

*Ватазин А. В., Зулькарнаев А. Б., Василенко И., Артемов Д. В., Крстич М.*

**СОЧЕТАННАЯ ПЛАЗМОФИЛЬТРАЦИЯ И АДСОРБЦИЯ В КОРРЕКЦИИ  
СИНДРОМА ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ  
ПОЧКИ**

*ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический  
институт им. М. Ф. Владимирского», Россия*

Несмотря на развитие методик селекции доноров и ведения предэксплантационного периода, фармакопротекции донорского органа и применение совре-

менных консервирующих растворов, более половины (50–70 %, по данным разных авторов) трупных почечных аллотрансплантатов (ПАТ) проходят через стадию острого канальцевого некроза, клинически проявляющегося острой почечной недостаточностью трансплантата олигоанурической или, реже, полиурической формы. При этом степень выраженности канальцевого некроза напрямую зависит от тяжести и длительности ишемии.

Синдром ишемии/реперфузии представляет собой сложный многокомпонентный патологический процесс, обусловленный как ишемическим повреждением трансплантата на этапах кондиционирования донора, тепловой и холодной ишемии, так и поступлением в кровотоки реципиента накопленных в ПАТ продуктов нарушенного метаболизма.

Ишемия почки сопровождается активацией множества транскрипционных факторов: NF- $\kappa$ B, белка теплового шока (HSP), гипоксия-индуцируемого фактора (HIF). Транскрипционный ответ на острую ишемию приводит к выделению провоспалительных цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ), интерферона- $\gamma$  (ИНФ- $\gamma$ ). Цитокины играют важную роль как в местных, так и системных процессах у донора и реципиента.

Для того чтобы выявить наилучшее время для сорбции цитокинов мы детально исследовали концентрацию ИЛ-6 в раннем послеоперационном периоде. Этот цитокин был выбран не случайно. ИЛ-6 — гликопротеид с молекулярной массой 19–24 кДа, являющийся плеiotропным цитокином, участвующим в регуляции иммунных реакций. ИЛ-6, основной индуктор острофазного ответа, продуцируется Т- и В-лимфоцитами, моноцитами/макрофагами, фибробластами, эндотелиоцитами, мезангиоцитами и эпителиоцитами почечных канальцев. Этот цитокин обладает крайне разносторонним биологическим действием: стимулирует пролиферацию полипотентных кроветворных клеток-предшественников, дифференцировку и созревание Т- и В-лимфоцитов (фактор стимуляции В-клеток-2), вызывает агрегацию тромбоцитов, пролиферацию сосудистых гладкомышечных клеток, опосредует синтез и выделение С-реактивного белка (СРБ), фибриногена и других белков острой фазы воспаления гепатоцитами, способствует экспрессии тканевого фактора, белка хемотаксиса моноцитов-1, молекул адгезии и других хемокинов (ICAM-1, VCAM-1, CXCL1, CXCL5, CXCL6, CXCL8, CCL2 и др.), препятствует апоптозу нейтрофилов и др. ИЛ-6 принадлежит значительная роль в координации воспалительных процессов при остром почечном повреждении. При дефиците ИЛ-6 повышается устойчивость почек к повреждающему воздействию. Таким образом, очевидно, что этот цитокин является одним из ключевых как при повреждении трансплантата в результате ишемии-реперфузии, так и при развитии отторжения трансплантата.

Перспективной с практической точки зрения является концепция, согласно которой патогенез синдрома ишемии-реперфузии включает в себя не только непосредственную гибель или повреждение определенного количества нефронов, но и последующие неадекватные реакции, которые могут усугублять травму оставшихся нефронов и во многом определять дальнейшую функциональную состоятельность органа. При таком подходе очевидно, что путем эффективной,

патогенетически обоснованной, терапии можно значительно снизить тяжесть повреждения.

Для предотвращения или уменьшения выраженности системной воспалительной реакции требуются новые подходы к лечению. Методы экстракорпоральной терапии обладают большим потенциалом в коррекции нарушений, возникающих при ишемии и реперфузии. Селективная сорбция цитокинов способна уменьшать активность синдрома системной воспалительной реакции за счет прямого удаления циркулирующих медиаторов, что было неоднократно доказано при лечении сепсиса. Однако работы, посвященные применению этого метода для коррекции синдрома ишемии/реперфузии при трансплантации почки, отсутствуют. Такой подход позволяет уменьшить выраженность иммунного ответа на ранних сроках, что минимизирует последствия ишемического и реперфузионного повреждения ПАТ.

Цели исследования: 1) исследовав профиль ИЛ-6, обосновать целесообразность проведения процедуры и период времени, когда проведение сорбции цитокинов наиболее эффективно; 2) оценить влияние сорбции цитокинов на функцию трансплантата в раннем послеоперационном периоде.

