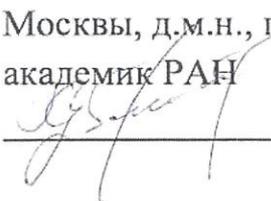


ПРАВИТЕЛЬСТВО МОСКВЫ
ДЕПАРТАМЕНТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ

СОГЛАСОВАНО

Главный внештатный специалист
трансплантолог Департамента
здравоохранения города
Москвы, д.м.н., профессор,
академик РАН


М.Ш. Хубутя

«29» ноября 2024 г.

РЕКОМЕНДОВАНО

Экспертным советом по науке
Департамента здравоохранения
города Москвы № 19



«29» ноября 2024 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ
МАШИННОЙ ХОЛОДОВОЙ ПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНОЧНОГО
ТРАНСПЛАНТАТА

Методические рекомендации № 73

УДКК 616.36-089

ББК 28.036

М38

Организация-разработчик: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы»

Главный редактор:

А.В. Шабунин – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, главный хирург и эндоскопист Департамента здравоохранения города Москвы, заведующий кафедрой ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, директор ГБУЗ ММНКЦ им. С.П. Боткина ДЗМ.

Составители: Дроздов П.А., заместитель директора по науке ГБУЗ ММНКЦ им. С.П. Боткина ДЗМ, д. м. н., с. н. с. ГБУЗ ММНКЦ им. С.П. Боткина ДЗМ, Минина М.Г., руководитель Московского координационного центра органного донорства, д. м. н., профессор РАН, с. н. с. ГБУЗ ММНКЦ им. С.П. Боткина ДЗМ, Астапович С.А., врач-хирург ГБУЗ ММНКЦ им. С.П. Боткина ДЗМ.

Рецензенты: Мойсюк Я.Г., д.м.н., профессор, руководитель отдела трансплантологии ГБУЗ МО МОНКИ им. М.Ф. Владимирского;

Новрузбеков М.С., д.м.н., профессор, И.о. заведующего кафедрой трансплантологией и искусственных органов ФДПО ИНОПР ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Методические рекомендации машинной холодовой перфузии печеночного трансплантата: методические рекомендации / составители: П.А. Дроздов, М.Г. Минина, С.А. Астапович. – М.: ГБУЗ ММНКЦ им. С.П. Боткина ДЗМ, 2024. – 31 с.

Данные методические рекомендации разработаны в ходе выполнения научно-исследовательской работы «Увеличение количества эффективных доноров для трансплантации солидных органов за счет применения инновационных перфузионных технологий».

Предназначение. Данные методические рекомендации предназначены для главных специалистов органов здравоохранения; руководителей медицинских организаций, врачей-трансплантологов.

Данный документ является собственностью Департамента здравоохранения города Москвы и не подлежит тиражированию и распространению без соответствующего разрешения.

ISBN:

© Департамент здравоохранения города Москвы, 2024

© ММНКЦ им. С.П. Боткина, 2024

© Коллектив авторов, 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ОБОСНОВАНИЕ НЕОБХОДИМОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МАШИННОЙ ОКСИГЕНИРОВАННОЙ ХОЛОДОВОЙ ПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНОЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА.....	5
ПРОТОКОЛ ПРИМЕНЕНИЯ МАШИННОЙ ОКСИГЕНИРОВАННОЙ ХОЛОДОВОЙ ПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНОЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА	14
МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МАШИННОЙ ОКСИГЕНИРОВАННОЙ ХОЛОДОВОЙ ПЕРФУЗИИ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА.....	18
НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МАШИННОЙ ОКСИГЕНИРОВАННОЙ ХОЛОДОВОЙ ПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНОЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА.....	23
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	27
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	30

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация печени на сегодняшний день является единственным методом радикального лечения ее заболеваний в терминальной стадии. За короткий срок, с первой успешной серии трансплантаций, выполненных Томасом Старзлом в 1960-х годах до настоящего времени, данный метод получил общемировое распространение и стал рутинной клинической практикой множества хирургических центров. Доступность трансплантационной помощи напрямую зависит от донорского ресурса, дефицит которого имеет место во всем мире. Это неизбежно приводит к увеличению количества кандидатов и их смертности в листах ожидания. По данным Eurotransplant на 2022 год, она составила 33,9%, что практически не отличается от результатов десятилетней давности [1].

Использование доноров с расширенными критериями (ДРК) является эффективным способом увеличения доступности трансплантации печени, однако сопряжено с повышенным риском развития неблагоприятных последствий в послеоперационном периоде. Известно, что трансплантаты, полученные от субоптимальных доноров, в большей степени подвержены ишемическому повреждению в ходе консервации и последующему реперфузионному – в организме реципиента [2]. Выраженное ишемически-реперфузионное повреждение (ИРП) приводит к развитию ранней дисфункции трансплантата печени (РДТП) [3]. По результатам крупного исследования, вышедшего из клиники Мейо, распространенность РДТП составила 26,5% и ее развитие имело статистически значимое влияние как на ближайшие результаты трансплантации печени, так и на отдаленную выживаемость реципиентов [4]. В ряде случаев развитие РДТП может быть необратимым, что соответствует первичному нефункционированию трансплантата (ПНФТ), при развитии которого летальность превышает 50% [5].

Снизить тяжесть ИРП возможно, в частности, посредством улучшения условий консервации трансплантата. Перфузионные методы консервации печени от ДРК в сравнении со статическим холодовым хранением уже во многих исследованиях доказали свое преимущество [6–8]. В частности, по данным многоцентрового рандомизированного исследования, при трансплантации печени от ДРК использование гипотермической оксигенированной перфузии (НОРЕ) приводит к снижению риска развития РДТП, ранних послеоперационных осложнений и меньшей длительности госпитализации [7]. Тем не менее внедрение перфузионных технологий в клиническую практику трансплантационных программ все еще ограничено. Лишь в единичных центрах Российской Федерации перфузионная консервация донорских органов выполняется рутинно.

ОБОСНОВАНИЕ НЕОБХОДИМОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МАШИНОЙ ОКСИГЕНИРОВАННОЙ ХОЛОДОВОЙ ПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНОЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

Для определения факторов риска развития осложнений в раннем послеоперационном периоде после трансплантации печени нами был выполнен ретроспективный анализ непосредственных результатов трансплантации у 142 реципиентов, оперированных в ГКБ им. С.П. Боткина в период с 2018 по 2022 год.

Во всех случаях была ОТП была выполнена с сохранением нижней полой вены и кавальной реконструкцией по методике Velghiti. Портальная реконструкция во всех наблюдениях выполнялась конец-в-конец с основным стволом воротной вены реципиента. Артериальная реконструкция в 140 наблюдениях выполнена конец-в-конец с общей печеночной артерией реципиента с лигированием ГДА, в 2 наблюдениях использовалась селезеночная артерия. Билиарная реконструкция в 139 наблюдениях осуществлялась конец-в-конец с холедохом реципиента без использования каркасных дренажей, в 3 выполнялся билиодигестивный анастомоз на

отключенной по Ру петле тонкой кишки. Билиарный анастомоз во всех наблюдениях выполнялся узловым швом PDS 6-0.

