

МЕЩЕРЯКОВ СЕРГЕЙ ВЛАДИМИРОВИЧ

**ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПЕЧЕНИ ДЕТЯМ: КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ  
ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *TGFBI***

3.1.14 – трансплантология и искусственные органы

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**Шевченко Ольга Павловна**

**Официальные оппоненты:**

**Герасимова Ольга Анатольевна** – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник группы трансплантационной хирургии отдела интервенционной радиологии и оперативной хирургии Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

**Терентьев Александр Александрович** – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, профессор, кафедры биохимии и молекулярной биологии лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «23» декабря 2021 в 14.00 часов на заседании Диссертационного совета ДСТИО 001.21 при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 123182, Москва, ул. Щукинская, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, а также на сайте [www.transpl.ru](http://www.transpl.ru)

Автореферат разослан

«    »

2021 года

Ученый секретарь

Диссертационного совета ДСТИО 001.21

Кандидат ветеринарных наук

Елена Алексеевна Волкова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

В настоящее время трансплантация печени признана единственным эффективным методом лечения детей с терминальными заболеваниями печени [Kamath В.М., Olthoff К.М., 2010]. Наиболее частыми показаниями к трансплантации печени детям раннего возраста являются наследственные и врожденные заболевания желчевыводящих путей [Thuluvath P.J. et al., 2010].

В ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, являющемся лидером по количеству трансплантаций различных солидных органов в Российской Федерации, одним из приоритетных направлений является трансплантация печени детям. Данная программа берет начало с 2008 года, за это время выполнено большое количество трансплантаций печени, средняя годовичная выживаемость которых составляет 86%, что полностью соответствует общемировой статистике [Готье С.В. и соавт., 2014]. Такие показатели достигнуты благодаря усовершенствованию хирургической техники (например, лапароскопические заборы левого латерального сектора печени у родственных доноров), разработке и внедрению новых протоколов иммуносупрессивной терапии, профилактике вирусных заболеваний, стандартизации и разработке единых протоколов ведения пациентов в послеоперационном периоде [Готье С.В. и соавт., 2018; Цирульникова О.М. и соавт., 2016].

Период после трансплантации может сопровождаться развитием серьезных осложнений, таких как иммунологические реакции, инфекционные осложнения или дисфункция трансплантата. Перспективным направлением является развитие более точных методов прогнозирования и диагностики осложнений на основе новых молекулярно-генетических маркеров нежелательных событий.

В развитии острого и хронического отторжения после трансплантации солидных органов роль главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) достаточно изучена, но помимо ГКГ, существует огромный спектр цитокинов, которые являются регуляторами иммунного ответа в посттрансплантационном периоде [Akdis M. et al., 2016]. Показано, что существенную роль в развитии отторжения трансплантата и инфекционных заболеваний после трансплантации печени может играть трансформирующий фактор роста- $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), важный компонент иммунной системы, обладающий иммуносупрессивным и профиброгенным действием [Hughes A. et al., 2019; Park S. et al., 2019; Globe G.C., Schiemann W.P., Lodish H.F., 2000].

Результаты исследований ряда авторов, в том числе и работ, проведенных в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, показали, что уровень цитокина коррелирует с функцией трансплантата печени и может иметь прогностическое и диагностическое значение [Briem-Richter A. et al., 2013; Dudek K. et al., 2009; Zhang Y. et al., 2009]. Содержание TGF- $\beta 1$  в крови и тканях

реципиента зависит от многих факторов, одним из которых, возможно, является генетическая детерминированность продукции этого цитокина.

Для гена *TGFBI* характерен значительный полиморфизм, который может служить причиной индивидуального уровня экспрессии белка и быть связан с различными заболеваниями [Kurabekova R.M. et al., 2020; Bennett J. et al., 2016; Dhaouadi T. et al., 2013; Hussein M.H. et al., 2011]. Наибольший интерес исследователей в области трансплантации солидных органов вызывают 3 однонуклеотидных полиморфизма (ОНП) в гене *TGFBI*: rs1800469, rs1800470 и rs1800471. Предположительно, указанные полиморфизмы могут приводить к различному уровню продукции TGF- $\beta$ 1 и ассоциироваться с развитием отторжения, фиброза и хронической дисфункции трансплантата [Kim Y.-H. et al., 2013; Javor J et al., 2010].

Исследование роли генетического полиморфизма, определяющего активность про- и противовоспалительных цитокинов, в том числе и TGF- $\beta$ 1, в патогенезе заболеваний реципиентов солидных органов является важной задачей, решение которой позволит, с одной стороны, прогнозировать риск развития патологии и тяжесть ее течения, а с другой — индивидуально подбирать специфическую терапию для каждого пациента.

### **Цель исследования**

Определить связь полиморфизма гена трансформирующего фактора роста  $\beta$ 1 (*TGFBI*) с течением посттрансплантационного периода у детей-реципиентов печени и оценить его клиническое значение.

### **Задачи исследования**

1. Проанализировать спектр нежелательных событий после трансплантации печени у детей раннего возраста.

2. Оценить распределение полиморфизмов rs1800469, rs1800470, rs1800471 *TGFBI* у детей-реципиентов печени и их связь с концентрацией цитокина TGF- $\beta$ 1 в плазме крови.

3. Охарактеризовать связь нежелательных иммунологических событий посттрансплантационного периода у детей-реципиентов печени с носительством различных полиморфизмов *TGFBI*.

4. Охарактеризовать связь полиморфизмов rs1800469, rs1800470, rs1800471 *TGFBI* с развитием инфекционных осложнений у детей после трансплантации печени.

