На правах рукописи

Артёмов Дмитрий Владимирович

СЕЛЕКТИВНАЯ СОРБЦИЯ ЦИТОКИНОВ У ПАЦИЕНТОВ СТАРШИХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

14.01.04 – внутренние болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва, 2020 г.

Работа выполнена в Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского».

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, доцент **Зулькарнаев Алексей Батыргараевич**

Официальные оппоненты:
Шилов Евгений Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), кафедра внутренних, профессиональных болезней и ревматологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, профессор кафедры.
Шаршаткин Алексей Вячеславович - доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный клинический центр высоких медицинских технологий» Федерального медико-биологического агентства России, отделение пересадки почки и гемодиализа, заведующий отделением.

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» Департамента здравоохранения города Москвы.

Защита диссертации состоится «___» ноября 2020 года в 12-00 часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.052.02, созданного на базе ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», по адресу: 105203 г. Москва, ул. Нижняя Первомайская, д. 70.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института усовершенствования врачей ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, по адресу: 105203 г. Москва, ул. Нижняя Первомайская, д. 65 и на сайте www.pirogov-center.ru.

Автореферат разослан: «_ __ __»_____ 2020 г.

Ученый секретарь объединенного диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор Матвеев Сергей Анатольевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В последние годы количество больных с хронической болезнью почек V ст. (ХБП) неуклонно растет. Среди всех методов лечения ХБП 5 стадии именно аллотрансплантация трупной почки обеспечивает лучшие результаты по сравнению с другими видами заместительной почечной терапии [Connell P.J. et al., 2017; Hernandez–Fuentes M.P. et al., 2018]. Однако за последнее десятилетие темп роста количества трансплантаций почек несколько снизился. Основным способом увеличения количества донорских органов и, в том числе, почек является использование органов, полученных от субоптимальных (маргинальных) доноров [Нестеренко И.В., 2009; Столяр А.Г. и соавт., 2015]. Расширение донорского пула привело к тому, что часто трансплантированные органы, полученные от «возрастных» доноров или доноров с небьющимся сердцем, то есть – подверженные первичной тепловой ишемии, имеют повышенную иммуногенность, и более склонны к кризам отторжения и тяжелым ишемическим и реперфузионным повреждениям [Cheadle C. et al., 2011; Damman J. et al., 2011].

Существующий ныне принцип «old for old» способствует улучшению результатов лечения ХБП в общей популяции больных, однако, компрометирует возрастных реципиентов. Улучшение результатов трансплантации почек, полученных от субоптимальных доноров является актуальной проблемой современной трансплантологии. Одним из перспективных методов лечения ишемического и реперфузионного повреждения трансплантата является метод селективной сорбция цитокинов (ССЦ), который позволяет удалять из циркулирующей крови про- и противовоспалительные цитокины [Berlot G. et al., 2012, Shah S.H., 2013]. Опыт применения данного метода у реципиентов почечного трансплантата старших возрастных групп в настоящее время отсутствует. Вместе с тем, вмешавшись в патофизиологический механизм на начальном этапе, сорбция цитокинов может предотвратить в будущем сложные для лечения осложнения. Таким образом, несмотря на все достижения в

медицине и накопленный клинический опыт в трансплантологии, проблема профилактики и лечения синдрома ишемии/реперфузии остается крайне важной, особенно у пациентов старших возрастных групп. Это и явилось основанием для проведения данного исследования.

Цель исследования

Изучить потенциал селективной сорбции цитокинов в снижении тяжести ишемического и реперфузионного повреждения почечного трансплантата у пациентов старших возрастных групп.

Задачи исследования

1. Оценить особенности цитокинового профиля и морфофункциональное состояние мононуклеаров периферической крови у реципиентов почечного аллотрансплантата старших возрастных групп.
2. Изучить влияние селективной сорбции цитокинов на цитокиновый профиль в раннем послеоперационном периоде.
3. Изучить в режиме реального времени качественные и количественные изменения морфометрических и электрокинетических показателей функционального состояния мононуклеаров периферической крови реципиентов почечного аллотрансплантата старших возрастных групп.
4. Изучить влияние селективной сорбции цитокинов на тяжесть ишемического и реперфузионного повреждения, трансплантационной нефропатии, а также частоту и тяжесть кризов отторжения трансплантата на основе данных протокольных биопсий и биопсий по требованию.
5. Оценить эффективность раннего применения селективной сорбции цитокинов по клиническим и лабораторным признакам у больных старших возрастных групп в ближайшем и отдаленном послеоперационных периодах.

Научная новизна

Проведено оригинальное клиническое исследование, направленное на оценку эффективности раннего применения селективной сорбции цитокинов в коррекции синдрома ишемии/реперфузии у больных старших возрастных групп.

Впервые проведена комплексная оценка цитокинового профиля и морфофункционального состояния мононуклеаров периферической крови у реципиентов почечного аллотрансплантата старших возрастных групп.

На достаточном клиническом материале впервые проведен сравнительный анализ влияния селективной сорбции цитокинов на цитокиновый профиль в раннем послеоперационном периоде у реципиентов почечного аллотрансплантата старших возрастных групп.

Впервые изучены качественные и количественные изменения морфометрических и электрокинетических показателей функционального состояния мононуклеаров периферической крови реципиентов почечного аллотрансплантата старших возрастных групп при стандартной терапии, а также на фоне применения селективной сорбции цитокинов.

Впервые изучено влияние селективной сорбции цитокинов на тяжесть ишемического и реперфузионного повреждения у больных старших возрастных групп на основе данных протокольных биопсий и биопсий по требованию.

Оценена клиническая эффективность раннего применения селективной сорбции цитокинов у больных старших возрастных групп в раннем и позднем послеоперационных периодах.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработан и внедрен в клиническую практику метод коррекции синдрома ишемии/реперфузии у больных старших возрастных групп путем применения селективной сорбции цитокинов (патент РФ на изобретение № 2494686 от 23.05.2012 г.).

Комплексная оценка цитокинового профиля и морфофункционального состояния мононуклеаров периферической крови у реципиентов почечного трансплантата старших возрастных групп позволила оценить нарушения клеточного иммунного гомеостаза и выявить основные патогенетические звенья, доступные для специфической терапии.

Сравнительный анализ влияния селективной сорбции цитокинов на цитокиновый профиль в раннем послеоперационном периоде позволил патогенети-

чески обосновать эффективность этого метода для коррекции синдрома ишемии/реперфузии почечного аллотрансплантата и определить оптимальную тактику его применения.