На первом этапе исследования мы исследовали концентрацию ИЛ-6. В исследование включено 28 реципиентов. Были выбраны следующие временные точки: T0 — до АТП — кровь получена на этапе предоперационного обследования реципиента (как правило, за 2–3 часа до операции); T1 — через 10–15 минут после начала перфузии ПАТ в системном кровотоке реципиента; T2 — через 4–6 часов после реперфузии; T3 — через 12–14 часов после реперфузии; T4 — через сутки после реперфузии.

Во второй этап исследования включено 17 реципиентов ПАТ, которым проведена сорбция цитокинов (основная группа) и 20 реципиентов, у которых сорбция не проводилась. Концентрацию цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО $\alpha$ ) определяли в крови до операции, после пуска почки в кровоток, а также через 6 часов, 12 часов и через 24 часа. Для определения концентрации цитокинов применяли наборы реактивов для иммуноферментного анализа производства ООО «ЦИТОКИН», Санкт-Петербург. Плазмофльтрацию с сорбцией цитокинов проводили на аппарате Lynda (Bellco, Италия) с гемофильтром и сорбентом «Mediasorb-Selecta» сразу же после окончания операции и поступления больного в послеоперационную палату в течение 6–12 часов.

На первом этапе установлено, что у большинства больных отмечено значительное повышение концентрации ИЛ-6 в крови. При том, что исходно у всех больных отмечен нормальный уровень ИЛ-6 — менее 10 пг/мл. Мы выделили четыре группы больных в зависимости от формы кривой концентрации ИЛ-6. У больных первой (4 пациента) группы был отмечен выраженный выброс ИЛ-6 через 10–15 минут после реперфузии с последующей постепенной нормализацией к 24 часам ( $p < 0,001$ ). У больных второй группы (12 пациентов) отмечен небольшой, но статистически значимый подъем концентрации ИЛ-6 через 10–15 минут после реперфузии и выраженный выброс через 4–6 часов. В последствии отмечалась очевидная тенденция к снижению, однако, через 24 часа концентрация ИЛ-6 оставалась выше 10 пг/мл ( $p < 0,001$ ). В третьей группе (8 пациентов) от-

мечено постепенное нарастание концентрации ИЛ-6 с максимумом через 24 часа после реперфузии ( $p < 0,001$ ). В четвертой группе отмечено небольшое увеличение концентрации ИЛ-6 после реперфузии. В дальнейшем концентрация ИЛ-6 оставалась практически стабильной ( $p = 0,268$ ).

У 14 больных отмечена первичная функция ПАТ, у 11 — отсроченная. У 3 больных мы отметили полное отсутствие функции ПАТ на всем сроке послеоперационного периода. Большинство больных с немедленной функцией ПАТ относились к группе 1, у них отмечен пик концентрации ИЛ-6 сразу после реперфузии, а также к группе 2 — пик концентрации отмечен через 4–6 часов. У большинства больных с отсроченной функцией ПАТ мы отметили более поздний выброс ИЛ-6 — через 24 часа (группа 3). Отсутствие выраженного выброса ИЛ-6 в течение 24 часов (группа 4) мы наблюдали у больных с тяжелым острым канальцевым некрозом, проявляющимся отсроченной функцией ПАТ, а также у больных с первично нефункционирующим трансплантатом (ПНФТ).

В тоже время, наибольшая концентрация ИЛ-6 в крови все же наблюдалась через 4–6 часов как у реципиентов с отсроченной, так и с первичной функцией ПАТ: медианы различались статистически значимо.

Мы проанализировали влияние различных факторов на характер кривой концентрации ИЛ-6 и функцию ПАТ. Несмотря на то, что зависимость характерного времени пика концентрации ИЛ-6 от типа донора (доноры с диагностированной смертью головного мозга и «асистолические» доноры) была статистически не значима, у большинства реципиентов, получивших почки от доноров со смертью головного мозга, отмечен выброс цитокинов через 4–6 часов после реперфузии.

Очевидно, что функция ПАТ ухудшается с увеличением времени консервации, а также тепловой ишемии. Тем не менее, по нашим данным, на характер функции ПАТ, вероятно, большее значение оказывает именно тепловая ишемия. Зависимость как функции ПАТ, так и характера профиля ИЛ-6 (т. е. группы) от продолжительности холодовой ишемии, безусловно, присутствовала, однако, не достигла необходимого уровня статистической значимости. В то же время увеличение продолжительности тепловой ишемии статистически значимо ухудшало функцию ПАТ, а также «сдвигало» пик выброса ИЛ-6 на более позднее время.

Изменение характерного времени наибольшего выброса ИЛ-6, вероятно, в большей мере связано не столько с характером функции ПАТ, а сколько непосредственно со степенью травмы вследствие холодовой и тепловой ишемии. Чем менее выражена ишемическая травма, тем более ранний выброс ИЛ-6 можно ожидать. В то же время, тот факт, что в первой группе есть реципиенты как с первичной функцией, так и с отсроченной, при сравнимых сроках ишемии, свидетельствует о том, что кроме продолжительности ишемии на характер кривой концентрации ИЛ-6 оказывают влияние и другие факторы. Различия в продолжительности олигоанурического периода у пациентов разных групп, очевидно, присутствуют. Однако они не достигли необходимого уровня статистической значимости из-за недостаточного количества наблюдений.

