

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

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- β 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- β 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 β 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- β 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- β 1 в плазме крови до трансплантации.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты исследования встречаемости генетического полиморфизма, определяющего активность TGF- β 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- β 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- β 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 ± 19 лет, средняя масса тела - 67 ± 13 кг и рост - 165 ± 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- β 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 β 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).

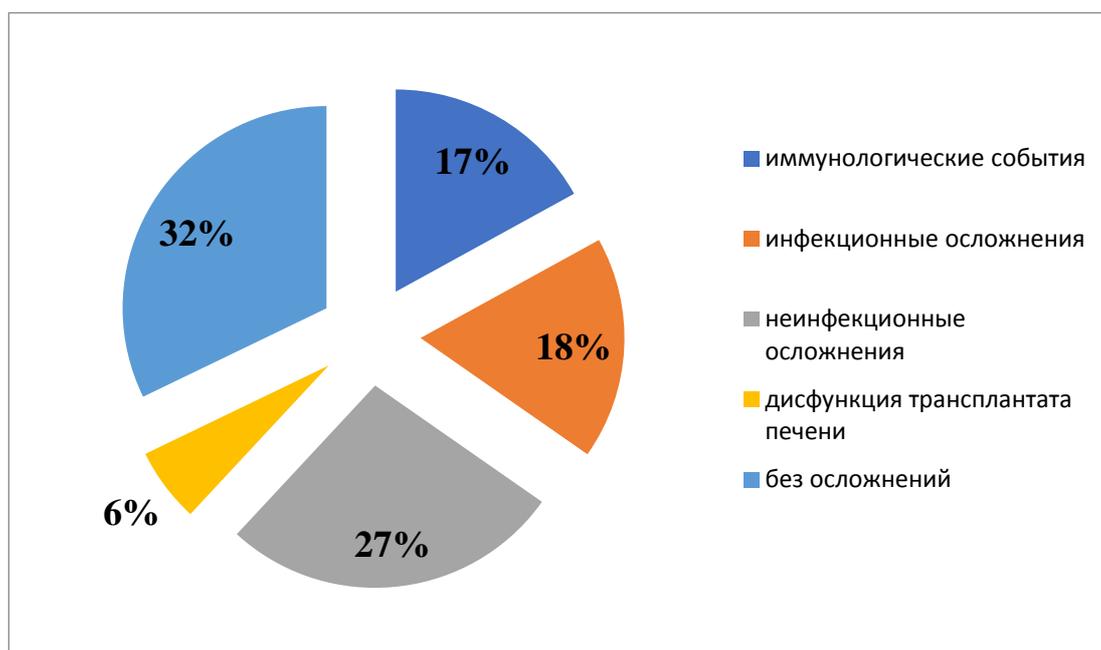


Рисунок 1 - Доля нежелательных событий после трансплантации печени

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 ± 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.

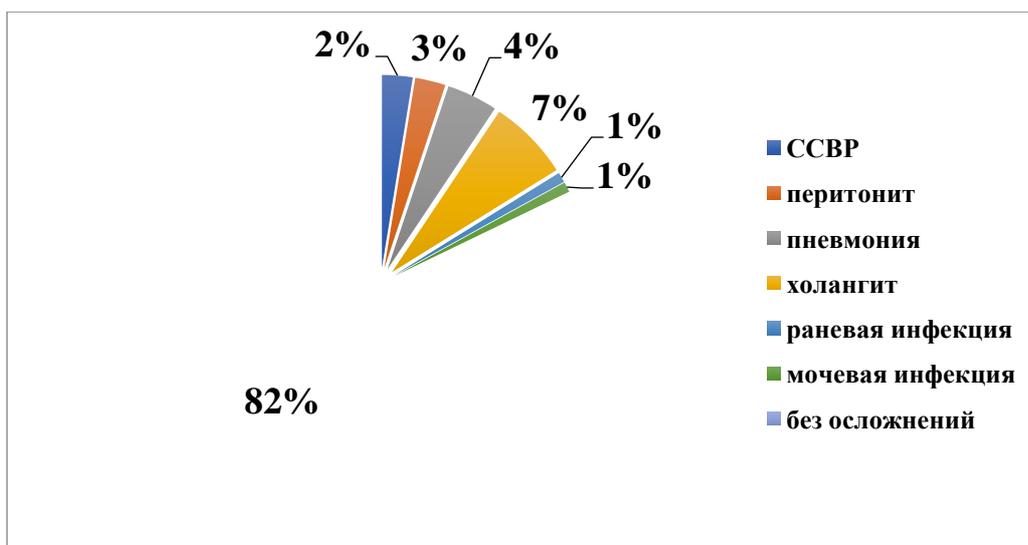


Рисунок 2 - Распределение и виды инфекционных осложнений

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%.