Медиана возраста реципиентов составила 46 (IQR: 36–58) лет. Мужчин было 85 (59,8%), женщин 57 (40,2%). Наиболее частыми причинами терминального поражения печени являлись цирроз печени (ЦП) в исходе ХВГС у 62 (44%), ЦП в исходе хронического алкогольного гепатита у 29 (20%), ЦП в исходе ХВГВ у 10 (7%), ЦП в исходе неалкогольной жировой болезни печени у 15 (11%), ЦП смешанной этиологии ХВГС + алиментарного генеза у 13 (9%), ЦП в исходе аутоиммунных заболеваний печени (ПСХ, ПБЦ, синдром аутоиммунного перекреста) у 13 (9%). Медиана MELD реципиентов составила 16 (IQR: 12–18) баллов. Медиана возраста доноров составила 45 (IQR: 38–52) лет, ИМТ – 24,2 (IQR: 23,0–29,0) кг/м², медиана времени нахождения в реанимации – 48 (IQR: 36,0–68,0) часов, соответственно. Вазопрессорная поддержка имела место у всех (100%) доноров, среди них у 21 (14,8%) доза норадреналина превышала 1000 нг/мг/мл, либо использовался второй вазопрессор. Медиана сывороточного уровня натрия составила 140 (IQR: 135–146) ммоль/л, АСТ и АЛТ – 28,0 (IQR: 21,0–45,0) и 32,0 (IQR: 26,0–50,5) ЕД/л, соответственно. Минимальный стеатоз (менее 40%), определяемый по результатам экстренного либо планового гистологического исследования, имел место у 116 (81,7%), умеренный (40–60%) у 26 (18,3%) трансплантатов печени. Медиана времени холодовой консервации составила 5,8 (IQR: 5,0–7,0) часов. В 34 наблюдениях (23,9%) донор был отнесен к категории расширенных критериев, в остальных был признан стандартным. Длительность оперативного вмешательства составила 7,2 (IQR: 5,5–8,2) часов. Медианы времени вторичной тепловой ишемии – 35 (IQR: 35–45) минут, билиарной ишемии – 40 (IQR: 40–50) минут. Объем интраоперационной кровопотери составил 1600 (IQR: 1000–4300) мл. Во всех случаях выполнялась аутоотрансфузия крови реципиента, заготовленной с помощью аппарата Cell Saver, объем которой составил 350 (IQR: 50–1100) мл. Медианы количества перелитых доз СЗП и эритроцитарной взвеси составили 3 (IQR: 2–7) и 1 (IQR:

0–3), соответственно. Медиана длительности нахождения пациента в ОРИТ составила 3 (IQR: 1–4) суток, общей длительности госпитализации – 19 (IQR: 15–34) койко-дней. В серии из 142 операций нами зафиксировано 4 (2,3%) случая летальности в раннем послеоперационном периоде. В двух случаях причиной явилось развитие первичного нефункционирования трансплантата печени, в одном – сдавление нижней полой вены трансплантатом крупного размера с развитием необратимой полиорганной недостаточности и в одном – внутрибольничная пневмония с развитием сепсиса.

Ранняя дисфункция трансплантата печени (РДТП), определяемая в соответствии с критериями Olthoff, имела место у 49 реципиентов (34,5%), включая 2 больных с развитием первичного нефункционирования трансплантата. Наиболее распространенной причиной развития РДТП являлось повышение уровня АСТ и/или АЛТ более 2000 ЕД/л в течение первой недели послеоперационного периода, которое имело место у 38 (77,6%). Значения МНО более 1,6 на 7-е сутки после операции встречались у 17 (34,7%) реципиентов и уровни общего билирубина более 171 мкмоль/л на 7-е послеоперационные сутки – у 4 реципиентов (8,2%). 10 реципиентов имели более 1 из вышеперечисленных критериев (таблица 1).

Таблица 1

Распространенность отдельных признаков РДТП в группе I

АСТ и/или АЛТ более 2000 ЕД/л в течение первой недели после ОТП	МНО более 1,6 на 7-е сутки после ОТП	Общий билирубин более 171 мкмоль/л на 7-е сутки после ОТП	N, % от всех наблюдений РДТП
+	-	-	28 (73,6%)
-	+	-	7 (18,4%)

-	-	+	0
+	+	-	6 (15,8%)
+	+	+	4 (10,5%)

В 6 наблюдениях (4,2%) имело место развитие артериального тромбоза в течение первой недели после операции, что в двух случаях потребовало ретрансплантации и в 4 наблюдениях – эндоваскулярной реканализации печеночной артерии и установки стента.

Снижение СКФ II стадии и выше в раннем посттрансплантационном периоде отмечалось у 33 (23,2%) реципиентов, у 4 из которых было установлено острое почечное повреждение, потребовавшее проведения заместительной почечной терапии. Помимо 2 наблюдений, закончившихся летальным исходом реципиента, в остальных случаях снижение СКФ было обратимым.

Неспецифические хирургические осложнения со стороны операционной раны развились у 19 из 142 (13,4%) реципиентов. Среди них у 8 пациентов имела место подкожная эвентрация с подтеканием асцитической жидкости и инфицированием раны, что потребовало повторных хирургических вмешательств под наркозом. У 9 пациентов зафиксирована поверхностная инфекция послеоперационной раны. В 2 наблюдениях зафиксировано развитие послеоперационного кровотечения, потребовавшего ревизии, эвакуации гематомы и гемостаза.

Таким образом, развитие осложнений различной степени тяжести по Clavien-Dindo в раннем послеоперационном периоде имело место у 54 из 142 реципиентов, что составило 38%. Частота развития осложнений III и более высоких классов по C-D составила 12,6% (18/142). У 46 больных имело место развитие более чем одного осложнения. Медиана расчетного показателя CCI

(Comprehensive complication index) на момент выписки реципиента составила 12,2 (IQR: 0–100).

Для определения факторов риска развития неблагоприятных исходов в раннем послеоперационном периоде нами были проанализированы возраст, пол, ИМТ и индекс MELD реципиента на момент операции, возраст, пол, ИМТ, длительность нахождения в ОРИТ, потребность в вазопрессорной поддержке, степень макростеатоза по результатам гистологического исследования и категория донора. Доноров с расширенными критериями определяли согласно рекомендациям Eurotransplant при наличии одного из следующих факторов:

- Возраст > 65 лет
- Длительность нахождения в ОРИТ > 7 дней
- ИМТ > 30 кг/м²
- Макровезикулярный стеатоз > 40%
- Натрий > 155 ммоль/л
- АЛТ > 105 ЕД/л, АСТ > 90 ЕД/л
- Общий билирубин > 3 мг/дл

Среди периоперационных параметров было проанализировано влияние продолжительности операции, длительности статической холодной консервации, времени вторичной тепловой ишемии, билиарной ишемии, объема интраоперационной кровопотери, реинфузии из Cell Saver и трансфузии компонентов крови.

Результаты анализа факторов риска развития ранней дисфункции трансплантата печени в группе I представлены в таблице 2.

