генерализованная артериальная кальцификация у младенцев: клиническое наблюдение. №3, с. 96.

#### **ПРОГРАММА НЕПРЕРЫВНОГО ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ ПО НЕФРОЛОГИИ**

64. Борисов В.В., Шилов Е.М. Литолитическая терапия при уратном нефролитиазе (клиническая лекция). №4, с. 107.

65. Васильев А.Н., Михеева Ю.С., Смирнов А.В. Пропедевтика сосудистого доступа для гемодиализа. №1, с. 69.

66. Морозов С.Л., Длин В.В., Гусева Н.Б., Агапов Е.Г. Современные подходы к лечению моносимптомного энуреза у детей. №3, с. 102.

67. Прокопенко Е.И., Ватазин А.В., Щербакова Е.О. Трансплантация почки у пациентов с атипичным гемолитико-уремическим синдромом (лекция). №6, с. 111.

68. Смирнов А.В., Доброзрагов В.А., Румянцев А.Ш., Шилов Е.М., Ватазин А.В., Каюков И.Г., Кучер А.Г., Есаян А.М. Национальные рекомендации. Острое повреждение почек: основные принципы диагностики, профилактики и терапии. Часть I. №1, с. 79.

69. Смирнов А.В., Доброзрагов В.А., Румянцев А.Ш., Шилов Е.М., Ватазин А.В., Каюков И.Г., Кучер А.Г., Есаян А.М. Национальные рекомендации. Острое повреждение почек: основные принципы диагностики, профилактики и терапии. Часть II. №2, с. 86.

#### **ИСТОРИЯ ПЕДИАТРИЧЕСКОЙ НЕФРОЛОГИИ**

70. Папаян К.А., Савенкова Н.Д. Выдающийся педиатр-нефролог, заслуженный деятель науки Российской Федерации Альберт Вазгенович Папаян (к 80-летию со дня рождения). №3, с. 108.

#### **ЮБИЛЕИ**

71. К 80-летию академика РАН Н.А. Мухина. №6, с. 119.

72. К 85-летию члена-корреспондента РАМН и РАЕН, заслуженного деятеля науки России, лауреата Государственной премии СССР, профессора Ирины Евгеньевны Тареевой (1931–2001). №4, с. 113.

73. Юбилей Могели Шалвовича Хубутя. №3, с. 114.

#### **УКАЗАТЕЛИ**

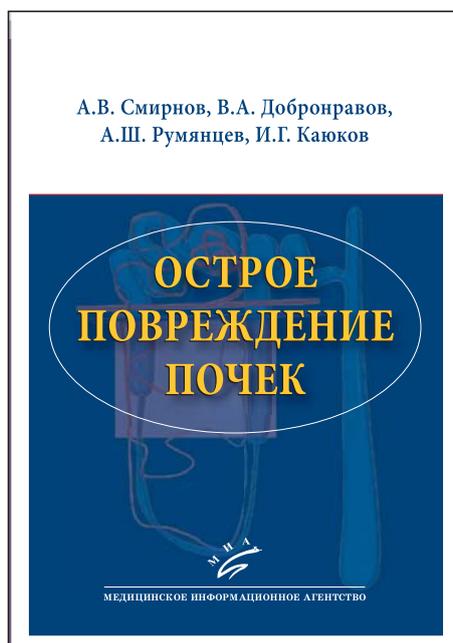
74. Систематизированный порядковый указатель статей, опубликованных в т. 20 журнала «Нефрология» в 2016 г. №6, с. 122.

75. Именной указатель. №6, с. 125.

## ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ (ссылки даны на порядковый указатель)

- Абасеева Т.Ю. 18  
 Абдрашитова Г.Т. 19  
 Аганесов А.Г. 31  
 Агапов Е.Г. 66  
 Алискандиев А.М. 30  
 Аль-Шукри С.Х. 7, 60  
 Ананьев А.Н. 47  
 Ананьин П.В. 20  
 Андреева Т.С. 38  
 Андреева Э.Ф. 21  
 Аниконова Л.И. 62  
 Аничкова И.В. 63  
 Антипова Н.В. 36  
 Артюхина Л.Ю. 49  
 Ахметшин Р.З. 44
- Бабарькина Е.В.** 27  
 Бабенко Н.Н. 31  
 Банишевская А.В. 46  
 Баранов А.А. 33  
 Батюшин М.М. 1, 30, 35, 36  
 Белоусов В.Я. 7  
 Бельмонте Х.К.И. 5  
 Белянин В.В. 11  
 Береснева О.Н. 52, 56, 58  
 Бестаева Т.Л. 26  
 Бобров И.П. 59  
 Боброва Л.А. 32  
 Богданова Е.О. 22  
 Борисов В.В. 64  
 Боровец С.Ю. 7  
 Брзожовская Е.А. 20  
 Брин В.Б. 57  
 Брюханов В.М. 59  
 Бубнов А.Н. 29,43
- Вайсеро Н.С.** 38  
 Васильев А.Н. 65  
 Васильева И.А. 27  
 Васильева М.П. 14  
 Василькова О.Н. 23  
 Ватазин А.В. 8, 9, 17, 24, 50, 67, 68, 69  
 Вашурина Т.В. 20  
 Ветчинникова О.Н. 25  
 Воробьева О.А. 62  
 Вьюнкова Ю.Н. 31
- Галиева Г.М. 44, 63  
 Галкина О.В. 22, 52  
 Гаррета Е. 5  
 Гацкан Ш.Г. 55  
 Герасимчук Р.П. 29, 43
- Гзгзян А.М. 7  
 Горайнов В.А. 31  
 Гудима И.А. 40  
 Гусева Н.Б. 66
- Дайнеко В.С. 47  
 Деревянченко М.В. 48  
 Джалагония К.Т. 40  
 Дзгоева Ф.У. 26  
 Длин В.В. 55, 66  
 Добронравов В.А. 2, 22, 27, 28, 68, 69  
 Добросмыслов И.А. 39  
 Доломатов С.И. 54  
 Думова С.В. 53  
 Дымова О.В. 31
- Егорова Е.А.** 25  
 Егорова М.В. 51  
 Ермоленко В.М. 24  
 Есяян А.М. 24, 68, 69
- Жежа В.В.** 11  
 Житова В.А. 34
- Зайкова Н.М.** 55  
 Зайцева Е.А. 38  
 Зарайский М.И. 56  
 Заруцкий С.А. 40  
 Зверев Д.В. 20  
 Зверев Я.Ф. 12, 59  
 Земченков А.Ю. 24, 29, 43, 46  
 Земченков Г.А. 46  
 Зокоев А.К. 31  
 Зробок О.И. 20  
 Зубина И.М. 22, 58  
 Зубкова И.В. 20  
 Зулькарнаев А.Б. 8
- Ибрагимов В.М.** 30  
 Иванова Г.Т. 56, 58  
 Иванова Е.С. 49  
 Изиев М.М. 61  
 Ильин Д.М. 60  
 Имаева Л.Р. 63  
 Инарокова А.М. 37  
 Ингелфингер Дж. 3
- Каабак М.М.** 31  
 Каган М.Ю. 18  
 Казанцева Н.С. 46  
 Калантар-Заде К. 3  
 Калинина Н.М. 42
- Кантария Р.О. 50  
 Карелина Ю.В. 29, 43  
 Карпова Т.В. 63  
 Касич И.Н. 54  
 Каюков И.Г. 52, 56, 58, 68, 69  
 Кильдюшевский А.В. 9, 17, 50  
 Кислый П.Н. 43  
 Китачев К.В. 41  
 Клименко П.М. 54  
 Климентьева М.М. 44  
 Коган М.И. 40  
 Козловская Н.Л. 32  
 Кокаев Р.И. 57  
 Комарова О.В. 20, 33  
 Коротчаева Ю.В. 32  
 Корсунский А.А. 55  
 Костинов М.П. 10  
 Круглов Е.Е. 50  
 Крутиков Е.С. 34  
 Кузьмин Д.О. 47  
 Кузьмин О.Б. 11  
 Кукушкин А.А. 47  
 Куприенко Н.Б. 16  
 Кутенков А.А. 47  
 Кутырина И.М. 14  
 Кучер А.Г. 56, 58, 68, 69  
 Кцоева С.А. 26
- Ландарь Л.Н.** 11  
 Лапина Е.С. 35  
 Латышев Д.Ю. 12  
 Левиашвили Ж.Г. 63  
 Левицкая Е.С. 36  
 Лобанов Ю.Ф. 12  
 Логинов И.В. 47  
 Лучанинова В.Н. 38
- Макарова О.В.** 46  
 Макарьева Е.Ю. 62  
 Макарьин В.А. 43  
 Малюгов Ю.Н. 43  
 Мамбетова А.М. 37  
 Марченко С.П. 15  
 Мельникова Е.А. 38  
 Мершер С. 4  
 Милованов Ю.С. 39  
 Милованова Л.Ю. 39  
 Минкин С.Р. 45  
 Михайлова Н.А. 24  
 Михеева Н.М. 12  
 Михеева Ю.С. 65  
 Монтсеррат Н. 5  
 Моргунов Л.Ю. 24

