

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«МИНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ХИРУРГИИ,
ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ГЕМАТОЛОГИИ»

Объект авторского права
УДК 616.36-089.843-06-097.1-085.275

КОРОТКОВ
Сергей Владимирович

**ИММУНОТОЛЕРАНТНОСТЬ
И ИММУНОСУПРЕССИВНАЯ ТЕРАПИЯ
ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

по специальности 14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

Минск, 2026

Научная работа выполнена в государственном учреждении «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии»

Научный консультант: **Руммо Олег Олегович**, доктор медицинских наук, профессор, академик НАН Беларуси, директор ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии»

Официальные оппоненты: **Борисов Алексей Викторович**, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры нервных и нейрохирургических болезней УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Потапнёв Михаил Петрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом клеточных биотехнологий ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»

Спиридонов Сергей Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по хирургической помощи ГУ «Республиканский научно-практический центр «Кардиология»

Оппонирующая организация: ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека»

Защита состоится 17 июня 2026 г. в 12.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.03.01 при государственном учреждении «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» по адресу: 220087, г. Минск, ул. Семашко, 8, телефон: 8(017)277-20-18, e-mail: gemotol@mail.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в ГУ «Республиканская научная медицинская библиотека».

Автореферат разослан 13 мая 2026 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций Д 03.03.01
кандидат медицинских наук, доцент



И.А. Исков

ВВЕДЕНИЕ

Нерешённой проблемой в трансплантологии остаётся поиск оптимального соотношения между эффективностью иммуносупрессивной терапии (ИСТ) и минимизацией её побочных эффектов [А. Shinde и соавт., 2024]. Современные протоколы иммуносупрессии (ИС) базируются на применении ингибиторов кальциневрина (ИКН), среди которых препаратом выбора остаётся такролимус [V. Dong и соавт., 2021]. Несмотря на высокую эффективность, применение ИКН ассоциировано с нефротоксичным эффектом [J. Kong и соавт., 2025]. В качестве перспективных подходов, направленных на минимизацию осложнений ИКН, рассматриваются клеточная терапия мезенхимальными стволовыми клетками (МСК), позволяющая достичь эффективной глубины ИС [F. Wen и соавт., 2024], и биомаркеры иммунологической толерантности, мониторинг которых открывает возможности для персонализации ИСТ [А. Duizendstra и соавт., 2022].

В настоящее время отсутствие протоколов применения МСК при трансплантации печени (ТП) и персонифицированных схем ИС диктует необходимость разработки комплексной стратегии, сочетающей оценку рисков острого почечного повреждения (ОПП), клеточную терапию и мониторинг иммунологической толерантности реципиентов.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Диссертационная работа выполнялась в рамках НИР:

1. «Разработать и внедрить метод комплексной иммуносупрессивной терапии пациентов после органной трансплантации с применением мезенхимальных стволовых клеток», государственная программа «Новые методы оказания медицинской помощи» на 2014–2016 годы, подпрограмма: «Трансплантация клеток, тканей и органов» (№ государственной регистрации 20150028 от 15.01.2015, сроки выполнения 01.10.2014–30.09.2016 гг.).

2. «Разработать и внедрить метод лечения патологических состояний, требующих коррекции иммунологической реактивности у пациентов после трансплантации печени и почек с использованием клеточных биотехнологий (терапия Т-регуляторными лимфоцитами и локальная иммунотерапия трансплантатов мезенхимальными стволовыми клетками) и технологий экстракорпорального фотофереза», государственная программа «Научные технологии и техника» на 2016–2020 гг. (раздел «Медицинские биотехнологии»), подпрограмма 1 «Инновационные биотехнологии 2020» (№ государственной регистрации 20181831 от 02.11.2018, сроки выполнения 01.01.2018–31.12.2020).

3. «Разработать и внедрить методы медицинской профилактики и лечения почечной недостаточности при трансплантации печени», государственная программа «Научоемкие технологии и техника» на 2021–2025 годы, подпрограмма «Инновационные биотехнологии» (раздел 5) (№ государственной регистрации 20214059 от 24.12.2021, сроки выполнения 01.07.2021–30.06.2024 гг.).

Тема диссертационной работы соответствует положениям пп. 3.2, 4.1, 4.2 и 4.4 перечня приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2011–2015 гг. (постановление Совета Министров Республики Беларусь от 19.04.2010 № 585); п. 4 приоритетных направлений научных исследований Республики Беларусь на 2016–2020 гг. (постановление Совета Министров Республики Беларусь от 12.03.2015 № 190); пп. 4.1, 4.2 и 4.4 перечня приоритетных направлений научно-технической деятельности в Республике Беларусь, утвержденного Указом Президента Республики Беларусь «О приоритетных направлениях научно-технической деятельности в Республике Беларусь на 2016–2020 годы» от 22.04.2015 № 166; а также пп. 2.1, 2.3, 2.4, 2.5 и 2.10 перечня «Приоритетные направления научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 годы», утвержденного Указом Президента Республики Беларусь от 07.05.2020 № 156.

Диссертационная работа выполнена при поддержке гранта Президента Республики Беларусь в области науки (распоряжение президента Республики Беларусь «О предоставлении грантов Президента Республики Беларусь на 2018 год» от 19.01.2018, №32рп).

Цель, задачи, объект и предмет исследования

Цель исследования – улучшить результаты лечения пациентов после трансплантации печени путём разработки и внедрения новой стратегии иммуносупрессии, включающей персонафицированный подход к назначению иммуносупрессивной терапии на этапах раннего и позднего послеоперационного периода, применение клеточной терапии и мониторинг биомаркеров иммунологической толерантности.

Задачи исследования:

1. Оценить клиническую эффективность локального и системного применения мезенхимальных стволовых клеток при трансплантации печени.
2. Определить показания к проведению клеточной терапии у реципиентов печёночного трансплантата.
3. Разработать метод индукции иммуносупрессии с использованием биомедицинского клеточного продукта на основе МСК у пациентов группы риска развития острого почечного повреждения.

4. Разработать метод иммуносупрессивной терапии с применением мезенхимальных стволовых клеток для лечения острого почечного повреждения при трансплантации печени.

5. Оценить эффективность применения мезенхимальных стволовых клеток в раннем посттрансплантационном периоде у реципиентов печёночного аллографта.

6. Оценить отдалённые результаты применения мезенхимальных стволовых клеток при трансплантации печени.

7. Разработать биомаркеры иммунологической толерантности при трансплантации печени.

Объект исследования: реципиенты печёночного аллографта, перенесшие трансплантацию печени; мезенхимальные стволовые клетки, используемые в качестве компонента иммуносупрессивной терапии.

Предмет исследования: влияние разработанных методов клеточной терапии с использованием мезенхимальных стволовых клеток на функцию печёночного трансплантата, почек, частоту и тяжесть развития отторжения, концентрацию такролимуса, иммунофенотип мононуклеаров периферической крови, уровень анти-HLA антител; оценка факторов риска острого почечного повреждения в периоперационном периоде; разработка биомаркеров иммунологической толерантности; анализ отдалённых результатов трансплантации печени при применении МСК.

Научная новизна

Впервые подтверждена эффективность локального (внутрипортального) интраоперационного применения мезенхимальных стволовых клеток при трансплантации печени для ускоренного восстановления функции трансплантата и обеспечения адекватной глубины иммуносупрессивной терапии без риска развития отторжения.

Доказано, что системное (внутривенное) применение мезенхимальных стволовых клеток во время операции и на четвёртые сутки после трансплантации приводит к раннему восстановлению функции трансплантата и обладает эффективным иммуносупрессивным действием.

Определены показания к проведению клеточной терапии мезенхимальными стволовыми клетками у реципиентов печёночного трансплантата, связанные с массивной интраоперационной кровопотерей, исходной тяжестью цирроза печени, периоперационным почечным повреждением и нефротоксичностью иммуносупрессантов.

Разработана дифференцированная стратегия иммуносупрессивной терапии с применением мезенхимальных стволовых клеток у реципиентов печёночного трансплантата, включающая (а) индукцию иммуносупрессии посредством комбинированного локального (20×10^6 кл. интрапортально) и

системного (2×10^6 кл./кг двукратно) введения МСК у пациентов группы риска острого почечного повреждения, (б) клеточную терапию МСК периоперационного острого почечного повреждения, (в) применение МСК при такролимус-индуцированном остром почечном повреждении, реализация которой обеспечивает ускорение восстановления почечной функции за счёт отсроченного назначения и минимизации дозы такролимуса.

Впервые продемонстрировано, что формирование толерогенного иммунофенотипа при использовании мезенхимальных стволовых клеток в раннем послеоперационном периоде связано с активацией супрессорных Т- и В-лимфоцитов – регуляторных Т- и В-клеток; подавлением эффекторных субпопуляций Т-хелперов (CD3+CD4+TEM); подавлением ЕК-клеток (CD3-CD16+56+); подавлением общего количества В-лимфоцитов (CD19+), naïve В-клеток, MZB-клеток при активации аутореактивных (B1a) лимфоцитов.

Установлено, что применение МСК в раннем послеоперационном периоде оказывает долгосрочный иммуномодулирующий эффект, проявляющийся снижением частоты развития реакций отторжения трансплантата, уменьшением образования *de novo* анти-HLA антител и формированием иммунотолерантного фенотипа в позднем послеоперационном периоде, который характеризуется снижением эффекторов клеточного звена аллоиммунного ответа (CD3+CD8+TEMRA-лимфоцитов) и субпопуляций В-лимфоцитов (MZB-клеток, Vm1-клеток), а также повышенным уровнем плазмацитоидных дендритных клеток. Формирование иммунотолерантного фенотипа позволяет безопасно минимизировать дозу ИКН, что приводит к снижению частоты развития хронической болезни почек.

Впервые определены как биомаркеры иммунологической толерантности показатели экспрессии гена ИЛ-4 и абсолютного количества CD3+CD8+TEMRA-клеток и доказана их диагностическая информативность для выявления субклинических форм хронического отторжения без проведения биопсии трансплантата.

Положения, выносимые на защиту

1. Локальное (внутрипортальное интраоперационное) введение МСК в количестве 20×10^6 кл. приводит к ускоренному восстановлению функции трансплантата печени, обеспечивает иммуномодулирующий эффект и позволяет безопасно минимизировать дозу ингибиторов кальциневрина. Введение МСК в воротную вену печеночного аллографта не сопровождается нарушением локальной гемодинамики в трансплантате и развитием системных реакций.

2. Системное (внутривенное 2-этапное интраоперационно и на 4-е сутки после операции) введение МСК в количестве 2×10^6 кл./кг массы тела пациента

ускоряет восстановление функции трансплантата, обеспечивает эффективную глубину иммуносупрессии, что позволяет уменьшить дозу ингибиторов кальциневрина и улучшить почечную функцию. Иммуносупрессивный эффект МСК проявляется в перераспределении субпопуляций иммунокомпетентных клеток, участвующих в реализации аллоиммунного ответа.

3. Показаниями к клеточной терапии МСК у реципиентов трансплантата печени являются: периоперационный риск развития ОПП (интраоперационная кровопотеря ≥ 1200 мл, декомпенсированный цирроз печени тяжестью ≥ 10 баллов по шкале Child – Pugh), острое почечное повреждение, вызванное периоперационными факторами и нефротоксичным действием ингибиторов кальциневрина.

4. Разработанный метод индукции иммуносупрессии с использованием комбинированного локального и системного введения МСК у пациентов группы риска развития ОПП способствует восстановлению функции трансплантата, позволяет отсрочить и редуцировать дозу ИКН и оказывает нефропротективное действие. Применение предложенного метода клеточной терапии не сопровождается увеличением частоты отторжений печёночного аллографта.

5. Применение МСК у пациентов с периоперационным острым почечным повреждением является эффективным способом иммуносупрессии. Системное 4-кратное введение МСК в суммарной дозировке $5,5 \times 10^6$ кл./кг обеспечивает нефропротективный эффект за счет минимизации доз ИКН и не увеличивает частоту развития иммунологической дисфункции трансплантата печени. При развитии острого почечного повреждения, обусловленного нефротоксичностью ИКН, применение разработанного метода клеточной терапии, позволяет без риска развития отторжения редуцировать дозу ИКН и способствует восстановлению почечной функции.

6. Применение МСК в раннем послеоперационном периоде при ОПП улучшает отдалённые результаты трансплантации печени. В позднем послеоперационном периоде отмечается снижение дозы ингибиторов кальциневрина на 25 % и уменьшение потребности в 3- и 4-компонентных схемах иммуносупрессивной терапии. Минимизация ИКН оказывает опосредованный нефропротективный эффект и уменьшает частоту развития ХБП в 3 раза. Формирование МСК иммунотолерантного фенотипа обеспечивает снижение частоты иммунологической дисфункции трансплантата в 1,8 раза и уменьшение образования анти-HLA антител в 4 раза.

7. Иммунотолерантный профиль пациентов в отдалённом периоде после трансплантации печени характеризуется повышенной экспрессией гена ИЛ-4 и пониженным абсолютным количеством CD3+CD8+TEMRA-лимфоцитов. Экспрессия гена ИЛ-4 менее 0,5 AU и абсолютный уровень

CD3+CD8+TEMRA-клеток выше $0,1882 \times 10^9/\text{л}$ являются диагностическими критериями хронического отторжения трансплантата. Применение разработанных маркеров в отдалённом периоде трансплантации печени позволяет проводить неинвазивную диагностику хронического отторжения и выявлять субклинические формы иммунологической дисфункции трансплантата.

Личный вклад соискателя учёной степени

Соискателем самостоятельно проведен патентно-информационный поиск, анализ отечественных и зарубежных источников литературы, что позволило обосновать актуальность проблемы. Совместно с научным консультантом сформулированы цели и задачи диссертационного исследования. Соискатель, будучи ответственным исполнителем 3 заданий Государственных научно-технических программ («Новые методы оказания медицинской помощи» на 2014–2016 гг.; «Наукоемкие технологии и техника» на 2016–2020 гг. и 2021–2025 гг.), в рамках которых выполнено исследование, был оперирующим хирургом и ассистентом в 86 % случаев проведенных ортотопических трансплантаций печени с применением мезенхимальных стволовых клеток. Автор самостоятельно осуществлял отбор и включение в исследование реципиентов печёночного аллографта, принимал непосредственное участие в ведении пациентов в раннем послеоперационном периоде и оказывал консультативную помощь в лечении пациентов на амбулаторном этапе (вклад 70 %). Соискатель совместно с сотрудниками лаборатории клеточных биотехнологий ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» разработал способы введения мезенхимальных стволовых клеток и схемы клеточной терапии (вклад 70 %). На основании полученного клинического материала соискателем созданы индивидуальные карты учёта, компьютерная база данных, выполнена статистическая обработка всего массива полученной информации. Автором сформулированы научные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации. Лабораторные и инструментальные исследования, вошедшие в диссертационную работу, выполнены на базе ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии». Морфологическое исследование биоптатов трансплантатов печени выполнено на базе УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро» г. Минска. Работа специалистов, которые участвовали в исследованиях, отражена в совместных публикациях. Результаты клинических исследований изложены в подготовленных публикациях [1–29–А]. По материалам диссертации Министерством здравоохранения Республики Беларусь утверждены 3 инструкции по применению [30–32–А] (вклад 90 %), получен 1 патент на изобретение [34–А] (вклад 80 %). Результаты работы

включены в клинический протокол Министерства здравоохранения Республики Беларусь «Трансплантация печени (взрослое и детское население)» (вклад 80 %), что подтверждает их практическую значимость и готовность к широкому клиническому использованию [33–А].