В исследование включены пациенты без признаков острого отторжения. В этих условиях значение индекса совместимости не оказывает значимого влияния на группу или функцию ПАТ.

Таким образом, в результате первого этапа было установлено, что наиболее перспективный этап использования сорбции цитокинов — это первые 12 часов после реперфузии. Как и в первой части исследования, все реципиенты имели исходно нормальный уровень исследуемых цитокинов. У больных основной группы на фоне проведения процедуры мы не наблюдали значительного повышения концентраций ИЛ-6, ИЛ-8 или ФНО $\alpha$ . Концентрация этих цитокинов не превысила патологический порог, а через 12 часов после реперфузии была снижена в среднем на 30 % от исходного значения. После завершения процедуры, через 24 часа после реперфузии, концентрация этих цитокинов также осталась в пределах нормы. Концентрация ИЛ-4 и ИЛ-10 была несколько иной. Концентрации этих цитокинов в течение процедуры оставались стабильными с тенденцией к снижению. После завершения процедуры, через 24 часа после реперфузии, снижение концентрации ИЛ-4 продолжилось, а концентрация ИЛ-10 несколько увеличилась.

В группе сравнения цитокиновый профиль был иной: у большинства реципиентов отмечен пик выброса ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО $\alpha$  через 6 часов после реперфузии. Далее концентрация этих цитокинов имела тенденцию к снижению. Концентрация ИЛ-4 и ИЛ-10 постепенно возрастала к 24-м часам после реперфузии.

Ни в основной группе, ни в группе сравнения нефункционирующих трансплантатов не было. В основной группе у 12 из 17 реципиентов отмечена первичная функция ПАТ, в группе сравнения — у 11 из 20. В группе сравнения отмечалась статистически значимая зависимость продолжительности олигоанурического периода от продолжительности консервации, чего не было в основной группе. Таким образом, вероятно, в результате сорбции цитокинов возможно уменьшение повреждающего воздействия ишемии на ПАТ.

Исследование профиля цитокинов показало, что происходит снижение их концентрации с относительным увеличением активности ИЛ-10. Известно, что ИЛ-10 — цитокин с плейотропным действием. В результате действия ИЛ-10 происходит снижение активности воспалительной реакции, уменьшение экспрессии антигенов МНС II класса и костимулирующих молекул на макрофагах. ИЛ-10 обладает способностью ингибировать синтез провоспалительных цитокинов, таких как интерферон- $\gamma$ , ИЛ-2, ИЛ-3, ФНО $\alpha$  и ГМ-КСФ.

Таким образом, мы можем заключить, что исходный уровень как про-, так и противовоспалительных цитокинов перед АТП близок к норме. В ближайшем послеоперационном периоде у реципиентов отмечается значительное повышение концентрации ИЛ-6, причем время пика выброса ИЛ-6 зависит от действия множества факторов: продолжительности тепловой и холодовой ишемии, источника получения органа, характера начальной функции ПАТ. Увеличение продолжительности тепловой и холодовой ишемии способствует более позднему выбросу ИЛ-6. Наибольшим повреждающим воздействием на начальную функцию ПАТ и характер кривой концентрации ИЛ-6 обладает тепловая ишемия. При трансплантации почек, полученных от доноров со смертью головного мозга можно ожидать выброса ИЛ-6 в течение первых 4–6 часов после реперфузии. Это время является наиболее перспективным при необходимости лекарственной или экстракорпоральной блокады действия ИЛ-6. В тоже время у больных с тяжелой ишемической травмой можно ожидать отсроченного (до 12–24 часов)

значительного выделения ИЛ-6. Таким образом, форма кривой концентрации ИЛ-6 может обладать прогностической ценностью.

Исследование профиля и роли цитокинов в послеоперационном периоде у реципиентов ПАТ может определить новые цели для специфической терапии, что, возможно, позволит улучшить результаты АТП.

Мы с определенной долей осторожности можем заключить, что полученные нами данные свидетельствуют в пользу того, что сорбция цитокинов в раннем послеоперационном периоде способствует снижению тяжести ишемического и реперфузионного повреждения почечного трансплантата. Возможно, эффективность этой терапии можно повысить путем сочетания с гемофильтрацией. Тем более что имеются работы, указывающие, что гемофильтрация, как метод заместительной почечной терапии у больных с отсроченной функцией почечного трансплантата, обладает рядом преимуществ перед гемодиализом. Однако в этом случае остается открытым вопрос относительно влияния гемофильтрации (особенно высокообъемного продленного ее варианта) на концентрацию компонентов иммуносупрессии в крови и необходимости коррекции дозы препаратов. Тем не менее, первые результаты, по нашему мнению, можно признать удовлетворительными. Исследование продолжено.