Изучение качественных и количественных изменения морфометрических и электрокинетических показателей функционального состояния мононуклеаров периферической крови позволило определить критерии оценки тяжести ишемического и реперфузионного повреждения почечного трансплантата, а также критерии эффективности селективной сорбции цитокинов.

Оценка влияния селективной сорбции цитокинов на тяжесть ишемического и реперфузионного повреждения биопсий в сопоставлении с клинико-лабораторными данными в раннем и отдаленным послеоперационных периодах позволило подтвердить большой практический потенциал этого метода для коррекции ишемического и реперфузионного повреждения трансплантата и улучшения результатов трансплантации почки.

Основные положения, вынесенные на защиту

1. У пациентов старших возрастных групп с хронической болезнью почек 5Д стадии отмечаются типичные качественные и количественные изменения морфометрических и электрокинетических показателей морфофункционального состояния мононуклеаров периферической крови, а также цитокинового профиля, которые можно охарактеризовать как хроническая воспалительная реакция на фоне нарушений клеточного звена иммунитета.

2. Применение селективной сорбции цитокинов способствует нормализации цитокинового профиля, популяционного состава лимфоцитов, а также функционального состояния мононуклеаров периферической крови.

3. Раннее применение селективной сорбции цитокинов позволяет улучшить результаты трансплантации почки у больных старших возрастных групп: снизить тяжесть ишемического и реперфузионного повреждения, риск развития отторжения, тяжесть хронической трансплантационной нефропатии и улучшить функцию трансплантата в ближайшем и отдаленном послеоперационном периодах.

Внедрение в практику и учебный процесс

Результаты диссертационной работы внедрены автором в практическую деятельность хирургического отделения трансплантации почки ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. По теме диссертации издано 1 учебно-методическое пособие.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность полученных результатов определяется оптимальной методологией исследования, а также достаточным количеством материала, длительным сроком послеоперационного наблюдения. Помимо этого, результаты диссертационного исследования были доложены на профильных конференциях и опубликованы в рецензируемых научных изданиях, что подтверждает объективность сделанных выводов.

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на European renal association and European dialysis transplantation association 50th congress (Стамбул, 2013), 31st annual meeting of the international society of blood purification (Болонья, 2013), World congress of nephrology (Гонконг, 2013), 16th congress of the European society for organ transplantation (Вена, 2013), European renal association and European dialysis transplantation association 51th congress (Амстердам, 2014), 18th congress of the European society for organ transplantation (Барселона, 2017), а также на крупных профильных конференциях в России. Апробация работы состоялась на заседании секции «Терапия» ученого совета ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (протокол № 11 от 21.11.2019 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 24 печатные работы, из них 12 работ в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой кандидата медицинских наук, 1 учебно-методическое пособие, получен 1 патент на изобретения.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 143 страницах компьютерного текста, состоит из: введения, обзора литературы, характеристики больных и описания методов исследования, а также 2 глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 207 источников, из них - 6 отечественных и 201 – иностранных. Иллюстрирована 39 рисунками, содержит 3 таблицы.

Материалы и методы исследования

Было проведено проспективное когортное сравнительное исследование, с участием 60 реципиентов старшей возрастной группы (более 55 лет), которым была выполнена неродственная трансплантация трудной почки. Пациенты были случайным образом отнесены к одной из двух групп. У 30 реципиентов основной группы в раннем послеоперационном периоде была проведена процедура селективной сорбции цитокинов. У 30 больных группы сравнения выполнялся аналогичный объем лечебно-диагностических процедур за исключением ССЦ. Больные находились под наблюдением от 9 до 59 месяцев, в среднем – 34,8±16,1 месяцев. Средний возраст в основной группе составил 62,4±3,2 года (55-70 лет), в группе сравнения – 61,6 ± 4,7 лет (55-69 лет), $p=0,462$. Группы были хорошо сопоставимы не только по возрасту, но и по характеру заболеваний, ставших причиной развития ХБП 5 стадии.

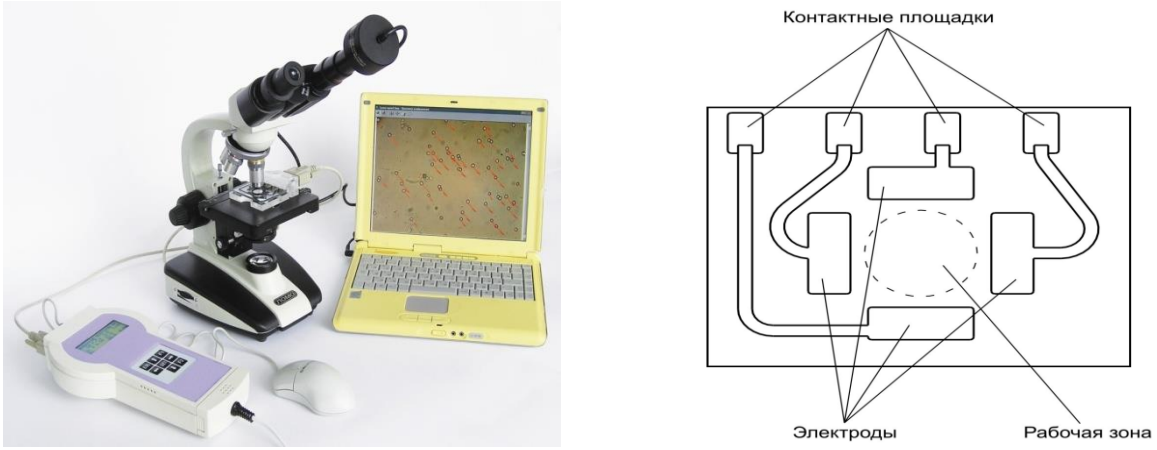
Сроки консервации донорских почек в обеих группах, а также тканевая совместимость по A, B и DRB1 локусам не различались ($p>0,05$). У всех реципиентов трансплантация выполнялась впервые, предсуществующих анти-HLA антител больные не имели. Трансплантация выполнялась только при отрицательной перекрестной пробе (комплемент-зависимый микролимфоцитотоксический тест).

У всех больных нами был использован трехкомпонентный протокол иммуносупрессии. Больные получали такролимус с еженедельным контролем (в раннем послеоперационном периоде) для своевременной коррекции дозы и поддержания оптимальной концентрации в крови.

Удовлетворительной первичной функцией трансплантата считали отсутствие необходимости в продолжении заместительной почечной терапии в послеоперационном периоде. В ходе исследования всем реципиентам были выполнены пункционные биопсии почечных трансплантатов (протокольные биопсии и биопсии «по требованию»). Оценку патологии в трансплантате осуществляли в соответствии с классификацией Banff 2007 года.

