

DOI: 10.15825/1995-1191-2020-2-97-106

ОЦЕНКА И МОНИТОРИНГ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ И НАЧАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ПЕРЕСАЖЕННОЙ ПЕЧЕНИ С ПОМОЩЬЮ ВНУТРИТКАНЕВОГО МИКРОДИАЛИЗА

А.И. Сушков, В.С. Рудаков, К.К. Губарев, Д.С. Светлакова, А.И. Артемьев, С.Э. Восканян

ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, Российская Федерация

Оценка жизнеспособности трансплантата и мониторинг функции пересаженной печени в раннем послеоперационном периоде являются актуальными клиническими задачами. Одно из возможных решений – определение с помощью технологии внутритканевого микродиализа динамики концентраций глюкозы, ее метаболитов и глицерола в трансплантате. **Цель:** изучить динамику внутритканевых показателей глюкозы, лактата, пирувата и глицерола в ранние сроки после пересадки печени в зависимости от начальной функции трансплантата печени и сопоставить с результатами стандартных лабораторных методов диагностики. **Материалы и методы:** представлены четыре избранных клинических наблюдения трансплантации печени от посмертного донора: 2 наблюдения – нормальная начальная функция трансплантата, 1 – ранняя дисфункция, осложнившаяся тромбозом печеночной артерии, 1 – первично не функционирующий трансплантат. Сбор микродиализных проб начинали после артериальной реперфузии трансплантата и продолжали непрерывно в течение 7 суток или до наступления летального исхода. Не реже одного раза в сутки определяли стандартные показатели биохимического анализа крови и коагулограммы. **Результаты:** при нормальной начальной функции трансплантата и гладком течении послеоперационного периода внутритканевые концентрации глюкозы, лактата, пирувата и глицерола оставались стабильными в течение всего периода наблюдения и находились в пределах 5–20 ммоль/л, 1,1–7,5 ммоль/л, 90–380 мкмоль/л, 10–100 мкмоль/л соответственно. Ранняя дисфункция трансплантата характеризовалась исходно более высокими уровнями глюкозы, лактата и пирувата. При развитии тромбоза печеночной артерии регистрировали быстрый (в течение 2–4 часов) пятикратный рост внутритканевой концентрации лактата с одновременным снижением концентрации глюкозы до 0,1 ммоль/л и пирувата до 11 мкмоль/л. При первичном отсутствии функции трансплантата наблюдали исходно высокую концентрацию внутритканевого лактата – 16,4 ммоль/л и ее дальнейший рост до 35,5 ммоль/л, концентрация глюкозы была близка к 0. Изменения уровня внутритканевых показателей метаболизма глюкозы и концентрации глицерола хронологически опережали соответствующие клинической ситуации изменения состава периферической крови на 3–5 часов. **Заключение:** измерение внутритканевых концентраций глюкозы, лактата, пирувата и глицерола методом микродиализа позволяет в режиме реального времени осуществлять мониторинг жизнеспособности и функции трансплантата печени. Высокая чувствительность метода позволяет ускорить диагностику сосудистых осложнений (в частности, тромбоза печеночной артерии), а также дисфункцию трансплантата другой этиологии, что свидетельствует о целесообразности его применения в клинической практике.

Ключевые слова: микродиализ, трансплантация печени, ранняя дисфункция трансплантата, тромбоз печеночной артерии, первично не функционирующий трансплантат.

Для корреспонденции: Сушков Александр Игоревич. Адрес: 123098, Москва, ул. Маршала Новикова, д. 23. Тел. (916) 177-89-24. E-mail: sushkov.transpl@gmail.com

Corresponding author: Alexander Sushkov. Address: 23, Marshala Novikova str., Moscow, 123098, Russian Federation. Tel. (916) 177-89-24. E-mail: sushkov.transpl@gmail.com

ASSESSMENT AND MONITORING OF LIVER GRAFT VIABILITY AND INITIAL FUNCTION USING INTERSTITIAL MICRODIALYSIS

A.I. Sushkov, V.S. Rudakov, K.K. Gubarev, D.S. Svetlakova, A.I. Artemiev, S.E. Voskanyan
Burnazyan Federal Medical and Biophysical Center, Moscow, Russian Federation

Assessing the viability and monitoring the function of liver graft in the early postoperative period are critical clinical tasks. One possible solution is to determine the changes in concentration of blood glucose, its metabolites and glycerol in the graft using interstitial microdialysis. **Objective:** to study the dynamics of interstitial glucose, lactate, pyruvate and glycerol in the early post-liver transplant period – depending on the initial graft function (IGF) – and to compare with the results of standard laboratory blood tests. **Materials and methods.** Four selected clinical observations of deceased donor liver transplantation are presented. Two of the observations showed normal IGF, one observation – early allograft dysfunction (EAD), complicated by hepatic artery thrombosis (HAT), while one observation demonstrated primary non-function (PNF). Collection of microdialysis samples began after arterial reperfusion of the liver graft and continued continuously for 7 days or until death. Standard blood biochemistry and coagulation tests were performed at least once a day. **Results.** With normal IGF and a smooth postoperative period, interstitial concentrations of glucose, lactate, pyruvate and glycerol remained stable throughout the observation period, ranging from 5 to 20 mmol/L, 1.1 to 7.5 mmol/L, 90 to 380 μ mol/L, and 10–100 μ mol/L, respectively. EAD was associated with initially higher levels of glucose, lactate, and pyruvate. With HAT development, there was a rapid (within 2–4 hours) five-fold increase in interstitial concentration of lactate with simultaneous decrease in glucose and pyruvate levels to 0.1 mmol/L and 11 μ mol/L, respectively. In the case of PNF, there was an initially high concentration of interstitial lactate – 16.4 mmol/L, which increased further to 35.5 mmol/L. Glucose concentration was close to 0. Changes in interstitial glucose, its metabolites and glycerol concentrations chronologically preceded the corresponding changes in peripheral blood composition by 3–5 hours. **Conclusion.** Microdialysis measurement of interstitial glucose, lactate, pyruvate and glycerol concentrations facilitates real-time monitoring of liver graft viability and function. The high sensitivity of the method could help in accelerating diagnosis of vascular complications (HAT in particular), as well as graft dysfunction with other causes. Therefore, the method is feasible in clinical practice.