- Морозов С.Л. 66  
 Морозова М.М. 31  
 Мосоян М.С. 60  
 Мохорт Т.В. 23  
 Музуров А.Л. 20  
 Мухаметдинова А.О. 28  
 Мухин Н.А. (о нём). 71  
 Мышко И.В. 54
- Набока Ю.Л.** 40  
 Нагибович О.А. 41  
 Нагибович Р.О. 41  
 Намазова-Баранова Л.С. 33  
 Науменко Е.П. 23  
 Наумов А.Б. 15  
 Нечепоренко Н.В. 42  
 Новиков Н.Ю. 54  
 Новокшенов К.Ю. 29, 43
- Орлова О.М.** 18  
 Осипова О.С. 63
- Павлова М.Ю.** 63  
 Панин В.В. 31  
 Панкратенко Т.Е. 18, 20  
 Панова Л.Д. 44  
 Папаян К.А. 6, 70  
 Папаян Л.П. 6  
 Парастаева М.М. 52, 56, 58  
 Пасечник Д.Г. 1, 36  
 Пастухова О.Р. 48  
 Перфильев В.Ю. 59  
 Петрович В.Г. 55  
 Петросян Э.К. 13  
 Платова Е.Н. 31  
 Придвижкина Т.С. 43  
 Прокопенко Е.И. 67  
 Пчелин И.Ю. 23
- Резник О.Н.** 47  
 Руденко Т.Е. 14  
 Румянцев А.Ш. 45, 68, 69  
 Руснак Ф.И. 10  
 Ряснянский В.Ю. 62
- Сабодаш А.Б. 46  
 Савенкова Н.Д. 15, 42, 63, 70  
 Савенкова Н.Д. 70  
 Сагеева Р.О. 26  
 Саламова Э.Э. 26  
 Салихова К.А. 46  
 Самсонов М.Ю. 24  
 Сарвилина И.В. 30  
 Селиверстова А.А. 15  
 Семенов А.А. 29, 43  
 Семешина О.В. 38  
 Серпик В.Г. 19  
 Синицина Л.В. 55
- Сиповский В.Г. 28  
 Скатерникова В.В. 46  
 Скворцов А.Е. 47  
 Слепцов И.В. 29, 43  
 Смирнов А.В. 52, 56, 65, 68, 69  
 Смирнова Н.Н. 16  
 Смоляков А.А. 24  
 Соломахина Н.И. 14  
 Сопоев М.Ю. 26  
 Стаценко М.Е. 48  
 Столяревич Е.С. 49, 50
- Тареева И.Е. (о ней)** 72  
 Текутьева Н.А. 12  
 Тимофеева Н.И. 43  
 Титаренко М.Н. 48  
 Ткачук В.Н. 61  
 Толстова Е.М. 18  
 Томилина Н.А. 49  
 Торопов В.А. 7
- Ульянкина И.В. 47  
 Успенская А.А. 43
- Фаенко А.П.** 17  
 Фаенко А.П. 9  
 Федоров Е.А. 43  
 Федотов Ю.Н. 29, 43  
 Федулкина В.А. 9, 17, 50  
 Фоктова А.С. 53  
 Фомина Н.В. 51  
 Форнони А. 4
- Хамицаева О.В. 26  
 Хасун М. 52  
 Хозяинова Н.Ю. 24  
 Храброва М.С. 28  
 Хубутия М.Ш. (о нём) 73  
 Худякова Н.В. 23
- Цыгин А.Н.** 20, 33
- Черданцева Т.М.** 59  
 Черников Р.А. 29, 43  
 Чинчук И.К. 43  
 Чугунова О.Л. 44, 53
- Шабалова Н.Н.** 37  
 Швед Н.В. 58  
 Шевелева М.А. 45  
 Шестеро Е.В. 25  
 Шефер Ф. 3  
 Шиганов М.Ю. 47  
 Шилина Н.Н. 48  
 Шилов Е.М. 19, 24, 32, 64, 68, 69  
 Шишкин А.Н. 45  
 Шпикалова И.Ю. 18  
 Шумилов П.В. 53
- Щербаков А.М.** 53  
 Щербакова Е.О. 67
- Эмирова Х.М. 18
- Ягудина Р.И.** 19  
 Ярукова Е.В. 44