У пациентов обеих групп в послеоперационном периоде оценивали концентрацию циркулирующих цитокинов. Для определения цитокинов применяли наборы реактивов для иммуноферментного анализа производства ООО «ЦИТОКИН», Санкт-Петербург. Для выполнения электрофоретического клеточного анализа лимфоцитов крови пациентов использовался аппаратно-программный комплекс «Цито-Эксперт» (рисунок 1).

Для витальной оценки морфофункционального состояния клеток периферической крови использовали метод компьютерной лазерной фазовой цитоморфометрии. Исследования проводили на базе отечественного компьютерного лазерного фазово-интерференционного микроскопа “Цитоскан” (рисунок 2).



A B

Рисунок 1. Комплект устройств проведения клеточного микроэлектрофореза для электрофоретических цитологических исследований «ЦИТО-ЭКСПЕРТ» (А), электрофоретическая ячейка (В).

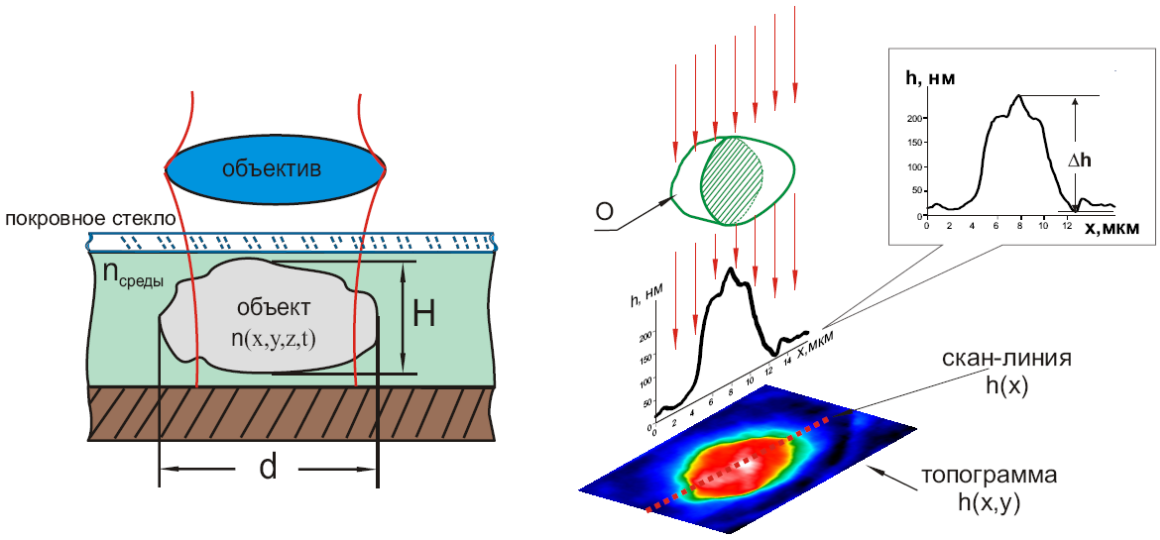


Рисунок. 2. Метод витальной компьютерной фазовой морфометрии.

Для оценки ядерного полиморфизма циркулирующей популяции лимфоцитов мы использовали показатель функциональной активности (ПФА) ядра – величину, обратно пропорциональную фазовой высоте каждой клетки в выборке по формуле:

$$\mathbf{ПФА=(3*n_3+2*n_2+n_1+0*n_0)\ /n,}$$

где n_3 – количество клеток с фазовой высотой ≤1,5мкм; n_2 – с фазовой высотой >1,5, но ≤2мкм; n_1 – с фазовой высотой >2, но ≤2,5мкм; n_0 – с фазовой высотой >2,5; n – число клеток в выборке.

Чем выше анизотропия хроматина и, соответственно, фазовая высота, тем ниже активность ядра. Таким образом, фазовая высота клетки, измеренная при витальной компьютерной морфометрии, позволяет оценить функциональную активность ядер лимфоцитов.

Пациентам основной группы проводили одну процедуру ССЦ на аппарате Lynda (Bellco, Италия) сразу после окончания операции трансплантации и продолжали на протяжении 12 часов (рисунок 3).

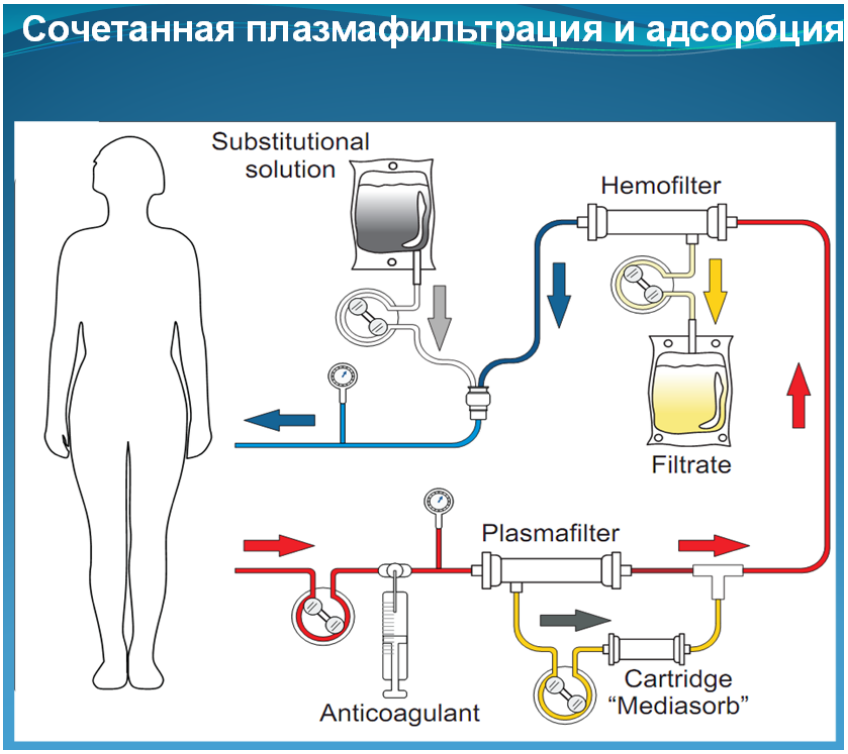


Рисунок 3. Селективная сорбция цитокинов.