Keywords: microdialysis, liver transplantation, early allograft dysfunction, hepatic artery thrombosis, primary graft non-function.

ВВЕДЕНИЕ

Оценка начальной функции пересаженной печени – исключительно важная клиническая задача, особенно при трансплантации органа от донора с расширенными критериями. Ключевыми моментами являются максимально раннее и объективное определение степени ишемически-реперфузионного повреждения и обратимости дисфункции. Не вызывает сомнений, что начальная функция трансплантата зависит не только от параметров донора, но и от тяжести состояния реципиента, особенностей и сложности оперативного вмешательства и анестезиологического пособия.

Традиционно функцию трансплантата оценивают, определяя ряд лабораторных показателей в периферической крови (аспартат- и/или аланинаминотрансферазы (АСТ, АЛТ), билирубин, протромбиновое время, протромбиновый индекс, международное нормализованное отношение – МНО), в ряде случаев учитывая клинические признаки: выраженность энцефалопатии, темп продукции желчи, потребность в инфузии свежемороженой плазмы (СЗП). При этом требуется динамическое наблюдение и сбор лабораторных проб в течение 2–7 суток после опе-

рации [1]. Следует подчеркнуть, что относительно низкие показатели чувствительности и специфичности отдельно взятых признаков дисфункции требуют их совокупного анализа, а иногда разнонаправленные тенденции в изменении набора лабораторных показателей и возможное несоответствие клинической картине приводят к необходимости продления периода наблюдения, что откладывает постановку диагноза. Необходимо учитывать, что изменения состава периферической крови, отражающие функцию пересаженной печени, происходят с определенной временной задержкой, а применение методов заместительной почечной терапии, альбуминового диализа, СЗП и концентрата факторов свертывания у пациентов с тяжелой дисфункцией трансплантата и коагулопатией могут создавать ложное впечатление о восстановлении функции печени.

На сегодняшний день разработано и апробировано в клинике несколько методов прямой оценки функции печени, в том числе и при ее трансплантации: определение максимальной функциональной емкости по клиренсу C^{13} -метацетина (LiMAx test) [2, 3], измерение функции и перфузии печени по клиренсу индоцианина зеленого (LIMON test) [4, 5],

внутриклеточный микродиализ [6]. Первые два метода основаны на неинвазивном измерении концентрации веществ, специфично метаболизируемых (C^{13} -метацин) или секретируемых (индоцианин зеленый) печени.

Микродиализ является более универсальной технологией, так как позволяет измерять концентрации практически любых веществ в межклеточном пространстве исследуемой ткани, в основе которой лежит явление пассивной диффузии веществ через полупроницаемую мембрану по градиенту концентрации. Для оценки жизнеспособности и функционального состояния печени, как и любой другой ткани организма, в межклеточной жидкости измеряют и соотносят между собой концентрации глюкозы, лактата и пирувата, что позволяет судить о характере (анаэробный или аэробный) и скорости метаболизма глюкозы. Более того, анализ может быть дополнен исследованием уровня глицерола (продукт деградации фосфолипидов клеточной мембраны), который отражает степень цитолиза.

Задача настоящей работы заключается в изучении особенностей метаболизма глюкозы в трансплантате печени в ранние сроки после ее пересадки, определении типичных закономерностей изменения внутриклеточных концентраций глюкозы, лактата, пирувата и глицерола и сопоставлении их с рутинными лабораторными методами диагностики ранней дисфункции или первичного нефункционирования трансплантата печени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

С августа 2017 года в Центре хирургии и трансплантологии ФГБУ «ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна» ФМБА России проводится нерандомизированное, одноцентровое, наблюдательное исследование «Изучение особенностей метаболизма глюкозы в трансплантате печени для ранней диагностики его дисфункции», одобренное Локальным этическим комитетом учреждения и Экспертным советом Российского научного фонда (проект № 17-75-10010). Исследование не предусматривает изменения критериев отбора пациентов на трансплантацию, техники операции, анестезиологического пособия, тактики лечения и наблюдения в послеоперационном периоде, а также выбора лекарственных препаратов и их доз. В исследование включаются мужчины и женщины в возрасте от 18 лет и старше, которым выполнена трансплантация печени и во время операции установлен микродиализный катетер. В исследование не включаются пациенты, оперированные по поводу острой печеночной недостаточности, перенесшие мультивисцеральную трансплантацию и получившие фрагмент печени от живого родственного донора.