## Научная новизна

Впервые проведена оценка частоты встречаемости полиморфных вариантов гена *TGFB1* - rs1800469, rs1800470 и rs1800471 у детей с острой и хронической печеночной недостаточностью. В результате исследования выявлены отличия в распределении вариантов rs1800470 *TGFB1* у детей с печеночной недостаточностью от такового у здоровых лиц.

Новыми являются данные о различиях в частоте встречаемости однонуклеотидного полиморфизма rs1800471 *TGFB1* у детей с холестатическими и нехолестатическими заболеваниями.

Впервые показана связь полиморфизма rs1800469 *TGFB1* с развитием инфекционных осложнений в раннем посттрансплантационном периоде у детей-реципиентов печени. Выявлена связь между полиморфизмом rs1800469 *TGFB1* и уровнем TGF- $\beta$ 1 в плазме крови до трансплантации.

## Теоретическая и практическая значимость

Результаты исследования встречаемости генетического полиморфизма, определяющего активность TGF- $\beta$ 1, у детей с острой и хронической печеночной недостаточностью позволят оценить возможную роль цитокина в патогенезе заболевания печени.

Оценка связи полиморфизмов гена *TGFB1* с развитием посттрансплантационных осложнений позволит, с одной стороны, прогнозировать риск развития патологии и тяжесть ее течения, а с другой — персонализировать подбор специфической терапии для конкретного пациента.

## Методология и методы исследования

В исследовании проведен анализ клинических данных, инструментальных и лабораторных методов исследования у реципиентов детского возраста, которым была выполнена трансплантация печени, также проанализированы посттрансплантационные осложнения в раннем и отдаленном периоде и взаимосвязь с полиморфизмами гена. Полиморфизмы гена *TGFB1* - rs1800469, rs1800470 и rs1800471 определяли методом полимеразной цепной реакции, уровень цитокина TGF- $\beta$ 1 – методом иммуноферментного анализа. Для обобщения результатов настоящего исследования применялись методы параметрической и непараметрической статистики.

## **Основные положения, выносимые на защиту**

1. В раннем посттрансплантационном периоде частыми осложнениями являются инфекционные, в отдаленном периоде развивается дисфункция трансплантата печени.
2. У детей с острой и хронической печеночной недостаточностью частота встречаемости полиморфных вариантов *TGFBI* не соответствует равновесному распределению (закону Харди-Вайндберга) и отличается от встречаемости вариантов гена у здоровых.
3. Концентрация TGF- $\beta$ 1 в плазме крови детей-реципиентов до трансплантации печени связана с полиморфизмом *TGFBI*.
4. Полиморфизм *TGFBI* у детей-реципиентов печени ассоциирован с развитием инфекций, одним из наиболее частых осложнений раннего посттрансплантационного периода.

## **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов определяется объемом проведенных исследований (118 пациентов, обследованных до и после трансплантации печени) с использованием современных и стандартизированных методов анализа.

Апробация работы состоялась 01.10.2021 г. на совместной конференции научных и клинических подразделений федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова).

Основные результаты работы доложены и обсуждены на IV Российском национальном конгрессе с международным участием «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2019 г.), X Всероссийском съезде трансплантологов с международным участием (Москва, 2020 г.), 20-м Конгрессе Европейского общества трансплантологов (ESOT, Милан 2021 г.), V Российском национальном конгрессе с международным участием «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2021 г.).

## **Связь работы с научными программами, планами, темами**

Работа выполнена в рамках государственных заданий Минздрава России на осуществление научных исследований и разработок по теме: «Разработка и усовершенствование методов диагностики и лечения осложнений после трансплантации солидных органов/почки, направленных на пролонгирование функции трансплантата и полную реабилитацию, включая репродуктивную функцию и способность к рождению здоровых детей» (2018-2020 гг.).

## **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты исследования используются в хирургическом отделении № 2, педиатрическом отделении федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в работе отделения пересадки печени Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», в учебном процессе на кафедре трансплантологии и искусственных органов Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

## **Личный вклад автора**

Автор принимал непосредственное участие в разработке концепции и постановке задач исследования; самостоятельно осуществлял сбор материала для исследования. Автором самостоятельно выполнен обзор отечественной и зарубежной литературы, определены основные направления, сформирована база данных, проведена статистическая обработка, анализ и интерпретация полученных результатов.

## **Публикации по теме диссертации**

По материалам исследования автором опубликовано 5 научных работ, в том числе 5 статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Центра, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (из них 5 статей в изданиях, индексируемых Scopus и Web of Science).

## **Объем и структура работы**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной характеристике пациентов и методам исследования, 2 глав результатов собственных исследований, обсуждения, 4 выводов, практических рекомендаций и указателя используемой литературы, включающего 164 источников, из них 17 отечественных и 147 зарубежных. Работа изложена на 114 страницах машинописного текста, иллюстрирована 11 таблицами и 30 рисунками.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящее исследование включены 118 человек, страдающих терминальными заболеваниями печени, в исходе врожденной патологии. Этиологическое разнообразие заболеваний представлено: атрезия желчевыводящих путей (АЖВП, n=62), гипоплазия желчевыводящих путей (ГЖВП, n=10), болезнь Байлера (n=7), синдром Алажилия (n=10), болезнь и синдром Кароли (n=20) и другие (n=9), в эту группу вошли заболевания такие как криптогенный цирроз печени, фульминантный гепатит, синдром Криглера-Наяра и Бадда-Киари, гепатобластома и дефицит альфа-1 антитрипсина.

Превалирующим показанием для трансплантации печени служили аномалии развития желчевыводящих путей (холестатические заболевания – АЖВП – 53%, ГЖВП – 8%, синдром Алажилия – 8%), в меньшей степени метаболические заболевания и другие. Средний вес пациентов составил  $9,53 \pm 6,6$  кг медиана 7.