Статистический анализ экспериментальных и клинических данных проводили в программах Statistica v.10, SPSS v.23, GraphPad Prism v.6. Данные, имеющие нормальное распределение, представлены как среднее арифметическое ± стандартное отклонение. Данные, распределение которых отлично от нормального, представлены как медиана и интерквартильный размах. Оценка соответствия распределения нормальному закону проводилась при помощи одновыборочного критерия Колмогорова-Смирнова. При анализе различий средних значений (или медиан) применялись непарный критерий Стьюдента с учетом равенства дисперсий, дисперсионный анализ с повторными измерениями с апостериорным критерием Тьюки, критерий Манн-Уитни. Связь между двумя выборками оценивалась при помощи расчета коэффициентов корреляции Пирсона (метрические данные) и Спирмена (ординальные данные). При анализе частот применялся критерий χ^2 (при необходимости – точный критерий Фишера). Критическим уровнем p-value считали <0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что как ХБП сама по себе, так и процедуры гемодиализа способствуют изменению базального уровня цитокинов в крови. С целью изучения влияния особенностей цитокинового профиля у больных с ХБП мы сравнили базальные уровни (до трансплантации) с группой (15 человек) добровольцев 55-70 лет без острых воспалительных заболеваний и без признаков почечной недостаточности. При развитии 5Д стадии ХБП концентрации ИЛ2, ИЛ5, ИЛ6, ИЛ8, ИЛ10, ИЛ12, ФНОα статистически значимо увеличиваются ($p<0,0001$; $p=0,0025$; $p<0,0001$; $p=0,00064$; $p<0,0001$; $p<0,0001$; $p=0,0043$ соответственно), а рост концентрации ИЛ4 не достиг необходимого уровня статистической значимости ($p=0,41$). Данные изменения могут свидетельствовать о развитии сбалансированной системной воспалительной реакции низкой интенсивности с регуляторным повышением активности противоспалительного цитокина ИЛ10 и сохранением иммунного гомеостаза.

При исследовании цитокинового профиля в раннем послеоперационном периоде у больных двух групп, мы не отметили статистически значимых различий в динамике ИЛ2. Концентрация остальных цитокинов (ИЛ4, ИЛ5, ИЛ6, ИЛ8, ИЛ10, ИЛ12, ФНОα) у пациентов основной группы на фоне сорбции оставалась относительно стабильной с умеренной тенденцией к росту, тогда как в группе сравнения отмечена стойкая тенденция к значительному росту. Таким образом, мы можем заключить, что реперфузия трансплантата инициирует системный воспалительный ответ, который проявляется повышением концентрации цитокинов в крови реципиента. При этом, ССЦ позволяет существенно уменьшить выраженность цитокинового ответа – рисунок 4.

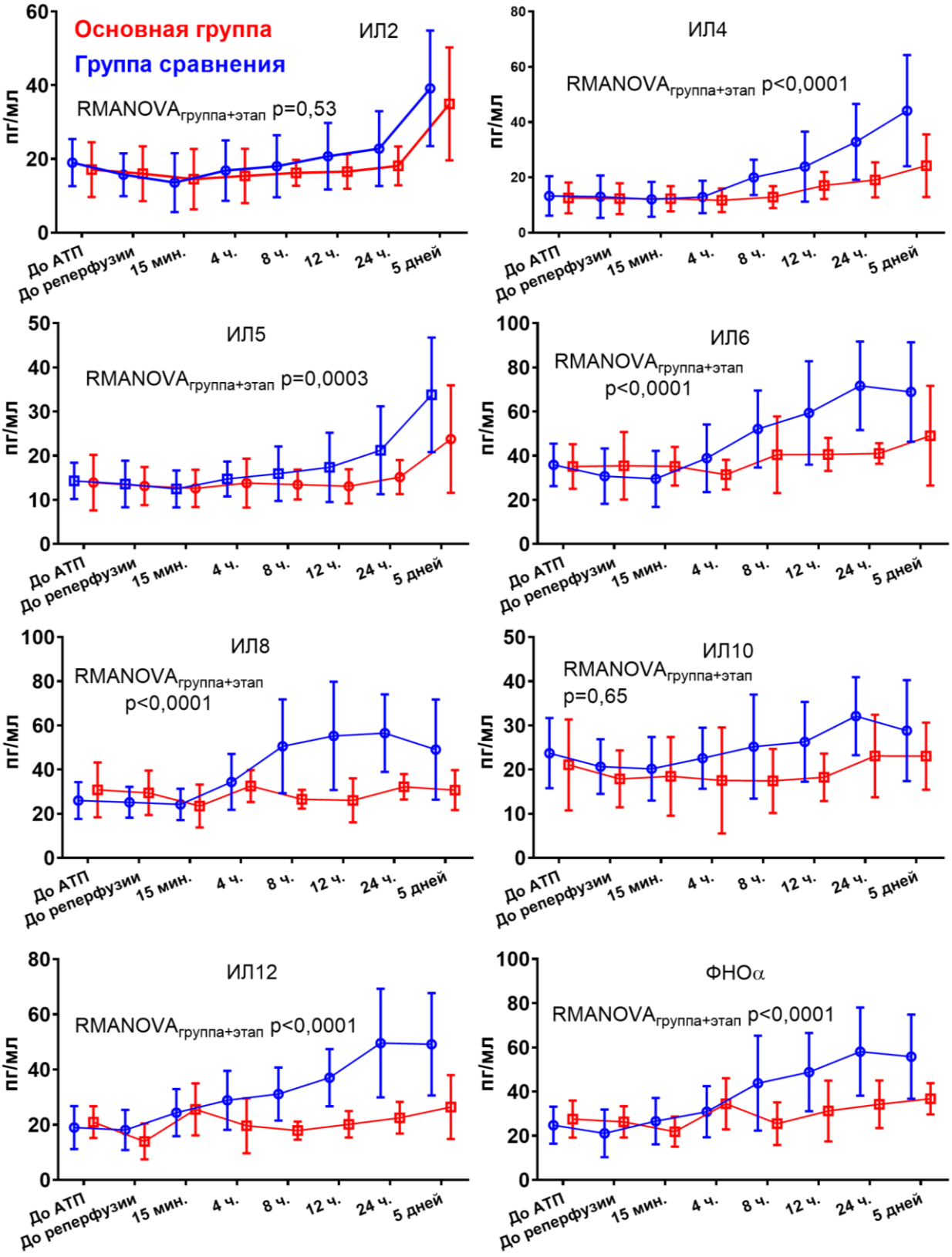


Рисунок 4. Концентрация цитокинов и пациентов двух групп.