В качестве конечных точек установлены следующие события и состояния: 1) ранняя дисфункция трансплантата (РДТ) печени по критериям K. Olthoff et al., 2010 [6]; 2) первично не функционирующий трансплантат (ПНФТ) по критериям UNOS [7]; 3) утрата трансплантата (смерть реципиента или ретрансплантация); 4) смерть реципиента. Тяжесть состояния пациентов до трансплантации оценивали, используя известные и общеупотребляемые шкалы MELD, MELD-Na, Child-Pugh, для доноров рассчитывали показатель Donor Risk Index (DRI)[8].

Продолжительность исследования составляет 7 суток (160–175 часов) после завершения операции трансплантации печени, в течение этого периода производится непрерывный сбор микродиализных проб межклеточной жидкости трансплантата. Не реже одного раза в сутки исследуется состав периферической крови (кислотно-щелочное состояние, уровень электролитов, биохимический анализ, коагулограмма). Период наблюдения за реципиентами после окончания исследования составляет 6 месяцев.

Получение, сбор и анализ проб межклеточной жидкости

Принцип метода и его использование при трансплантации печени подробно изложены в работах [9–12]. Микродиализный катетер (61 Hepatic Microdialysis Catheter, M Dialysis AB, Швеция) представляет собой полиуретановую трубку диаметром 1 мм, имеющую два концентрически расположенных просвета. Внешняя поверхность терминальной части катетера длиной 3 см выполнена из полупроницаемой мембраны (рис. 1).

Во время трансплантации, перед ушиванием раны катетер устанавливается пункционно в 4-й сегмент печени, фиксируется к серповидной связке и через контрапертуру выводится на переднюю брюшную стенку. Через внутренний просвет катетера с помощью микронасоса (106 MD Pump, M Dialysis AB, Швеция) со скоростью 0,3 мкл/мин подается стандартный изотонический раствор (Perfusion Fluid T1, M Dialysis AB, Швеция). Когда перфузионная жидкость достигает полупроницаемой мембраны, по градиенту концентрации начинается пассивный транспорт веществ из межклеточной жидкости в полость катетера. Полученный раствор непрерывно с той же скоростью отводится по второму просвету катетера и собирается в микропробирку. Смена микропробирок, т. е. получение отдельных проб, осуществляется не реже 1 раза в 3 часа. Определение концентраций глюкозы, лактата, пирувата и глицерола осуществляют с помощью набора стандартных реактивов на анализаторе ISCUS Clinical Microdialysis Analyzer (M Dialysis AB, Швеция) в течение 24 часов с момента получения пробы.

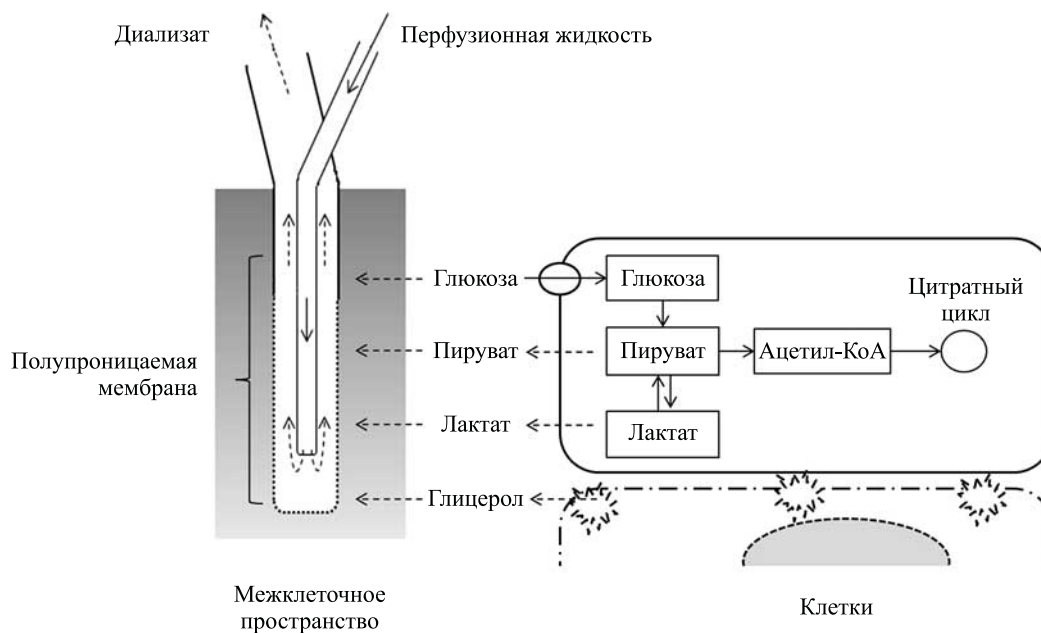


Рис. 1. Устройство и принцип работы микродиализного катетера

Fig. 1. Microdialysis catheter – the circuit and device operation principle

Характеристика клинических наблюдений

Для демонстрации и обсуждения первых результатов исследования, в зависимости от начальной функции пересаженной печени, отобраны 4 клинических наблюдения:

Наблюдение № 1 (нормальная начальная функция трансплантата)

Реципиент – мужчина, 51 год, с диагнозом «цирроз печени в исходе гепатита С, класс В по Child-Pugh». Длительность нахождения в листе ожидания – 4 месяца. Предоперационный лабораторный MELD-На 13 баллов.