Тяжесть состояния исследуемых оценивалась по шкале PELD (англ. Pediatric end-stage liver disease) [Freeman R.V. et al., 2004] это система оценки тяжести заболевания для детей в возрасте до 12 лет. Она рассчитывается по показателям в сыворотке крови альбумина, билирубина пациента, международного нормализованного соотношения (МНО) вместе с возрастом пациента и степенью физического развития. Эта оценка используется UNOS (англ., United network for organ sharing, Объединенная сеть по распределению донорских органов) для определения приоритетов при распределении трансплантата печени. Среднее значение составило PELD  $19,0 \pm 8,36$  медиана 18,0.

Группой сравнения служили здоровые взрослые – доноры крови (n=64), из которых мужчины составили 42% (n=27), женщины – 58% (n=37). Средний возраст доноров печени составлял  $37 \pm 19$  лет, средняя масса тела -  $67 \pm 13$  кг и рост -  $165 \pm 10$  см.

При подготовке к трансплантации печени проводилось всестороннее исследование детей-реципиентов, а в случае родственной трансплантации выполнялся подбор оптимального потенциального донора, что было основополагающим для положительного исхода оперативного вмешательства. Потенциальным реципиентам печени выполнялось клиничко-инструментальное обследование по протоколу, принятому в НМИЦ ТИО.



**Таблица 1 – Характеристика пациентов, включенных в исследование**

Параметры	Число пациентов, (n)	(%)
Пол		
-муж	64	54,2
-жен	54	45,8
Возраст, мес	от 3 до 144 (19,0±28,4) медиана 8	
Вес, кг	9,53±6,6 медиана 7	
<i>Диагноз</i>		
АЖВП	62	52,5
ГЖВП	10	8,5
Болезнь Байлера	7	5,9
Синдром Алажиля	10	8,5
Болезнь и синдром Кароли	20	16,9
Другие (АИГ, криптогенный цирроз печени, фульминантный гепатит, синдром Криглера-Наяра, синдром Бадда-Киари, гепатобластома, дефицит альфа-1 антитрипсина)	9	7,6
PELD	19±8,36 медиана 18,0	
<i>Выполненные трансплантации по системе-ABO</i>		
совместимые	22	18,6
несовместимые	23	19,5
однотипные	73	61,9
Вид трансплантата		
-LLS	109	92,4
-LL	5	4,2
-RL	2	1,7
-Split-LLS	2	1,7

После успешно выполненной трансплантации в течении первых 14 дней проводилась непрерывная оценка жизненно важных функций организма, контроль КЩС крови каждые 6 часов, лабораторный контроль общего анализа крови, биохимических показателей крови (в обязательном порядке определялись маркеры воспалительных реакций – С-реактивный белок, прокальцитонин, пресепсин), значения свертывающей системы крови, если была выполнена ABO-

несовместимая трансплантация печени, то титр группоспецифических антител – выполнялся ежедневно в первые 7 дней после трансплантации, затем если послеоперационный период имел плановое течение 1 раз в 2 дня. Как только к терапии добавлялся такролимус, определение его концентрации в цельной крови проводилось 1 раз в 2 дня.

Дифференциальный диагноз острого отторжения проводился в первую очередь с билиарными осложнениями, инфекционными процессами. Благодаря рутинному использованию методов исследования (МРТ и УЗ) исключались билиарные осложнения (стриктуру или несостоятельность билиодигестивного анастомоза, билиарный затек, острый холангит и др.). По лабораторным данным исключались инфекционный процесс различной этиологии. Для подтверждения острого отторжения трансплантата выполнялась пункционная биопсия, но в виду того что данный метод в абсолютном большинстве случаев превышал ценность морфологического исследования, методика не была рутинной.

Концентрацию TGF- $\beta$ 1 в плазме крови определяли с помощью количественного твердофазного иммуноферментного анализа с использованием специфических наборов реагентов («Bender MedSystems», Австрия) в соответствии с инструкцией производителя.

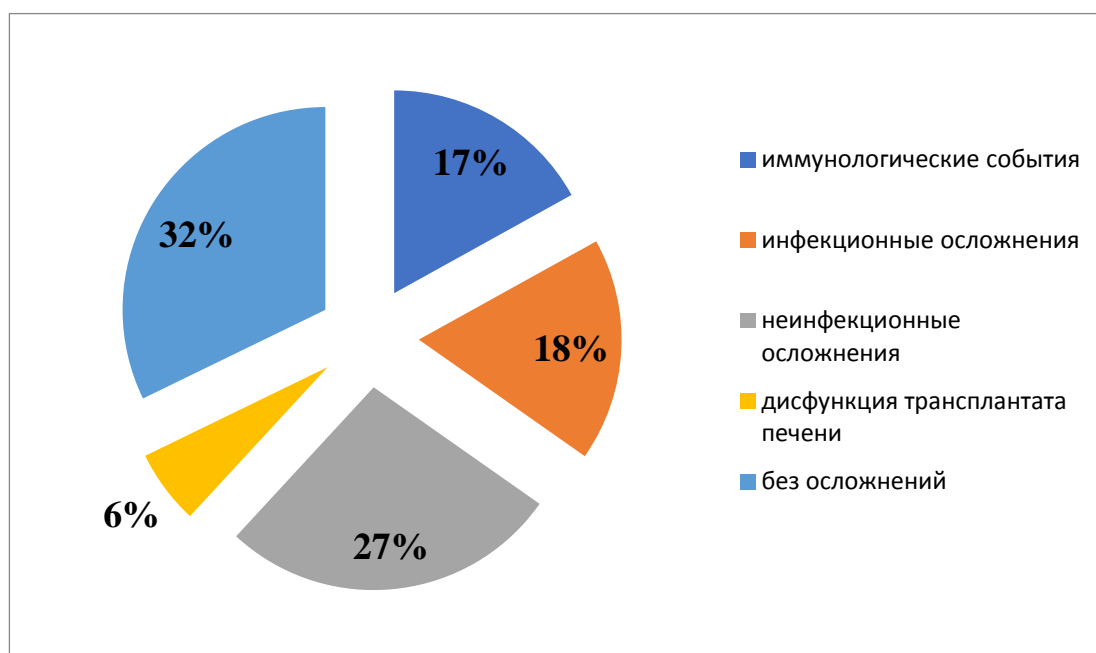
Выделение геномной ДНК проводили из периферической крови согласно протоколу с помощью коммерческого набора QIAamp DNA Blood Mini Kit на автоматическом анализаторе QIAcube™ (Qiagen, Германия). Полиморфные варианты rs1800469, rs1800470, rs1800471 *TGF $\beta$ 1* тестировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с помощью зондов TaqMan (Applied Biosystems, США) на амплификаторе CFX96™ («Bio-Rad», США).