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Результаты исследований и основные положения диссертации доложены на научных конференциях и конгрессах: 17th Congress of the European Society for Organ Transplantation (13–16 сентября 2015 г., Брюссель, Бельгия), 6 Ulusal Transplantasyon İmmünolojisi ve Genetiği Kongresi, 6–9 апреля 2017 г., Анталия, Турция), Республиканской научно-практической конференции «Инновационные лечебные технологии с использованием культур клеток» (28 апреля 2017 г., Минск, Республика Беларусь), X Всероссийском съезде трансплантологов с международным участием (5–7 октября 2020 г., Москва, Российская Федерация), 20th Congress of the European Society for Organ Transplantation (29 августа – 1 сентября 2021 г., Милан, Италия), International Liver Transplant Society 2021, Virtual International Congress of ILTS, ELITA and LICAGE, Digital Event (5–8 мая 2021 г.), VI съезде врачей неотложной медицины, приуроченного к 100-летию НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ: Современные технологии оказания экстренной и неотложной медицинской помощи на госпитальном этапе (19–20 октября 2023 г., Москва, Российская Федерация), научно-практической конференции, посвящённой 40-летию УЗ «10-я городская клиническая больница» «Инновационные технологии и мультидисциплинарный подход – современные тенденции в оказании многопрофильной специализированной медицинской помощи» (22 мая 2025 г., Минск, Республика Беларусь), городской научно-практической конференции с международным участием «Перспективы развития программы трансплантации органов в многопрофильном научно-практическом центре», посвящённая 15-летию создания РНПЦ трансплантации органов и тканей в УЗ «9-я городская клиническая больница» (25 апреля 2025 г., Минск, Республика Беларусь), XXXII Международном конгрессе Ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ «Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии», посвящённой 80-летию Победы в Великой Отечественной войне (24–26 сентября 2025 г., Санкт-Петербург, Российская Федерация), 18th International Congress of Cell Transplant and Regenerative Medicine Society (22–25 октября 2025 г., Токио, Япония), IX конгрессе хирургов Казахстана с международным участием, посвящённому 80-летию национального научного центра хирургии им. А.Н. Сызганова (11–13 сентября 2025 г., Алматы, Казахстан), VII Российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» с международным участием (15–17

сентября 2025 г., Москва, Российская Федерация), научной сессии Белорусского государственного медицинского университета (29 января 2026 г., Минск, Республика Беларусь).

Результаты исследования и разработанные методы оказания медицинской помощи внедрены в деятельность отделения трансплантации и образовательного центра государственного учреждения «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии».

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертационного исследования опубликовано 34 научных работы (11 за рубежом), в том числе 18 статей в научных рецензируемых журналах, соответствующих требованиям п. 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь (14,07 авт. листа), из них 16 статей опубликованы в изданиях Республики Беларусь, 2 – в зарубежных журналах; 2 статьи в сборниках научных трудов, 9 работ в сборниках тезисов докладов и материалов конференций. По теме диссертации Министерством здравоохранения Республики Беларусь утверждены 3 инструкции по применению, получен 1 патент. Результаты диссертации включены в клинический протокол Министерства здравоохранения Республики Беларусь «Трансплантация печени (взрослое и детское население)» (утв. пост. Совета Министров Республики Беларусь № 31 13.02.2023).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 235 страницах компьютерного текста, состоит из введения, общей характеристики работы, главы аналитического обзора литературы, главы, посвященной материалам и методам исследования, 8 глав с изложением результатов собственных исследований, заключения, библиографического списка и 5 приложений. Работа содержит 84 таблицы на 33 страницах и 22 рисунка на 10 страницах. Библиографический список включает 354 использованных литературных источников и 34 публикации соискателя.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы исследования

В исследовании участвовали 307 пациентов, перенесших ТП от доноров со смертью мозга в период с 2008 по 2024 г. и находящихся под наблюдением в ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии».

Дизайн исследования, характеристика групп пациентов. *Критерии включения:* терминальные стадии хронических диффузных заболеваний печени, нерезектабельные очаговые поражения, острая печёночная

недостаточность, возраст 18 лет и старше, ТП от умершего донора, ТП нередуцированным графтом. *Критерии не включения:* сплит-трансплантация, ТП от живого родственного донора, выполнение ТП с нестандартной портальной реваскуляризацией. *Критерии исключения:* первично-нефункционирующий трансплантат (ПНФ), тяжёлая дисфункция трансплантата.

Для оценки эффективности *локальной терапии* (ЛТ) МСК проведено интервенционное рандомизированное проспективное сравнительное в 2 группах исследование (n=28). Основную группу (ОГ) составили 14 пациентов, получивших интраоперационное введение 20 млн МСК в воротную вену трансплантата. В контрольную группу (КГ) включены 14 реципиентов, у которых портальная реперфузия выполнена по классической методике. Группы пациентов были сопоставимы по клиническим, половозрастным показателям и характеру патологии (MW, F, p>0,05).

Для изучения эффективности *системной терапии* (СТ) МСК проведено интервенционное рандомизированное проспективное сравнительное в 2 группах исследование (n=30). Группу СТ МСК составили 15 пациентов, которым МСК вводились системно дважды: первое введение выполнялось интраоперационно внутривенно в количестве 2×10^6 кл./кг массы тела пациента. Повторное введение МСК (2×10^6 кл./кг) осуществляли на 4-е сутки после операции (СПО). КГ составили 15 пациентов, которые получали стандартную ИСТ согласно клиническому протоколу «Трансплантация печени (взрослое и детское население)» (утв. пост. Совета Министров Республики Беларусь № 31 13.02.2023). Группы были сопоставимы по полу, возрасту, клиническим характеристикам и нозологии (MW, F, p>0,05).

Для определения *факторов риска периоперационного ОПП* проведено наблюдательное, ретроспективное, одноцентровое, аналитическое, сравнительное исследование, включившее 74 пациента, которым была выполнена ТП. Распределение пациентов в ОГ (группа ОПП, n=43) и в КГ (со стабильной почечной функцией, n=31) проводилась согласно рекомендациям консорциума KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) 2012 г.: ОПП расценивалось как рост креатинина в крови на 26,5 мкмоль/л в течение 48 ч после операции (по отношению к нулевым суткам (0 СПО)) или нарастание в 1,5 раза от исходного уровня (0 СПО) в течение 7 сут. Группы были сопоставимы по клиническим, половозрастным показателям и характеру патологии (MW, F, p>0,05).

Для определения *факторов риска ОПП в раннем послеоперационном периоде* проведено наблюдательное ретроспективное одноцентровое аналитическое сравнительное в 2 группах исследование, включившее 135 пациентов после ТП. Распределение пациентов в группы (ОГ – пациенты

с ОПП (n=53), КГ – пациенты со стабильной почечной функцией (n=82)) выполнялось на основании критериев KDIGO. Группы были сопоставимы по полу, возрасту, клиническим характеристикам и нозологии (MW, F, p>0,05).

Для разработки и оценки эффективности **метода индукции иммуносупрессии с применением МСК у пациентов группы риска развития ОПП** проведено интервенционное рандомизированное проспективное сравнительное исследование (n=60). ОГ составили 30 пациентов, у которых для индукции иммуносупрессии применялась комбинированная терапия (КТ) МСК; КГ – 30 пациентов, получавших стандартную ИСТ.

Индукция иммуносупрессии с использованием МСК в ОГ включала комбинированное введение МСК: 1) интраоперационно локально в воротную вену трансплантата (20×10^6 кл.) и 2) системно – в день операции и на 4 СПО (2×10^6 кл./кг массы тела реципиента на каждое введение). Группы пациентов были сопоставимы по возрасту, полу, клиническим данным и патологии (MW, F, p>0,05).

Разработка и оценка эффективности **метода иммуносупрессивной терапии с применением МСК при развитии ОПП в раннем послеоперационном периоде (РПОП) ТП** проведена у 68 пациентов.

Разработанный метод включал несколько внутривенных введений МСК. 1-ю инфузию МСК выполняли в 0 сутки диагностики ОПП (СОПП) в объеме 2×10^6 кл. на кг массы тела пациента, 2-ю – на 4 СОПП в объеме 2×10^6 кл./кг. При восстановлении почечной функции введение МСК прекращали. При сохранении почечной дисфункции введение МСК продолжалось на 8 и 12 СОПП в объеме 1×10^6 и $0,5 \times 10^6$ кл./кг. Доза такролимуса редуцировалась с поддержанием концентрации препарата ниже 5 нг/мл.

Для оценки эффективности данного метода ИСТ с применением МСК **при развитии периоперационного ОПП** проведено интервенционное рандомизированное проспективное сравнительное исследование (n=40). Пациенты были распределены на 2 группы: ОГ (n=20) – с применением МСК и минимизацией такролимуса; КГ (n=20) – ведение пациентов согласно клиническому протоколу. Пациенты были сопоставимы по клиническим, половозрастным признакам и нозологии (MW, F, p>0,05).

Для оценки эффективности метода ИСТ с применением МСК **при развитии такролимус-индуцированного ОПП** проведено интервенционное рандомизированное проспективное сравнительное в 2 группах исследование (n=28). В ОГ (n=14) вошли пациенты, у которых применяли МСК с минимизацией дозы такролимуса; в КГ (n=14) – ведение осуществляли согласно клиническому протоколу. Группы были сопоставимы по клиническим, половозрастным показателям и характеру патологии (MW, F, p>0,05).

Для оценки *отдалённых результатов применения МСК* проведено ретроспективное поперечное аналитическое сравнительное исследование. Из первоначальной когорты (n=186) после исключения пациентов, наблюдавшихся в других трансплантационных центрах (n=37), в окончательный анализ вошли 149 пациентов: 73 – в ОГ (с терапией МСК) и 76 – в КГ (без МСК).

Для разработки *биомаркеров иммунологической толерантности* проведено одноцентровое обсервационное ретроспективное исследование, включающее 45 пациентов после ТП. По клиническому течению пациенты были разделены на 2 группы. Первую группу (nTOL) составили 9 реципиентов, у которых на фоне стандартной либо усиленной ИСТ отмечались эпизоды отторжения. Вторую группу (TOL) – 36 реципиентов, у которых послеоперационный период протекал без признаков отторжения. Медиана среднего возраста в группе без отторжения составила 47 (31; 54) лет, в группе с отторжением – 49 (39; 57) (MW, p>0,05). Срок наблюдения составил 4 (3; 5) года и 5 (4; 6) лет соответственно (MW, p>0,05).

В процессе выполнения работы в анализ факторов риска ОПП периоперационного и РПОП включены пациенты из КГ по оценке эффективности ЛТ МСК (n=14), СТ МСК (n=15) и КТ МСК (n=30). Все участники анализа периоперационного ОПП (n=74) вошли в анализ факторов риска ОПП РПОП (n=135).

Протоколы исследований с применением ЛТ и СТ МСК одобрены решением этического комитета ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» (протокол № 6 от 09.08.2013, № 8 от 15.10.2018). Согласие пациентов на участие в исследовании получено в письменной форме.

Характеристика клеточного продукта. Для клеточной терапии применялся биомедицинский клеточный продукт «Клетки мезенхимальные человека ТУ ВУ 100660677.001» (регистрационное удостоверение № ИМ-7.101480, регистрационный номер: Мн-7.117650-1402 от 29.05.2014), изготавливаемый на основе аллогенных МСК, полученных из жировой ткани доноров со смертью мозга. Клеточный продукт (КП) соответствовал «минимальным критериям МСК», установленным Международным обществом клеточной терапии (ISCT, 2006).

Острое почечное повреждение. Выявление ОПП проводилось согласно рекомендациям консорциума KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) 2012 г. Для констатации ОПП достаточно 1 из признаков:

- 1) прирост креатинина в крови на $\geq 26,5$ мкмоль/л в течение 48 ч,
- 2) нарастание уровня сывороточного креатинина в $\geq 1,5$ раза от исходного уровня в течение 7 сут.,

3) снижение диуреза $\leq 0,5$ мл/кг/ч на протяжении 6 ч.

Общие принципы ведения пациентов в раннем послеоперационном периоде. Всем пациентам после ТП назначалась ИСТ согласно клиническому протоколу «Трансплантация печени (взрослое и детское население)» (утв. пост. Совета Министров Республики Беларусь № 31 от 13.02.2023).

Методы лабораторного и инструментального исследования

Общеклинические лабораторные исследования. Исследование общего, биохимического анализов крови и мочи, коагулограммы проводилось по стандартным методикам с использованием автоматических анализаторов.

Проточная цитофлуориметрия. Иммунофенотипирование клеток периферической крови выполнялось методом многоцветной проточной цитометрии на проточном цитофлуориметре FACSLyric («Becton Dickinson», США), оснащенного тремя лазерами 488 нм, 633 нм и 405 нм с детекцией 10 каналов флуоресценции. Сбор и анализ данных выполняли в рабочей программе FACSuite (v.5.1).

Морфологическая оценка трансплантата. Острое клеточное и хроническое отторжение диагностировалось согласно Банффской классификации с использованием окрасок гематоксилин-эозином, методами МСБ (Маллори, Сириуса и Блау), Массона, Ван-Гизона, суданом красным/черным, ШИК-реакцией. Для количественной оценки степени тяжести острого клеточного отторжения использовалась бальная оценка индекса RAI (Rejection Activity Index) (4–5 балла – легкое отторжение, 6–7 – умеренное отторжение, 8–9 – тяжелое отторжение). Диагностика гуморального отторжения проводилась иммуногистохимическим (ИГХ) методом с окраской фрагмента комплимента C4d, связанного с антителами (Histo-Line Labora, Rabbit Monoclonal Antibody, Clone A24-T). В качестве дополнительного критерия верификации активности аллоиммунного ответа на трансплантат проводилось ИГХ-исследование интенсивности экспрессии матриксной металлопротеиназы-10 и каспазы-3 с использованием детекционной системы 2-step Plus Poly-HRP Anti Mouse/Rabbit IgG (with DAB Solution) (Elabscience, USA). Гистологическая картина оценивалась на микроскопе LEICA DM 2500.