Донор – мужчина, 39 лет, DRI – 1,24. Смерть головного мозга в результате черепно-мозговой травмы (ЧМТ). Время нахождения в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) и длительность искусственной вентиляции легких (ИВЛ) до мультиорганного изъятия – 2 суток. Лабораторные данные: АСТ 26 Ед/л, АЛТ 17 Ед/л, общий билирубин 6 мкмоль/л, креатинин 100 мкмоль/л, Na 145 ммоль/л. Гемодинамика стабильная (артериальное давление (АД) 120/70 мм рт. ст.) на фоне инфузии норадреналина со скоростью 700 нг/кг/мин.

Визуальная оценка трансплантата: цвет – обычный, край правой доли закруглен, левой – острый, отека паренхимы нет, консистенция нормальная, качество перфузии – удовлетворительное, стеатоз до 30% (ретроспективно при гистологическом исследовании – 0%).

Длительность холодовой ишемии – 8,5 часа. Продолжительность трансплантации – 7 часов. Бес-

печеночный период – 80 минут, тепловая ишемия – 48 минут, время пережатия НПВ – 50 минут. Объем интраоперационной трансфузии: эритроцитарная масса – 900 мл, СЗП – 3100 мл, реинфузия крови – 543 мл.

Экстубация реципиента в течение первых суток. Лабораторный MELD через 24 ч после трансплантации – 13 баллов. Максимальный уровень АСТ/АЛТ в течение первых 7 дней – 215 Ед/л, общий билирубин на 7-е сутки – 22 мкмоль/л, МНО на 7-е сутки – 1,1. Выписан из клиники через 14 дней после операции.

Наблюдение № 2 (нормальная начальная функция трансплантата)

Реципиент – женщина 64 лет с диагнозом «гепатоцеллюлярная карцинома (размер и количество узлов соответствует трансплантационным критериям UCSF [13]) на фоне цирроза печени в исходе гепатита С, класс С по Child-Pugh». В анамнезе инфаркт миокарда неуточненной давности и острое нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу в бассейне левой средней мозговой артерии в августе 2016 года. Длительность нахождения в листе ожидания – 10 месяцев. Предоперационный лабораторный MELD-На 13 баллов.

Донор – мужчина, 25 лет, DRI – 1,27. Смерть головного мозга в результате ЧМТ. Время нахождения в ОРИТ и длительность ИВЛ до мультиорганного изъятия – 1 сутки. Лабораторные данные: АСТ 46 Ед/л, АЛТ 40 Ед/л, общий билирубин 11 мкмоль/л, креатинин 85 мкмоль/л, Na 148 ммоль/л.

Гемодинамика стабильная (АД 120/80 мм рт. ст.) без инотропной и вазопрессорной поддержки.

Визуальная оценка трансплантата: цвет – обычный, край – острый, отека паренхимы нет, консистенция нормальная, качество перфузии – отличное, стеатоза нет (ретроспективно при гистологическом исследовании – 0%).

Длительность холодовой ишемии – 11 часов. Продолжительность трансплантации – 7,5 часа. Беспеченочный период – 40 минут, тепловая ишемия – 30 минут, время пережатия НПВ – 40 минут. Объем интраоперационной трансфузии: эритроцитарная масса – 570 мл, СЗП – 2300 мл, реинфузия крови – 0 мл.

Экстубация реципиента в течение первых суток. Лабораторный MELD через 24 ч после трансплантации – 10 баллов. Максимальный уровень АСТ/АЛТ в течение первых 7 дней – 544 Ед/л, общий билирубин на 7-е сутки – 10 мкмоль/л, МНО на 7-е сутки – 1,1. Пациентка выписана из клиники через 20 дней после операции.

Наблюдение № 3 (ранняя дисфункция трансплантата, тромбоз печеночной артерии)

Реципиент – мужчина 45 лет с диагнозом «цирроз печени в исходе первичного склерозирующего холангита, класс В по Child-Pugh». Длительность нахождения в листе ожидания – 8 месяцев. Предоперационный лабораторный MELD-На 16 баллов.

Донор – мужчина 42 лет, DRI – 1,41. Смерть головного мозга в результате ЧМТ. Время нахождения в ОРИТ и длительность ИВЛ до мультиорганного изъятия – 2 суток. Лабораторные данные: АСТ 40 Ед/л, АЛТ 35 Ед/л, общий билирубин 8 мкмоль/л, креатинин 70 мкмоль/л, Na 154 ммоль/л. Гемодинамика стабильная (АД 120/80 мм рт. ст.) на фоне инфузии норадреналина со скоростью 200 нг/кг/мин.

Визуальная оценка трансплантата: цвет – обычный, край – острый, отека паренхимы нет, консистенция нормальная, качество перфузии – отличное, стеатоз до 30% (ретроспективно при гистологическом исследовании – 0%).

Длительность холодовой ишемии – 9 часов. Продолжительность трансплантации – 6,5 часа. Беспеченочный период – 50 минут, тепловая ишемия – 40 минут, время пережатия НПВ – 45 минут. Объем интраоперационной трансфузии: эритроцитарная масса – 620 мл, СЗП – 2140 мл, тромбоконтрат – 1 доза, реинфузия крови – 942 мл.