<b>Глава 1.</b>	<b>Концепция, классификации, эпидемиология ОПП</b>	
	<i>(И.Г. Каюков, А.В. Смирнов)</i> .....	11
	1.1. Концептуальные проблемы ОПП.....	11
	1.2. Эпидемиология ОПП.....	21
	1.3. Исходы и прогноз ОПП.....	24
	Литература.....	27
<b>Глава 2.</b>	<b>Обзор патофизиологии острого повреждения почек</b>	
	<i>(В.А. Добронравов)</i> .....	30
	2.1. Факторы, определяющие клубочковую фильтрацию.....	31
	2.2. Преренальное ОПП (преренальная азотемия).....	35
	2.3. Тубулярный некроз.....	40
	2.3.1. Механизмы ишемического повреждения тубулярного эпителия (ишемический тубулярный некроз).....	40
	2.3.2. Механизмы токсического повреждения тубулярного эпителия ОПП (токсический тубулярный некроз).....	52
	2.3.3. Пигментный острый тубулярный некроз.....	59
	2.3.4. Повреждение и регенерационные процессы при тубулярном некрозе.....	63
	2.4. Механизмы ОПП при повреждении клубочка (гломерулярное ОПП).....	65
	2.4.1. ОПП при воспалительном поражении клубочков.....	65
	2.4.2. ОПП при тромботической микроангиопатии.....	68
	2.5. ОПП на фоне интерстициального воспаления (острый интерстициальный нефрит).....	71
	2.6. Обструкция оттока мочи как причина ОПП.....	74
	Литература.....	76

А.В. Смирнов, В.А. Добронравов, А.Ш. Румянцев, И.Г. Каюков  
ОСТРОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ПОЧЕК

<b>Глава 3.</b>	<b>Клиника и диагностика острого повреждения почек</b>	
	(А.В. Смирнов).....	80
3.1.	Методологические принципы клинической диагностики острого повреждения почек. Концепция континуума клинической диагностики .....	80
3.2.	Предиктивная диагностика острого повреждения почек .....	84
3.2.1.	Клиническая эпидемиология вне- и внутрибольничного острого повреждения почек.....	84
3.2.2.	Факторы риска и ассоциированные состояния при остром повреждении почек.....	87
3.2.3.	Значение биомаркеров в предиктивной диагностике острого повреждения почек (Я.Ю. Пролетов, Е.С. Саганова, О.В. Галкина) .....	94
3.3.	Презентационная диагностика острого повреждения почек .....	106
3.3.1.	Варианты клинической презентации острого повреждения почек.....	107
3.3.2.	Семиологическая дифференциальная диагностика симптома олиго-/анурии.....	110
3.3.3.	Диагностика неолитургических вариантов острого повреждения почек. Дифференциальная диагностика ОПП и ХБП.....	147
3.3.4.	Клиническое течение, осложнения и прогноз острого повреждения почек.....	149
	Литература.....	194
<b>Глава 4.</b>	<b>Клинические синдромы острого повреждения почек</b>	
	(А.В. Смирнов).....	207
4.1.	Клинические синдромы гипоперфузии почек.....	207
4.1.1.	Патогенетические факторы гипоперфузии почек. Понятие о шоке.....	207
4.1.2.	Гиповолемический синдром.....	217
4.1.3.	Кардиоренальные синдромы .....	228
4.1.4.	Синдром интраабдоминальной гипертензии .....	238
4.1.5.	Гепаторенальный синдром (А.Ш. Румянцев).....	242
4.1.6.	Острый макроваскулярный синдром .....	252
4.1.7.	Острый ишемический тубулярный некроз и острый кортикальный некроз .....	254
4.2.	Гломерулярные синдромы при остром повреждении почек .....	255
4.2.1.	Острый и быстро прогрессирующий нефритический синдромы.....	256
4.2.2.	Острый микроваскулярный синдром.....	267
4.3.	Тубулоинтерстициальные синдромы острого повреждения почек .....	280
4.3.1.	Клинико-морфологические корреляции при поражении тубулоинтерстиция .....	280
4.3.2.	Синдром острого токсического тубулярного некроза .....	283
4.3.3.	Острый гем-пигментный синдром .....	286
4.3.4.	Острый тубулоинтерстициальный нефритический синдром.....	295
	Литература.....	298

А.В. Смирнов, В.А. Добронравов, А.Ш. Румянцев, И.Г. Каюков  
ОСТРОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ПОЧЕК

<b>Глава 5. Общие принципы лечения и профилактики ОПП (А.Ш. Румянцев)</b> .....	305
5.1. Профилактика ОПП.....	305
5.2. Лечение преренального ОПП.....	320
5.3. Лечение ренального ОПП.....	329
5.4. Лечение постренального ОПП.....	333
5.5. Нутритивная поддержка при ОПП.....	334
5.6. Заместительная почечная терапия при ОПП.....	339
5.7. Перспективы профилактики и лечения ОПП.....	350
Литература.....	352
<b>Глава 6. Частные вопросы диагностики и лечения острого повреждения почек</b> .....	357
6.1. Особенности острого повреждения почек у детей (Н.Д. Савенкова, М.А. Чемоданова).....	357
6.1.1. Терминология и классификация ОПП у детей.....	357
6.1.2. Эпидемиология ОПП у детей.....	359
6.1.3. Этиология ОПП у детей.....	359
6.1.4. Диагностика ОПП у детей.....	361
6.1.5. Степени тяжести ОПП у детей.....	364
6.1.6. Терапия ОПП у детей.....	365
6.1.7. Прогноз и исход ОПП у детей.....	368
Литература.....	370
6.2. Профилактика и лечение ОПП при сепсисе (А.Ш. Румянцев).....	371
6.2.1. Эпидемиология и определение термина сепсис.....	371
6.2.2. Патогенез ОПП при сепсисе.....	373
6.2.3. Профилактика сепсиса.....	378
6.2.4. Профилактика и лечение ОПП при сепсисе.....	379
Литература.....	383
6.3. Профилактика и лечение ОПП при ожоговой болезни (А.Ш. Румянцев).....	383
6.3.1. Ожоги и ожоговая болезнь.....	383
6.3.2. Патогенез ОПП при ожоговой болезни.....	387
6.3.3. Лечение ожоговой болезни.....	388
Литература.....	392
6.4. Контраст-индуцированное ОПП (И.Г. Каюков, А.Ш. Румянцев).....	393
6.4.1. Терминология и определения.....	393
6.4.2. Этиопатогенез.....	394
6.4.3. Эпидемиология.....	395
6.4.4. Клиника и диагностика.....	396
6.4.5. Профилактика и лечение.....	397
6.4.6. Заключение.....	411
Литература.....	412
6.5. Острое повреждение почек при лептоспирозе (Т.В. Антонова, И.Г. Каюков).....	415
Литература.....	428
6.6. Острое повреждение почек при хантавирусных инфекциях (И.Г. Каюков, Т.В. Антонова).....	430
Литература.....	444
6.7. Острое повреждение почек после трансплантации гемопозитических стволовых клеток (К.А. Смирнов).....	446
Литература.....	467
Приложение (О.В. Галкина, И.Г. Каюков).....	472