У больных, получающих программный гемодиализ, формируется склонность к иммунодефицитному состоянию, на фоне увеличения доли активированных CD3-клеток и эффекторных клеток – CD8+ и естественных киллеров –

рисунок 5. В то же время, несмотря на иммуносупрессивную терапию, у больных после трансплантации почки (группа сравнения) отмечается признаки активации как нативного, так и адаптивного иммунитета.

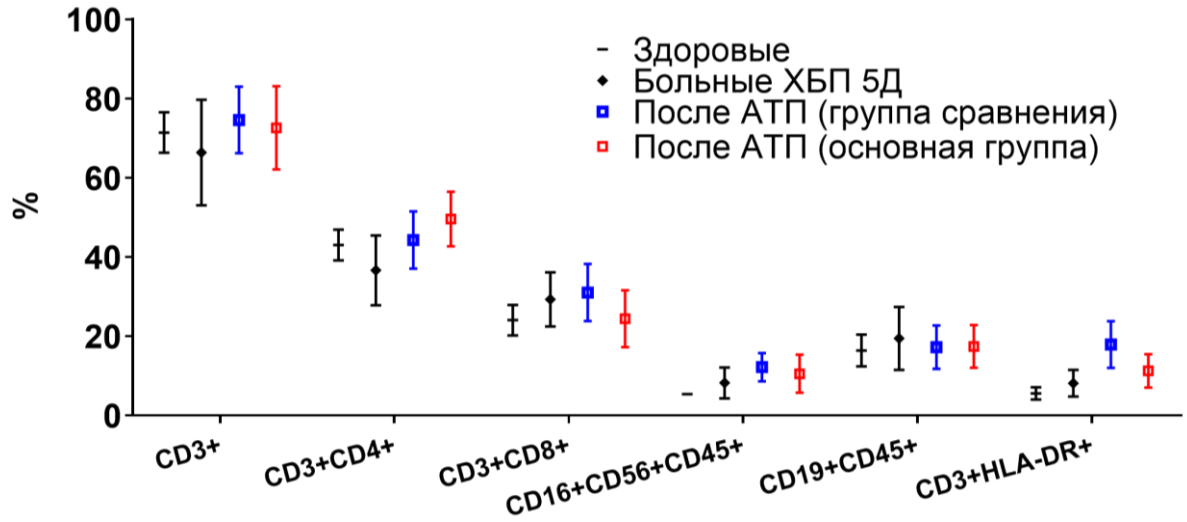


Рисунок 5. Субпопуляции лимфоцитов, доли HLA-DR+ клеток и естественных киллеров у здоровых добровольцев, диализных больных и реципиентов почечного трансплантата обеих групп.

У реципиентов основной группы (у которых в раннем послеоперационном периоде проводилась ССЦ), доля CD3+ клеток была сопоставима (p=0,555) с реципиентами группы сравнения и здоровыми добровольцами (p=0,724), будучи несколько выше, чем в среднем у больных на гемодиализе (p=0,068). Доля CD4 по отношению к больным с ХБП 5Д (p<0,0001) и здоровым добровольцами (p=0,008) возрастала значительно, и была выше, чем у больных группы сравнения (p=0,027). При этом, доля CD8 клеток практически не отличалась от этого показателя у здоровых добровольцев (p=0,863) и была ниже, чем у реципиентов в группе сравнения (p=0,004), а также, чем у больных на гемодиализе (p=0,03). Доля естественных киллеров была несколько ниже, чем у в группе сравнения (0,184), а доля В-клеток – не различалась (p=0,928). Несмотря на то, что экспрессия HLA-DR на CD3 клетках у больных основной группы была выше, чем у здоровых добровольцев (p=0,0002) и больных на гемодиализе (p=0,028), этот показатель был ниже, чем у больных группы сравнения (p=0,0001).

Таким образом, ССЦ в раннем послеоперационном периоде позволяет несколько уменьшить выраженность активации клеточного иммунитета, что выражается в сокращении доли эффекторных клеток и доли активированных лимфоцитов (снижении экспрессии молекул HLA-DR на CD3-клетках).

У больных ХБП 5Д стадии, получающих лечение диализом происходит снижение функциональной активности мононуклеаров периферической крови по сравнению со здоровыми добровольцами, что отражается в статистически значимом (p=0,0325) снижении показателя функциональной активности (ПФА). Следует отметить, что мы отметили статистически значимую связь этого показателя с возрастом среди больных ХБП 5Д стадии (r= -0,313; p=0,0167), но не здоровых добровольцев (r= -0,256p=0,264).

На клеточной мембране существует электрический поверхностный потенциал, который обусловлен особенностями клеточной стенки и активности клетки. Поверхностный электрический заряд клетки меняется при изменении ее метаболизма. Таким образом, электрический потенциал клетки соответствует ее энергетическому потенциалу и меняется при изменении активности. Одним из информативных и относительно новых перспективных способов оценки уровня активности иммунных клеток является анализ изменений потенциала клеточной мембраны с помощью компьютерного микроэлектрофореза. Больным с ХБП 5Д стадии свойственно значительное снижение амплитуды колебаний мононуклеаров периферической крови в электрическом поле (p=0,01). При этом и у относительно здоровых пациентов и больных ХБП отмечается отрицательная связь этого показателя с возрастом: r= -0,581; p=0,006 и r= -0,659; p=0,001 соответственно.

После трансплантации на фоне иммуносупрессивной терапии отмечено небольшое снижение ПФА у больных обеих групп. Позднее у реципиентов группы сравнения отмечалось постепенное нарастание показателя функциональной ядра мононуклеарных клеток, что свидетельствует о повышении их активности в послеоперационном периоде. У больных основной группы, получивших ССЦ в раннем послеоперационном периоде, ПФА оставался относи-

тельно стабильным с тенденцией к снижению. Различия в динамике между группами были статистически значимы. Амплитуда колебаний лимфоцитов у пациентов основной группы постепенно снижалась, демонстрируя стабилизацию морфофункционального состояния клеток. В группе сравнения, где ССЦ не проводилась, динамика до 24 часов в целом была похожа, однако, отмечена тенденция к росту электрофоретической подвижности мононуклеаров к 72-м часов послеоперационного периода – рисунок 6.