Экстубация реципиента в течение первых суток. Лабораторный MELD через 24 ч после трансплантации – 20 баллов, АСТ – 5254 Ед/л, МНО – 1,58. На 2-й день после операции отмечен рост АСТ до 6461 Ед/л, МНО до 1,99. При контрольном ультразвуковом исследовании печеночная артерия

не лоцируется, заподозрен ее тромбоз, проведена компьютерная томография с внутривенным контрастированием – диагноз «тромбоз печеночной артерии» подтвержден. Выполнена экстренная ангиография, при попытках тромбэкстракции из правой печеночной артерии и зоны анастомоза получены бурые тромботические массы, что, однако, не привело к восстановлению антеградного кровотока. При баллонной ангиопластике получено восстановление кровотока по проксимальным отделам левой и правой печеночных артерий без заполнения дистального русла. Пациент внесен в лист ожидания на urgentную ретрансплантацию печени. В связи с нарастанием энцефалопатии и дыхательной недостаточности выполнена повторная интубация трахеи, возобновлена ИВЛ. Из-за отсутствия подходящего донорского органа, несмотря на проводимую интенсивную терапию, на 5-й послеоперационный день наступил летальный исход.

Наблюдение № 4 (первично не функционирующий трансплантат)

Реципиент – мужчина, 41 год, с диагнозом «цирроз печени в исходе вторичного билиарного цирроза, класс В по Child-Pugh». Длительность нахождения в листе ожидания – 2 месяца. Предоперационный лабораторный MELD-На 17 баллов.

Донор – мужчина, 61 год, DRI – 1,94. Смерть головного мозга в результате острого нарушения мозгового кровообращения. Время нахождения в ОРИТ и длительность ИВЛ до мультиорганного изъятия – 2 суток. Лабораторные данные: АСТ 68 Ед/л, АЛТ 73 Ед/л, общий билирубин 10 мкмоль/л, креатинин 74 мкмоль/л, Na 137 ммоль/л. Гемодинамика стабильная (АД 130/90 мм рт. ст.) на фоне инфузии норадреналина со скоростью 700 нг/кг/мин.

Визуальная оценка трансплантата: цвет – обычный, край – острый, отека паренхимы нет, консистенция нормальная, качество перфузии – отличное, стеатоз до 30% (ретроспективно при гистологическом исследовании – 0%).

Длительность холодовой ишемии – 11 часов. Продолжительность трансплантации – 11 часов. Беспеченочный период – 50 минут, тепловая ишемия – 45 минут, время пережатия НПВ – 50 минут. Объем интраоперационной трансфузии: эритроцитарная масса – 930 мл, СЗП – 1790 мл, реинфузия крови – 2139 мл.

Интраоперационно, после пуска кровотока развилась гипотония, требующая введения нарастающих доз вазопрессорных и инотропных препаратов, лактат-ацидоз (рН 7,19, лактат 18 ммоль/л), массивное коагулопатическое диффузное кровотечение. Гемостаз в течение 4 часов. После завершения операции и перевода в ОРИТ наблюдалось прогрессирование

полиорганной недостаточности, летальный исход наступил на 1-е послеоперационные сутки.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ни в одном из наблюдений, даже при выраженной коагулопатии, постановка и удаление микродиализных катетеров не сопровождалась кровотечением из паренхимы печени и другими осложнениями. Установленный катетер и прикрепленный на переднюю брюшную стенку микронасос не мешали проведению активизации пациентов, не вызывали у них дискомфорт (наблюдения 1 и 2), а также не создавали неудобств при проведении диагностических исследований и уходе за послеоперационной раной.

На рис. 2, а, б, в, представлены данные о динамике внутритканевых концентраций глюкозы и ее метаболитов – лактата и пирувата, а также стандартных лабораторных тестов, используемых для оценки функции трансплантата – уровень аминотрансфераз, общего билирубина и МНО (рис. 2, г, д, е).

При неосложненном течении послеоперационного периода и хорошей начальной функции транс-

плантата (наблюдения 1 и 2) в периферической крови реципиентов в течение первых 24–48 часов наблюдали умеренную гипергликемию (10–15 ммоль/л) и последовательное снижение концентрации лактата до 1,5 ммоль/л и менее к исходу первых суток. На протяжении семи дней измерения концентрации глюкозы и лактата в межклеточной жидкости печени были выше, чем в периферической крови, и лежали в диапазоне от 5 до 20 ммоль/л (в среднем 9,3) и от 1,1 до 7,5 (в среднем 2,4) соответственно. Концентрация внутритканевого пирувата составляла от 90 до 380 мкмоль/л, в среднем 175 мкмоль/л.