Журнал «Нефрология» публикует сообщения по актуальным вопросам клинической и экспериментальной нефрологии и смежных областей (физиология и патология водно-солевого гомеостаза, состояние почек при других заболеваниях и т.д.). Кроме того, в каждом номере представлен раздел «Журнал в журнале», в котором публикуются сообщения по актуальным проблемам урологии и гериатрической нефрологии. С 2013 г. журнал издается в шести номерах. Три номера журнала – тематические:

№2 представляет материалы к Всемирному Дню Почки (выпускающий редактор д-р мед. наук профессор Бобкова Ирина Николаевна):

в №3 размещаются публикации нефрологов-педиатров (выпускающий редактор д-р мед. наук профессор Савенкова Надежда Дмитриевна);

в №5 – публикации нефрологов Южного и Северо-Кавказского Федеральных округов РФ (выпускающий редактор д-р мед. наук профессор Батюшин Михаил Михайлович).

Журнал представляет информацию в следующем виде:

- Передовые статьи
- Обзоры и лекции
- Оригинальные статьи
- Краткие сообщения
- Наблюдения из практики
- Методические сообщения

Дискуссия и информация (дискуссионные статьи, рецензии, письма в редакцию, сообщения о планах проведения конференций, симпозиумов, съездов нефрологов в России и за рубежом, отчеты о них, аннотации новых книг по нефрологии и т.д.)

Материалы для последипломного образования по нефрологии

- Официальные документы
- Юбилей
- Реклама

В разделе «Передовые статьи» публикуются работы, имеющие, по мнению Редакции, важное научно-практическое или теоретическое значение.

Все представляемые материалы рецензируются и обсуждаются Редакционной Коллегией.

К публикации в журнале принимаются оригинальные статьи, выполненные на современном методическом и методологическом уровне, с соблюдением «Этических принципов проведения научных медицинских исследований с участием человека» и в соответствии с «Правилами клинической практики в Российской Федерации», все упомянутые в работе люди должны дать информированное согласие на участие в исследовании. Научно-исследовательские проекты, требующие использования экспериментальных животных, должны выполняться с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Все медикаменты и изделия медицинского назна-

чения, используемые в исследованиях, должны иметь соответствующую регистрацию и сертификаты.

При публикации результатов клинического исследования (научное исследование с участием людей, которое проводится с целью оценки эффективности и безопасности лекарственного препарата) необходимо указание на разрешение соответствующего этического комитета.

Средний срок публикации от момента получения рукописи составляет не менее 6 месяцев. Как правило, статьи, направленные в журнал, публикуются в порядке поступления в Редакцию. При прочих равных условиях подписчики (по предоставлению ксерокопии подписного абонемента) имеют право на первоочередное размещение материалов. При этом преимущество отдается подписчикам журнала, являющимся докторантами, аспирантами или соискателям. Также вне очереди могут быть опубликованы статьи, подготовленные по заказу Редакции журнала «Нефрология» или по индивидуальной договоренности с редакцией журнала «Нефрология» на платной основе.

**Общие правила.** Рукопись статьи должна быть представлена зав. редакцией Карунной Анне Викторовне в двух экземплярах, напечатанной шрифтом не менее 12-го кегля через 2 интервала на одной стороне белой бумаги формата А4 (210×295 мм) с полями в 2,5 см по обе стороны текста, продублирована на электронном носителе или дополнительно прислана по электронной почте. Допустимо направление рукописей только по электронной почте (journal@nephrolog.ru). Однако каждый такой случай должен быть предварительно согласован с Редакцией.

**Рукопись статьи должна включать В ОДНОМ ФАЙЛЕ:** 1) титульный лист на русском и английском языках; 2) реферат на русском и английском языках; 3) ключевые слова на русском и английском языках; 4) текст статьи; 5) таблицы; 6) иллюстрации; 7) подписи к иллюстрациям; 8) библиографический список; 9) сведения о конфликте интересов; 10) сведения о каждом из авторов (аффилиацию).

**Титульный лист должен содержать на русском и английском языках:** 1) фамилию, имя, отчество всех авторов (полностью); 2) название статьи, которое должно быть информативным, достаточно кратким и соответствовать ее содержанию; 3) полное название учреждения и подразделения (кафедры, лаборатории и т.д.), где работает каждый из авторов. Аббревиатуры, например, НИИ, ПСПбГМУ и т.д. недопустимы; 4) контактные данные (страна, почтовый адрес учреждения с индексом, подразделение, должность, адрес электронной почты, телефон).

Сведения об авторах необходимо приводить в соответствии со следующим образцом:

### **Сведения об авторах:**

Проф. Кротов Михаил Петрович

Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, кафедра пропедевтики внутренних болезней, профессор. Тел.: +7(812) 346-39-26, E-mail: krotov@mail.ru

Prof. Mikhail P. Krotov MD, PhD, DMedSci.

Affiliations: Russia, 197022 Saint-Petersburg, L. Tolstoy str., 17, build. 54, First Pavlov Saint-Petersburg State Medical University, Department of Propedeutics of Internal Diseases, professor. Phone +7(812) 346-39-26, E-mail krotov@mail.ru

Доц. Сергеев Роман Викторович, канд. мед. наук

Россия, 198125, Санкт-Петербург, Наб. реки Фонтанки, д.154. Северо-Западный региональный эндокринологический центр Санкт-Петербургского многопрофильного центра, отделение гемодиализа, руководитель. Тел.: +7 (812) 676-25-13, E-mail: yaddd@yandex.ru.

Associate prof. Roman V.Chernikov MD, PhD.