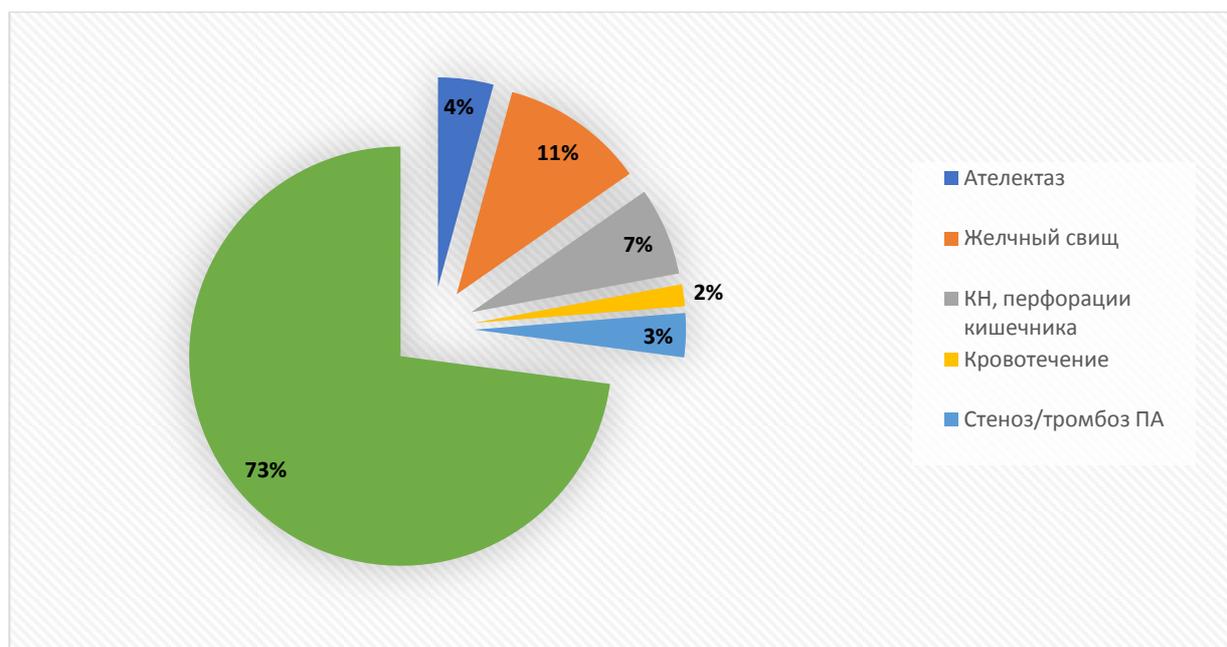


Рисунок 3 - Распределение неинфекционных осложнений

Частота распределения полиморфизмов *TGFB1* 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 χ^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).

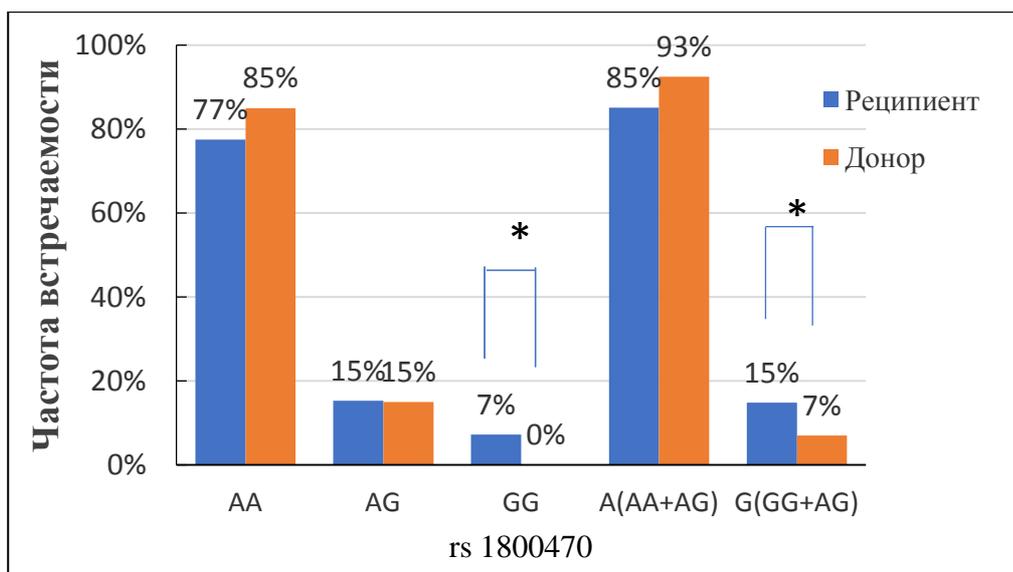


Рисунок 4 - Частотное распределение аллелей и генотипов rs1800470 *TGFB1* у реципиентов печени и здоровых лиц, * - $p < 0,05$

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).