В наблюдении 3 диагноз ранней дисфункции трансплантата был установлен через 24 часа после окончания операции на основании повышения уровня АСТ до 5254 Ед/л. При этом в течение первых суток наблюдалось снижение исходно высоких уровней глюкозы (21,3 ммоль/л), лактата (14,7 ммоль/л) и пирувата (582 мкмоль/л) до значений, зарегистрированных в наблюдениях при отсутствии дисфункции. Точное время развития тромбоза печеночной артерии установить затруднительно – диагноз был поставлен

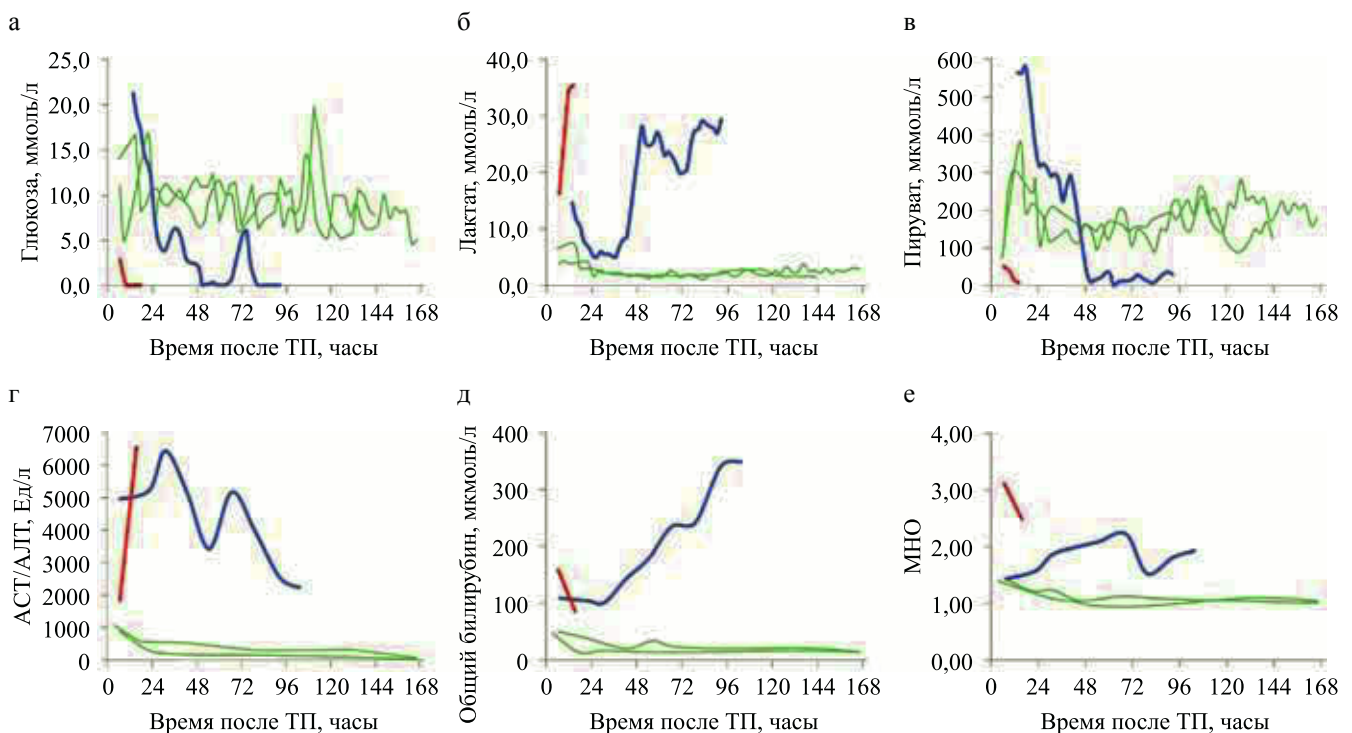


Рис. 2. Динамика параметров метаболизма глюкозы во внутритканевой жидкости трансплантата (а, б, в) и стандартных лабораторных тестов периферической крови (г, д, е) в течение первой недели после операции. Зеленые кривые – нормальная начальная функция трансплантата (наблюдения 1, 2); синие кривые – ранняя дисфункция трансплантата, осложнившаяся тромбозом печеночной артерии на 2-е послеоперационные сутки (наблюдение 3); красные кривые – первично не функционирующий трансплантат (наблюдение 4). АСТ/АЛТ – максимальное значение аспартат- или аланинаминотрансферазы; МНО – международное нормализованное отношение; ТП – трансплантация печени

Fig. 2. First post-transplant week dynamics of interstitial graft glucose metabolism parameters (a, б, в) and standard peripheral blood liver function tests (г, д, е). Green lines – normal initial graft function (Cases 1, 2); blue lines – early graft dysfunction complicated with hepatic artery thrombosis on postoperative day 2 (Case 3); red lines – primary non-functioning graft (Case 4). АСТ/АЛТ – maximum of aspartate- or alanine-aminotransferases; МНО – international normalized ratio; ТП – liver transplantation

по результатам УЗИ и КТ, выполненным через 37 и 38 часов после операции. Снижение внутритканевых концентраций глюкозы и пирувата с одновременным ростом лактата отмечали с 30-го часа, при этом к моменту проведения ангиографии (43 часа) и повторной интубации (48 часов) они составляли 2,2 ммоль/л, 41 мкмоль/л, 23,6 ммоль/л и 0,1 ммоль/л, 11 мкмоль/л, 28,3 ммоль/л соответственно. Еще через сутки (72 часа после трансплантации) отмечено транзиторное повышение внутритканевого уровня глюкозы (от 0,0 до 6,2 ммоль/л) и снижение уровня лактата (с 27,2 до 19,9 ммоль/л). Надежного объяснения этому феномену мы не имеем, однако хронологически это совпало с началом инфузии нордреналина. В дальнейшем, вплоть до наступления летального исхода (96 часов), внутритканевые концентрации глюкозы и пирувата были близки к 0, лактата – к 30 ммоль/л.