Affiliations: Russia 198125, Saint-Petersburg, Emb. Fontanka river, 154. Northern-Western regional endocrine center of Saint-Petersburg multidisciplinary center Hemodialysis unit, chair. Phone: +7(812)6793597 E-mail: serg@mail.ru.

Следует указать, с кем из авторов Редакция и читатели могут вести переписку. Поскольку информация о контактном лице размещается в журнале, не рекомендуется указывать домашние адреса.

*Реферат* оригинальной статьи должен быть структурированным и *включать пять обязательных рубрик*: а) введение; б) цель исследования; в) пациенты и методы (материал и методы – для экспериментальных работ); г) результаты; д) заключение. Реферат должен быть информативным, соответствовать содержанию статьи и составлять не более 200–250 слов. После реферата размещаются *«ключевые слова»* (от 3 до 10 слов), способствующие индексированию статьи в информационно-поисковых системах.

*Текст оригинальной статьи должен иметь следующую структуру:*

**Введение.** В нем кратко освещается состояние вопроса со ссылками на наиболее значимые публикации, формулируются необходимость проведения исследования и его цель.

**Пациенты и методы (материал и методы – для экспериментальных работ).** Приводятся количественные и качественные характеристики больных или других объектов исследования (здоровые люди, экспериментальные животные, патологоанатомический материал и т.д.). Упоминаются все методы исследований, применявшиеся в работе, включая методы статистического анализа данных. При упоминании аппаратуры, лекарственных препаратов, компьютерных программ в скобках необходимо указать производителя и страну.

Дается подробное описание статистических методов исследования: название пакета прикладных статистических программ (компания, страна-производитель); в каком виде представлены центральные тенденции в зависимости от вида распределения показателей; какие использованы критерии при использовании количественных и качественных показателей; какие критерии использованы для оценки силы взаимосвязи между показателями; какие многомерные методы исследования применяли; критерий отклонения нулевой статистической гипотезы.

**Результаты.** Следует представлять в логической последовательности в тексте, таблицах и на рисунках. В тексте не следует повторять все данные из таблиц и рисунков, надо упоминать только наиболее важные из них. В рисунках не следует дублировать данные, приведенные в таблицах. Величины измерений должны соответствовать Международной системе единиц (СИ), за исключением показателей, традиционно измеряемых в других единицах. Рисунки и таблицы размещаются в тексте статьи в месте их первого упоминания.

**Обсуждение.** Следует выделить новые и важные аспекты результатов исследования и по возможности сопоставить их с литературными данными, не следует повторять сведения, уже приводившиеся в разделе «Введение», и подробные данные из раздела «Результаты».

**Заключение** должно кратко суммировать основные итоги работы. В этот раздел можно включить обоснованные рекомендации.

**Объединение рубрик (например «Результаты и обсуждение») недопустимо! Подобные статьи не рассматриваются и не рецензируются.**

**Тексты и рубрикация, а также рефераты обзоров, лекций, дискуссионных статей, наблюдений из практики, методических сообщений могут быть произвольными.**

При упоминании фамилий отдельных авторов в тексте им должны предшествовать инициалы (инициалы и фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транскрипции). Если статья написана более чем двумя авторами, в тексте указывают инициалы и фамилию только первого автора, после которой следует «и соавт.».

В тексте статьи библиографические ссылки даются арабскими цифрами в квадратных скобках. **В библиографический список не рекомендуется включать ссылки на диссертационные работы**, так как подробное ознакомление с ними затруднительно и основные результаты должны быть представлены в открытой печати в виде журнальных статей.

**Таблицы.** Таблицы располагаются в тексте статьи в месте первого упоминания. Каждая таблица печатается через два интервала и должна иметь название и порядковый номер соответственно первому упоминанию ее в тексте. Каждый столбец в таблице должен иметь краткий заголовок (можно использовать аббревиатуры). Все разъяснения, включая расшифровку аббревиатур, надо размещать в сносках. Необходимо всегда указывать в каком виде представлены в таблице центральные тенденции (средняя арифметическая±ошибка средней и т.п.), величину показателя статистической значимости.

*При наборе таблиц не надо использовать символы, имитирующие линейки (псевдографику, дефис, символ подчеркивания).*

**Иллюстрации** (рисунки, схемы, диаграммы) располагаются в тексте статьи в месте первого упоминания. Они должны быть представлены в электронном виде в формате \*TIF, \*JPG, а фотографии – только в

формате \*TIF. Рисунки не должны быть перегружены текстовыми надписями.

Иллюстрации, как правило, публикуются в черно-белом варианте. *Иллюстрации могут быть опубликованы в цветном формате только за счет авторов.* Авторы, желающие разместить иллюстрации в таком виде, должны предварительно согласовать вопрос с Редакцией.

Подписи к иллюстрациям печатаются через 2 интервала с нумерацией арабскими цифрами, соответствующей номерам рисунков. Подпись к каждому рисунку состоит из его названия и «легенды» (объяснения частей рисунка, символов: стрелок и других его деталей). В подписях к микрофотографиям надо указывать степень увеличения, способ окраски или импрегнации.

**Источник финансирования.** Приводятся данные об источнике финансирования (если имеется). Например, «Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 97-04-49434 и 00-04-49548)».

**Конфликт интересов.** В соответствии с рекомендациями Международного комитета редакторов медицинских журналов [International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: writing and editing for biomedical publication. URL:<http://www.icmje.org/index.html> (Updated April 2010)] конфликт интересов, касающийся конкретной рукописи, возникает в том случае, если один из участников процесса рецензирования или публикации – автор, рецензент или редактор имеет обязательства, которые могли бы повлиять на его или ее мнение (даже если это и не происходит на самом деле). Финансовые отношения (например, связанные с приемом на работу, консультациями, владением акциями, выплатой гонораров и заключениями экспертов), прямые или через близких родственников – наиболее частая причина возникновения конфликта интересов. Тем не менее, возможны и другие причины: личные отношения, научное соперничество и интеллектуальные пристрастия.

Доверие общественности к процессу рецензирования и достоверности публикуемых статей частично зависит от того, насколько успешно проблема конфликта интересов решалась во время их написания, рецензирования и редактирования. Предвзятость в статье часто можно выявить и устранить при тщательном изучении использованных научных методов и выводов. Предвзятость, связанную с финансовыми отношениями и их влияниями, выявить гораздо труднее. Участники процесса рецензирования и публикации должны сообщать о наличии конфликта интересов. Эта информация должна быть доступной, чтобы можно было оценить степень влияния этого конфликта на содержание статьи.