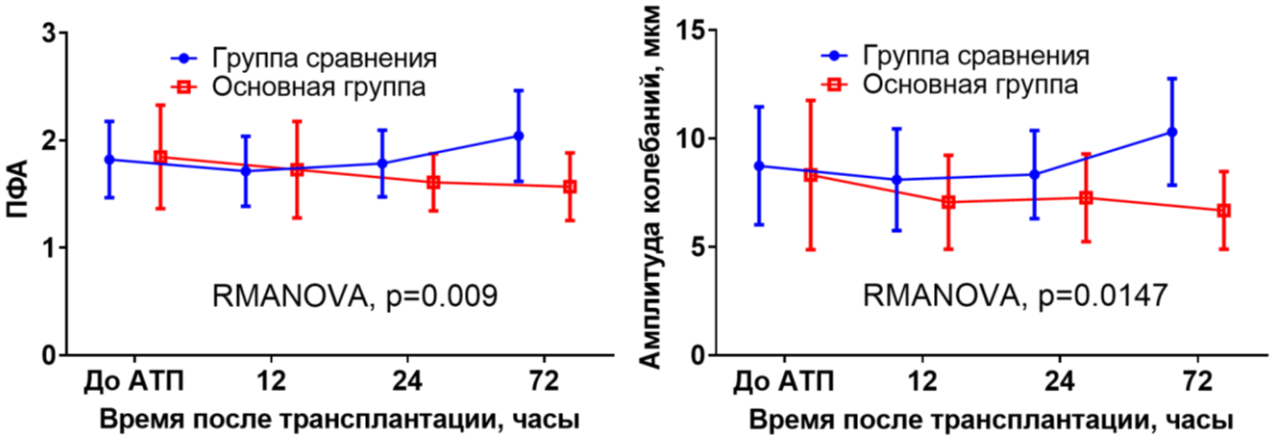


Рисунок 6. Динамика показателя функциональной активности и амплитуды колебаний мононуклеаров периферической крови у реципиентов.

Представленные результаты свидетельствуют, что процедуры ССЦ оказывают положительное влияние на мононуклеарные клетки. Действие этого экстракорпорального метода непосредственным образом связано со снижением активности и стабилизацией морфофункционального состояния клеток иммунной системы и, соответственно, адекватным ответом на аллоантигенную стимуляцию в виде почечного трансплантата и проводимую иммуносупрессию.

Все трансплантаты сохранили свою функцию в течение месяца после трансплантации. Доли больных с первичной и отсроченной функцией (33,3% в основной группе и 43,3% - в группе сравнения, $\chi 2$ p=0,596) не различались. Мы отметили статистически значимые различия в динамике креатинина и СКФ: в основной группе на фоне проведения ССЦ, функция трансплантата восстанавливалась быстрее. Это было отмечено нами и в группе пациентов с хорошей начальной функцией трансплантата, так и у пациентов с отсроченной функцией – рисунок 7.

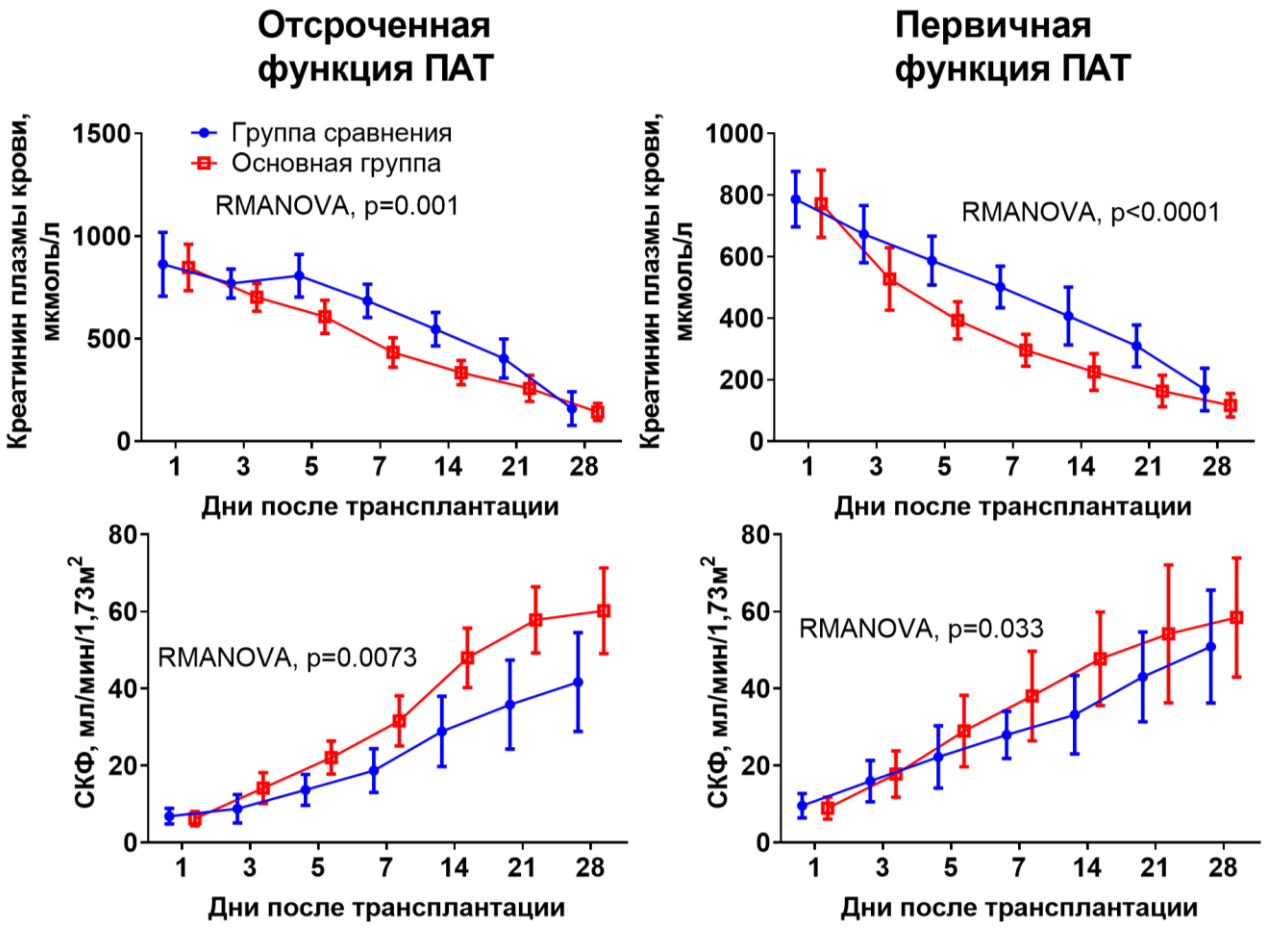


Рисунок 7. Динамика креатинина и СКФ у пациентов с отсроченной и первичной функцией трансплантата в двух группах.