В наблюдении 4 после реперфузии трансплантата развились и нарастали рефрактерная к введению высоких доз вазопрессоров гипотония, грубые некорригуемые метаболические расстройства, выраженная коагулопатия, массивное диффузное кровотечение, острое почечное повреждение. Первая микродиализная проба была получена через 6,5 часа после пуска кровотока по печеночной артерии, а последующие 3 собраны с интервалом 2 часа. Результаты анализов демонстрировали отсутствие аэробного метаболизма глюкозы.

Следует подчеркнуть, что внутритканевые уровни глюкозы, лактата и пирувата не являются физиологическими константами и могут взаимосвязанно меняться в относительно широких пределах. Для интерпретации наблюдаемых изменений принято оперировать не абсолютными значениями показателей, а рассчитывать коэффициенты, отражающие

соотношение между концентрациями лактата и пирувата (СЛП = лактат / пируват) и лактата и глюкозы (СЛГ = лактат / глюкоза). Увеличение этих коэффициентов отражает недостаточность процесса аэробного гликолиза вследствие ишемии или дисфункцию митохондрий при нормальной доставке кислорода. Так, при нормальной функции трансплантата СЛП и СЛГ находились в пределах от 10 до 20 и от 0,1 до 0,9 соответственно. При развитии тромбоза печеночной артерии отмечено 10-кратное увеличение СЛП и рост СЛГ в 500 раз. В случае с ПНФТ данные коэффициенты уже при первом измерении превышали «норму» более чем в 10 раз и демонстрировали дальнейший быстрый рост (рис. 3).

Отдельного внимания заслуживает вопрос о соотношении концентраций глюкозы и лактата, определенных одновременно в межклеточной жидкости трансплантата и в периферической крови (рис. 4). При нормальной функции трансплантата (наблюдения 1 и 2 – зеленые маркеры) в большинстве измерений эти значения были близки друг другу, однако иногда отличались на 5–7 ммоль/л (глюкоза) и 2–5 ммоль/л (лактат), чем, очевидно, нельзя пренебречь. При РДТ, осложнившейся тромбозом печеночной артерии (наблюдение 3 – синие маркеры), после прекращения адекватного притока артериальной крови к трансплантату на фоне относительно нормальной концентрации глюкозы в крови (4,5–15,0 ммоль/л) ее внутритканевая концентрация была близка к 0, а внутритканевый уровень лактата, наоборот, был в 5–6 раз выше, чем измеренный в крови. В случае ПНФТ (наблюдение 4 – красные маркеры) также наблюдали существенные различия в концентрациях глюкозы и лактата, измеренных в ткани трансплантата и в крови.

Глицерол, являясь продуктом деградации фосфолипидов клеточных мембран, рассматривается

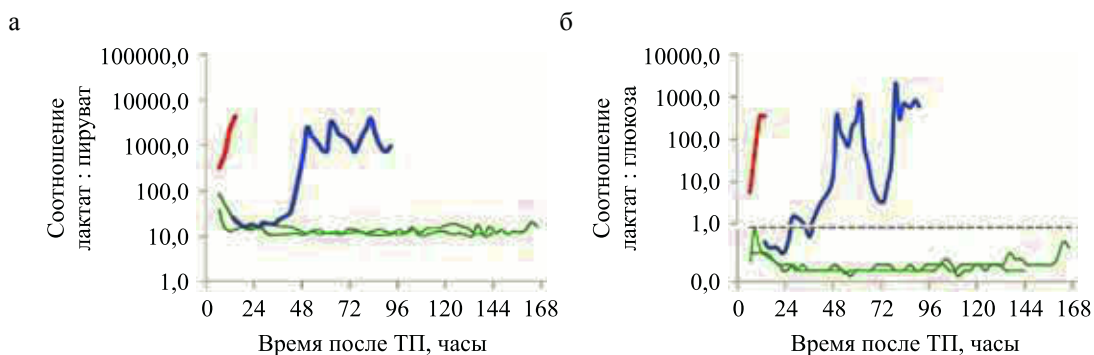


Рис. 3. Динамика соотношений внутритканевых концентраций лактата и пирувата (а), лактата и глюкозы (б) в течение первой недели после операции. Зеленые кривые – нормальная начальная функция трансплантата (наблюдения 1, 2); синие кривые – ранняя дисфункция трансплантата, осложнившаяся тромбозом печеночной артерии на 2-е послеоперационные сутки (наблюдение 3); красные кривые – первично не функционирующий трансплантат (наблюдение 4). ТП – трансплантация печени

Fig. 3. First post-transplant week dynamics of Lactate : Pyruvate Ratio (а) and Lactate : Glucose Ratio (б). Green lines – normal initial graft function (Cases 1, 2); blue lines – early graft dysfunction complicated with hepatic artery thrombosis on postoperative day 2 (Case 3); red lines – primary non-function graft (Case 4). ТП – liver transplantation