Факторы риска развития ранней дисфункции трансплантата печени

Показатель	Без РДТП n = 93	РДТП n = 49	Уровень значимости (p-value)
<i>Факторы риска со стороны реципиента</i>			
Возраст реципиента (лет)	45 (IQR: 36–48)	46 (IQR: 34–49)	0,53
Мужской пол реципиента	51 (54,8%)	34 (69,4%)	0,107
ИМТ реципиента (кг/м ²)	25 (IQR: 22–28)	26 (IQR: 23–28)	0,325
MELD	17 (IQR: 14–21)	24 (IQR: 16–31)	<0,001
<i>Факторы риска со стороны донора</i>			
Возраст донора (лет)	43 (IQR: 36–63)	58 (IQR: 51–66)	0,002
ИМТ донора (кг/м ²)	27 (IQR: 23–28)	31 (IQR: 25–36)	0,023
Макростеатоз > 40%	12 (12,9%)	14 (28,6%)	0,038
Доза норадреналина более 1000 нг/кг/мл или наличие двух вазопрессоров	13 (13,9%)	8 (16,3%)	0,3
Длительность нахождения донора в реанимации (ч)	45 (IQR: 42–53)	48 (IQR: 43–51)	0,072
Донор с расширенными критериями (по определению Eurotransplant)	13 (14,0%)	21 (42,9%)	<0,001
<i>Периоперационные факторы риска</i>			

Длительность статической холодовой консервации (ч)	5,5 (IQR: 4,8–6,5)	5,8 (IQR: 5,0–6,5)	0,12
Время вторичной тепловой ишемии (мин)	35 (IQR: 35–40)	40 (IQR: 35–45)	0,23
Время билиарной ишемии (мин)	45 (IQR: 40–50)	45(IQR: 40–55)	0,34
Объем интраоперационной кровопотери (мл)	1300 (IQR: 800–3000)	2000 (IQR: 1100–4500)	0,003
Реинфузия из Cell Saver (мл)	300 (IQR: 250–400)	450 (IQR: 250–600)	0,028
Трансфузия СЗП (доз)	2 (IQR: 1–3)	4 (IQR: 2–6)	0,008
Трансфузия Эр. взвеси (доз)	1 (IQR: 0–2)	1 (IQR: 0–3)	0,23

Влияние РДТП на развитие осложнений после трансплантации печени в раннем послеоперационном периоде. Как уже упоминалось, замедленное восстановление функции трансплантата печени – РДТП, имело место у 49/142 реципиентов (34,5%). Развитие ранней дисфункции трансплантата было ассоциировано с увеличением сроков нахождения реципиента в ОРИТ: 5 (IQR: 3–8) суток против 2 (IQR: 1–3) суток у реципиентов с изначально удовлетворительной функцией ($p = 0,024$). Общая длительность госпитализации при развитии РДТП была также статистически значимо выше: 22 (IQR: 12–35) койко-дней против 15 (IQR: 7–18) койко-дней ($p=0,002$).

Нарушение почечной функции, определяемое как снижение СКФ II стадии и выше, имело тесную связь с развитием ранней дисфункции трансплантата печени. Так, при РДТП частота почечного повреждения

составила 21/49 (42,9%), а при удовлетворительной начальной функции – 12/93 (12,9%) ($p < 0,001$). Шансы развития ОПП при ранней дисфункции трансплантата были в 5,06 (95% ДИ: 2,2–11,6) раз выше. Необходимо также отметить, что снижение СКФ было ассоциировано с повышением C_0 такролимуса выше 10 нг/мл в 24/33 (72,7%) наблюдениях и развитием асцитического синдрома у 20/33 (60,6%) реципиентов.

Проанализировано влияние РДТП на развитие неспецифических послеоперационных осложнений: пациенты с развитием ранней дисфункции трансплантата имели больший риск развития осложнений со стороны операционной раны: 22,2% (11/49) против 8,6% (8/93). Отношение шансов составило 3,1 (95% ДИ: 1,1–8,3), $p = 0,036$. Потребность в повторных хирургических вмешательствах в группе развития РДТП была у 7 пациентов (14,3%), что было статистически значимо выше, чем у реципиентов с удовлетворительной функцией трансплантата – 3/93 (3,2%). Отношение шансов – 5,0 (95%ДИ: 1,2–20,3), $p = 0,032$.

Напротив, развитие специфических для ОПП осложнений не имело статистически значимой связи с начальной функцией трансплантата печени. Так, при РДТП частота тромбоза артерии трансплантата составила 2/49 (4%), у остальных реципиентов – 4/93 (4,3%), $p = 1,0$. Результаты исследования влияния РДТП на течение раннего послеоперационного периода ТП представлены в таблице 3.

Влияние развития ранней дисфункции трансплантата печени на течение раннего послеоперационного периода

Показатель	Без РДТП n = 93	РДТП n = 49	Уровень значимости (p-value)
Длительность нахождения в ОРИТ, сут.	2 (IQR: 1-3)	5 (IQR: 3-8)	0,024
Длительность госпитализации, сут.	15 (IQR: 7-18)	22 (IQR: 12-35)	0,002
Снижение СКФ II стадии и выше, n (%)	12 (12,9%)	21 (42,9%)	<0,001
Неспецифические хирургические осложнения, n (%)	8 (8,6%)	11 (22,2%)	0,036
Артериальный тромбоз, n (%)	4 (4,3%)	2 (4%)	1
Повторные вмешательства, n (%)	3 (3,2%)	7 (14,3%)	0,032
Ретрансплантация, n (%)	2 (2,1%)	0	0,8

Таким образом, развитие ранней дисфункции трансплантата печени в раннем послеоперационном периоде имело тесную связь с увеличением частоты неспецифических осложнений, потребности повторных вмешательствах и почечного повреждения, что привело к большей длительности нахождения пациента в реанимации и стационарного лечения. Вероятнее всего, это объясняется нарушением белково-синтетической и метаболической функции печени, что приводит к развитию гипопротеинемии, коагулопатии и замедлению метаболизма лекарственных препаратов, главным образом, такролимуса. Повышение его концентрации в крови зачастую

приводит к острой нефротоксичности, что вкупе с развитием асцитического синдрома может явиться причиной развития почечной недостаточности. Аналогично и заживление тканей, замедляющееся при развитии гипоальбуминемии и гипериммуносупрессии, приводит к повышенному риску неспецифических хирургических осложнений со стороны операционной раны у пациентов с РДТП.

Ретроспективный анализ продемонстрировал, что ранняя дисфункция трансплантата печени в действительности имеет многофакторную природу. Изначально тяжелое состояние реципиента, определяемое баллом шкалы MELD, и использование доноров с расширенными критериями, в частности доноров старшего возраста и при наличии макровезикулярного стеатоза более 40%, по нашему мнению, являются основными факторами риска развития данного осложнения. Оба фактора являются немодифицируемыми, однако минимизировать риск развития РДТП и других неблагоприятных событий после ОТП возможно путем снижения тяжести ишемически-реперфузионного повреждения трансплантата. Для достижения этой цели в ГКБ им. С.П. Боткина была разработана технология гипотермической оксигенированной перфузионной консервации печени.