Обработку полученных данных выполняли с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel и пакета прикладных программ для научно-технических расчетов IBM SPSS STATISTICS 20 (IBM SPSS Inc., Ш). Проверка нормальности распределения основывалась на критерии Шапиро-Уилка. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ), верхние и нижние границы 95%-ого доверительного интервала для параметрических и как медиана и интерквартильный размах для непараметрических переменных. Статистическую обработку полученных данных проводили методами непараметрической статистики: при сравнении зависимых выборок рассчитывали парный критерий Вилкоксона, для сравнения независимых переменных применяли U-критерий Манна-Уитни или Карскал-Уоллиса. Для оценки связи количественных и качественных порядковых признаков рассчитывался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для всех критериев и тестов критический уровень значимости принимался равным 5%, т.е. нулевая гипотеза отвергалась при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Особенности течения посттрансплантационного периода у детей-реципиентов печени

В посттрансплантационном периоде встречались следующие осложнения: иммунологические события – 20 (16,9%), инфекционные осложнения – 21 (17,8%), другие (неинфекционные) осложнения (хирургические и т.д.) – 32 (27,1%), в отдаленном периоде дисфункция трансплантата печени – 7 (5,9%) (Рисунок 1).



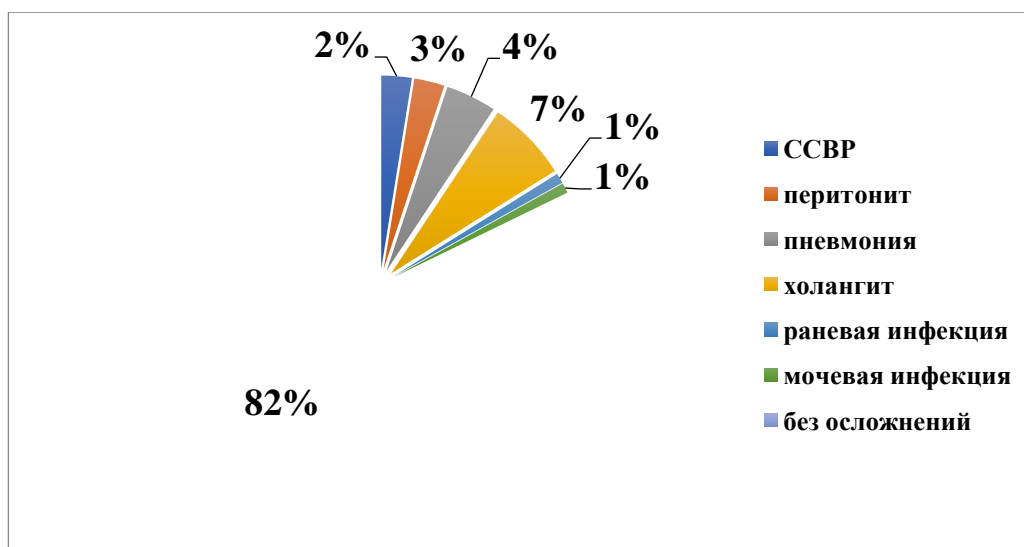
**Рисунок 1 - Доля нежелательных событий после трансплантации печени**

Большинство клинически значимых инфекций происходит в первые 180 дней после трансплантации печени.

Сроки возникновения инфекций можно разделить на 3 интервала: ранний (0-30 дней после трансплантации), промежуточный (30-180 дней), поздний (более 180 дней). В исследуемой группе пациентов в 21 (17,7%) случае были выявлены инфекционные осложнения.