Молекулярно-цитогенетическое исследование (флуоресцентная гибридизация in situ, FISH). Для подтверждения наличия МСК в трансплантате определяли альфа-сателлитные последовательности в области Xp11.1-Xq11.1 и сателлитной ДНК III в области Yq12. Флуоресцентную гибридизацию in situ проводили с использованием набора ДНК-зондов CEP X SpectrumOrange/Y SpectrumGreen фирмы Abbott (США). Для контрокрашивания интерфазных ядер использовали флуоресцентный краситель DAPI II (Abbott Molecular inc., США). Анализ препаратов

проводили с помощью флуоресцентного микроскопа BX53 (Olympus, Япония). Фотофиксацию осуществляли с помощью программы Cell Sense Standart. Для идентификации кариотипа использовали международную номенклатуру (ISCN).

Иммуносерологическое исследование. Определение анти-HLA антител осуществлялось в два этапа. На первом этапе проводили скрининговое выявление антител IgG к HLA-антигенам II класса с использованием тест-системы LIFECODES LifeScreen Deluxe на мультиплексном анализаторе Luminex 200. При положительном результате скрининга проводили количественную оценку степени сенсбилизации пациента анти-HLA антителами класса II по уровню PRA с использованием наборов LIFECODES LSA на анализаторе Luminex 200.

Молекулярно-генетическое исследование. Для количественной оценки уровня экспрессии генов ИЛ-4 и ФНО- α в цельной крови применяли метод полимеразной цепной реакции «в реальном времени» в комбинации с методом обратной транскрипции (ОТ-ПЦР-РВ, Real time RT-PCR). Синтез комплементарной ДНК (кДНК) осуществляли методом 2-стадийной ПЦР с использованием набора «Maxima First Standart cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR» («Thermo Scientific», Литва). Амплификацию проводили на приборе CFX96 («Bio-Rad», США) в 25 мкл реакционной смеси, содержащей Taq-полимеразу, праймеры с зондом и кДНК. Для количественной оценки кДНК генов ИЛ-4, ФНО- α использовали наборы реагентов «Синтол» (Россия). Обработку результатов осуществляли в программе CFX96 Manager 3.1.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программ «Statistica 8.0» (StatSoft Inc., USA) и «MedCalc v. 11.0» (MedCalc, Belgium). Нормальность распределения оценивали критерием Шапиро – Уилка. Поскольку данные не имели нормального распределения, применяли непараметрические методы. Количественные признаки представлены как медиана (Me) и интерквартильный размах (Q1; Q3), качественные – абсолютными и относительными частотами. Для сравнения количественных признаков использовали U-критерий Манна – Уитни (MW), категориальных – точный критерий Фишера (F). Взаимосвязи оценивали корреляционным анализом Спирмена (Sp). Клиническую ценность результатов определяли ROC-анализом с расчетом чувствительности, специфичности и площади под кривой. Анализ выживаемости проводили методом Каплана – Мейера с Log-Rank тестом. За уровень статистической значимости результатов принимали $p < 0,05$.

Результаты собственных исследований

Обоснование эффективности локального введения МСК при ТП.

МСК вводили интраоперационно в воротную вену трансплантата после запуска портального кровотока. Объём КП составил 20 млн клеток в 20 мл физиологического раствора (0,9 %) NaCl, скорость введения – 2 мл/мин.

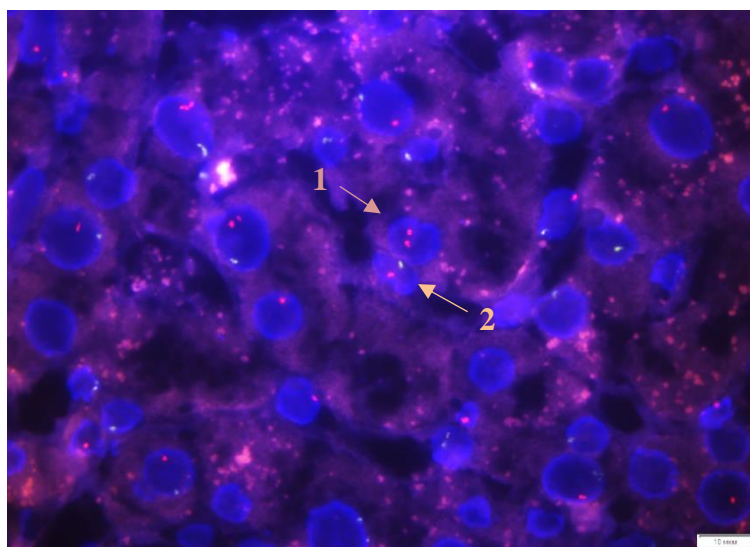
Местных осложнений (тромбоз, кровотечение, разрыв воротной вены) и системных реакций (гипотензия, нарушение ритма, гипертермия, тромбоэмболия, аллергическая реакция) при локальном введении МСК не было выявлено.

Инфузия МСК не приводила к нарушению гемодинамики в трансплантате. Скорость кровотока по воротной вене после реперфузии и введения МСК в ОГ составила 33 (27; 41) см/с, в КГ – 36 (29; 42) см/с (MW, $p > 0,05$). Гистологическое исследование интраоперационных биоптатов трансплантатов печени, полученных после реперфузии в КГ и после реперфузии и введения МСК в ОГ, продемонстрировало отсутствие тромбозов микроциркуляторного русла.

При ЛТ МСК восстановление функции трансплантата происходило быстрее: к 4 СПО показатели АЛТ и АСТ были ниже. В ОГ уровень АЛТ составил 279 (125; 456) Ед/л, АСТ – 125 (85; 321) Ед/л, в КГ – 358 (211; 606) Ед/л и 190 (140; 352) Ед/л соответственно (MW, $p < 0,05$). Нормализация АСТ в ОГ наблюдалась уже к 10 СПО. Уровень АСТ составил 34 (19; 51) Ед/л. В КГ уровень АСТ на 10 СПО превышал нормальное значение и был равен 53 (29; 92) Ед/л (MW, $p = 0,04$).

При гистологическом исследовании биоптатов печени в ОГ у 3 (21 %) пациентов диагностировано острое клеточное отторжение (ОКО); у 2 пациентов – лёгкая степень (RAI 4 балла), у 1 – умеренная (6 баллов). В КГ отторжение трансплантата верифицировано у 4 (28 %) пациентов: у 3 – ОКО и у 1 – гуморальное; в КГ степень тяжести ОКО по шкале RAI у 1 пациента была умеренной (7 баллов), у 2 – тяжёлой (8 баллов) (F, $p > 0,05$). При ИГХ-исследовании трансплантатов выявлено, что экспрессия ММП-10 в группе МСК была ниже и составила 5 % (3; 25), в КГ этот показатель достиг 20 % (10; 30) (MW, $p = 0,01$). Экспрессия каспазы-3 составила 70 (60; 85) % и 75 (70; 90) %, соответственно (MW, $p > 0,05$).

На 7 СПО выполнен FISH-анализ биоптатов трансплантатов, подтвердивший наличие введённых МСК. Кариотип обнаруженных МСК отличался от кариотипов донора и реципиента (рисунок).



1 – клетка с двумя копиями α -сателлитных последовательностей в области центromеры хромосомы X (Xp11.1- Xq11.1), остальная клеточная популяция; 2 – α -сателлитная последовательность в области центromеры хромосомы X (Xp11.1- Xq11.1) и сателлитная ДНК III в области Yq12 хромосомы Y

Рисунок – FISH-исследование биоптата трансплантата

Уровень такролимуса в крови в ОГ был ниже на протяжении всего РПОП (таблица 1).

Таблица 1 – Концентрация такролимуса (нг/мл) в группах

Группа	СПО				
	2	4	7	10	14
ОГ	0 (0; 0,6)	0,8 (0; 2)	3,2 (0,8; 4,9)	4,9 (3; 8,2)	5,2* (2,6; 6,7)
КГ	1 (0; 2,5)	2 (0,9; 3,4)	4,1 (2,1; 6,1)	5,7 (3,3; 7,1)	6,7* (4,3; 9,5)

*Примечание – Здесь и далее в таблицах звездочкой отмечено достоверное отличие по отношению к контрольной группе ($p < 0,05$).

На 14 СПО концентрация такролимуса в ОГ была достоверно ниже и составила 5,2 (2,6; 6,7) нг/мл, в КГ – 6,7 (4,3; 9,5) нг/мл (MW, $p = 0,04$).

Анализ почечной функции выявил более быстрое восстановление уровней мочевины и креатинина при ЛТ МСК. На 4 СПО уровень мочевины в ОГ составил 10,8 (8; 14,2) ммоль/л, креатинина – 80 (62; 123) мкмоль/л, в КГ – 14 (9,4; 18) ммоль/л и 101 (70; 132) мкмоль/л соответственно (MW, $p < 0,05$). На 4 СПО выявлена корреляция между концентрацией такролимуса и уровнем креатинина: более высокая концентрация такролимуса соответствовала более высокому уровню креатинина (Sp, $p = 0,008$).

Частота послеоперационных осложнений (сосудистых, билиарных, инфекционных) в группах была сопоставима: в ОГ 5 (35 %) пациентов, в КГ

4 (28 %) (F, $p>0,05$). Длительность стационарного лечения в ОГ составила 17 (14; 20) сут., в КГ – 19 (15; 24) (MW, $p>0,05$).

Обоснование эффективности системной терапии МСК при ТП. Введение МСК проводили внутривенно в 2 этапа. 1-е введение выполняли интраоперационно в центральную вену на этапе индукции иммуносупрессии в количестве 2×10^6 кл./кг массы реципиента; 2-е введение – на 4-е СПО, внутривенно в центральную либо в периферическую вену в количестве 2×10^6 кл./кг массы реципиента.

Местных осложнений и системных реакций, связанных с введением МСК, не было выявлено.

Восстановление функции трансплантата при СТ МСК отмечалось в более ранние сроки: на 10 СПО уровень АСТ в ОГ составил 32 (18; 44) Ед/л, АЛТ – 78 (63; 136) Ед/л, билирубина – 34 (32; 48) мкмоль/л; в КГ – 41 (25; 86) Ед/л, 98 (86; 167) Ед/л и 53 (39; 138) мкмоль/л соответственно (MW, $p<0,05$).

Частота отторжения в ОГ составила 20 % ($n=3$), в КГ – 33 % ($n=5$) (F, $p>0,05$). В ОГ ОКО лёгкой степени (RAI 5 баллов) диагностировано у 1 (6,5 %) пациента, средней (RAI 7 баллов) – у 1 (6,5 %); гуморальное отторжение (ГО) – у 1 (6,5 %). В КГ зарегистрирован 1 (6,5 %) случай тяжёлого отторжения (RAI 9), также отмечены отторжения лёгкой (балл RAI 5) – 6,5 % ($n=1$) и умеренной степени (балл RAI 7) – 6,5 % ($n=1$). Частота ГО в КГ составила 13 % ($n=2$) (F, $p>0,05$).

Концентрация такролимуса на протяжении всего РПОП при СТ МСК была ниже по сравнению с КГ. На 7 СПО отличие имело статистическую значимость – 3,1 (2,2; 4,9) и 4,7 (3,1; 7,8) нг/мл соответственно (MW, $p=0,046$).

Редукция такролимуса при СТ МСК ассоциировалась с улучшением почечной функции: к 7 СПО уровни мочевины и креатинина в ОГ составили 6,5 (5,9; 12,0) ммоль/л и 64 (57; 107) мкмоль/л, и были достоверно ниже, чем в КГ – 9,3 (7,4; 20,3) ммоль/л и 101 (87; 147) мкмоль/л соответственно (MW, $p<0,05$).

Частота послеоперационных осложнений в группах была сопоставимой (F, $p>0,05$). Общая продолжительность госпитализации в ОГ составила 18 (14; 23) сут., в КГ – 20 (17; 25) (MW, $p>0,05$).

Для оценки иммуномодулирующего эффекта СТ МСК исследован *иммунофенотип (ИФТ) мононуклеаров периферической крови (МПК)* в динамике. Анализ популяций МПК показал, что на фоне проводимой СТ МСК уровень относительного и абсолютного количества регуляторных Т-клеток был выше на 4, 7, 10 СПО (MW, $p<0,05$). Получены отличия по уровню В-лимфоцитов (CD19+): их относительное и абсолютное количество при СТ МСК было ниже (MW, $p<0,05$; таблица 2).

Таблица 2 – Характеристика популяций МПК

Группа		4 СПО	7 СПО	10 СПО	14 СПО
Регуляторные Т-лимфоциты					
ОГ	%	3,04* (2,9; 5,3)	12,95* (4,9; 17,8)	4,35*(3,6; 10,99)	3,39 (3,3; 6,0)
КГ		1,27* (0,5; 2,4)	4,79* (0,1; 6,6)	3,07* (0,6; 5,7)	2,84 (0,04; 5,2)
ОГ	тыс./ мкл	0,0108* (0,0074; 0,0155)	0,0824* (0,0276; 0,1267)	0,0857* (0,0585; 0,1287)	0,0511 (0,0166; 0,0725)
КГ		0,0054* (0,0027; 0,0102)	0,0429* (0,0008; 0,0909)	0,0279* (0,0103; 0,0579)	0,0244 (0,0002; 0,0753)
В-лимфоциты (CD19+)					
ОГ	%	13,7* (6,9; 21,7)	6,85* (1,2; 9,7)	3,9* (2,1; 9,5)	7,6* (1,3; 16,3)
КГ		33,75* (20; 48,3)	17,4* (12,1; 28,2)	18,9* (12; 32,1)	19,7* (9,1; 30,2)
ОГ	тыс./ мкл	0,0305* (0,018; 0,0629)	0,0481* (0,0085; 0,0624)	0,0712* (0,034; 0,1077)	0,0926* (0,0032; 0,1031)
КГ		0,1718* (0,088; 0,2544)	0,1762* (0,0813; 0,4847)	0,2183* (0,1487; 0,2995)	0,2468* (0,0908; 0,33)

При анализе динамики дифференцировочных субпопуляций Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов, включающих наивные Т-клетки, центральные Т-клетки памяти (ТСМ), эффекторные Т-клетки памяти (ТЕМ) и терминально-дифференцированные эффекторные Т-клетки памяти (ТЕМРА), выявлено снижение относительного и абсолютного количества CD3+CD4+ТЕМ-клеток на 4, 7, 10 СПО в ОГ (MW, $p < 0,05$; таблица 3).

Таблица 3 – Характеристика субпопуляции CD3+CD4+ТЕМ-лимфоцитов

Группа		CD3+CD4+ CD45RA- CD62L- (ТЕМ)		
		4 СПО	7 СПО	10 СПО
ОГ	%	6,75* (5,4; 11,4)	8,15* (4,9; 9,1)	9,8* (8,7; 14,1)
КГ		11,55* (7,8; 17,8)	13,95* (9,4; 18,4)	14,9* (11,1; 18,8)
ОГ	тыс./ мкл	0,0105*(0,0069; 0,0139)	0,027*(0,0168; 0,035)	0,0587*(0,016; 0,081)
КГ		0,0183*(0,0109; 0,026)	0,0605*(0,0432; 0,0945)	0,0772*(0,0292; 0,1061)

Оценка соотношения субпопуляций В-лимфоцитов выявила тенденцию к формированию толерогенного фенотипа. Различия абсолютного количества наивных зрелых В-клеток наблюдались на протяжении всего РПОП (таблица 4).