#### **Выражение признательности**

После раздела «Заключение» автор (авторы) могут выразить признательность за научную или техническую помощь в создании статьи;

поблагодарить за предоставленную финансовую и материальную поддержку с указанием ее характера;

раскрыть финансовые отношения, которые могут

повлечь за собой «конфликт интересов» (см. «Конфликт интересов»).

В этом разделе могут быть названы лица, внесшие интеллектуальный вклад в написание статьи (с указанием их роли или характера вклада), который, однако, не был достаточным для включения их в число авторов. Характеристика может быть, например, следующей: «научный консультант», «рецензирование проекта исследования», «участие в сборе данных» или «участие в клиническом исследовании». Такие лица должны дать письменное согласие на обнародование своих имен. Авторы несут ответственность за его получение, так как читатели могут сделать заключение об одобрении этими людьми представленных данных или выводов статьи.

**Библиографический список** печатается через 2 интервала, каждый источник с новой строки под порядковым номером. *В списке все работы перечисляются в порядке цитирования (ссылок на них в тексте), а не по алфавиту фамилий первых авторов.* Нежелательно включать в библиографический список авторефераты кандидатских и докторских диссертаций, а также тезисы докладов. Библиографический список должен содержать в основном ссылки на публикации не старше 5 лет. Приветствуются ссылки на статьи в журнале «Нефрология». Число ссылок на любые публикации старше 10 лет не может превышать 20% от библиографического списка. Порядок составления библиографического списка следующий: а) фамилия (и) и инициалы автора (ов) книги или статьи; б) название книги или статьи; в) выходные данные; г) цифровой индекс doi (при наличии). При авторском коллективе до 4 человек включительно упоминаются все авторы (с инициалами после фамилии). При больших авторских коллективах упоминаются три первых автора и добавляется «и др.» (в зарубежных источниках – «et al.»). В некоторых случаях, когда в качестве авторов книг выступают их редакторы или составители, после фамилии последнего из них в скобках следует ставить «ред.» (в иностранных ссылках – «ed.»). Точки между и после инициалов авторов (за исключением последнего) не ставятся.

В библиографическом описании книги (после названия) приводятся название издательства, город, год издания (все через запятую), после точки с запятой – номера страниц, на которые конкретно ссылается автор. Если ссылка дается на главу из книги, сначала упоминаются авторы и название главы, после точки – с заглавной буквы ставится «В:» («In:») и фамилия(и) автора(ов) или выступающего в его качестве редактора, затем название книги и ее выходные данные. Название книги выделяется курсивом.

В библиографическом описании статьи из журнала (после ее названия) приводится сокращенное название журнала (курсивом) и год издания (между ними знак препинания не ставится), затем после точки с запятой – № тома, в скобках № журнала), после двоеточия помещаются цифры первой и последней (через тире) страниц. В описаниях статей из журналов, имеющих сквозную нумерацию страниц на протяжении тома,

указание номера журнала необязательно. С 2013 г. в библиографическом списке после русскоязычного источника в квадратных скобках приводится его транслитерация. Для облегчения подобной работы можно использовать любую программу транслитерации, например Punto Switcher (скачать новую версию бесплатной программы можно по адресу <http://punto.yandex.ru/win/release>).

Названия отечественных журналов в библиографическом списке следует приводить в общепринятых сокращениях, иностранных – в принятых в PubMed.

В библиографическом описании сборников трудов научных форумов приводятся фамилии и инициалы авторов, название работы, название издания (тезисы, материалы, труды и т.д. – курсивом), в скобках – место и точная дата проведения форума, место и год издания трудов форума, номера страниц.

Цитируемая в библиографическом списке ссылка должна завершаться цифровым идентификатором объекта (doi). Это касается всех публикаций на иностранных языках, так как пока не все издания в РФ снабжают статьи цифровым идентификатором объекта.

Точки в конце описания библиографического источника не ставятся.

#### Примеры:

#### КНИГИ

1. Волошин АИ, Субботин ЮК. *Болезнь и здоровье: две стороны приспособления*. Медицина, М., 1998; 5–17 [Voloshin AI, Subbotin JuK. *Bolezn' i zdorov'e: dve storony prisposoblenija*. Medicina, M., 1998; 5–17]

2. Ноздрачев АД. *Функциональная морфология сердечно-сосудистой системы*. В: Чазов ЕИ, ред. *Болезни органов кровообращения*. Медицина, М., 1997; 8–89 [Nozdrachev AD. *Funkcional'naja morfologija serdechno-sosudistoj sistemy*. V: Chazov EI, red. *Bolezni organov krovoobrashhenija*. Medicina, M., 1997; 8–89].

3. Ringsven MK, Bond D. *Gerontology and leadership skills for nurses*, 2nd ed. Delmar Publishers, Albany (N.Y.), 1996; 44–50

4. Phillips SY, Whisnant YP. Hypertension and stroke. In: Laragh YH, Brenner BM, eds. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management*, 2nd ed. Raven Press, New York, 1996; 465–478

#### ЖУРНАЛЫ

1. Шестакова МВ, Чугунова ЛА, Шамхалова МШ и др. *Диабетическая нефропатия: факторы риска быстрого прогрессирования почечной недостаточности*. *Тер арх* 1999; (6): 45–49 [Shestakova MV, Chugunova LA, Shamhalova MSh i dr. *Diabeticheskaja nefropatija: faktory riska bystrogo progressirovanija pochechnoj nedostatochnosti*. *Ter arh* 1999; (6): 45–49]

2. Suissa S, Kezouh A, Ernst P. *Inhaled corticosteroids and the risks of diabetes onset and progression*. *Am J Med*. 2010;123(11):1001–1006. doi: 10.1016/j.amjmed.2010.06.019

3. Volpe M1, Savoia C. *New treatment options in the management of hypertension: appraising the potential role of azilsartan medoxomil*. *Integr Blood Press Control*. 2012;5:19–25. doi: 10.2147/IBPC.S13784

#### СБОРНИКИ ТРУДОВ НАУЧНЫХ ФОРУМОВ

1. Трапезникова МФ, Дутов ВВ, Базаев ВВ и др. «Идеальное» дренирование верхних мочевых путей при лечении мочекаменной болезни. *Материалы Первого Российского конгресса по эндоурологии* (Москва, 4–6 июня 2008 г.). М., 2008; 265–266 [Trapeznikova MF, Dutov VV, Bazaev VV i dr. «Ideal'noe» drenirovanie verhnih mochevyh putej pri lechenii mochekamennoj bolezni. *Materialy Pervogo Rossijskogo kongressa po jendourologii* (Moskva, 4–6 ijunja 2008). M., 2008; 265–266].