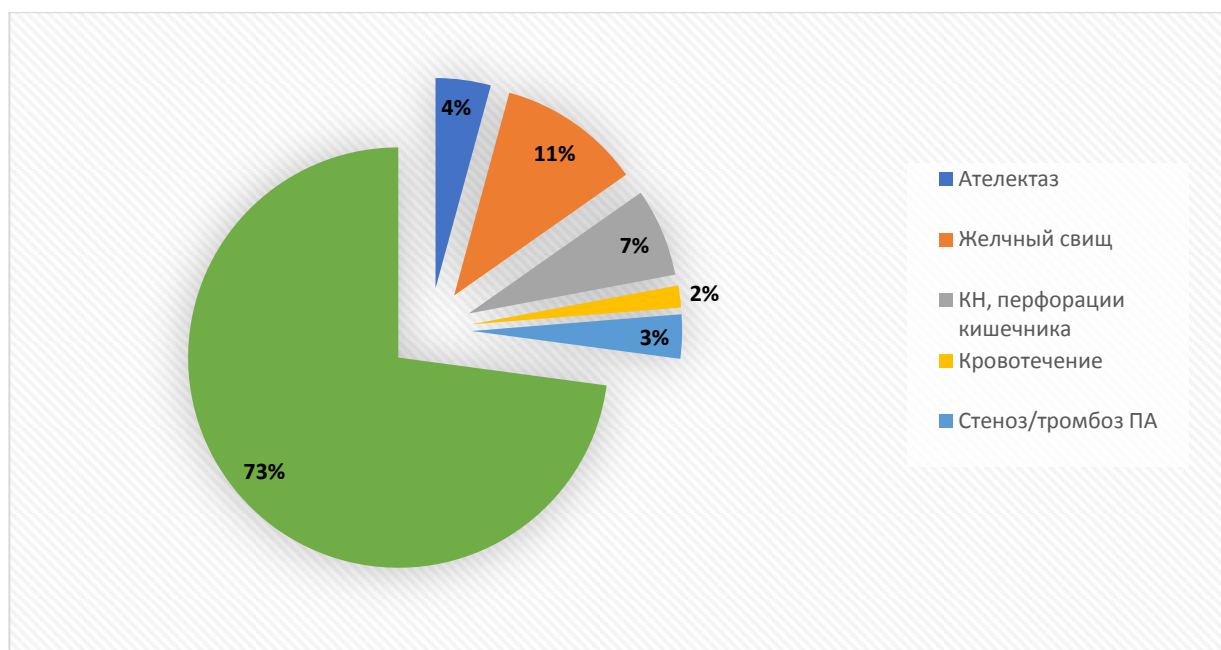
В данной группе представлены пациенты с высоким показателем PELD ( $20 \pm 6$ ) перед оперативным вмешательством – трансплантацией печени. Масса тела была  $9,3 \pm 5,4$  кг. В группе инфекционных осложнений 8-ми реципиентам была выполнена АВ0-несовместимая трансплантация печени, 2-м из которых понадобилась дотрансплантационная подготовка (введение моноклональных антител, проведение сеансов плазмафереза).

В большинстве случаев данные осложнения получили свой дебют в ранний период – в течение 30 суток после трансплантации. Виды инфекционных осложнений представлены на Рисунке 2.



**Рисунок 2 - Распределение и виды инфекционных осложнений**

Осложнения, связанные с оперативным вмешательством (трансплантацией печени), можно подразделить на несколько групп: кровотечения, тромбозы, желчные затеки/свищи, перфорации кишки. (Рисунок 3). Так же в эту группу включены осложнения, связанные с тяжестью основного заболевания, например ателектазы легких, которые сопряжены с недостаточным развитием легочной ткани в виду малого возраста пациентов. В этой группе осложнений преобладают билиарные осложнения - желчные затеки/свищи (n=13, 11%). По данным мировой литературы билиарные осложнения являются «ахиллесовой пятой» трансплантации печени в детском возрасте. По мировой статистике процент осложнений связанных с желчеотведением составляет от 10% до 40%.



**Рисунок 3 - Распределение неинфекционных осложнений**

**Частота распределения полиморфизмов *TGFBI* у детей-реципиентов печени**

Трансформирующий фактор роста  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) представляет собой плейотропный цитокин с профиброгенной и иммунодепрессивной активностью и его уровень может влиять на функцию трансплантата печени. Содержание TGF- $\beta 1$  в крови коррелирует с тяжестью фиброза печени, частотой развития дисфункции и потребностью в дозе такролимуса у детей-реципиентов печени. Уровень TGF- $\beta 1$  зависит от множества факторов, одним из которых может быть его генетическая детерминированность.

Анализ распределения исследованных полиморфизмов на соответствие закону Харди-Вайнберга показал, что у реципиентов печени наблюдалось отклонение от равновесия Харди-Вайнберга для ОНП rs1800469 и rs1800470 *TGF $\beta 1$* , что может быть связано с основным заболеванием. Распределение ОНП rs1800471 *TGF $\beta 1$*  у реципиентов печени соответствовало уравнению Харди-Вайнберга.

У здоровых индивидов распределение всех исследованных ОНП соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

В таблице 2 приведены статистические показатели на соответствие закону Харди-Вайнберга - критерий  $\chi^2$  и значение вероятной ошибки, рассчитанные для исследованных полиморфизмов у реципиентов печени и здоровых лиц.

**Таблица 2 - Анализ данных на соответствие закону Харди-Вайнберга**

ОНП \ Группы	rs1800469	rs1800470	rs1800471
Здоровые лица	$\chi^2=1,83, p=0,175$	$\chi^2=0,39, p=0,431$	$\chi^2=0,06, p=0,796$
Реципиенты печени	$\chi^2=6,11, p=0,013$	$\chi^2=17,3, p=0,000$	$\chi^2=0,47, p=0,491$

\* $p < 0,05$ - не соответствует закону Харди-Вайнберга

ОНП – однонуклеотидный полиморфизм

Сравнительный анализ встречаемости генотипов и аллелей исследованных полиморфизмов у детей-реципиентов печени и здоровых людей представлен (Таблица 3).