Таблица 4 – Характеристика субпопуляции наивных В-лимфоцитов

Группа		CD19+ CD27- IgD+ IgM+ (naïve B cells)			
		4 СПО	7 СПО	10 СПО	14 СПО
ОГ	тыс./ мкл	0,0193* (0,0145; 0,0478)	0,0203* (0,0064; 0,039)	0,0342* (0,0293; 0,0856)	0,0829* (0,0547; 0,0873)
КГ		0,0937* (0,0565; 0,1833)	0,1083* (0,0459; 0,1922)	0,142* (0,0845; 0,2524)	0,2019* (0,0641; 0,2676)

При применении СТ МСК прослеживался более высокий уровень относительного количества В1а-клеток и В-регуляторных лимфоцитов (MW, $p < 0,05$; таблица 5).

Таблица 5 – Характеристика субпопуляций В-лимфоцитов

Группа		4 СПО	7 СПО	10 СПО
CD19+ CD5+ CD20+ (В1а лимфоциты)				
ОГ	%	12,4* (2,5; 18,7)	8,5 (1,2; 15,4)	8,3* (3,5; 12,4)
КГ		3,45* (1,4; 5,8)	4,6 (1,3; 5,1)	2,4* (0,9; 7,8)
CD19+ CD38++24+++ IgM+ IgD+ (Breg)				
ОГ	%	14,75* (3,5; 19,2)	9,2* (1,7; 14,7)	4,5 (1,5; 18,4)
КГ		2,55* (0,7; 6,9)	2,1* (0,9; 6,5)	2,2 (0; 5,8)

Абсолютное количество МЗВ-клеток на 4 и 7 СПО при СТ МСК было ниже, что составило в ОГ 0,0039 (0,0003; 0,0058) $\times 10^3$ /мкл и 0,0046 (0,0008; 0,0096) $\times 10^3$ /мкл, в КГ – 0,0078 (0,004; 0,0126) $\times 10^3$ /мкл и 0,0093 (0,0048; 0,0302) $\times 10^3$ /мкл соответственно (MW, $p < 0,05$).

Определение периоперационных факторов риска ОПП при ТП. Исследование включало 74 пациента, у 43 (58 %) развилось ОПП (таблица 6).

Таблица 6 – Динамика почечной функции в группах (креатинин, мкмоль/л)

Показатель креатинина	Без ОПП (n=31)	ОПП (n=43)	p
0 СПО	63 (51; 95)	87 (65; 101)	0,035
1 СПО	92 (72; 140)	141 (115; 177)	0,0001
2 СПО	69 (52; 79)	181 (119; 249)	0,0001
1 СПО/0 СПО	1,21 (1,04; 1,5)	1,74 (1,41; 2,12)	0,0003
2 СПО/0 СПО	1,06 (0,95; 1,28)	2,26 (1,74; 3,12)	0,0002

Необходимо отметить, что уровень креатинина до операции (0 СПО) в ОГ и КГ находился в пределах референсных значений физиологической нормы, а выявленные различия не имели клинической значимости (таблица 6). Значения мочевины и СКФ в 0 СПО статистически не различались (MW, $p > 0,05$).

ОПП I стадии развилось у 12 (28 %) пациентов, II – у 18 (42 %), III – у 13 (30 %) (таблица 7).

Таблица 7 – Тяжесть острого повреждения почек (по KDIGO)

Стадия ОПП	Повышение уровня креатинина (более исходного)	Число пациентов (n=43)	Уровень креатинина, мкмоль/л
I	в 1,5–1,9 раза	12 (28 %)	137 (129; 155) ($p=0,0004$)
II	в 2,0–2,9 раза	18 (42 %)	167 (115; 211) ($p=0,028$)
III	в 3,0 раза	13 (30 %)	185 (131; 221) ($p=0,001$)

Для оценки влияния тяжести состояния пациента до ТП на развитие почечной дисфункции проведено изучение связи ОПП с баллом тяжести ЦП по шкале Child – Pugh. Установлено, что тяжесть ЦП 10 баллов ассоциирована с развитием ОПП III стадии (MW, p=0,045; таблица 8).

Таблица 8 – Предоперационные клинико-лабораторные характеристики пациентов, шкала Child – Pugh

Стадия ОПП	Балл		p
	без ОПП	ОПП	
I	7 (5; 8)	8 (6; 10)	0,12
II		9 (8; 12)	0,08
III		10* (6; 14)	0,045

ROC-анализ выявил, что оптимальным порогом отсечения для балла Child-Pugh при прогнозировании ОПП после ТП является значение ≥ 10 баллов. Данный cut-off обеспечивает чувствительность 84,62 % (95 % ДИ 54,5–97,6) и специфичность 96,77 % (95 % ДИ 83,2–99,5). Площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,971 (95 % ДИ 0,870–0,996; p=0,001), что указывает на высокую прогностическую ценность данного показателя.

Анализ интраоперационных характеристик ТП (объём кровопотери, длительность тепловой и общей ишемии трансплантата) и донорских факторов (возраст донора, длительность нахождения в реанимации, уровень гемоглобина, АСТ, АЛТ, натрия, МНО) выявил достоверную зависимость развития почечной дисфункции от объёма кровопотери: объём интраоперационной кровопотери в группе пациентов с ОПП был достоверно больше и составил 1831 (1000; 2000) мл по сравнению с группой без ОПП – 1062 (800; 1250) мл (MW, p=0,037). ROC-анализ показал, что оптимальным порогом отсечения показателя объёма кровопотери при прогнозировании ОПП является значение ≥ 1200 мл.

Данный cut-off обеспечивает чувствительность 90,48 % (95 % ДИ 69,6–98,5) и специфичность 93,75 % (95 % ДИ 69,7–99,0). Площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,967 (95 % ДИ 0,849–0,996; p=0,0001), что указывает на высокую прогностическую ценность показателя.

Установлено, что *периоперационное ОПП* оказывает негативное влияние на сроки лечения реципиентов печени, удлиняя период госпитализации и время пребывания в отделении реанимации. У пациентов с ОПП продолжительность стационарного лечения составила 20 (15; 33) сут., без ОПП – 14 (12; 20) (MW, p=0,007); длительность лечения в реанимации – 5 (3; 7) сут. и 3 (2; 3) сут. соответственно (MW, p=0,01).

Факторы риска ОПП в раннем послеоперационном периоде. Исследование выполнено у 135 реципиентов. Согласно рекомендациям

KDIGO, определены 3 контрольные точки, позволяющие распределить пациентов на группы в зависимости от изменения почечной функции:

1) точка «max1», определяющая максимальный отрицательный уровень показателей мочевины, креатинина и СКФ, связанный с периоперационным ОПП;

2) точка «min» – минимальные значения показателей азотемии, отражающие восстановление ренальной функции после перенесённого периоперационного ОПП;

3) точка «max2» – повторный пик азотемии, связанный с воздействием нефротоксичных факторов.

Проведенный анализ течения РПОП у 135 пациентов после ТП показал, что ОПП развилось у 53 (39 %) пациентов (таблица 9).

Таблица 9 – Динамика почечной функции в группах

Показатель	БезОПП (n=82)	ОПП (n=53)	p, MW
Креатинин, мкмоль/л:			
0 СПО	62 (49; 82)	69 (51; 91)	0,14
max1	117 (79; 163)	158 (115; 205)	0,003
min	60 (47; 79)	79 (62; 112)	0,02
max2	74 (58; 93)	151 (109; 207)	0,0001
Δ max2 – min	12 (7; 21)	54 (27; 94)	0,0001
max2/min	1,2 (1,1; 1,3)	1,6 (1,4; 2,1)	0,0001

Необходимо отметить, что показатели «min» в обеих группах находились в пределах нормального референсного интервала, и выявленные различия не имели клинической значимости. Показатели мочевины и СКФ имели схожую с креатинином тенденцию, что также подтверждало нарушение почечной функции у пациентов после ТП.

Анализ причин ОПП в ОГ (n=53) показал, что наиболее частым этиологическим фактором развития ОПП стала нефротоксичность ИКН, которая отмечена у 31 (58 %) пациента. Причинами, отрицательно повлиявшими на почечную функцию, были послеоперационное кровотечение и рентген-контрастное воздействие – у 7 (13 %) и 11 (21 %) пациентов соответственно, инфекционные осложнения – у 4 (8 %); комбинация факторов выявлена у 8 пациентов (15 %). Такролимус-индуцированное ОПП манифестировало на 11 (5; 27) СПО.

Анализ динамики почечной функции по креатинину в группе ОПП показал, что 43 (81 %) пациента из 53 перенесли периоперационное ОПП, что характеризовалось более высоким уровнем азотемии в 1 и 2 СПО по сравнению с дооперационным. Уровень креатинина у этих пациентов (n=43) был достоверно выше, что составило в 1 СПО 129 (102; 158) мкмоль/л по

сравнению с пациентами без периоперационного ОПП (n=10) – 75 (64; 87) мкмоль/л (MW, p<0,01), на 2 СПО – 171 (138; 225) мкмоль/л и 77 (59; 91) мкмоль/л соответственно (MW, p<0,01). Выявлена корреляционная зависимость между периоперационным ОПП и ОПП в РПОП, определённая по уровню креатинина на 2 и 10 СПО (Sp, p<0,001). Полученные результаты указывают, что развитие ренальной дисфункции под влиянием периоперационных факторов, повышает восприимчивость почек к последующим повреждающим воздействиям, включая медикаментозную нефротоксичность, анемию и инфекцию.

Динамика концентрации такролимуса в плазме крови в группах имела волнообразный перекрёстный характер (MW, p>0,05). На 10 СПО уровень такролимуса в группе ОПП был выше, составил 5,35 (2,2; 7,3) нг/мл и 4,5 (3,4; 6,65) нг/мл в группе без ОПП (MW, p>0,05).

Развитие почечной дисфункции способствовало увеличению сроков стационарного лечения пациентов после ТП с 17 (14; 20) до 22 (17; 36) сут. (MW, p<0,01).

Метод индукции иммуносупрессии с применением МСК при ТП. Разработанный метод индукции ИС с применением МСК у пациентов группы риска ОПП включал комбинированное введение МСК:

1. Локальное внутриворотальное интраоперационное введение в воротную вену трансплантата в количестве 20×10^6 кл.;

2. Системное внутривенное введение, которое осуществлялось в 2 этапа:

1) первый этап: в день операции, интраоперационно, на этапе индукции иммуносупрессии в количестве 2×10^6 кл. на кг массы тела реципиента;

2) второй этап: на 4 СПО в количестве 2×10^6 кл./кг массы тела.

Использование МСК способствовало ускоренному восстановлению функции трансплантата. На 7 и 10 СПО активность АСТ и АЛТ в группе комбинированной терапии МСК была ниже. Снижение АЛТ достигло статистически значимых различий: на 7 СПО медиана АЛТ в ОГ группе составила 116 (67; 215) Ед/л по сравнению с 184 (110; 298) Ед/л в КГ (MW, p=0,02), на 10 СПО – 68 (34; 135) Ед/л и 99 (65; 187) Ед/л соответственно (MW, p=0,04).

Анализ частоты иммунологических осложнений продемонстрировал сопоставимую встречаемость эпизодов отторжения. В группе комбинированного введения МСК диагностировано 6 (20 %) случаев ОКО. В КГ зарегистрировано также 6 (20 %) эпизодов иммунологической дисфункции трансплантата, у 5 (16,7 %) реципиентов верифицировано ОКО, у 1 (3,3 %) пациента – ГО (F, p>0,05).

Уровень такролимуса в крови в группе КТ МСК был ниже во всех точках исследования (MW, p<0,05; таблица 10).

Таблица 10 – Динамика концентрации такролимуса в крови, нг/мл

Группа	СПО				
	2 СПО	4 СПО	7 СПО	10 СПО	14 СПО
ОГ	0 (0; 0)	0,9 (0; 2,8)	2,9 (0,5; 5,2)	4,4 (2; 6)	4,8 (2,4; 5,7)
КГ	1 (0; 2,05)	2,1 (1; 3,5)	4 (2,2; 6,8)	5,5 (3,8; 7,32)	6,3 (4,2; 8,8)
p, MW	p=0,003	p=0,002	p=0,017	p=0,029	p=0,005

У пациентов обеих групп вследствие хирургического вмешательства развивалась почечная дисфункция (таблица 11).

Таблица 11 – Лабораторные показатели почечной функции

Показатель	Группа	СПО			
		2 СПО	7 СПО	10 СПО	14 СПО
Мочевина, ммоль/л	ОГ	14,7 (11; 20,3)	6,5* (5,2; 13)	6,6 (5,8; 11)	8,6 (6,7; 10,6)
	КГ	18,1 (12,6; 24)	12,05* (6,9; 19,3)	8,65 (5,85; 17,7)	11 (5,1; 14)
Креатинин, мкмоль/л	ОГ	138 (78; 172)	82* (50; 96)	88* (53; 104)	92* (50; 127)
	КГ	155 (91; 229)	117* (78; 164)	108* (69; 132)	115* (68; 139)
СКФ, мл/мин	ОГ	30,5* (17,5; 45)	38* (30; 48)	34 (27; 51)	38* (27,5; 46,5)
	КГ	23,6* (10; 29)	27* (17; 33)	28 (17; 43)	31* (21; 38,6)

В ОГ восстановление почечной функции происходило быстрее, что сопровождалось нормализацией показателей мочевины и креатинина (таблица 11).

При применении клеточной терапии отмечалась тенденция к улучшению показателей диуреза. На 3-е СПО суточный диурез в основной группе составил 2055 (1350; 3200) мл/сут., в КГ – 1435 (1060; 2275) мл/сут., почасовой – 85,9 (56,2; 133) и 59,9 (44,5; 95) мл/ч соответственно (MW, p=0,08).

При КТ МСК медиана начала приема ИКН составила 3 (2; 4) СПО, в КГ – 2 (1;3) СПО (MW, p=0,03).

Комбинированная терапия МСК благоприятно отразилось на результатах лечения: общая продолжительность стационарного лечения была ниже: 17 (15; 23) сут. в ОГ и 20 (16; 26) сут. в КГ (MW, p>0,05). Группы не различались по частоте хирургических осложнений (12 (40 %) пациентов в ОГ и 13 (43,3 %) в КГ) и летальности (по 2 (6,7 %) пациента в каждой группе) (F, p>0,05)).

Анализ основных популяций лимфоцитов продемонстрировал более низкий уровень абсолютного количества ЕК-клеток (CD3-CD16+CD56+) и В-лимфоцитов (CD19+) (MW, p<0,05; таблица 12) при комбинированном введении МСК.