Таким образом, комплексное действие селективной сорбции цитокинов в раннем послеоперационном периоде способствует снижению тяжести ишемического и реперфузионного повреждения и улучшению функции трансплантата в раннем послеоперационном периоде. В основной группе количество пациентов с тяжелым острым канальцевым некрозом оказалось меньше (3 против 7). Кроме этого, признаков отторжения у больных основной группы мы не отметили. У трех больных группы сравнения при морфологическом исследовании биоптатов выявлены признаки клеточно-опосредованного отторжения. Таким образом, у больных группы сравнения на ранних сроках послеоперационного периода отмечена большая склонность к развитию воспалительных изменения в трансплантате в виде реакции отторжения, а также чаще сохраняются последствия тяжелых последствий реперфузионного синдрома.

В позднем послеоперационном периоде функция трансплантата у пациентов основной группы была лучше: ниже концентрация креатинина, выше СКФ, но главное – значительно ниже уровень суточной протеинурии. Последний параметр является весьма ценным прогностическим показателем. У пациентов

основной группы уровень суточной протеинурии был вдвое меньше, чем у пациентов группы сравнения – рисунок 8.

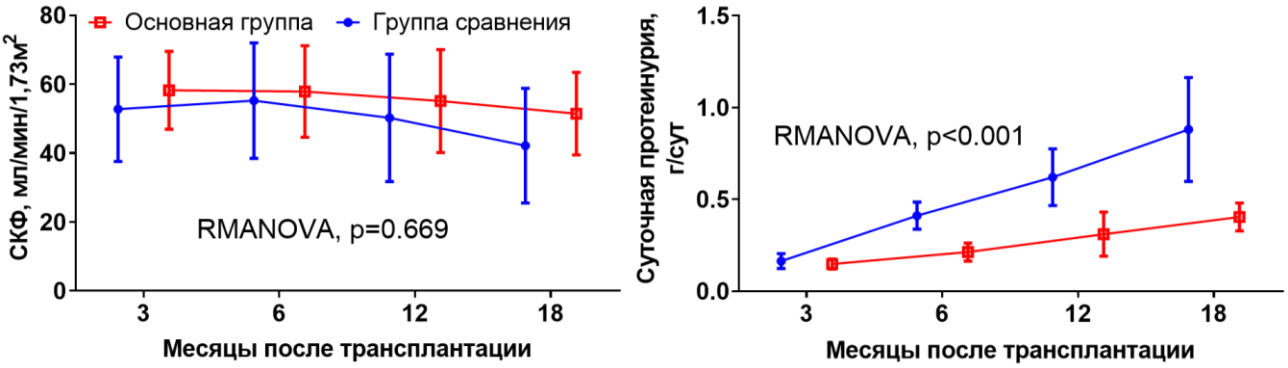


Рисунок 8. Динамика СКФ и суточной протеинурии у пациентов с отсроченной и первичной функцией трансплантата в двух группах.

Различия в функции трансплантата у больных двух групп были обусловлены, в первую очередь, состоянием почечной паренхимы. У 5 больных основной группы и 9 больных группы сравнения была диагностирована хроническая трансплантационная нефропатия, при этом количество больных с II и III степенями было вдвое выше в группе сравнения (6 против 3 в основной группе). Мы связываем это с меньшей частотой развития отторжения почечного трансплантата в позднем послеоперационном периоде.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что селективная сорбция цитокинов является эффективным методом лечения реперфузионного повреждения почечного аллотрансплантата у больных разных возрастных групп после трансплантации почки. ССЦ позволяет снизить тяжесть реперфузионного повреждения почечного трансплантата и улучшить его функцию, как в раннем, так и в позднем послеоперационном периоде. Введение данных процедур в алгоритм послеоперационного лечения реципиентов с реперфузионным повреждением почечного аллотрансплантата способствует улучшению исходов трансплантации трупной почки у пациентов старших возрастных групп.

ВЫВОДЫ

1. Больным ХБП 5Д стадии старшей возрастной группы свойственно развитие сбалансированной системной воспалительной реакции с повышением концентрации провоспалительных цитокинов (ИЛ2, ИЛ5, ИЛ6, ИЛ8, ИЛ12, ФНОα), регуляторном повышением активности противоспалительного цитокина ИЛ10, снижением доли CD4+ клеток, повышением доли CD8+ клеток и CD16+CD56+CD45+ клеток, а также снижением активности мононуклеаров периферической крови.
2. Селективная сорбция цитокинов позволяет значительно снизить концентрации ИЛ4, ИЛ5, ИЛ6, ИЛ8, ИЛ10, ИЛ12, ФНОα, но не ИЛ2 в раннем послеоперационном периоде по сравнению со стандартной терапией.
3. Селективная сорбция цитокинов способствует увеличению доли CD4+ клеток, снижению доли CD8+ клеток, нормализации иммунорегуляторного индекса, снижению экспрессии HLA-DR на CD3+, а также - отсутствию повышения активности мононуклеаров периферической крови.
4. Проведение селективной сорбции цитокинов у больных старших возрастных групп непосредственно после трансплантации позволяет снизить тяжесть ишемического и реперфузионного повреждения, риск развития отторжения трансплантата и тяжесть хронической трансплантационной нефропатии.
5. Применение селективной сорбции цитокинов у больных старшей возрастной группы не позволяет коренным образом изменить характер начальной функции почечного трансплантата, однако, в значительной мере способствует улучшению функции трансплантата в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В связи со сниженными регенеративными способностями и нарушениями иммунного гомеостаза у реципиентов почечного трансплантата старших возрастных групп необходимо применение дополнительных методов коррекции синдрома ишемии/реперфузии. Перспективным методом является селективная сорбция цитокинов.

2. Наиболее оптимальной тактикой является начало процедуры сразу после завершения трансплантации (не позднее 3-4 часов после начала перфузии трансплантата в организме реципиента) и продолжение ее на протяжении 10-14 часов.
3. Для контроля эффективности проводимого лечения следует определять цитокины через 12, 24 часа и 5 дней после трансплантации, а также показатель функциональной активности (ядра) и электрокинетическую активность мононуклеаров периферической крови через 24 и 72 часа после трансплантации.
4. Наиболее целесообразно применять селективную сорбцию цитокинов у реципиентов старших возрастных групп в случае предполагаемой отсроченной функции трансплантата: при изъятии почки у субоптимального донора, длительной консервации или тепловой ишемии, предсуществующей донорской патологии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

Работы в журналах из перечня ВАК и журналах, индексируемых в Scopus и Web of science

1. Артёмов Д.В. Методики экстракорпоральной гемокоррекции в лечении осложнений после трансплантации почки - ишемическое/реперфузионное повреждение, отторжение трансплантата (обзор)/ Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б., Артёмов Д.В., и др. // Альманах клинической медицины. – 2012. - №27. – С.81-87.