**Таблица 3 - Сравнение доли встречаемости генотипов и аллелей полиморфизмов *TGFB1* среди детей-реципиентов печени и здоровых лиц**

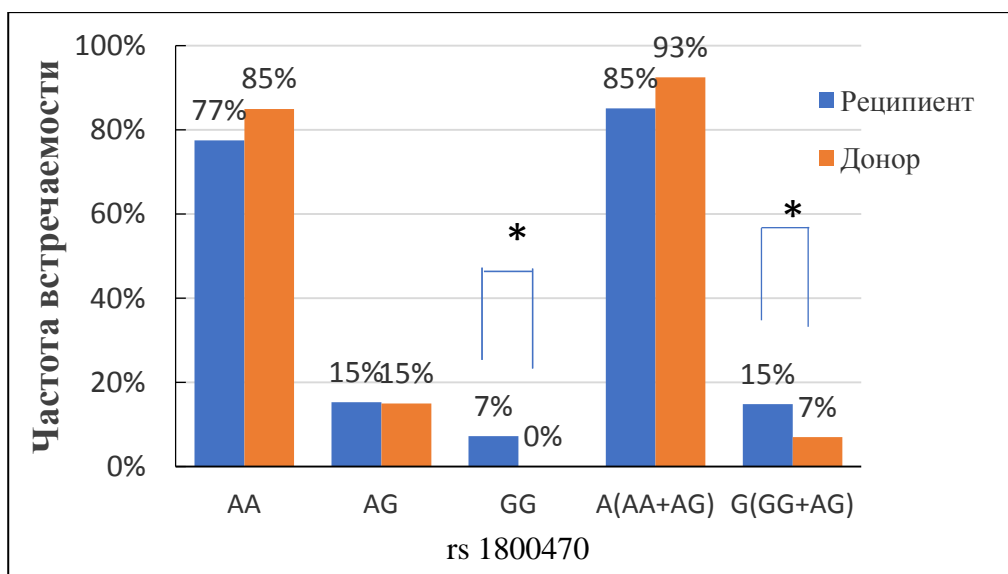
Носительство генотипов/аллелей	Реципиенты печени, (%)	Здоровые лица, (%)	p
<i>rs1800469</i>			
генотип AA	21	15	0,397
генотип AG	35	34	0,887
генотип GG	44	51	0,422
аллель A	39	28	0,422
аллель G	61	72	0,397
<i>rs1800470</i>			
генотип AA	77	85	0,240
генотип AG	15	15	0,957
генотип GG	7	0	0,034*
аллель A	85	92	0,034*
аллель G	15	8	0,240
<i>rs1800471</i>			
генотип GG	0	0	-
генотип GC	12	6	0,220
генотип CC	88	94	0,220
аллель G	6	3	0,220
аллель C	94	97	-

\* -  $p < 0,05$

ОНП – однонуклеотидный полиморфизм

Для *rs1800470 TGFB1* частота встречаемости генотипов достоверно различалась у реципиентов и здоровых индивидов - частота генотипа GG у реципиентов была достоверно выше, чем в группе здоровых (отношение шансов ОШ= 10,121, ДИ [0,572–179,039],  $\chi^2=4,59$ ,  $p = 0,032$ ).

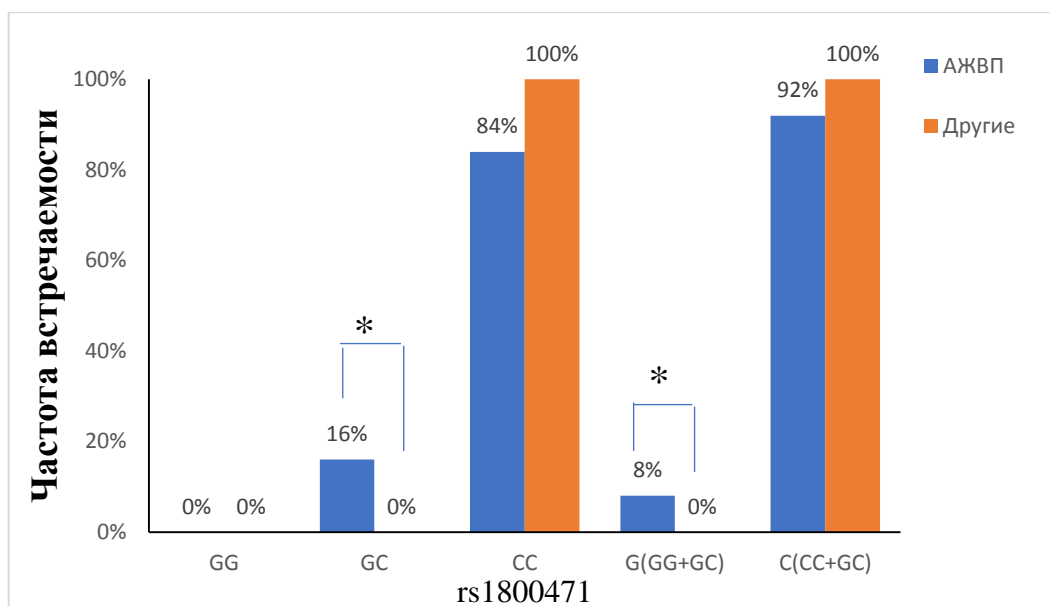
Частота встречаемости аллеля G *rs1800470 TGFB1* у реципиентов печени также была достоверно выше, чем у здоровых: ОШ= 2,153, ДИ [0,994–4,667],  $\chi^2=3,92$ ,  $p = 0,0476$  (Рисунок 4).



**Рисунок 4 - Частотное распределение аллелей и генотипов rs1800470 *TGFB1* у реципиентов печени и здоровых лиц, \* -  $p < 0,05$**

У детей-реципиентов печени частота встречаемости наиболее значимых однонуклеотидных полиморфизмов гена *TGFB1*: rs1800469, rs1800470 не соответствует равновесному распределению в соответствии с законом Харди-Вайнберга, тогда rs1800471 распределен равномерно.

Был проведен сравнительный анализ частоты встречаемости разных генотипов и аллелей исследованных ОНП у пациентов с холестатическими (группа «АЖВП») и нехолестатическими (группа «Другие») заболеваниями. В случае ОНП rs1800471 *TGFB1* было выявлено, что между группами «АЖВП» и «Другие» наблюдались достоверные различия в частоте встречаемости генотипа и аллелей (Рисунок 5).