Таблица 12 – Характеристика основных популяций МПК

Группа		4 СПО	7 СПО	10 СПО
ЕК-клетки (CD3- CD16+56+)				
ОГ	тыс./	0,0266* (0,0163; 0,0383)	0,0646* (0,0287; 0,1027)	0,0861* (0,0646; 0,1386)
КГ	мкл	0,0432* (0,021; 0,0652)	0,0943* (0,0534; 0,1615)	0,1466* (0,0763; 0,2174)
В-лимфоциты (CD19+)				
ОГ	тыс./	0,1069* (0,0609; 0,2007)	0,1025* (0,0482; 0,2525)	0,1516* (0,0815; 0,2586)
КГ	мкл	0,1743* (0,0788; 0,2763)	0,1766* (0,0893; 0,4239)	0,2375* (0,1336; 0,4112)

Отмечалось снижение относительного и абсолютного содержания CD3+CD4+ ТСМ и ТЕМ лимфоцитов, с достижением статистической значимости на 4 и 7 СПО (MW, p<0,05; таблица 13) при КТ МСК.

Таблица 13 – Характеристика субпопуляций CD3+CD4+ лимфоцитов

Группа		4 СПО	7 СПО
CD3+CD4+ CD45RA- CD62L+ (ТСМ)			
ОГ	тыс./мкл	0,055* (0,0394; 0,0848)	0,1481*(0,1209; 0,2241)
КГ		0,0787* (0,0549; 0,1541)	0,1964*(0,1692; 0,3528)
CD3+CD4+ CD45RA-CD62L- (ТЕМ)			
ОГ	%	7,75* (6,25; 15,15)	9,1* (7,75; 15,7)
КГ		15,2* (9,5; 20,6)	13,75* (9,95; 18,85)
ОГ	тыс./мкл	0,0129* (0,0085; 0,0344)	0,0289* (0,0184; 0,0643)
КГ		0,0258* (0,0162; 0,0569)	0,0605*(0,0321; 0,1071)

На 10 СПО уровень миелоидных и плазматоидных дендридных клеток (mDC и pDC) в группе КТ МСК был выше. В ОГ отмечено увеличение относительного содержания mDC-клеток: 0,222 (0,105; 0,31) % по сравнению с 0,125 (0,0785; 0,257) % в КГ (MW, p=0,04). Относительное и абсолютное содержание pDC-клеток составило в ОГ 0,025 (0,004; 0,055) % и 0,0031 (0,0004; 0,0064) ×10³/мкл, по сравнению с 0,011 (0,002; 0,024) % и 0,0011 (0,0003; 0,0024) ×10³/мкл в КГ (MW, p<0,05). Уменьшение количества DC-клеток в КГ у пациентов после ТП связано с миграцией в трансплантат и иммунные органы для участия в активной антигенной презентации и индукции аллоспецифического иммунного ответа.

В ОГ абсолютное количество MZB-клеток было ниже. На 7 СПО разница имела статистическую значимость, что составило 0,0104 (0,0043; 0,0227) ×10³/мкл по сравнению с 0,0218 (0,0054; 0,0312) ×10³/мкл в КГ (MW, p=0,04).

Метод ИСТ с использованием МСК при развитии периоперационного ОПП. Разработанный метод основан: 1) на применении МСК в качестве компонента ИСТ и 2) минимизации дозы такролимуса. Введение МСК осуществляется в несколько этапов. Первая инфузия МСК выполняется на 0 сутки диагностики острого почечного повреждения (СОПП) в количестве 2×10^6 кл./кг массы тела реципиента, вторая – на 4 СОПП в аналогичной дозировке. При восстановлении почечной функции введение МСК прекращается. При персистирующей почечной дисфункции введение МСК продолжается на 8 и 12 СОПП в количестве 1×10^6 и $0,5 \times 10^6$ кл. на кг массы тела реципиента соответственно. Доза такролимуса редуцируется с поддержанием концентрации препарата ниже 5 нг/мл.

Анализ динамики креатинина в РПОП показал сопоставимость групп по критериям KDIGO и срокам развития ОПП. Манифестация ОПП в обеих группах наблюдалась в период со 2-х по 4-е сутки, медиана 4 (2; 4) сут. (MW, $p > 0,05$). На момент диагностики ОПП показатели не различались: креатинин составил 128 (89; 152) мкмоль/л в ОГ и 122 (91; 149) мкмоль/л в КГ (MW, $p > 0,05$). Исследование продемонстрировало более быстрое восстановление почечной функции в ОГ (таблица 14).

Таблица 14 – Лабораторные показатели почечной функции

Показатель	Группа	СОПП		
		4	8	12
Креатинин, мкмоль/л	ОГ	90 (72; 156)	82* (69; 125)	86* (70; 116)
	КГ	125 (75; 162)	104* (78; 140)	99* (82; 134)
СКФ, мл/мин	ОГ	49* (33; 71)	49 (22; 63)	44,5 (22; 56)
	КГ	29* (20; 53)	35 (23; 54)	36 (21; 51)

Концентрация такролимуса была достоверно ниже в ОГ на протяжении всего периода наблюдения (таблица 15).

Таблица 15 – Концентрация такролимуса в группах, нг/мл

Группа	СОПП			
	0	4	8	12
МСК	0,8 (0; 1,1)	1,3* (0; 3,2)	1,9* (0,3; 4)	2,05* (0,6; 3,9)
КГ	1,1 (0,7; 3,9)	3,2* (2; 6,1)	4,8* (2,7; 8,1)	4,85* (3,5; 7,7)

На 12 СОПП она составила в ОГ 2,05 (0,6; 3,9) нг/мл и 4,85 (3,5; 7,7) нг/мл в КГ (MW, $p = 0,01$). Прирост концентрации такролимуса за 12 сут. был значительно меньше в ОГ: 1,3 (0,3; 3,7) нг/мл по сравнению с 3,1 (1,6; 6) нг/мл в КГ (MW, $p = 0,013$).

Динамика биохимических маркеров функции трансплантата печени (билирубин, АЛТ, АСТ, МНО) не выявила достоверных различий между группами, однако в ОГ наблюдалась тенденция к более быстрой нормализации показателей.

Частота ОКО составила 30 % в ОГ и 25 % в КГ, ГО – 5 % и 10 % (F, $p>0,05$). Частота хирургических осложнений не различалась между группами (F, $p>0,05$). Послеоперационная летальность составила 5 % в обеих группах. Длительность госпитализации составила 18 (17; 20) сут. в ОГ и 20 (16; 22) сут. в КГ (MW, $p>0,05$).

Метод ИСТ с использованием МСК при развитии такролимус-индуцированного ОПП. Для лечения ОПП, ассоциированного с нефротоксичностью такролимуса, применялся метод ИСТ МСК, аналогичный для периоперационного ОПП, основанный на системном введении МСК в суммарной дозе $5,5 \times 10^6$ кл./кг, разделённой на 4 введения.

Медианы манифестации ОПП в группах не различались, уровни креатинина были сопоставимы (таблица 16).

Таблица 16 – Показатели почечной функции и сроки развития ОПП

Показатель	ОГ	КГ	p, MW
Сутки ОПП после ОТП	10 (6; 16)	10 (8; 14)	$p>0,05$
Креатинин, мкмоль/л:			
0 СОПП	134 (78; 223)	129 (88; 151)	$p>0,05$
Δ (0 СОПП – до ОПП)	34 (28; 81)	31 (27; 57)	

Применение МСК способствовало более быстрому восстановлению почечной функции. К 12-м СОПП в ОГ уровень мочевины составил 6,8 (5,8; 9,1) ммоль/л, креатинина – 90 (75; 94) мкмоль/л, СКФ – 49 (39; 65) мл/мин; в КГ – 13 (9,4; 15,4) ммоль/л, 113 (87; 121) мкмоль/л и 35 (21; 56) мл/мин соответственно (MW, $p<0,05$).

Восстановление почечной функции происходило на фоне более низкой концентрации такролимуса в группе МСК. На 12 СОПП она составила 2,1 (0,5; 3,9) нг/мл в ОГ и 3,7 (3,3; 4,2) нг/мл в КГ (MW, $p=0,04$). Корреляционный анализ выявил взаимосвязь между концентрацией такролимуса и функциональным состоянием почек на 12 СОПП (Sp, $p=0,028$).

Лабораторные показатели функции печеночного трансплантата (билирубин, АСТ, АЛТ, ЩФ, ГГТП, МНО) были сопоставимы в группах без статистически значимых различий (MW, $p>0,05$).

Частота иммунологических осложнений не различалась между группами. В группе МСК отторжение зарегистрировано у 5 (35 %) пациентов: ОКО у 4 (28 %), ГО – у 1 (7 %). В КГ: ОКО у 4 (28 %), ГО – у 1 (7 %) (F, $p>0,05$).

Частота послеоперационных хирургических осложнений была сопоставима (F, $p>0,05$). Продолжительность госпитализации составила 21 (18; 36) сут. в ОГ и 24 (17; 41) сут. в КГ (MW, $p>0,05$).

Оценка отдалённых результатов. Исходно было 186 пациентов после ТП, распределённых на 2 группы: с МСК-терапией (ОГ, $n=93$) и без МСК (КГ, $n=93$). После исключения 37 пациентов, продолживших наблюдение в других центрах, окончательный анализ проведен у 149 пациентов: 73 в ОГ и 76 в КГ, период наблюдения составил от 1 до 8 лет, медиана 3 (2; 5) года. За этот период летальность составила 12,3 % (9/73) в группе МСК и 17,1 % (13/76) в КГ (F, $p>0,05$). 1-й год был критическим по инфекционным осложнениям – основной причины летальных исходов (умерло 6 пациентов (8,2 %) в ОГ и 6 (7,89 %) в КГ (F, $p>0,05$)). На 2-м году летальность снижалась, преобладали осложнения, обусловленные дисфункцией трансплантата: умерло 2 пациента (2,74 %) в ОГ и 4 (5,26 %) в КГ (F, $p>0,05$). В период 3–6 лет летальные исходы регистрировались спорадически. 1-летняя выживаемость в группе МСК составила 91,8 % (6/73), в КГ – 92,1 % (6/76); 3-летняя – 89 % (8/73) и 85,5 % (11/76), 5-летняя – 87,7 % (9/73) и 84,3 % (12/76), 8-летняя – 87,7 % (9/73) и 84,3 % (13/76) (Log-rank тест, $p=0,39$).

По частоте развития послеоперационных осложнений (сосудистых, билиарных) в отдалённом периоде ТП группы не различались (F, $p>0,05$).

Оценка функции трансплантата проводилась путем определения биохимических показателей в 2 контрольных точках: на момент проведения исследования и максимальное пиковое значение (max) за весь период наблюдения. ОГ составили 64 пациента, КГ – 63 (без учёта умерших). Анализ выявил значимые межгрупповые различия АСТ, АЛТ, билирубина, ГГТП (таблица 17).

Таблица 17 – Анализ функции трансплантата в отдалённом периоде

Показатель	Группа	Текущее значение	max
АСТ, Ед/л	МСК	23 (19; 27)	34* (25; 48)
	Без МСК	25 (18; 34)	46* (30; 96)
АЛТ, Ед/л	МСК	23 (17; 39)	45* (30; 61)
	Без МСК	27 (16; 47)	59* (43; 112)
Билирубин, мкмоль/л	МСК	10 (7,4; 15)	14* (11; 19)
	Без МСК	12 (8; 17)	23* (13; 25)
ГГТП, Ед/л	МСК	31 (17,5; 73)	83* (23; 125)
	Без МСК	30 (16; 61)	169* (56; 201)

Частота иммунологической дисфункции трансплантата в группе МСК была 22 % (14/64 пациентов), что достоверно ниже чем в КГ: 40 % (25/63 пациентов) (F, $p=0,02$).

Анализ почечной функции показал меньшую частоту развития ХБП в группе МСК – 23,4 % (15/64) по сравнению с 68,2 % (43/63) в КГ (F, p=0,01; таблица 18).

Таблица 18 – Распределение пациентов по стадиям ХБП

Стадия ХБП KDIGO (2012)	СКФ, мл/мин	МСК (n=64)		Без МСК (n=63)	
		Число	Процент	Число	Процент
C1 (норма)	>90	6	9,4 %	3	4,8 %
C2	60–89	36*	56,2 %	13*	20,6 %
C3	30–59	15*	23,4 %	43*	68,2 %
C3a	45–59	11*	17,2 %	28*	44,4 %
C3b	30–44	4*	6,2 %	15*	23,8 %
C4	15–29	6	9,4 %	4	6,3 %
C5	<15	1	1,6 %	0	0

Число эпизодов нефротоксичности за период наблюдения в группе МСК составило 25 (39,1 %), в КГ – 45 (71,4 %) (F, p=0,03).

Сравнительный анализ показателей почечной функции выявил значимые межгрупповые различия СКФ (таблица 19).

Таблица 19 – Анализ почечной функции по СКФ (мл/мин)

Группа	Текущее значение	min
МСК	62* (49; 73)	53* (42; 60)
Без МСК	52* (44; 60)	46* (39; 51)

В послеоперационном периоде ИСТ включала как монокомпонентные, так и комбинированные схемы препаратов (таблица 20).

Таблица 20 – Режимы ИСТ в отдалённом периоде после ТП

Схема иммуносупрессивной терапии	МСК (n=64)		Без МСК (n=63)	
	Число	Процент	Число	Процент
Тас	37	57,8 %	35	55,6 %
Тас + ММФ	6	9,4 %	6	9,5 %
Тас + ГКС	5	7,8 %	3	4,8 %
Тас + mTOR	9	14,1 %	6	9,5 %
Тас + ММФ + mTOR	1	1,6 %	4	6,3 %
mTOR	1	1,6 %	0	0 %
ММФ	1	1,6 %	0	0 %
ММФ + mTOR	4	6,2 %	0	0 %
Тас + ММФ + ГКС	0*	0 %	7*	11,1 %
Тас + ГКС + mTOR	0	0 %	1	1,6 %
Тас + ММФ + ГКС + mTOR	0	0 %	1	1,6 %

Примечания. Здесь и далее:

1 Тас – такролимус.

2 ММФ – микофенолата мофетил.

3 ГКС – глюкокортикостероид.

4 mTOR – сиролимус либо эверолимус.

Важно отметить, что в КГ отсутствовали пациенты на терапии только ММФ и ингибиторами mTOR. У 8 пациентов КГ назначена 3-компонентная схема, включающая такролимус, ММФ и ГКС (7 пациентов, F, $p=0,013$); такролимус, ММФ и ингибиторы mTOR (1 пациент). В 1 случае в КГ потребовалось назначение 4-компонентной ИСТ.

Для оценки влияния ИКН на течение посттрансплантационного периода проведен анализ концентрации такролимуса, включая текущие, максимальные (max) и средние значения (таблица 21).

Таблица 21 – Сравнительный анализ концентрации такролимуса в группах, нг/мл

Группа	Текущее значение	max	Среднее значение
МСК	4,15 (3,3; 4,5)	5,9 (4,8; 6,6)	4,6 (3,9; 5,2)
Без МСК	5,2 (4,5; 6,2)	8,2 (6,6; 10,2)	6,1 (5,4; 6,8)
p, MW	0,001	0,0001	0,001

Сравнительный анализ продемонстрировал статистически достоверные более высокие показатели концентрации такролимуса в группе без МСК-терапии во всех точках исследования (MW, $p<0,01$; таблица 21).