ПРОТОКОЛ ПРИМЕНЕНИЯ МАШИННОЙ ОКСИГЕНИРОВАННОЙ ХОЛОДОВОЙ ПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНОЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

Машинная оксигенированная холоддовая перфузия трансплантата печени производилась в условиях операционного центра трансплантации (по принципу back-to-base) на этапе back-table. Для перфузии органа использовался аппарат искусственного кровообращения (АИК). В стерильных условиях вскрывался набор магистралей и оксигенатор. Стерильные концы портальной и артериальной магистралей фиксировались к столику с помощью зажимов, а концы венозных магистралей погружались и фиксировались ко дну емкости, куда заливался консервирующий раствор. Так посредством двух

роликовых насосов, двух стерильных перфузионных контуров и одного оксигенатора заблаговременно собиралась замкнутая система, по которой впоследствии осуществлялась циркуляция и оксигенация раствора. К портальному контуру присоединялся оксигенатор, который погружался в емкость со льдом во избежание нагревания перфузата. В наиболее дистальной части в непосредственной близости к портальной и артериальной канюлям к обоим контурам присоединялись датчики давления. Включались насосы, контуры заполнялись раствором, проверялась герметичность системы, работа датчиков давления. После вытеснения воздуха и проверки системы устанавливалась минимальная скорость вращения насоса (до 50 мл/мин). Включалась подача кислорода к оксигенатору со скоростью 5 л/мин.

После доставки органа в операционную хирург в асептических условиях извлекал его из транспортного контейнера в емкость с охлажденным до 10 °С консервирующим раствором Бретшнайдера (НТК «Кустодиол») объемом 3–4 литра, последовательно производил канюляцию воротной вены и артерии трансплантата. Забор перфузионного раствора осуществлялся с помощью двух канюлей, закрепленных на дне емкости (рис. 1).



Рисунок 1 – Интраоперационное фото: канюляция артерии и воротной вены трансплантата печени перед началом гипотермической оксигенированной перфузии

Схематическое устройство системы для проведения гипотермической оксигенированной перфузии печени представлено на рисунке 2.

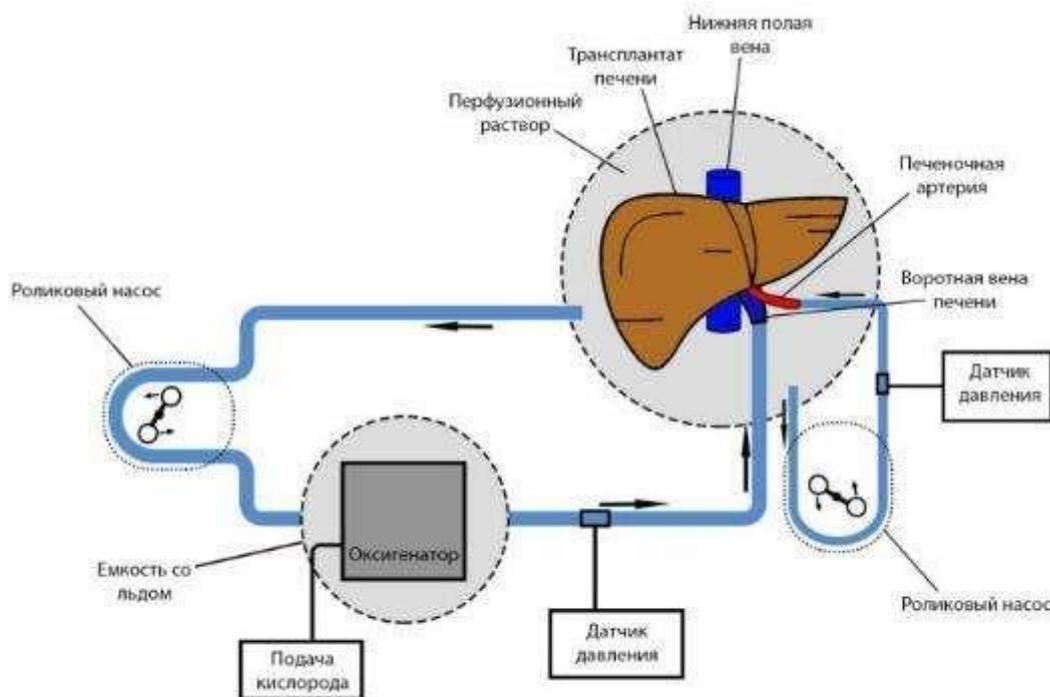


Рисунок 2 – Схема проведения гипотермической оксигенированной перфузии трансплантата печени

Температура перфузата поддерживалась в пределах 10°C в течение всей процедуры. Объемную скорость потока, определяемую работой роликового насоса, осуществляющего перфузию портальной системы печени, подбирал оператор с поддержанием перфузионного давления 5 мм рт. ст. Объемную скорость роликового насоса, потока, определяемую работой роликового насоса, осуществляющего перфузию артериальной системы, также устанавливал оператор с поддержанием целевого перфузионного давления 25 мм рт. ст. Каждые 30 минут осуществлялся контроль лабораторных показателей перфузии: КЩС с определением парциального давления кислорода, уровней лактата, ЛДГ, АСТ, АЛТ, общего билирубина. Целевое PaO_2 перфузионного раствора поддерживалось на уровне 400–600 мм рт. ст.

Обработка трансплантата осуществлялась параллельно гипотермической перфузии и выполнялась по стандартному протоколу. По

завершении этапа гепатэктомии машинная перфузия останавливалась, производилась деканюляция артерии и воротной вены, трансплантат погружался в рану.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МАШИННОЙ ОКСИГЕНИРОВАННОЙ ХОЛОДОВОЙ ПЕРФУЗИИ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

На этапе разработки и внедрения технологии машинной оксигенированной холодной перфузии печени *ex situ* мы выполнили морфологическое исследование, направленное на изучение морфологических изменений, возникающих в клетках трансплантата в ходе холодной консервации. По опыту предыдущих исследований нашего центра, для выполнения данной задачи возможностей световой микроскопии недостаточно. Наиболее точное определение клеточных изменений на ультраструктурном уровне в условиях ишемии позволяет осуществить электронное микроскопическое исследование.

После доставки трансплантата в операционную, непосредственно перед началом машинной перфузии из края печени иссекался и фиксировался первый образец (1.1). С целью сравнения морфологических изменений при статической холодной консервации и гипотермической оксигенированной перфузии на этом же этапе из печени иссекался фрагмент 2х2 см и отдельно погружался в охлажденный неоксигенированный консервирующий раствор. Инициировалась гипотермическая оксигенированная перфузия печени. По ее завершении как из целой печени, которая подверглась перфузионной консервации, так и из заранее вырезанного фрагмента, который находился в условиях статического холодого хранения, иссекались и фиксировались образцы (1.2 и 1.3) и вместе с образцом 1.1 направлялись на электронную микроскопию. Последовательность взятия образцов для выполнения электронной микроскопии трансплантата печени представлена на рисунке 3.



Рисунок 3 – Протокол взятия образцов для выполнения электронной микроскопии трансплантата печени

Результаты морфологического исследования ишемического повреждения трансплантатов печени после статической и перфузионной консервации представлены далее, на рисунках 4–9.