2. Артёмов Д.В. Клеточные факторы патогенеза синдрома ишемии/реперфузии при трансплантации почки/ Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б., Артёмов Д.В., и др. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2012. - №7. – Т 98. - С.906-914. Scopus: 2-s2.0-84871895612.

3. Артёмов Д.В. Роль интерлейкина-6 в синдроме ишемии-реперфузии и отторжении почечного трансплантата/ Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б., Артёмов Д.В., и др. // Клиническая нефрология. – 2012. - №5-6. - С.9-

4. Артёмов Д.В. Неспецифические механизмы ишемического и реперфузионного повреждения почечного аллотрансплантата и способы воздействия на них/ Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б., Артёмов Д.В., и др. // Нефрология. – 2013. - №1. – Т17. – С.42-48.

5. Артёмов Д.В. Современный взгляд на патогенез синдрома ишемии-реперфузии при трансплантации почки/ Артёмов Д. В., Зулькарнаев А. Б. // Нефрология. – 2018. - №6. – Т.22. – С.23-29.

6. Артёмов Д.В. Современное представление о патогенезе и подходы к профилактике и лечению ишемического и реперфузионного повреждения почечного трансплантата/ Артёмов Д. В., Зулькарнаев А. Б. // Вестник современной клинической медицины. – 2019. - №2. – Т.12. – С66-71.
7. Артёмов Д.В. Профилактика и лечение синдрома ишемии-реперфузии/ Ватазин А.В., Артёмов Д.В., Зулькарнаев А.Б. // Нефрология. – 2019. - №2. – Т.23. – С.41-48.
8. Renal transplant ischemia/reperfusion injury correction with cytokines adsorption: early and long-term results/ Zulkarnaev A., Vatazin A., Artemov D. // Transplant International.-Vol.30.-№S2.-P.294. WOS: 000411688503103.
9. Concentration of Il-6 features in the early postoperative period after kidney transplantation/ Zulkarnaev A., Vatazin A., Artemov D. // Transplant International. - Vol.30.-№S2. - P.500-501. WOS: 000411688505041.
10. Selective cytokine adsorption in correction of the ischemia/reperfusion syndrome/ Zulkarnaev A., Vatazin A., Artemov D. // Transplant International. -Vol.26. - №S2. - P.67. WOS: 000328232000248.
11. Coupled plasma filtration and adsorption in the correction of the syndrome of ischemia/reperfusion injury/ Zulkarnaev A., Vasilenko I., Artemov D., Vatazin A. // Nephrology Dialysis Transplantation. - Vol.28.-№S1. - P97. WOS: 000319498200234.
12. Артёмов Д.В. Возрастные особенности субпопуляционного состава лимфоцитов и функциональной активности мононуклеаров периферической крови у больных хронической болезнью почек до и после трансплантации/ Артёмов Д.В., Зулькарнаев А.Б., Ватазин А.В. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. - 2020. - № 1. -Т22. - С.40-49.

Публикации в других изданиях:

13. Артёмов Д.В. Возможности коррекции ишемического и реперфузионного повреждения при трансплантации почки/ Ватазин А.В., Артёмов Д.В., Зулькарнаев А.Б., и др. // Тюменский медицинский журнал. – 2012. - №2.- С.38.
14. Артёмов Д.В. Гуморальные факторы патогенеза ишемии/реперфузии при трансплантации почки/ Ватазин А.В., Зулькарнаев А. Б., Артёмов Д.В., и др. // Уральский медицинский журнал. – 2012. - №13(105). – С.94-99.
15. Артёмов Д.В. Динамика концентрации интерлейкина-6 в ближайшем послеоперационном периоде после трансплантации почки/ Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б., Артёмов Д.В., и др. // Академический журнал Западной Сибири. – 2012. - №4. - С.28.
16. Артёмов Д.В. Этиопатогенетические аспекты синдрома ишемии/реперфузии/ Ватазин А.В., Артёмов Д.В., Зулькарнаев А.Б., и др. // Академический журнал Западной Сибири. – 2012. - №6. - С.22-23.

17. Артёмов Д.В. Селективная сорбция цитокинов в раннем послеоперационном периоде после трансплантации почки уменьшает тяжесть реперфузионного повреждения трансплантата/ Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б., Артёмов Д.В., и др. // Академический журнал Западной Сибири. – 2012. - №6. - С.23-24.
18. Артёмов Д.В. Звенья патогенеза реперфузионного повреждения почечного трансплантата, как цели специфической терапии/ Зулькарнаев А.Б., Ватазин А.В., Артёмов Д.В., и др. // Академический журнал Западной Сибири. – 2012. - №6. - С.29.
19. Артёмов Д.В. Опыт применения каскадного фильтрационного плазмафереза у реципиентов почечного трансплантата/ Зулькарнаев А.Б., Ватазин А.В., Артёмов Д.В., и др. // Академический журнал Западной Сибири. – 2012. - №6. - С.29-30.
20. Артёмов Д.В. Коррекция синдрома ишемии/реперфузии при трансплантации почки/ Ватазин А.В., Артёмов Д.В., Зулькарнаев А.Б., и др. // Академический журнал Западной Сибири. – 2012. - №1. - С.17.
21. Артёмов Д.В. Комбинированная плазмофильтрация и сорбция цитокинов в коррекции синдрома ишемии/реперфузии при трансплантации почки/ Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б., Артёмов Д.В., и др. // Нефрология и диализ. - 2013 - №4. – Т.15. – С.355-356.
22. Артёмов Д.В. Профиль интерлейкина-6 в раннем послеоперационном периоде после трансплантации почки/ Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б., Артёмов Д.В., и др. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2013. -№1. – Т.15. – С.51-59.

Учебно-методическое пособие

23. Селективная сорбция цитокинов в коррекции синдрома ишемии/реперфузии при трансплантации почки/ Василенко И.А., Зулькарнаев А.Б., Артёмов Д.В. // Учебно-методическое пособие. - М: ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, 2018. - С.33. ISBN 978-5-98511-403-4.

Патент на изобретение

24. Способ коррекции реперфузионной травмы аллопочки./ Ватазин А.В., Астахов П.В., Зулькарнаев А.Б., Кантария Р.О., Артёмов Д.В., Синютин А.А., Смоляков А.А. // Патент на изобретение РФ № 2494686 от 23.05.2012. Опубликовано: 10.10.2013. Бюллетень № 28.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

СКФ – скорость клубочковой фильтрации
ССЦ – селективная сорбция цитокинов
ХБП - хроническая болезнь почек