Анализ клинической значимости текущей концентрации такролимуса выявил достоверную корреляцию между его уровнем и показателями почечной функции – повышение концентрации ИКН ассоциировалось со снижением СКФ (Sp , $p=0,034$).

Анализ ИФТ МПК выявил статистически значимые различия в перераспределении субпопуляций CD3+CD8+ лимфоцитов, pDC-клеток и В-лимфоцитов (CD19+) в группах.

В группе МСК отмечалось уменьшение относительного количества CD3+CD8+ терминально-дифференцированных эффекторных клеток памяти: уровень CD3+CD8+TEMRA лимфоцитов составил 34,7 (24,2; 41,5) %, в КГ - 39,7 (28,2; 46) % (MW, $p=0,03$). Наряду с этим в ОГ зарегистрировано увеличение относительного и абсолютного количества плазмоцитоидных дендритных клеток по сравнению с контрольной группой, что составило 0,07 (0,032; 0,12) % и $0,0042 (0,0017; 0,0063) \times 10^9/л$ в ОГ и 0,048 (0,018; 0,072) % и $0,0028 (0,001; 0,0041) \times 10^9/л$ в КГ соответственно (MW, $p<0,05$).

При изучении субпопуляций В-лимфоцитов выявлено снижение относительного и абсолютного уровня В-клеток маргинальной зоны в группе МСК, что составило 7,4 (3,1; 10,4) % и $0,0073 (0,0038; 0,0119) \times 10^9/л$ и 9,45 (6,6; 16,55) % и $0,0118 (0,0071; 0,0194) \times 10^9/л$ в КГ соответственно (MW, $p<0,05$). Аналогичное перераспределение отмечено в субпопуляции Vm1 лимфоцитов. Относительный и абсолютный уровень Vm1-клеток в группе МСК составил 12,45 (8,65; 19,5) % и $0,014 (0,011; 0,029) \times 10^9/л$. В КГ эти

показатели были выше – 18,8 (12; 25,15) % и 0,02 (0,014; 0,043) ×10⁹/л соответственно (MW, p<0,05).

Таким образом, при анализе результатов проточной цитофлюориметрии в группе МСК было установлено характерное для толерантного иммунного статуса перераспределение иммунокомпетентных клеток в периферической крови.

При проведении иммунологического мониторинга после ТП первым этапом выполнялся скрининг антител к HLA-антигенам. В случае положительного результата скрининга выполняли количественное определение анти-HLA-антител методом PRA.

Анализ результатов скрининга установил статистически значимое различие в частоте выявления антител между группами. В группе МСК антитела выявлены у 3 (5 %) реципиентов, в КГ – у 13 (20 %) (F, p=0,007). Количественная оценка уровня анти-HLA антител методом PRA выявила достоверные межгрупповые различия: диапазон значений титра IgG анти-HLA составил 0–25 % в группе МСК и 0–39 % в группе контроля (MW, p=0,029).

Биомаркеры иммунологической толерантности. В исследование включено 45 пациентов после ТП. По клиническому течению пациенты были разделены на 2 группы. Первую группу (nTOL) составили 9 реципиентов, у которых на фоне стандартной либо усиленной ИСТ отмечены эпизоды отторжения. Во вторую (TOL) – 36 реципиентов, у которых послеоперационный период протекал без признаков отторжения. Срок наблюдения составил 4 (3; 5) года и 5 (4; 6) лет соответственно (MW, p>0,05). 27 (60 %) реципиентов группы TOL получали монотерапию такролимусом, 1 (2,2 %) – ММФ, 3 (6,7 %) – 2-компонентную схему Тас + ММФ, 1 (2,2 %) – Тас + mTOR, и 4 (8,9 %) из-за почечной дисфункции получали 2-компонентную схему ММФ + ГКС (таблица 22).

Таблица 22 – ИСТ пациентов после трансплантации печени

Схема терапии	TOL (n=36)		nTOL (n=9)	
	Число	Процент	Число	Процент
Тас	27	60 %	–	–
ММФ	1	2,2 %	–	–
Тас + ММФ	3	6,7 %	2	4,4 %
Тас + ГКС	–	–	3	6,7 %
Тас + mTOR	1	2,2 %	–	–
Тас + ММФ + ГКС	–	–	4	8,9 %
ММФ + ГКС	4	8,9 %	–	–

По результатам морфологического анализа биоптатов трансплантата у 14 (31 %) из 45 пациентов выявлены признаки хронического отторжения.

Результаты проточной цитометрии показали, что у пациентов, имеющих морфологические признаки отторжения, наблюдалось повышение абсолютного количества CD3+CD8+TEMRA-клеток (таблица 23).

Таблица 23 – Уровень CD3+CD8+TEMRA-лимфоцитов после ТП

Лимфоциты	Без отторжения, n=31	С отторжением, n=14	p, MW
CD3+CD8+TEMRA, 10 ⁹ /л	0,09 (0,034; 0,16)	0,23 (0,14; 0,38)	0,034
CD3+CD8+TEMRA, %	20,7 (18; 31,3)	29,5 (21,9; 43,1)	0,062

Для оценки диагностической значимости абсолютного количества CD3+CD8+TEMRA-клеток проведен ROC-анализ. Установлено, что оптимальным порогом отсечения для данного показателя является значение 0,1882×10⁹/л. Данный cut-off обеспечивает чувствительность 73,33 (95 % ДИ 44,9–92,0) и специфичность 96,55 (95 % ДИ 82,2–99,4). Площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,855 (95 % ДИ 0,716–0,943, p=0,0001), что указывает на высокую прогностическую ценность данного показателя.

При изучении экспрессии генов противовоспалительного цитокина ИЛ-4 и провоспалительного цитокина ФНО-α, выявлен более высокий уровень экспрессии гена ИЛ-4 в группе пациентов без отторжения (таблица 24).

Таблица 24 – Экспрессия генов ИЛ-4 и ФНО-α

Показатель	Без отторжения, n=31	С отторжением, n=14	p, MW
ИЛ-4, AU	1,05 (0,88; 1,19)	0,27 (0,22; 0,41)	0,006
ФНО-α, AU	1,37 (1,08; 1,55)	0,95 (0,87; 1,27)	0,44

ROC-анализ определил клинически значимый порог отсечения для уровня экспрессии гена ИЛ-4: 0,5 AU – с хорошей чувствительностью (85,71 % (95 % ДИ 57,2–97,8)) и специфичностью (83,87 % (95 % ДИ 66,3–94,5)). Площадь под ROC-кривой составила 0,839 (95 % ДИ 0,712–0,928; p=0,0001), свидетельствуя о высокой дискриминационной способности теста.

При сравнении клинических данных с результатами морфологического исследования у 5 пациентов (11 %), классифицированных как иммунологически толерантных (TOL) и получавших монотерапию такролимусом, иммунофенотип лимфоцитов соответствовал таковому при хроническом отторжении. Пункционная биопсия подтвердила субклинический вариант иммунологического повреждения трансплантата. Эскалация ИСТ с назначением ММФ и медрола привела к формированию толерантного иммунофенотипа и положительной морфологической динамике при контрольной биопсии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Локальное (внутрипортальное интраоперационное) введение МСК при трансплантации печени является безопасным и эффективным методом иммуносупрессивной терапии. Применение ЛТ МСК обеспечивает восстановление функции печеночного трансплантата в более ранние сроки по сравнению со стандартной иммуносупрессивной терапией, что подтверждается нормализацией АСТ к 10 СПО: 34 (19; 51) Ед/л и 53 (29; 92) Ед/л соответственно ($p=0,04$); достижением эффективной иммуносупрессии при более низких концентрациях такролимуса к 14 СПО: 5,2 (2,6; 6,7) нг/мл и 6,7 (4,3; 9,5) нг/мл соответственно ($p=0,04$); снижением экспрессии ММП-10 в трансплантате (5 (3; 25) % и 20 (10; 30) % соответственно ($p=0,01$)) и сопоставимой частотой отторжений. Внутрипортальное введение МСК в дозе 20×10^6 кл. и их дальнейшее присутствие в тканях трансплантата, подтвержденное на 7 СПО методом FISH, не связано с риском развития местных осложнений и системных реакций и не нарушает порталный кровоток [8–А; 23–25–А; 29–А; 33–А].

2. Системное внутривенное 2-этапное введение МСК в количестве 2×10^6 кл./кг в 0 и 4 СПО как компонента комплексной иммуносупрессивной терапии, по сравнению со стандартным протоколом иммуносупрессии, при более низких концентрациях такролимуса в плазме крови (3,1 (2,2; 4,9) нг/мл и 4,7 (3,1; 7,8) нг/мл на 7 СПО соответственно, $p=0,04$), сопровождается ускоренным восстановлением биохимических показателей АСТ, АЛТ и билирубина ($p<0,05$) к 10 СПО и отсутствием увеличения частоты отторжений. Снижение дозы такролимуса благоприятно влияет на почечную функцию: к 7 СПО отмечается более низкий уровень мочевины (6,5 (5,9; 12,0) ммоль/л) и креатинина (64 (57; 107) мкмоль/л) по сравнению со стандартной ИСТ (9,3 (7,4; 20,3) ммоль/л и 101 (87; 147) мкмоль/л соответственно, $p<0,05$), что коррелирует с низкой концентрацией такролимуса в крови ($p=0,043$) [10–А; 14–16–А; 27–А].

Иммуномодулирующее действие МСК реализуется через активацию супрессорного звена иммунитета, что проявляется к 4 СПО достоверным увеличением относительного (3,04 (2,9; 5,3) % и 1,27 (0,5; 2,4) % соответственно, $p=0,001$) и абсолютного ($0,0108$ (0,0074; 0,0155) $\times 10^3$ /мкл и $0,0054$ (0,0027; 0,0102) $\times 10^3$ /мкл соответственно, $p=0,04$) количества Т-регуляторных клеток, относительного количества В-регуляторных лимфоцитов (14,75 (3,5; 19,2) % и 2,55 (0,7; 6,9) % соответственно, $p=0,02$); увеличением В1а-клеток (12,4 (2,5; 18,7) % и 3,45 (1,4; 5,8) % соответственно, $p=0,01$); снижением относительного (6,75 (5,4; 11,4) % и 11,55 (9,8; 17,8) % соответственно, $p=0,03$) и абсолютного ($0,0105$ (0,0069; 0,0139) $\times 10^3$ /мкл и $0,0183$ (0,0109; 0,026) $\times 10^3$ /мкл соответственно, $p=0,02$) количества CD3+CD4+

эффекторных клеток памяти; снижением общего относительного (13,7 (6,9; 21,7) % и 33,75 (20; 48,3) % соответственно, $p=0,01$) и абсолютного ($0,0305$ ($0,018$; $0,0629$) $\times 10^3/\text{мкл}$ и $0,1718$ ($0,088$; $0,2544$) $\times 10^3/\text{мкл}$ соответственно, $p=0,001$) количества В-лимфоцитов (CD19+) и абсолютного количества наивных зрелых В-клеток ($0,0193$ ($0,0145$; $0,0478$) $\times 10^3/\text{мкл}$ и $0,0937$ ($0,0565$; $0,1833$) $\times 10^3/\text{мкл}$ соответственно, $p=0,001$). Данные изменения сохраняются в течение 14 сут. после трансплантации печени [14–А; 16–А].

3. Применение клеточной терапии МСК показано пациентам группы риска развития ОПП, обусловленного интраоперационной кровопотерей ≥ 1200 мл (чувствительность 90,48%, специфичность 93,75%), декомпенсированным циррозом печени тяжестью ≥ 10 баллов по шкале Child – Pugh (чувствительность 84,62%, специфичность 96,77%), а также при остром почечном повреждении, вызванном периоперационными факторами и нефротоксичным воздействием ИКН [2–А; 4–А; 9–А; 19–А; 20–А; 26–А].

4. Разработанный метод индукции иммуносупрессии у пациентов группы риска развития периоперационного острого почечного повреждения, включающий комбинированное локальное и системное применение МСК (внутрипортальное введение 20×10^6 кл. и внутривенное 2-этапное введение 2×10^6 кл./кг в 0 СПО и 4 СПО), является эффективным методом медицинской профилактики почечной дисфункции. Его использование позволяет отсрочить назначение такролимуса на 3 сут. после операции (медиана начала приёма в группе КТ МСК составила 3 (2; 4) СПО, в группе стандартной ИСТ – 2 (1; 3) СПО, $p=0,03$) и уменьшить его дозировку более чем на 20%: на 10 СПО концентрация такролимуса составила 4,4 (2; 6) нг/мл и 5,5 (3,8; 7,32) нг/мл ($p=0,029$); на 14 СПО – 4,8 (2,4; 5,7) нг/мл и 6,3 (4,2; 8,8) нг/мл соответственно ($p=0,005$), что способствует скорейшему восстановлению почечной функции. На 7 СПО в группе КТ МСК уровень мочевины составил 6,5 (5,2; 13) ммоль/л, креатинина – 82 (50; 96) мкмоль/л, в группе стандартной ИСТ – 12,05 (6,9; 19,3) ммоль/л и 117 (78; 164) мкмоль/л соответственно ($p < 0,05$). Уменьшение дозы такролимуса на фоне применения МСК способствовало раннему восстановлению функции печени и не приводило к увеличению частоты отторжений (20% в каждой группе) [6–А; 7–А; 11–А; 13–А; 31–А; 33–А].

Комбинированное введение МСК характеризовалось снижением на 4 СПО абсолютного количества ЕК-клеток (CD3-CD16+CD56+) ($0,0266$ ($0,0163$; $0,0383$) $\times 10^3/\text{мкл}$ и $0,0432$ ($0,021$; $0,0652$) $\times 10^3/\text{мкл}$ соответственно, $p=0,02$) и В-лимфоцитов (CD19+) ($0,1069$ ($0,0609$; $0,2007$) $\times 10^3/\text{мкл}$ и $0,1743$ ($0,0788$; $0,2763$) $\times 10^3/\text{мкл}$, $p=0,04$) с сохранением полученного соотношения в течение раннего послеоперационного периода; а также абсолютного количества центральных CD3+CD4+ клеток памяти ($0,055$ ($0,0394$; $0,0848$) $\times 10^3/\text{мкл}$ и $0,0787$ ($0,0549$; $0,1541$) $\times 10^3/\text{мкл}$ соответственно, $p=0,03$) и относительного

(7,75 (6,25; 15,15) % и 15,2 (9,5; 20,6) % соответственно, $p=0,02$) и абсолютного ($0,0129$ ($0,0085$; $0,0344$) $\times 10^3$ /мкл и $0,0258$ ($0,0162$; $0,0569$) $\times 10^3$ /мкл соответственно, $p=0,03$) количества эффекторных CD3+CD4+TEM-лимфоцитов, с сохранением данного соотношения в течение 7 СПО. На 10-е сутки применение КТ МСК сопровождалось повышением относительного количества mDC-клеток ($0,222$ ($0,105$; $0,31$) % и $0,125$ ($0,0785$; $0,257$) % соответственно, $p=0,04$) и относительного и абсолютного количества pDC-клеток ($0,025$ ($0,004$; $0,055$) % и $0,011$ ($0,002$; $0,024$) %; $0,0031$ ($0,0004$; $0,0064$) $\times 10^3$ /мкл и $0,0011$ ($0,0003$; $0,0024$) $\times 10^3$ /мкл соответственно, $p<0,05$) [7–А; 13–А].