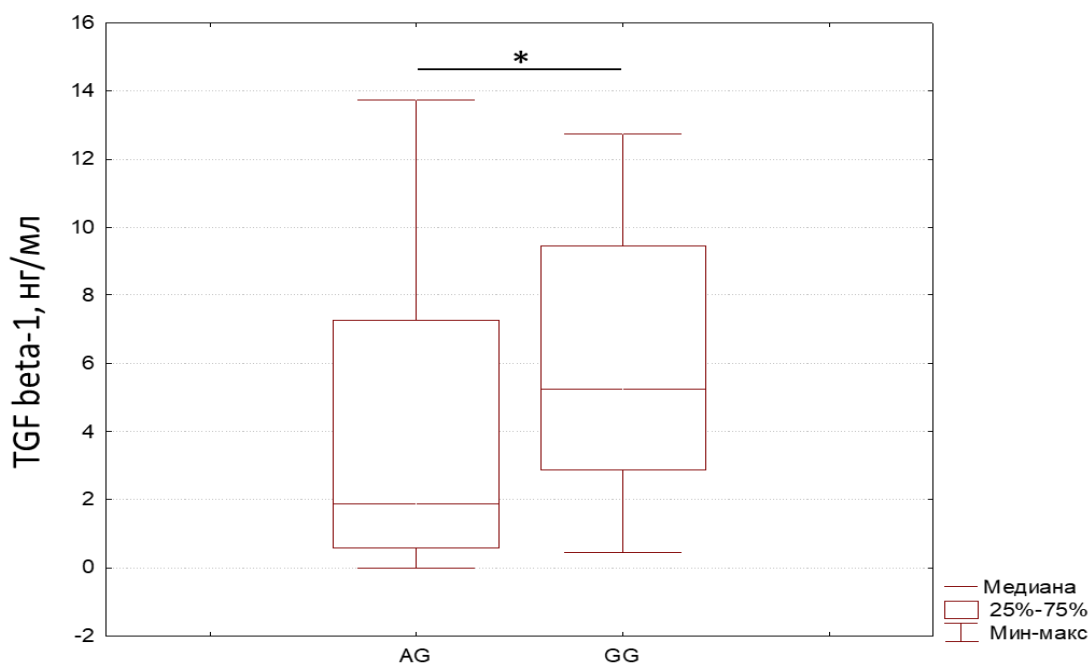


**Рисунок 5 - Частотное распределение аллелей и генотипов полиморфизма rs1800471 *TGFB1* у реципиентов печени с различной этиологией, \* -  $p < 0,05$**

В группе «Другие» генотип GC отсутствовал, тогда как в группе «АЖВП» гетерозигот было 16%,  $p=0,020$ . Частота носительства аллеля G в этих группах также достоверно различалась: 8% при АЖВП против нулевой встречаемости при других диагнозах,  $p=0,020$ .

Встречаемость варианта rs1800470 *TGFBI* различается у детей с заболеваниями печени и здоровых лиц. Показано также отличие в распределении rs1800471 *TGFBI* у пациентов с различной этиологией заболевания печени. Возможно, что выявленные особенности распределения исследованных ОНП у детей-реципиентов печени могут быть связаны с основным заболеванием, часть из которых генетически обусловлена.

Сравнение концентрации TGF- $\beta$ 1 в плазме крови до, через год и месяц после трансплантации у детей-реципиентов печени с различным генотипом исследованных полиморфизмов *TGFBI* показало, что у реципиентов печени с генотипами AG и GG rs1800469 уровень TGF- $\beta$ 1 в плазме крови до трансплантации достоверно различался,  $p=0,038$  (Рисунок 6).



**Рисунок 6 - Уровень TGF- $\beta$ 1 в плазме крови детей до трансплантации печени с различным генотипом rs1800469, \* -  $p<0,05$**

Сравнительный анализ содержания TGF- $\beta$ 1 в плазме крови у реципиентов с полиморфизмами rs1800470 и rs1800471 до и после трансплантации не выявил достоверных различий.



### Анализ связи полиморфизмов гена *TGFBI* с течением посттрансплантационного периода

В работе проведен анализ связи частоты встречаемости полиморфизмов rs1800469, rs1800470 и rs1800471 *TGFBI* с частотой развития таких осложнений как отторжение, вирусные и бактериальные инфекции, билиарные осложнения, тромбозы и кровотечения, а также дисфункция трансплантата.

Не выявлено различий в частоте встречаемости генотипов и аллелей трех исследуемых полиморфизмов *TGFBI* у реципиентов-печени детского возраста с иммунологическими событиями и без таковых.

Анализ не выявил достоверных различий в носительстве генотипов и аллелей 3-х исследованных полиморфизмов при наличии или отсутствии билиарных осложнений.

Также не выявлено различий в носительстве 3-х исследованных полиморфизмов при наличии или отсутствии нарушений свертываемости крови (тромбозы и кровотечения).

Выявлена связь встречаемости варианта аллеля А rs1800469 с развитием инфекционных осложнений. Анализ связи встречаемости вариантов rs1800469 *TGFBI* с частотой развития инфекционных осложнений с помощью двухпольной таблицы сопряженности показал, что среди реципиентов с таким осложнением достоверно чаще встречалась аллель А (AA+AG), чем аллель G (GG) ( $p=0,020$ ) (Таблица 4)

**Таблица 4 – Таблица сопряженности между вариантами А и G rs1800469 *TGFBI* и наличием инфекционного осложнения у детей-реципиентов после трансплантации печени**

	<b>rs1800469 А</b>	<b>rs1800469 G</b>	<b>Всего</b>
<b>Инфекционное осложнение (да/нет)</b>			
да,%	79%	21%	100%
нет,%	49%	51%	100%
Chi-square (df=1)	5,36 p=0,0206		

Расчет отношения шансов, показал, что носительство аллеля А rs1800469 *TGFBI* достоверно повышает риск развития инфекционных осложнений в 3,8 раза по сравнению с аллелем G (ОШ = 3,854, ДИ [1,167–12,727],  $\chi^2=5,36$ ,  $p = 0,0206$ ).