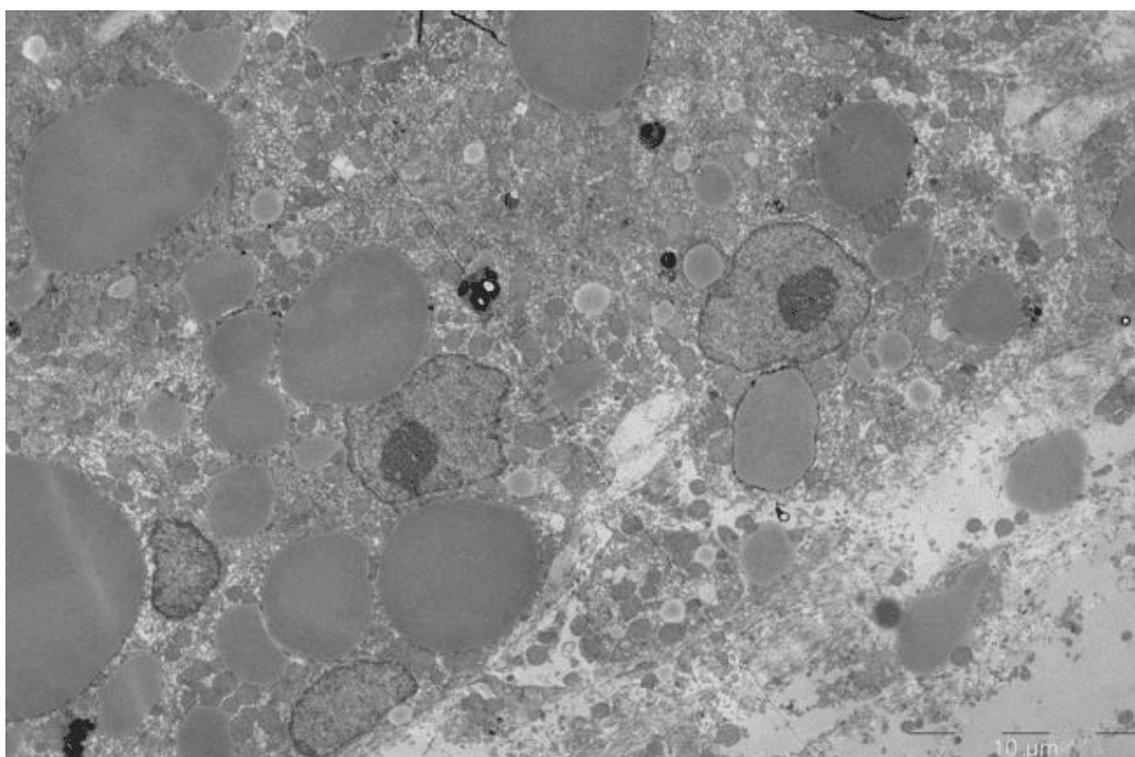


Рисунок 4 – Образец 1.1. Печеночный трансплантат в начале консервации. Общий вид печеночной балки. Обращает внимание наличие множества жировых капель, размеры которых превышают размер ядра

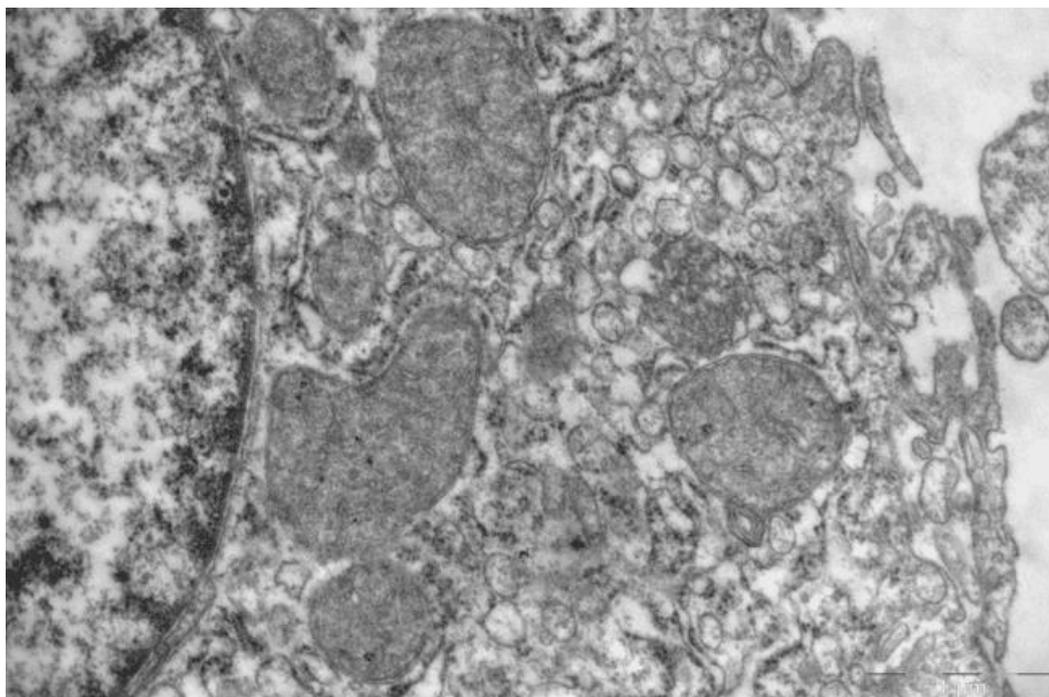


Рисунок 5 – Образец 1.1. Печеночный трансплантат в начале консервации. Фрагмент гепатоцита. Хроматин в ядре имеет типичную организацию. Цитоплазма заполнена везикулами и митохондриями. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума не расширены. Матрикс митохондрий электронно плотный, кристы немногочисленные

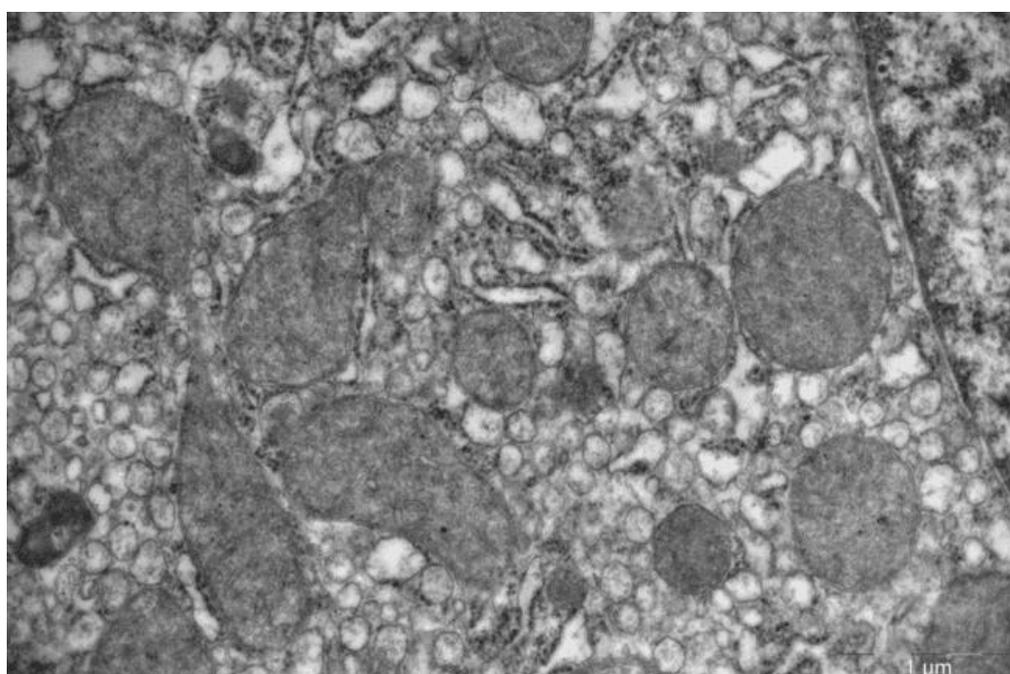


Рисунок 6 – Образец 1.1. Печеночный трансплантат в начале консервации. Фрагмент гепатоцита. Мембраны митохондрий сохранены, матрикс электронно плотный, кристы немногочисленные