5. Применение метода иммуносупрессивной терапии МСК, разработанного для лечения периоперационного острого почечного повреждения и основанного на системном введении МСК в суммарной дозировке $5,5 \times 10^6$ кл./кг, разделённой на 4 введения, обеспечивает по сравнению со стандартной терапией ускоренное восстановление почечной функции: уровень креатинина к 8-м суткам начала лечения ОПП составил 82 (69 ; 125) мкмоль/л и 104 (78 ; 140) мкмоль/л соответственно ($p=0,04$), СКФ к 4-м суткам – 49 (33 ; 71) мл/мин и 29 (20 ; 53) мл/мин соответственно ($p=0,01$). Применение метода обеспечивает безопасную минимизацию доз ингибиторов кальциневрина на протяжении всего периода терапии ОПП. На 12-е сутки лечения концентрация такролимуса составила $2,05$ ($0,6$; $3,9$) нг/мл и $4,85$ ($3,5$; $7,7$) нг/мл соответственно ($p=0,01$) [12–А; 21–А; 22–А; 30–А; 32–А; 34–А].

Применение разработанного метода лечения ОПП, связанного с нефротоксичным действием такролимуса, обеспечивало восстановление функции почек к 12-м суткам от начала клеточной терапии: уровень мочевины в группе МСК составил $6,8$ ($5,8$; $9,1$) ммоль/л, креатинина – 90 (75 ; 94) мкмоль/л, СКФ – 49 (39 ; 65) мл/мин; в КГ – 13 ($9,4$; $15,4$) ммоль/л, 113 (87 ; 121) мкмоль/л и 35 (21 ; 56) мл/мин соответственно ($p<0,05$), а также позволило поддерживать концентрацию такролимуса на низком уровне (на 12-е сутки коррекции ОПП концентрация такролимуса составила $2,1$ ($0,5$; $3,9$) нг/мл и $3,7$ ($3,3$; $4,2$) нг/мл соответственно, $p=0,04$) без ухудшения функции трансплантата [3–А; 17–А; 21–А; 22–А; 30–А; 32–А; 34–А].

6. Применение клеточной терапии с использованием МСК в раннем послеоперационном периоде улучшает отдалённые результаты трансплантации печени: отмечалось снижение частоты иммунологической дисфункции трансплантата в $1,8$ раза (с 40 % до 22 % ($p=0,02$)), уменьшение в 4 раза частоты образования анти-HLA-антител (с 20 % до 5 % ($p=0,007$)) и их концентрации (с 0 – 39 % до 0 – 25 % ($p=0,029$)) [18–А; 28–А].

Формирование иммунотолерантного фенотипа у пациентов, получивших МСК, характеризуется снижением относительного и абсолютного количества MZB-клеток ($p<0,05$), относительного и абсолютного

количества Vm1-лимфоцитов ($p<0,05$) и относительного количества CD3+CD8+TEMRA-лимфоцитов ($p=0,03$). Уровень относительного и абсолютного количества pDC-клеток у пациентов с МСК был выше ($p<0,05$). Снижение иммунологической реактивности у пациентов, получавших различные варианты терапии МСК, обеспечивало возможность безопасной минимизации дозировки ингибиторов кальциневрина на 25 % (с 6,1 (5,4; 6,8) нг/мл до 4,6 (3,9; 5,2) нг/мл ($p=0,001$)) и снижение потребности в многокомпонентных схемах иммуносупрессии [18–А; 28–А].

Минимизация ИКН является эффективной долгосрочной нефропротективной стратегией. В отдалённом периоде после трансплантации печени у пациентов, получивших клеточную терапию МСК, почечная функция была лучше: СКФ составила 62 (49; 73) мл/мин по сравнению с 52 (44; 60) мл/мин соответственно ($p=0,04$), количество эпизодов ОПП было меньше (25 и 45 случаев соответственно, $p=0,03$), частота развития ХБП снизилась в 3 раза (с 68,2 % до 23,4 % соответственно, $p=0,01$) [18–А; 28–А].

7. В отдалённом периоде после трансплантации печени экспрессия гена ИЛ-4 выше 0,5 AU (чувствительность 85,71 %, специфичность 83,87 %) и абсолютное содержание CD3+CD8+TEMRA-лимфоцитов менее $0,1882 \times 10^9/\text{л}$ (чувствительность 73,33 %, специфичность 96,55 %) являются диагностическими критериями формирования иммунологической толерантности к трансплантату, применение которых обеспечивает возможность неинвазивного мониторинга и выявления её нарушений, включая субклинические формы хронического отторжения на ранних этапах, что способствует своевременной коррекции терапии [1–А; 5–А].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. При проведении трансплантации печени пациентам группы риска развития острого почечного повреждения рекомендуется использовать для индукции иммуносупрессии МСК интраоперационно после реперфузии трансплантата (внутрипортальное введение 20×10^6 кл. и внутривенная инфузия в количестве 2×10^6 кл./кг) и на 4 СПО (внутривенное введение 2×10^6 кл./кг). При снижении уровня АСТ, АЛТ и билирубина в сравнении с предыдущими сутками допустимо отсрочить назначение ИКН до 3-х суток от момента выполнения трансплантации печени с последующим назначением ингибиторов кальциневрина (такролимуса) в редуцированной дозировке с поддержанием целевой концентрации менее 5 нг/мл. После нормализации почечной функции иммуносупрессивную терапию назначают в соответствии с клиническим протоколом «Трансплантация печени (взрослое и детское население)» (№ 31 утверждён Министерством здравоохранения 13.02.2023) [6–А; 7–А; 11–А; 13–А; 31–А; 33–А].

2. При развитии периоперационного острого почечного повреждения рекомендуется применить метод иммуносупрессивной терапии с использованием МСК, включающего в день диагностики острого почечного повреждения (0 СОПП) внутривенную инфузия МСК в количестве 2×10^6 кл./кг и минимизацию дозы такролимуса до целевой концентрации менее 5 нг/мл. Повторное введение МСК проводят на 4 СОПП в дозировке 2×10^6 кл./кг. При нормализации показателей почечной функции терапию МСК после 2-й инфузии завершают. В случае сохраняющейся почечной дисфункции проводят 3-е (на 8 СОПП) и 4-е (на 12 СОПП) введение МСК в количестве 1×10^6 и $0,5 \times 10^6$ кл./кг соответственно. После завершения терапии МСК иммуносупрессивную терапию корректируют в соответствии с клиническим протоколом «Трансплантация печени (взрослое и детское население)» (№ 31, утверждён Министерством здравоохранения 13.02.2023) [12–А; 21–А; 22–А; 30–А; 32–А; 34–А].

3. В послеоперационном периоде при развитии ОПП, связанного с нефротоксичным воздействием ингибиторов кальциневрина, рекомендуется применить метод иммуносупрессивной терапии с использованием МСК по следующей схеме: на 0 СОПП и 4 СОПП выполняют внутривенное введение МСК в количестве 2×10^6 кл./кг с коррекцией режима приёма такролимуса (редукция дозы до целевой концентрации менее 5 нг/мл). При восстановлении почечной функции терапию МСК после 2-го введения завершают. При сохраняющейся почечной дисфункции выполняют 3-ю и 4-ю инфузию МСК на 8 СОПП и 12 СОПП в количестве 1×10^6 и $0,5 \times 10^6$ кл./кг соответственно. После завершения терапии МСК назначают стандартную иммуносупрессивную терапию согласно клиническому протоколу «Трансплантация печени (взрослое и детское население)» (№ 31, утверждён Министерством здравоохранения 13.02.2023) [17–А; 21–А; 22–А; 30–А; 32–А; 34–А].

4. В отдалённом периоде после трансплантации печени рекомендуется провести иммунологический мониторинг с определением экспрессии гена ИЛ-4 и содержания абсолютного количества CD3+CD8+TEMRA-лимфоцитов в периферической крови. Благоприятным иммунологическим профилем является экспрессия гена ИЛ-4 $\geq 0,5$ AU и уровень лимфоцитов CD3+CD8+TEMRA менее $0,1882 \times 10^9$ /л. Определение этих биомаркеров в посттрансплантационном периоде позволяет проводить раннюю диагностику иммунологической дисфункции трансплантата, включая субклинические формы хронического отторжения, своевременно корректировать лечение, а при благоприятном профиле биомаркеров – снижать дозу ИКН и уменьшать компонентность иммуносупрессивной терапии [1–А; 5–А].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в научных журналах

1–А. Возможности неинвазивной диагностики отторжения трансплантата печени с использованием терминально-дифференцированных эффекторных CD8⁺ Т-лимфоцитов / С. В. Коротков, В. Н. Смольникова, В. Ю. Гриневич, О. А. Лебедь, М. Н. Василенко, Д. Ю. Ефимов, А. М. Федорук, А. Е. Щерба, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Гепатология и гастроэнтерология. – 2020. – № 2. – С. 177–183.

2–А. Периоперационные факторы риска развития острого повреждения почек при трансплантации печени / С. В. Коротков, В. В. Шамрук, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // Медицинские новости. – 2022. – № 11. – С. 41–45.

3–А. Применение мезенхимальных стволовых клеток для лечения дисфункции трансплантата печени, вызванной хроническим отторжением: клинический случай / С. В. Коротков, О. А. Лебедь, В. В. Смольникова, И. И. Пикиреня, А. Е. Щерба, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Хирургия. Восточная Европа. – 2022. – Т. 11, № 2. – С. 271–285.

4–А. Факторы риска развития острого почечного повреждения в раннем послеоперационном периоде при трансплантации печени / С. В. Коротков, О. О. Руммо // Медицинские новости. – 2023. – № 2. – С. 49–53.

5–А. Биомаркеры иммунологической толерантности при трансплантации печени / С. В. Коротков, А. И. Киреева, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Медицинские новости. – 2025. – № 10. – С. 61–64.

6–А. Влияние иммуносупрессивной терапии с использованием МСК на функцию почек у пациентов после трансплантации печени / С. В. Коротков, Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, О. С. Коротков, Д. Ю. Ефимов, Н. Г. Гвоздь, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Военная медицина. – 2025. – № 4. – С. – 40–49.

7–А. Иммунный статус пациентов после трансплантации печени при комбинированной локальной и системной терапии мезенхимальными стволовыми клетками / С. В. Коротков, В. В. Смольникова, В. Ю. Гриневич, О. С. Коротков, Д. Ю. Ефимов, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Наука и инновации. – 2025. – № 11. – С. – 78–83.

8–А. Индукция иммуносупрессии при трансплантации печени с использованием внутрипортального введения мезенхимальных стволовых клеток / С. В. Коротков, Е. А. Примакова, А. А. Сыманович, О. А. Лебедь, Т. В. Лебедева, А. Е. Щерба, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2025. – Т. XXVII, № 3. – С. 66–77.

9–А. Континуум почечного повреждения при трансплантации печени: роль мезенхимальных стволовых клеток в минимизации нефротоксичности такролимуса / С. В. Коротков, Д. А. Федорук, А. М. Федорук, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Гепатология и гастроэнтерология. – 2025. – № 1. – С. 43–52.

10–А. Коротков, С. В. Влияние системного применения мезенхимальных стволовых клеток на дозу такролимуса и функцию почек у пациентов после трансплантации печени / С. В. Коротков, О. О. Руммо // Медицинские новости. – 2025. – № 11. – С. 53–58.

11–А. Коротков, С. В. Особенности восстановления функции печёночного трансплантата при использовании комбинированной клеточной терапии в схеме индукционной иммуносупрессии / С. В. Коротков, О. О. Руммо // Хирургия. Восточная Европа. – 2025. – Т. 14, № 3. – С. 421–431.

12–А. Мезенхимальные стволовые клетки в трансплантации печени: инновационный подход к лечению острого почечного повреждения / С. В. Коротков, О. О. Руммо // Медицинские новости. – 2025. – № 8. – С. 59–62.

13–А. Минимизация иммуносупрессивной терапии с использованием мезенхимальных стволовых клеток при трансплантации печени у пациентов с почечным повреждением / С. В. Коротков, Е. Г. Юркина, А. А. Сыманович, Е. А. Назарова, И. П. Штурич, А. М. Дзядзько, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 4. – С. 281–292.

14–А. Особенности иммунного статуса пациентов после трансплантации печени с применением мезенхимальных стволовых клеток / С. В. Коротков, В. В. Смольникова, В. Ю. Гриневиц, А. Е. Щерба, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 3. – С. 220–231.

15–А. Оценка влияния системного применения мезенхимальных стволовых клеток на восстановление функции печёночного трансплантата в раннем послеоперационном периоде / С. В. Коротков, Н. И. Дедюля, И. А. Романова, О. А. Лебедь, Е. Ю. Крученок, А. М. Федорук, А. Е. Щерба, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Гепатология и гастроэнтерология. – 2025. – № 1. – С. 29–37.

16–А. Оценка эффективности системного применения мезенхимальных стволовых клеток для индукции иммуносупрессии при трансплантации печени / С. В. Коротков, В. В. Шамрук, Н. И. Дедюля, И. А. Романова, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Здоровоохранение. – 2025. – № 11. – С. 4–13.

17–А. Применение мезенхимальных стволовых клеток для минимизации такролимус-индуцированного острого почечного повреждения у реципиентов печёночного трансплантата / С. В. Коротков, О. С. Коротков, И. В. Четвериков, В. В. Шамрук, И. П. Штурич, С. И. Кривенко, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // Медицинские новости. – 2025. – № 9. – С. 65–68.

18–А. Применение мезенхимальных стволовых клеток при трансплантации печени: оценка отдаленных результатов / С. В. Коротков, Е. А. Назарова, Е. Г. Юркина, В. В. Смольникова, В. Ю. Гриневиц,

Е. А. Янушевская, А. Ю. Старцева, А. Е. Щерба, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Трансплантология. – 2025. – Т. 17, № 2. – С. 232–245.

Статьи в сборниках научных трудов

19–А. Анализ факторов, определяющих развитие острого почечного повреждения при трансплантации печени на периоперационном этапе / С. В. Коротков, В. В. Шамрук, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // Инновационные технологии и мультидисциплинарный подход – современные тенденции в оказании многопрофильной специализированной медицинской помощи : материалы науч.-практ. конф., посвящ. 40-летию УЗ «10-я городская клиническая больница», Минск, 22 мая 2025 г. – Минск, 2025. – С. 60–66.