*К статье должно быть приложено официальное направление учреждения, в котором проведена работа (его образец в электронном виде доступен на сайте журнала «Нефрология» <http://journal.nephrolog.ru>)*. На первой странице статьи должны быть виза и подпись научного руководителя, заверенная круглой печатью учреждения. На последней странице статьи должны быть подписи всех авторов.

Ставя свою подпись, каждый автор тем самым передает права на издание своей статьи журналу «Нефрология».

Редакция может потребовать копию разрешения соответствующего этического комитета на проведение работы, результаты которой стали основой для статьи.

При направлении статьи только по электронной почте страницы, требующие подписей, печатей, разрешительных виз, должны быть сканированы с оригинала и в таком виде представлены в Редакцию.

Объем оригинальной статьи, как правило, не должен превышать 10–15 машинописных страниц, кратких сообщений и заметок из практики – 6–8 страниц, лекций и обзоров – 20–25 страниц.

Редакция оставляет за собой право сокращать и редактировать статьи, не изменяя их смысла.

Статьи, ранее опубликованные или направленные в другой журнал или сборник, не принимаются.

Работы, оформленные не в соответствии с указанными правилами, возвращаются авторам без рассмотрения.

Редакция не предоставляет бесплатный экземпляр журнала автору/авторам публикации.

Авторские гонорары журнал не выплачивает. При соблюдении всех вышеперечисленных правил публикация статьи в журнале «Нефрология» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях:

1. За публикацию цветных иллюстраций.
2. При большом количестве иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций).
3. За публикацию статей, носящих рекламный характер.

#### Авторское право

Редакция рецензирует, редактирует и публикует переданные авторами материалы. Авторское право на конкретную статью принадлежит авторам статьи. Автор передает, а Редакция принимает авторские материалы на следующих условиях:

1. Редакции передается право на оформление, издание, передачу журнала с опубликованным материалом

автора для целей реферирования статей из него в Реферативном журнале ВИНТИ, РНИЦ и Базах данных, распространение журнала/авторских материалов в печатных и электронных изданиях, включая размещение на выбранных либо созданных Редакцией сайтах в сети Интернет в целях доступа к публикации любого заинтересованного лица из любого места и в любое время, а также на распространение журнала с опубликованным материалом автора (авторов) по подписке.

2. Редакции передается право на переработку материалов (создание на его основе нового, творчески самостоятельного произведения) и право на внесение изменений в материалы, не представляющие собой их переработку, а также право на публичное использование материалов и демонстрацию их в информационных, рекламных и прочих целях. При этом каждый экземпляр материалов должен содержать ссылку на автора (авторов).

3. Редакции передается право на воспроизведение (опубликование, обнародование, дублирование, тиражирование или иное размножение материалов) без ограничения тиража экземпляров. При этом каждый экземпляр материалов должен содержать ссылку на автора (авторов).

4. Редакции передается право сублицензионных соглашений в пределах тех прав и способов, которые указаны в настоящих Правилах, на весь срок действия исключительных прав без предварительного уведомления и без выплаты автору вознаграждения.

5. Журнал обязуется соблюдать предусмотренные действующим законодательством авторские права, права автора (авторов), а также осуществлять их защиту и принимать все возможные меры для предупреждения нарушения авторских прав третьими лицами.

6. Редакция вправе по своему усмотрению без каких-либо согласований с автором заключать договоры и соглашения с третьими лицами, направленные на дополнительные меры по защите авторских и издательских прав.

7. Автор (авторы) подтверждает бессрочное право Редакции на продолжение размещения авторского материала в сети Интернет.

8. Автор (авторы) гарантирует наличие у него исключительных прав на использование переданного журналу «Нефрология» материала. В случае предъявления к журналу «Нефрология» требований третьими лицами, касающиеся нарушений их личных неимущественных и имущественных прав в отношении указанного материала, автор обязуется возместить журналу «Нефрология» понесенные убытки, связанные с такими требованиями третьих лиц.

9. Автор (авторы) передает права журналу на основе неисключительной лицензии.

10. При перепечатке статьи или ее части ссылка на первую публикацию в журнале обязательна.

11. Допускается использование материалов всеми

перечисленными способами на территории РФ, а также за ее пределами.

12. Направляя рукопись в журнал «Нефрология», автор (авторы) тем самым соглашаются на передачу авторских прав в объеме и на условиях, изложенных в Правилах для авторов журнала «Нефрология». Права на материал считаются переданными журналу «Нефрология» с момента подписания в печать номера журнала, в котором он публикуется.

13. В том случае, когда автор (авторы) выступает в качестве исключительного правообладателя, а статья носит проблемный или аналитический характер и в ней не представлены материалы конкретного лечебного учреждения, с редакцией журнала «Нефрология» должен быть заключен договор, заверенный личной подписью автора (авторов) и отправленный в редакцию журнала на почтовый адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 17, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, корп. 54, журнал «Нефрология». Текст договора размещен на сайте журнала «Нефрология».

*Направление автором (авторами) материалов в журнал «Нефрология» для публикации считается согласием автора (авторов) на передачу журналу прав, перечисленных выше.*

Рецензирование и редактирование

Все статьи, поступившие в Редакцию, проходят рецензирование независимыми экспертами. Оригиналы рецензий хранятся в Редакции и предоставляются по запросам Экспертных советов ВАК.

Если в рецензии имеется указание на необходимость исправления статьи, то она направляется автору (авторам) на доработку. В этом случае датой поступления в Редакцию считается дата возвращения доработанной статьи.

Статья, направленная автору (авторам) на доработку, должна быть возвращена в исправленном виде в максимально короткие сроки по электронной почте. К переработанной рукописи необходимо приложить письмо от авторов, содержащее ответы на все замечания и поясняющее все изменения, сделанные в статье. Доработанная статья при необходимости повторно направляется на рецензирование. Статья, требующая доработки после рецензирования, снимается с рассмотрения, если она не возвращается авторами более 1 месяца.

При отрицательном отзыве двух независимых рецензентов статья к печати не принимается.

В случае несогласия с мнением рецензента автор статьи имеет право предоставить аргументированный ответ в Редакцию журнала. По решению Редакционной Коллегии статья может быть направлена на повторное рецензирование другим специалистам.

Рукописи, оформленные не по правилам, не рассматриваются.

Рукописи и электронные носители информации авторам не возвращаются.

ОБРАЗЕЦ СОПРОВОДИТЕЛЬНОГО ПИСЬМА  
(размещен на сайте <http://journal.nephrolog.ru>)

Реквизиты направляющего учреждения

Главному редактору  
журнала «Нефрология»  
профессору А.В. Смирнову

Сопроводительное письмо к научной статье

Направляем научную статью (ФИО всех авторов, название статьи) для опубликования в журнале «Нефрология» (ISSN 1561-6274), входящем в Перечень журналов, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации основных положений диссертационного исследования.