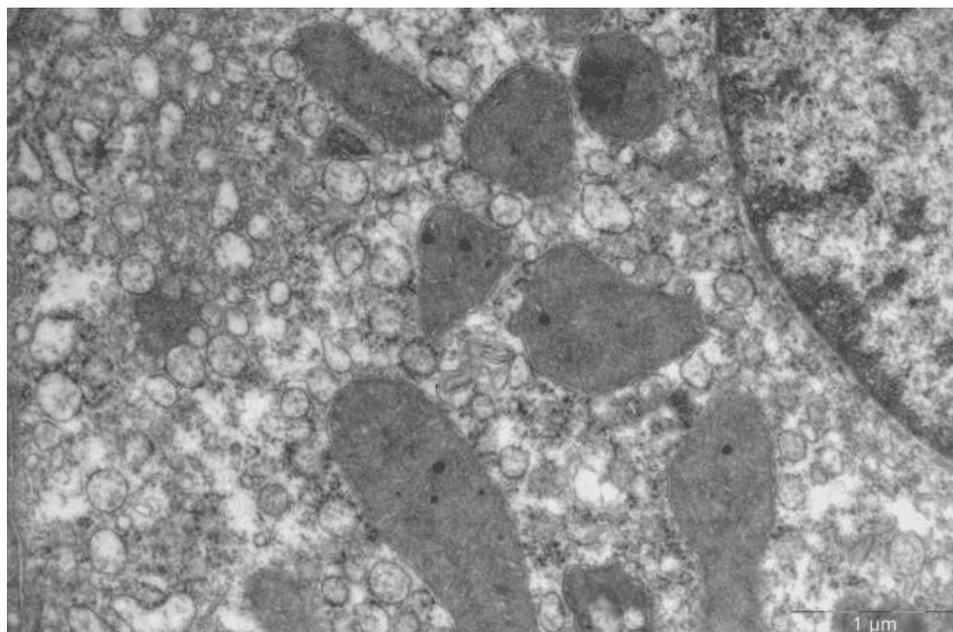


Рисунок 7 – Образец 1.2. Печень после гипотермической оксигенированной перфузии *ex situ*. Фрагмент гепатоцита. После перфузии ультраструктура практически не изменена по сравнению с исходным образцом 1.1. Отмечается небольшое просветление цитозоля и набухание цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума

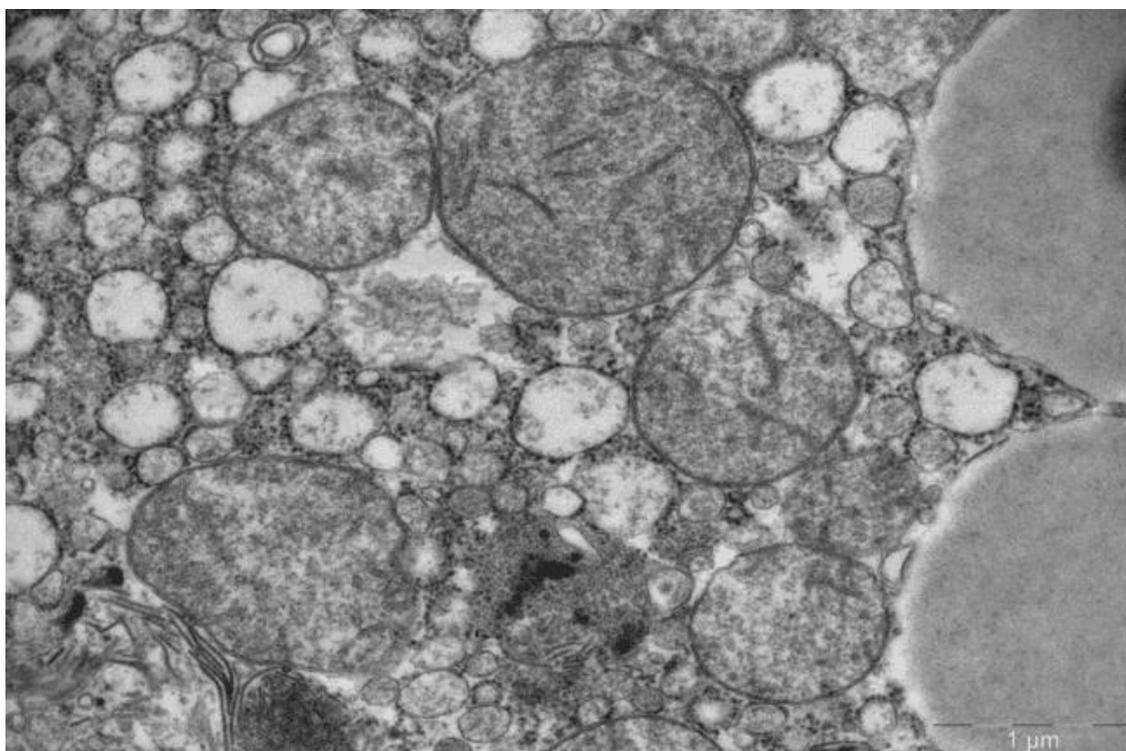


Рисунок 8 – Образец 1.2. Печень после гипотермической оксигенированной перфузии *ex situ*. Фрагмент гепатоцита. Мембраны митохондрий сохранены, матрикс просветлен, кристы немногочисленные