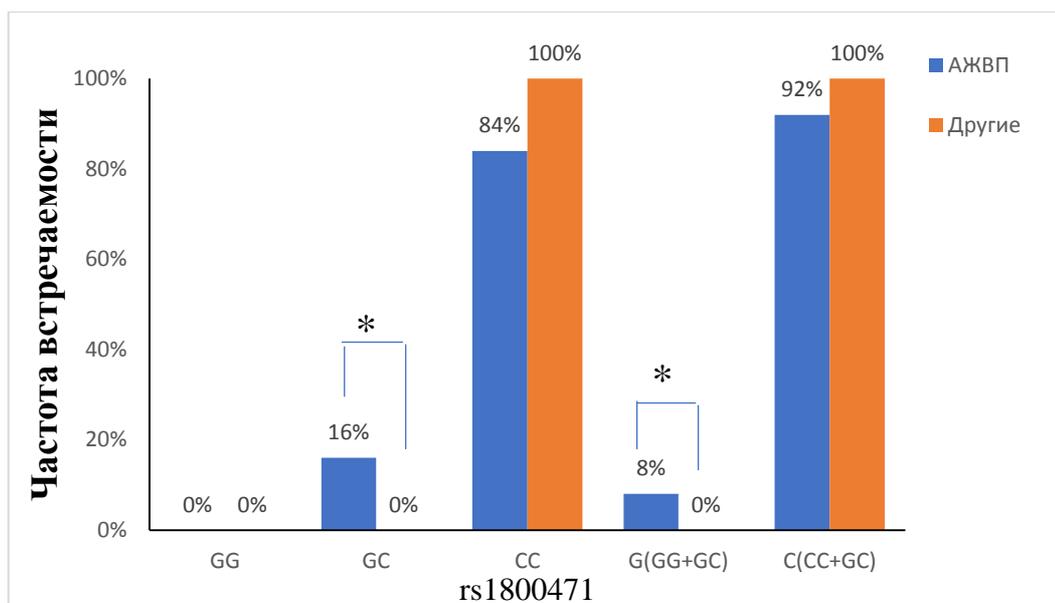


Рисунок 5 - Частотное распределение аллелей и генотипов полиморфизма rs1800471 *TGFB1* у реципиентов печени с различной этиологией, * - $p < 0,05$

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- β 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- β 1 в плазме крови до трансплантации достоверно различался, $p= 0,038$ (Рисунок 6).

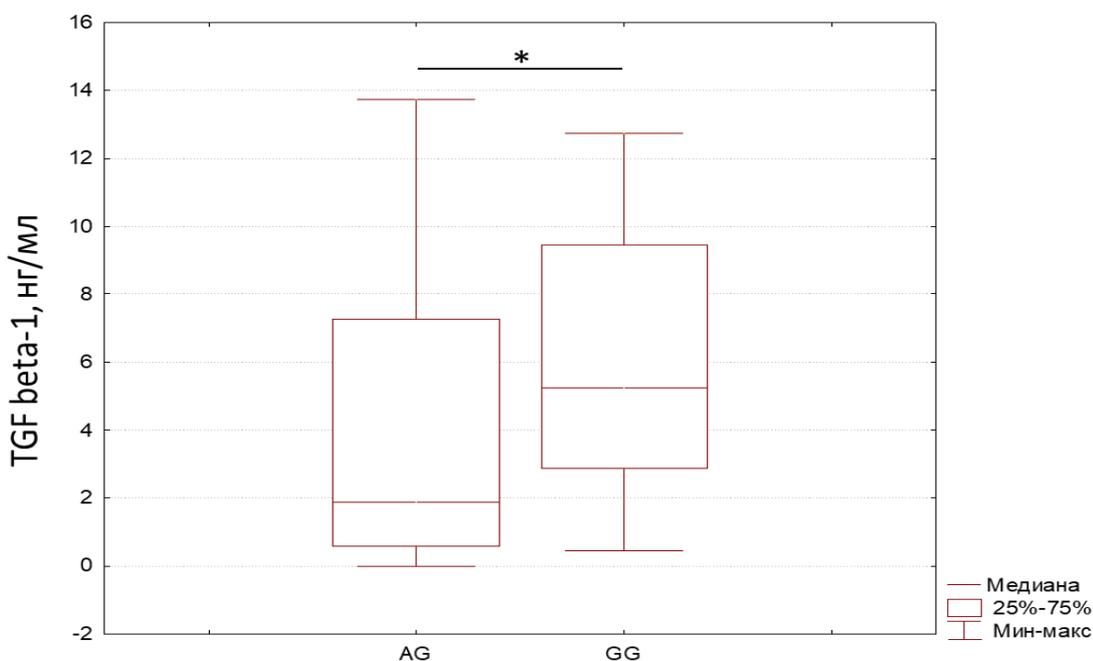


Рисунок 6 - Уровень TGF- β 1 в плазме крови детей до трансплантации печени с различным генотипом rs1800469, * - $p<0,05$

Сравнительный анализ содержания TGF- β 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

	rs1800469 А	rs1800469 G	Всего
Инфекционное осложнение (да/нет)			
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- β 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- β 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- β 1 (англ., transforming growth factor β 1) – трансформирующий фактор роста β 1
- TGFB1* – ген, кодирующий цитокин TGF- β 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