Таким образом, результаты настоящей работы показали, что в раннем посттрансплантационном периоде наиболее частым осложнением являются инфекции (17,79%); в отдаленном периоде – дисфункция трансплантата (5,93%).

Анализ исследованных полиморфизмов гена *TGFBI* (rs1800469, rs1800470 и rs1800471) показал, что у детей-реципиентов печени имеет место отклонение от равновесного распределения для rs1800469 и rs1800470, тогда как у здоровых лиц встречаемость всех полиморфизмов соответствовала равновесию Харди-Вайнберга. Содержание TGF- $\beta$ 1 в плазме крови детей с заболеваниями печени коррелировало с полиморфизмом rs1800469 *TGFBI*, более высокий уровень наблюдался у детей с генотипом GG по сравнению с теми, у которых определялся генотип AG. Выявлена связь аллеля А rs1800469 с развитием инфекционных осложнений у детей-реципиентов печени после трансплантации, что может свидетельствовать о предрасположенности к более частому развитию инфекций у детей-реципиентов с носительством аллеля А.

## ВЫВОДЫ

1. В раннем посттрансплантационном периоде наиболее частыми осложнениями являются инфекционные (17,8%), в отдаленном периоде у 5,9% детей-реципиентов печени развивается дисфункция трансплантата

2. Распределение генотипов и аллелей rs1800470 *TGFBI* у детей с печеночной недостаточностью достоверно отличалось от здоровых ( $p=0,04$ ). Концентрация цитокина TGF- $\beta$ 1 в плазме крови детей-реципиентов до операции связана с полиморфизмом rs1800469 *TGFBI*: она достоверно выше у пациентов с генотипом GG, чем у таковых с генотипом AG ( $p=0,023$ ).

3. У детей-реципиентов печени не выявлено связи полиморфных вариантов rs1800469, rs1800470, rs1800471 *TGFBI* с развитием нежелательных иммунологических событий, дисфункцией трансплантата.

4. У детей-реципиентов печени с носительством аллеля А rs1800469 *TGFBI* риск развития инфекционных осложнений в раннем посттрансплантационном периоде в 3,8 раза выше, чем у детей с носительством аллеля G ( $p=0,02$ ).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При обследовании пациентов с печеночной недостаточностью целесообразно проведение молекулярно-генетической диагностики полиморфизмов гена трансформирующего фактора роста  $\beta 1$  для прогнозирования особенностей течения посттрансплантационного периода.

2. На основе генотипирования полиморфных вариантов *TGFB1* пациентам с острой и хронической печеночной недостаточностью целесообразно проводить – определение риска развития инфекционных осложнений после трансплантации

3. Пациентам с носительством аллеля А rs1800469 *TGFB1* рекомендовано наблюдение с целью ранней диагностики и профилактики инфекций после трансплантации печени

## СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Лечение стриктур билиодигестивного анастомоза после трансплантации левого латерального сектора печени / Монахов А.Р., Миронков Б.Л., Восканов М.А., Мещеряков С.В., Азоев Э.Т., Семаш К.О., Джанбеков Т.А., Силина О.В., Готье С.В. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020 – Т. XXII – № 3. – С.18-25.

2. Эффективность альбуминового диализа в качестве моста к трансплантации у детей с терминальными заболеваниями печени / Строков А.Г., Поз Я.Л., Монахов А.Р., Мещеряков С.В., Восканов М.А., Готье С.В. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020 – Т. XXII – № 3. – С.36-42.

3. Роль полиморфизма гена трансформирующего фактора роста  $\beta 1$  в развитии осложнений после трансплантации солидных органов. Курабекова Р.М., Гичкун О.Е., Мещеряков С.В., Шевченко О.П. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2021;23(3):180-185. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2021-3-180-185>.

4. Исследование качества жизни родственных доноров фрагмента печени в отдаленном послеоперационном периоде. Готье С.В., Константинов В.К., Хизроев Х.М., Монахов А.Р., Джанбеков Т.А., Мещеряков С.В. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2017;19(1):6-9.

5. Трансплантация левой доли печени от АВ0-несовместимого родственного донора с транспозицией внутренних органов(*situs inversus*). Готье С.В., Цирульникова О.М., Ахаладзе Д.Г., Монахов А.Р., Хизроев Х.М., Цирульникова И.Е., Мещеряков С.В., Джанбеков Т.А., Саранов Г.А., Абрамова Н.Н. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2014;16(4):106-110.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- PELD (англ., Pediatric end-stage liver disease) – система оценки тяжести заболевания для детей в возрасте до 12 лет
- TGF- $\beta$ 1 (англ., transforming growth factor  $\beta$ 1) – трансформирующий фактор роста  $\beta$ 1
- TGFB1* – ген, кодирующий цитокин TGF- $\beta$ 1
- UNOS (англ., United Network for Organ Sharing) – Объединенная сеть по распределению донорских органов
- АЖВП – атрезия желчевыводящих путей
- ГЖВП – гипоплазия желчевыводящих путей
- ГКГ – главный комплекс гистосовместимости
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- НМИЦ ТИО – Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов
- ОНП (англ., single nucleotide polymorphism, SNP) – однонуклеотидный полиморфизм
- ОШ – отношение шансов
- ПВСХ – прогрессирующий внутрипеченочный семейный холестаз
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- СА – Синдром Алажиля
- ЦМВ – цитомегаловирус