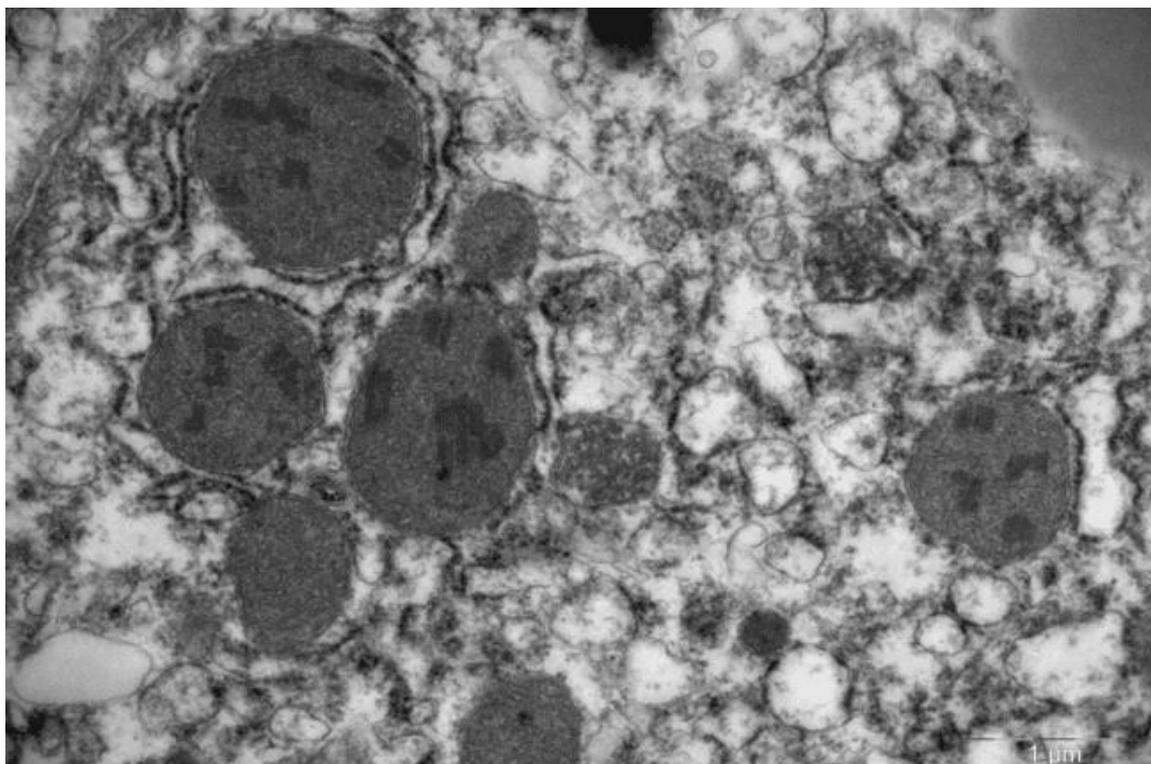


Рисунок 9 – Образец 1.3. Печень после статической холодной консервации. Фрагмент гепатоцита. На обеих иллюстрациях отмечаются выраженные ультраструктурные изменения. Морфологически измененные митохондрии в клетках гепатоцитов после стандартной консервации, внутри которых выявляются стопки мембран, не похожие на кристы этого типа митохондрий. Ядро выглядит просветленным, везикулы набухшими

Таким образом, проведение гипотермической оксигенированной перфузии трансплантата печени позволяло лучше сохранить морфологию гепатоцитов. Ультраструктура клеток несколько менялась: отмечалось просветление цитозоля, набухание цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, однако данные изменения были незначительны и обратимы. Ультраструктура митохондрий практически не отличалась от таковой в исходных образцах. В случае статической консервации в большей части клеток происходила существенная реорганизация структуры митохондрий, в них появлялись стопки мембран, что соответствовало выраженному ишемическому повреждению. Данные изменения нельзя назвать полностью необратимыми, однако следует отметить более выраженное повреждение клеток, что может потребовать большего времени на восстановление структуры и функции.

НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МАШИНОЙ ОКСИГЕНИРОВАННОЙ ХОЛОДОВОЙ ПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНОЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

Для оценки клинической эффективности разработанной технологии мы провели сравнительное исследование, в которое включены результаты трансплантации печени от доноров с расширенными критериями с применением статической холодной консервации и машинной оксигенированной холодной перфузии трансплантата печени.

При сравнении исходных характеристик реципиентов не было получено статистически значимых различий по возрастно-половому составу, антропометрическим данным и тяжести состояния, оцениваемого индексом MELD ($p > 0,05$). Также не было получено статистически значимых различий по основным характеристикам доноров ($p > 0,05$).

Общее время холодной консервации не различалось между подгруппами ($p = 0,64$), однако в подгруппе II.I время статического холодного хранения было статистически значимо ниже ($p < 0,001$). Длительность

оперативного вмешательства в подгруппе II.I была также ниже, чем в контрольной: 6,8 (IQR: 5,5–7,5) часов против 7,2 (IQR: 4,8–8,3), однако лишь с тенденцией к статистической значимости ($p=0,064$). При этом не было зафиксировано статистически значимых различий по времени вторичной тепловой и билиарной ишемии, объему кровопотери и гемотрансфузии ($p>0,05$).

Время пребывания реципиента в ОРИТ в подгруппе использования перфузионной консервации печени составило 3 (IQR: 2–4) суток, что было статистически значимо ниже, чем при статической холодной консервации: 5 (IQR: 3–9) суток ($p=0,036$). Общая длительность стационарного лечения так же была статистически значимо ниже в подгруппе II.I: 16 (IQR: 14–26) суток против 21 (IQR: 17–35) ($p=0,012$). При использовании статической консервации риск развития ранней дисфункции трансплантата составил 61,8%, что было статистически значимо выше, чем в подгруппе использования гипотермической оксигенированной перфузии – 28,3% ($p=0,004$). Шансы развития РДТП при статической консервации повышались в 4 (95% ДИ: 1,6–9,9) раз. Риск развития нарушения почечной функции в подгруппе I.I был статистически значимо выше: 38,2% против 13,2% ($p=0,009$), как и риск развития неспецифических хирургических осложнений: 32,4% против 9,4% ($p=0,01$). Сравнительный анализ применения различных методов консервации представлен в таблице 4.

**Сравнительный анализ применения различных методов консервации
печеночного трансплантата**

Показатель	Подгруппа I.I (SCS) n = 34	Подгруппа II.I (HOPE) n = 53	Уровень значимости (p-value)
<i>Характеристики реципиентов</i>			
Возраст реципиента, лет	49 (IQR: 26–54)	51 (IQR: 34–57)	0,431
Мужской пол реципиента, n (%)	21 (61,7%)	29 (54,7%)	0,516
ИМТ реципиента, кг/м ²	24 (IQR: 21,0– 32,0)	25 (IQR: 22,0– 31,5)	0,32
MELD	16 (IQR: 14–19)	15 (IQR: 13–19)	0,63
<i>Характеристики доноров</i>			
Возраст донора, лет	54 (IQR: 31–66)	57 (IQR: 28–67)	0,45
Время нахождения донора в ОРИТ, часов	78 (IQR: 25,0– 137,0)	82 (IQR: 36,0– 126,0)	0,13
ИМТ донора, кг/м ²	29 (IQR: 24,0– 35,0)	28 (IQR: 25,0– 32,0)	0,254
Доза норадреналина > 1000 нг/мл либо 2 вазопрессора, n (%)	13 (34,7%)	16 (30,2%)	0,489
Na, ммоль/л	148 (IQR: 134– 155)	151 (IQR: 136– 158)	0,12
АСТ, ЕД/л	44,0 (IQR: 24,0– 79,0)	48,0 (IQR: 23,0– 78,0)	0,092
АЛТ, ЕД/л	59,0 (IQR: 26,0– 142)	52,0 (IQR: 23,0– 81,5)	0,063