Настоящим письмом гарантируем, что размещение научной статьи в журнале «Нефрология» не нарушает ничьих авторских прав. Авторы также гарантируют, что статья содержит все предусмотренные действующим законодательством об авторском праве ссылки на цитируемых авторов и издания, а также используемые в статье результаты и факты, полученные другими авторами или организациями. Авторы несут ответственность за научное содержание статьи и гарантируют оригинальность предоставляемого материала. Статья не включает материалы, не подлежащие опубликованию в открытой печати, в соответствии с действующими нормативными актами.

Направляя рукопись в журнал «Нефрология», авторы, тем самым, соглашаются на передачу журналу авторских прав в объеме и на условиях, изложенных в Правилах для авторов журнала «Нефрология».

Авторы передают на весь срок действия исключительных прав журналу «Нефрология» права на использование научной статьи путем ее воспроизведения, использования научной статьи целиком или фрагментарно в сочетании с любым текстом, фотографиями или рисунками, в том числе путем размещения полнотекстовых сетевых версий номеров на Интернет-сайте журнала «Нефрология».

Авторы в соответствии со ст. 6 Федерального закона «О персональных данных» от 27.07.2006 г. №152-ФЗ согласны на обработку своих персональных данных, а именно: фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность, место(а) работы и/или обучения, контактная информация по месту работы и/или обучения, в целях опубликования представленной статьи в журнале «Нефрология».

Авторы подтверждают, что направляемая статья нигде ранее не была опубликована, не направлялась и не будет направляться для опубликования в другие научные издания без уведомления об этом Редакции журнала «Нефрология».

Также удостоверяем, что авторы научной статьи согласны с Правилами для авторов, утвержденными Редакцией журнала «Нефрология».

Переписку вести с (ФИО)

Почтовый адрес:

Телефон:

E-mail:

Авторы статьи: (Личные подписи всех авторов статьи)

Руководитель учреждения

Круглая печать учреждения

Подписка на журнал «НЕФРОЛОГИЯ» производится по каталогу агентства «Роспечать».  
 Подписные индексы: для индивидуальных подписчиков – **45860**; для предприятий и организаций – **47959**.

Абонемент на <u>Газета</u> на журнал		индекс издания <b>45860</b>									
НЕФРОЛОГИЯ		количество комплектов:									
наименование издания											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Куда <input type="text"/> почтовый индекс <input type="text"/> адрес <input type="text"/>											
Кому <input type="text"/> фамилия, инициалы <input type="text"/>											

Абонемент на <u>Газета</u> на журнал		индекс издания <b>45861</b>									
НЕФРОЛОГИЯ		количество комплектов:									
наименование издания											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Куда <input type="text"/> почтовый индекс <input type="text"/> адрес <input type="text"/>											
Кому <input type="text"/> фамилия, инициалы <input type="text"/>											

Доставочная на <u>Газета</u> на журнал		индекс издания <b>45860</b>									
карточка		количество комплектов									
НЕФРОЛОГИЯ											
наименование издания											
Стоимость подписки на 20__ год по месяцам		руб. коп.									
Количество комплектов		руб. коп.									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Куда <input type="text"/> почтовый индекс <input type="text"/> адрес <input type="text"/>											
Кому <input type="text"/> фамилия, инициалы <input type="text"/>											
Телефон: <input type="text"/>											

Доставочная на <u>Газета</u> на журнал		индекс издания <b>45861</b>									
карточка		количество комплектов									
НЕФРОЛОГИЯ											
наименование издания											
Стоимость подписки на 20__ год по месяцам		руб. коп.									
Количество комплектов		руб. коп.									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Куда <input type="text"/> почтовый индекс <input type="text"/> адрес <input type="text"/>											
Кому <input type="text"/> фамилия, инициалы <input type="text"/>											
Телефон: <input type="text"/>											

<p><b>Абонемент</b> на газету <b>47959</b> на журнал <b>47959</b></p> <p style="text-align: right; font-size: small;">индекс издания</p> <hr/> <p><b>НЕФРОЛОГИЯ</b> количество комплектов:</p> <p style="text-align: right; font-size: small;">наименование издания</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr> <td style="width: 5%;">1</td><td style="width: 5%;">2</td><td style="width: 5%;">3</td><td style="width: 5%;">4</td><td style="width: 5%;">5</td><td style="width: 5%;">6</td><td style="width: 5%;">7</td><td style="width: 5%;">8</td><td style="width: 5%;">9</td><td style="width: 5%;">10</td><td style="width: 5%;">11</td><td style="width: 5%;">12</td> </tr> <tr> <td> </td><td> </td> </tr> </table> <p><b>Куда</b> <span style="background-color: #cccccc; display: inline-block; width: 100px; height: 1em; vertical-align: middle;"></span> почтовый индекс _____ адрес _____</p> <hr/> <p><b>Кому</b> _____ фамилия, инициалы _____</p>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12													<p><b>Доставочная карточка</b> на газету <b>47959</b> на журнал <b>47959</b></p> <p style="text-align: right; font-size: small;">индекс издания</p> <hr/> <p><b>НЕФРОЛОГИЯ</b> количество комплектов:</p> <p style="text-align: right; font-size: small;">наименование издания</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr> <td style="width: 5%;"></td><td style="width: 5%;"></td> </tr> <tr> <td style="width: 5%;"></td><td style="width: 5%;"></td> </tr> </table> <p><b>Стоимость подписки</b> руб. коп. <b>Количество комплектов</b></p> <p>на 20__ год по месяцам</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr> <td style="width: 5%;">1</td><td style="width: 5%;">2</td><td style="width: 5%;">3</td><td style="width: 5%;">4</td><td style="width: 5%;">5</td><td style="width: 5%;">6</td><td style="width: 5%;">7</td><td style="width: 5%;">8</td><td style="width: 5%;">9</td><td style="width: 5%;">10</td><td style="width: 5%;">11</td><td style="width: 5%;">12</td> </tr> <tr> <td> </td><td> </td> </tr> </table> <p><b>Куда</b> <span style="background-color: #cccccc; display: inline-block; width: 100px; height: 1em; vertical-align: middle;"></span> почтовый индекс _____ адрес _____</p> <hr/> <p><b>Кому</b> _____ фамилия, инициалы _____ <b>Телефон:</b> _____</p>																									1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																																														
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																																														