20–А. Острое почечное повреждение на периоперационном и госпитальном этапах трансплантации печени / С. В. Коротков, В. В. Шамрук, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // Актуальные вопросы военной медицины : материалы респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 30-летию военно-мед. института в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет», 5–6 июня 2025 г. – Минск, 2025. – С. 93–94.

Тезисы докладов и материалы конференций

21–А. Results of pilot study of the mesenchymal stem cells efficiency in the early post-transplant period in order to replace immunosuppressive effect of tac in patients after LT with AKI and kidney failure / S. Korotkov, A. Shcherba, D. Fedoruk, E. Nazarova, A. Koritko, V. Smolnikova, S. Krivenko, O. Rummo // Abstracts of the 17th Congress of the European Society for Organ Transplantation, 13–16 Sep. 2015, Brussels, Belgium. – [Publ.] Transplantation International. – 2015. – Vol. 28, suppl. 4. – P. 14.

22–А. Substitution of immunosuppressive effect of tacrolimus by mesenchymal stem cells in patients after liver transplantation with acute kidney injury / S. Korotkov, A. Shcherba, A. Koritko, E. Primakova, D. Efimov, S. Krivenko, O. Rummo // 6. Ulusal Transplantasyon İmmünolojisi ve Genetiği Kongresi, 6–9 Nisan 2017, Antalya / İmmünolojisi ve Genetiği Derneği. – Antalya, 2017. – P. SS2.

23–А. Результаты пилотного исследования локального использования мезенхимальных стволовых клеток для индукции иммуносупрессии у пациентов при трансплантации печени / С. В. Коротков, А. Е. Щерба, Д. Ю. Ефимов, О. А. Лебедь, И. П. Штурич, Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, Е. Г. Петровская, И. И. Пикиреня, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Материалы X Всероссийского съезда трансплантологов с международным участием : тезисы докладов / под ред. акад. С. В. Готье, Москва, 5–7 окт. 2020 г. – [Опубл.] Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22, прил. – С. 144.

24–A. Mesenchymal stem cells local therapy for induction of immunosuppression in liver transplantation: results of pilot study / S. V. Korotkov, A. E. Shcherba, D. Yu. Efimov, E. V. Primakova, E. G. Petrovskaya, E. A. Nazarova, I. P. Shturich, S. I. Krivenko, O. O. Rummo // 20th Congress of the European Society for Organ Transplantation, 29 August – 1 September 2021, Milan, Italy : abstract book. – [Publ.] Transplantation International. – 2021. – Vol. 34, suppl. 1. – P. 102.

25–A. The results of pilot study of the mesenchymal stem cells local therapy efficiency for induction of immunosuppression in the early postoperative period after liver transplantation / S. V. Korotkov, E. V. Primakova, E. G. Petrovskaya, O. A. Lebed, D. Yu. Efimov, I. P. Shturich, A. E. Shcherba, S. I. Krivenko, O. O. Rummo // Connecting of the World of liver transplantation : the 2021 Virtual International Congress of ILTS, ELITA and LICAGE : digital event, May 5–8, 2021 : abstract book. – [Publ.] Transplantation. – 2021. – Vol. 105, № 8S. – P. 166–167.

26–A. Острое почечное повреждение в раннем послеоперационном периоде при трансплантации печени / С. В. Коротков, И. П. Штурич, А. Е. Щерба, О. О. Руммо // Современные технологии оказания экстренной и неотложной медицинской помощи на госпитальном этапе : материалы VI съезда врачей неотложной медицины, приуроченного к 100-летию НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ, Москва, 19–20 окт. 2023 г. – М., 2023. – С. 236.

27–A. Острое почечное повреждение: влияние системного применения мезенхимальных стволовых клеток на восстановление почечной функции после трансплантации печени / С. В. Коротков, Е. А. Примакова, Е. Г. Назарова, Д. Ю. Ефимов, И. П. Штурич, А. Е. Щерба, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии : XXXII Междунар. конгресс Ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ, посвящ. 80-летию Победы в Великой Отечественной войне, Санкт-Петербург, 24–26 сент. 2025 г. – СПб., 2025. – С. 83.

28–A. 10-летний опыт успешного применения мезенхимальных стволовых клеток при трансплантации печени / С. В. Коротков, Е. А. Назарова, Е. Г. Юркина, В. В. Смольникова, В. Ю. Гриневич, Е. А. Янушевская, А. Ю. Старцева, А. Е. Щерба, С. И. Кривенко, О. О. Руммо // Трансплантация и донорство органов : материалы VII Рос. нац. конгресса с международным участием. – [Опубл.] Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2025. – Т. 27, № 3. – С. 161.

29–A. Clinical implementation of advanced biotechnologies for liver failure management in Belarus: stem cell therapies and tissue engineering approaches / D. Efimov, E. Primakova, E. Yurkina, S. Krivenko, E. Nazarova, D. Sadovskiy, S. Korotkov, A. Shcherba, O. Rummo // 18th CTRMS Congress, October 22–25, 2025, Tokyo. – [Publ.] Transplantation. – 2025. – Vol. 109, № 10S. – P. S31.

Инструкции по применению

30–А. Метод иммуносупрессивной терапии при остром почечном повреждении после трансплантации печени с применением аллогенных мезенхимальных стволовых клеток : инструкция по применению № 101-1116 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 25.11.2016 / УЗ «9-я городская клиническая больница» г. Минска ; О. О. Руммо, С. И. Кривенко, С. В. Коротков, А. Е. Щерба, О. В. Калачик, А. М. Федорук, О. А. Юдина, А. А. Коритко, Н. И., Е. А. Примакова, Е. А. Назарова, Е. Г. Петровская, В. В. Смольникова, В. Ю. Гриневич, А. И. Киреева, К. В. Жур, О. А. Лебедь, А. В. Носик. – Минск, 2016. – 5 с.

31–А. Метод медицинской профилактики почечной недостаточности после трансплантации печени в раннем послеоперационном периоде : инструкция по применению № 052-0624 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 13.12.2024 / ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» ; О. О. Руммо, С. И. Кривенко, А. Е. Щерба, С. В. Коротков, И. П. Штурич, Н. И. Дедюля, Д. Ю. Ефимов, Е. А. Примакова, А. А. Сыманович, Е. А. Назарова, Е. Г. Юркина, А. А. Романова, В. В. Шамрук. – Минск, 2024. – 7 с.

32–А. Метод лечения почечной недостаточности после трансплантации печени в раннем послеоперационном периоде: инструкция по применению № 074-0924 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 13.12.2024 / ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» ; О. О. Руммо, С. И. Кривенко, А. Е. Щерба, С. В. Коротков, И. П. Штурич, Н. И. Дедюля, Д. Ю. Ефимов, Е. А. Примакова, А. А. Сыманович, Е. А. Назарова, Е. Г. Юркина, А. А. Романова, В. В. Шамрук. – Минск, 2024. – 7 с.

Клинический протокол

33–А. Клинический протокол «Трансплантация печени (взрослое и детское население)» : утв. пост. Совета Министров Республики Беларусь № 31 13.02.2023 // Клинические протоколы. – Минск, 2024. – Гл. 9. – п. 77.5. – с. 127.

Патент

34–А. Патент ВУ 21981, МПК А677Г 35/75 (2015.01), А61К31/436 (2006.01), А61Р13/00 (2006.01) Способ лечения пациента при развитии острого почечного повреждения после трансплантации печени : № а 20160415 : заявлено 17.11.2016 : опубл. 30.10.2021 / Коротков С. В., Щерба А. Е., Коритко А. А., Назарова Е. А., Петровская Е. Г., Гомон А. А., Ефимов Д. Ю., Федорук А. М., Кривенко С. И., Руммо О. О. ; заявитель УЗ «9-я городская клиническая больница». – URL: <https://search.ncip.by/database/?page=3&target=36087> (дата обращения: 01.03.2025).

РЭЗІЮМЭ

Караткоў Сяргей Уладзіміравіч

Імунаталерантнасць і імунасупрэсіўная тэрапія пры трансплантацыі печані

Ключавыя словы: трансплантацыя печані (ТП), мезенхімальныя стваловыя клеткі (МСК), вострае ныркавае пашкоджанне (ВНП), імуналагічная талерантнасць.

Мэта даследавання: палепшыць вынікі лячэння пацыентаў пасля ТП шляхам распрацоўкі і ўкаранення новай стратэгіі імунасупрэсіі, уключаючай персаніфікаваны падыход да імунасупрэсіўнай тэрапіі на этапах ранняга і позняга пасляперацыйнага перыяду, прымяненне клетачнай тэрапіі МСК і маніторынг біямаркераў імуналагічнай талерантнасці.

Метады даследавання і выкарыстаная апаратура: марфалагічны, цытаметрычны, імунасэралагічны, малекулярна-генетычны, статыстычны; цытафлуарыметр FACSLyric (Becton Dickinson, ЗША), мультыплексны аналізатар Luminex 200, ампліфікатар CFX96 (Bio-Rad, ЗША), мікраскоп LEICA DM 2500, мікраскоп BX53 (Olympus, Японія).

Атрыманыя вынікі і іх навізна: даказана эфектыўнасць унутрыпартальнага (20×10^6 кл.) і ўнутрывеннага (2×10^6 кл./кг) прымянення МСК пры ТП для мінімізацыі дозы інгібітараў кальцынеўрына. Вызначаны паказанні да клетачнай тэрапіі: інтраоперацыйная страта крыві ≥ 1200 мл, цыроз печані ≥ 10 балаў Child – Pugh, перыоперацыйнае і такралімус-індукаванае ВНП. Распрацавана стратэгія імунасупрэсіўнай тэрапіі з прымяненнем МСК: індукцыя імунасупрэсіі (ІС) камбінаваным увядзеннем МСК і клетачная тэрапія ВНП. Выяўлена МСК-апасрэдаванае фарміраванне талерагеннага імунафенатыпу, абумоўленае перараспадзяленнем імунакампетэнтных клетак, якія ўдзельнічаюць у рэалізацыі алаіmunнага адказу. Устаноўлены доўгатэрміновы імунамадуліруючы эфект МСК: зніжэнне частаты адторжання ў 1,8 раза, утварэнне анты-HLA-антыцел у 4 разы, мінімізацыя дозы такралімусу на 25 % і зніжэнне частаты развіцця хранічнай хваробы нырак ў 3 разы. Вызначаны біямаркеры імуналагічнай талерантнасці (экспрэсія гена IL-4 і ўзровень CD3+CD8+TEMRA).

Рэкамендацыі па выкарыстанні: індукцыя ІС пры ТП ў пацыентаў групы рызыкі развіцця ВНП, лячэнне перыоперацыйнага і такралімус-індукаванага ВНП, імуналагічны маніторынг.

Вобласць прымянення: транспланталогія.

РЕЗЮМЕ

Коротков Сергей Владимирович

Иммунотолерантность и иммуносупрессивная терапия при трансплантации печени

Ключевые слова: трансплантация печени (ТП), мезенхимальные стволовые клетки (МСК), острое почечное повреждение (ОПП), иммунологическая толерантность.

Цель исследования: улучшить результаты лечения пациентов после трансплантации печени путём разработки и внедрения новой стратегии иммуносупрессии, включающей персонализированный подход к назначению иммуносупрессивной терапии на этапах раннего и позднего послеоперационного периода, применение клеточной терапии и мониторинг биомаркеров иммунологической толерантности.

Методы исследования и использованная аппаратура: морфологический, цитометрический, иммуносерологический, молекулярно-генетический, статистический; цитофлуориметр FACSLyric (Becton Dickinson, США), мультиплексный анализатор Luminex 200, амплификатор CFX96 (Bio-Rad, США), микроскоп LEICA DM 2500, микроскоп BX53 (Olympus, Япония).

Полученные результаты и их новизна: доказана эффективность внутрипортального (20×10^6 кл.) и внутривенного (2×10^6 кл./кг) применения МСК при ТП для минимизации дозы ингибиторов кальциневрина. Определены показания к клеточной терапии: интраоперационная кровопотеря ≥ 1200 мл, цирроз печени ≥ 10 баллов Child – Pugh, периоперационное и такролимус-индуцированное ОПП. Разработана стратегия иммуносупрессивной терапии с применением МСК: индукция иммуносупрессии (ИС) комбинированным введением МСК и клеточная терапия ОПП. Выявлено МСК-опосредованное формирование толерогенного иммунофенотипа, обусловленное перераспределением иммунокомпетентных клеток, участвующих в реализации аллоиммунного ответа. Установлен долгосрочный иммуномодулирующий эффект МСК: снижение частоты отторжения в 1,8 раза и образования анти-HLA антител в 4 раза, минимизация дозы такролимуса на 25 % и снижение частоты развития хронической болезни почек в 3 раза. Определены биомаркеры иммунологической толерантности (экспрессия гена ИЛ-4 и уровень CD3+CD8+TEMRA).

Рекомендации по использованию: индукция ИС при ТП у пациентов группы риска развития ОПП, лечение периоперационного и такролимус-индуцированного ОПП, иммунологический мониторинг.

Область применения: трансплантология.

SUMMARY

Korotkov Sergey Vladimirovich

Immunotolerance and Immunosuppressive Therapy in Liver Transplantation

Keywords: liver transplantation (LT), mesenchymal stem cells (MSCs), acute kidney injury (AKI), immunological tolerance.

Objective of the study: to improve treatment outcomes of patients after liver transplantation through the development and implementation of a novel immunosuppression strategy including personalized approach to immunosuppressive therapy in the early and late postoperative periods, mesenchymal stem cell therapy and monitoring of immunological tolerance biomarkers.

Research methods and equipment used: laboratory, morphological, cytometric, immunoserological, molecular genetic, statistical methods; FACSLyric flow cytometer (Becton Dickinson, USA), Luminex 200 multiplex analyzer, CFX96 amplifier (Bio-Rad, USA), LEICA DM 2500 microscope, BX53 microscope (Olympus, Japan).

Obtained results and their novelty: the efficacy of intraportal (20×10^6 cells) and intravenous (2×10^6 cells/kg) MSCs administration in LT for minimizing calcineurin inhibitor doses has been demonstrated. Indications for cell therapy have been defined: intraoperative blood loss ≥ 1200 ml, liver cirrhosis ≥ 10 Child–Pugh score, perioperative and tacrolimus-induced acute kidney injury. MSCs immunosuppressive therapy strategy has been developed, including induction of immunosuppression (IS) with combined MSCs administration and MSCs therapy for AKI. MSC-mediated formation of a tolerogenic immunophenotype due to redistribution of immunocompetent cells involved in the alloimmune response was identified. A long-term immunomodulatory effect of MSCs has been established, manifested by a 1,8-fold reduction in rejection rate, a 4-fold decrease in anti-HLA antibody formation, a 25 % reduction in tacrolimus dose, and a 3-fold decrease in the incidence of C3 stage of chronic kidney disease. For the first time, biomarkers of immunological tolerance (IL-4 gene expression and CD3+CD8+TEMRA levels) have been identified.

Recommendations for use: IS induction in LT in patients with risk of AKI, treatment of perioperative and tacrolimus-induced AKI, immunological monitoring.

Field of application: transplantology.