Макростеатоз > 40%	24 (70,6%)	35 (66,0%)	
<i>Периоперационные параметры</i>			
Время холодовой ишемии, часов	5,2 (IQR: 4,4–8,0)	5,5 (IQR: 4,0–7,5)	0,64
Время статической холодовой консервации, часов	7,2 (IQR: 4,8–8,3)	2,25 (IQR: 1,5–3,5)	<0,001
Длительность операции, мин	6,8 (IQR: 5,5–7,5)	7,2 (IQR: 4,8–8,3)	0,064
Вторичная тепловая ишемия, мин	40 (IQR: 30–45)	35 (IQR: 35–45)	0,28
Билиарная ишемия, мин	40 (IQR: 35–45)	40 (IQR: 35–50)	0,93
Кровопотеря, мл	1400 (IQR: 1100–2500)	1200 (IQR: 1000–2500)	0,18
Реинфузия, мл	300 (IQR: 100–450)	250 (IQR: 50–400)	0,42
Трансфузия СЗП, доз	6 (IQR: 3–8)	5 (IQR: 2–8)	0,72
Трансфузия Эр. взвеси, доз	1 (IQR: 0–3)	1 (IQR: 0–2)	0,856
<i>Непосредственные результаты ТП</i>			
Длительность нахождения в ОРИТ, сут	5 (IQR: 3–9)	3 (IQR: 2–4)	0,036
Длительность госпитализации, сут.	21 (IQR: 17–35)	16 (IQR: 14–26)	0,012
РДТП, n (%)	21 (61,8%)	15 (28,3%)	0,004

Снижение СКФ II стадии и выше, n (%)	13 (38,2%)	7 (13,2%)	0,009
Неспецифические хирургические осложнения, n (%)	11 (32,3%)	5 (9,4%)	0,01
Артериальный тромбоз, n (%)	3 (8,9%)	1 (1,9%)	0,295
CCI	27,6 (IQR: 0–100)	0 (IQR: 0–22,6)	<0,001
Ретрансплантация, n (%)	1 (2,9%)	0	0,391
Летальность, n (%)	2 (5,9%)	0	0,15

Таким образом, гипотермическая оксигенированная перфузия *ex situ* является безопасным и эффективным методом консервации трансплантата печени. Ее применение при трансплантации печени от субоптимального донора позволяет снизить тяжесть повреждения органа в ходе консервации, тем самым статистически значимо уменьшить бремя ранней дисфункции трансплантата и качественно улучшить результаты лечения реципиентов печени в раннем послеоперационном периоде.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трансплантация печени является единственным методом радикального лечения заболеваний печени в терминальной стадии. Однако прогрессирующий дефицит донорских органов неизбежно приводит к снижению доступности трансплантационной помощи, что диктует необходимость расширения донорского ресурса. Одной из возможных стратегий является использование трансплантатов печени, полученных от субоптимальных доноров. Эти трансплантаты подвержены более выраженному ишемически-реперфузионному повреждению, что зачастую имеет неблагоприятные последствия. В частности, развитие ранней

дисфункции трансплантата печени является прямым следствием его выраженного повреждения в процессе консервации и при реперфузии. РДТП в большинстве случаев является обратимой, однако ее развитие имеет статистически значимую связь с повышением риска ранних послеоперационных хирургических осложнений ($p=0,036$), почечного повреждения ($p<0,001$), увеличением потребности в повторных вмешательствах ($p=0,032$) и длительности госпитализации ($p=0,002$). Нельзя не отметить, что в ряде случаев повреждение трансплантата бывает фатальным, что приводит к развитию первичного нефункционирования и смерти реципиента. В этой связи разработка методов профилактики ранней дисфункции трансплантата печени является важной задачей современной трансплантологии.

Для достижения этой цели нами была разработана технология гипотермической оксигенированной перфузии печени с использованием аппарата искусственного кровообращения. Разработанная методика позволяет поддерживать митохондрии в функционирующем состоянии и возобновляет аэробный метаболизм в гепатоцитах. Меньшая степень повреждения клеток на ультраструктурном уровне при проведении гипотермической оксигенированной перфузии была подтверждена результатами электронного микроскопического исследования. Таким образом, данная методика является своего рода «подготовкой» трансплантата к реперфузии: восстановление аэробного метаболизма в гипотермических условиях приводит к большей устойчивости клеток печени к повреждению после включения органа в кровотоки.

Безопасность и эффективность разработанной технологии была оценена нами в сравнительном исследовании. Применение машинной оксигенированной холодной перфузии привело к статистически значимому двухкратному снижению частоты развития ранней дисфункции трансплантата ($p=0,004$). Риск развития почечной недостаточности и неспецифических

хирургических осложнений был также ниже в группе использования перфузионной консервации ($p=0,009$ и $p=0,01$). Аналогично, время нахождения реципиента в реанимации и общая длительность стационарного лечения были меньше в основной группе ($p=0,036$ и $p=0,012$).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Eurotransplant Statistics Report Library (<https://statistics.eurotransplant.org>)
2. Мойсюк Я.Г., Попцов В.Н., Сушков А.И., Мойсюк Л.Я., Малиновская Ю.О., Бельских Л.В. Ранняя дисфункция трансплантата печени: факторы риска, клиническое течение и исходы. Трансплантология. 2016;(2):16-28.
3. Olthoff K. M. et al. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors //Liver Transplantation. – 2010. – Т. 16. – №. 8. – С. 943-949.
4. Lee, D. D., Croome, K. P., Shalev, J. A., Musto, K. R., Sharma, M., Keaveny, A. P., & Taner, C. B. (2016). Early allograft dysfunction after liver transplantation: an intermediate outcome measure for targeted improvements. *Annals of Hepatology*, 15(1), 53–60. doi:10.5604/16652681.1184212
5. Hartog H, Hann A, Perera MTPR. Primary Nonfunction of the Liver Allograft. *Transplantation*. 2022 Jan 1;106(1):117-128. doi: 10.1097/TP.0000000000003682. PMID: 33982912.
6. Влияние гипотермической оксигенированной перфузии на степень ишемического повреждения трансплантатов печени. Федорук Д.А., Кирковский Л.В., Садовский Д.Н., Петренко К.И., Лебедь О.А., Федорук А.М., Руммо О.О. *Военная медицина*. 2020. № 2 (55). С. 68-75.
7. Czigany Z, Pratschke J, Froněk J, Guba M, Schöning W, Raptis DA, Andrassy J, Kramer M, Strnad P, Tolba RH, Liu W, Keller T, Miller H, Pavicevic S, Uluk D, Kocik M, Lurje I, Trautwein C, Mehrabi A, Popescu I, Vondran FWR, Ju C, Tacke F, Neumann UP, Lurje G. Hypothermic Oxygenated Machine Perfusion Reduces Early Allograft Injury and Improves Post-transplant Outcomes in Extended Criteria Donation Liver Transplantation From Donation After Brain Death: Results From a Multicenter Randomized Controlled Trial (HOPE ECD-

- DBD). *Ann Surg.* 2021 Nov 1;274(5):705-712. doi: 10.1097/SLA.0000000000005110. PMID: 34334635.
8. Mugaanyi J, Dai L, Lu C, Mao S, Huang J, Lu C. A Meta-Analysis and Systematic Review of Normothermic and Hypothermic Machine Perfusion in Liver Transplantation. *J Clin Med.* 2022 Dec 28;12(1):235. doi: 10.3390/jcm12010235. PMID: 36615037; PMCID: PMC9820958.