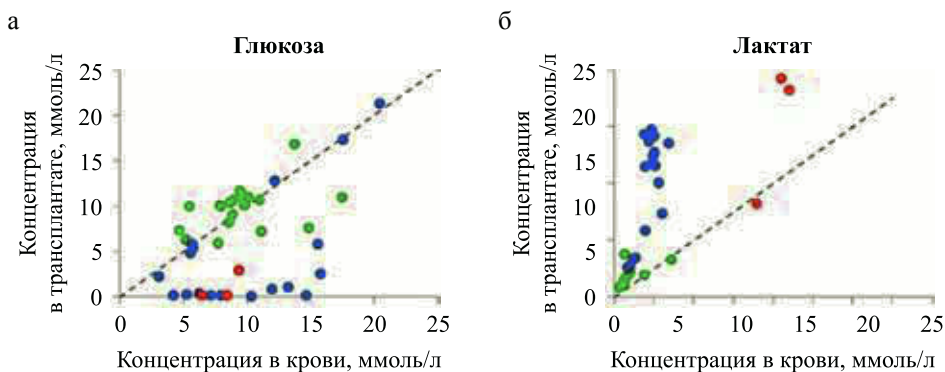


Рис. 4. Соотношения концентраций глюкозы (а) и лактата (б) в периферической крови и внутритканевой жидкости

Fig. 4. Glucose (a) and Lactate (б) concentrations in peripheral blood and graft interstitial fluid

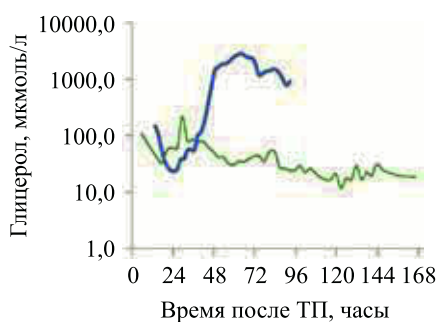


Рис. 5. Динамика концентрации глицерола во внутритканевой жидкости трансплантата в течение первой недели после операции. Зеленая кривая – нормальная начальная функция трансплантата (наблюдение 2); синяя кривая – ранняя дисфункция трансплантата, осложнившаяся тромбозом печеночной артерии на 2-е послеоперационные сутки (наблюдение 3)

Рис. 5. First post-transplant week dynamics of interstitial graft glycerol concentration. Green line – normal initial graft function (Case 2); Blue line – early graft dysfunction complicated with hepatic artery thrombosis on postoperative day 2 (Case 3)

в качестве маркера цитолиза, а его концентрация, измеренная в межклеточной жидкости пересаженного органа – количественной характеристикой этого процесса. На рис. 5 представлена динамика концентрации глицерола при нормальной функции трансплантата (наблюдение 2) и при РДТ с тромбозом печеночной артерии (наблюдение 3).

Разрушение гепатоцитов вследствие тромбоза и ишемии пересаженного органа привело к росту внутритканевой концентрации глицерола более чем в 15 раз. При этом рост уровня АСТ (рис. 1, г, синяя кривая) был более сдержанным – с 5254 до 6461 Ед/л (в 1,2 раза), что говорит о большей чувствительности глицерола как маркера цитолиза. Показатели внутритканевой концентрации глицерола при нормальной функции трансплантата и гладком течении послеоперационного периода, по-видимому, не превышают 100 мкмоль/л.

ОБСУЖДЕНИЕ

Микродиализ – метод изучения состава внутритканевой жидкости, широко используемый как в фундаментальных исследованиях [14], так и в клинической (главным образом, нейрохирургической) практике [15]. Несмотря на наличие результатов экспериментальных и клинических работ, продемонстрировавших возможность применения микродиализа при трансплантации печени [9–12, 16, 17] и почки [18–20], а также сделанные авторами позитивные оценки перспективности дальнейших исследований в этом направлении, следует признать, что место данной технологии в области пересадки органов до сих пор не определено. Можно предположить, что широкому распространению метода препятствуют ограниченная доступность оборудования и расходных материалов, большая по сравнению со стандартными лабораторными тестами стоимость одного анализа, необходимость установки катетера в паренхиму органа (инвазивный метод) и обучения персонала работе с новой аппаратурой, а главное, отсутствие четко сформулированных рекомендаций по корректной интерпретации результатов, их диагностической ценности и связи с исходами операций. Именно поэтому главной целью проводимого исследования стал поиск ответа на вопрос о целесообразности исследования показателей метаболизма глюкозы в трансплантате печени и внедрения технологии микродиализа в реальную клиническую практику.

Два из представленных наблюдений – ранний тромбоз печеночной артерии и ПНФТ являются примером редких (3–8% [21] и 1–9% [1] соответственно), однако типичных осложнений трансплантации печени. В обоих случаях результаты внутритканевого определения показателей метаболизма глюкозы не противоречили данным стандартных лабораторных и инструментальных исследований. При этом в наблюдении 3, с учетом показателей внутритканевого микродиализа, нарушение кровоснабжения трансплантата могло быть заподозрено на 6–7 часов раньше, что

могло бы ускорить диагностический поиск и начало лечебных мероприятий. В наблюдении 4, когда причиной летального исхода стал нефункционирующий трансплантат, скорость нарастания и выраженность метаболических нарушений, коагулопатии и полиорганной недостаточности позволяли установить диагноз ПНФТ еще интраоперационно без каких-либо дополнительных тестов. Однако клиническое течение тяжелой и необратимой дисфункции пересаженной печени не всегда носит столь молниеносный характер, и тогда для принятия решения о ретрансплантации, как о единственном варианте спасения жизни пациента, показатели метаболизма глюкозы в трансплантате могут иметь определяющее значение.

В двух других наблюдениях послеоперационный период протекал гладко, функция обоих трансплантатов была стабильной и нормальной, а уровень внутритканевой глюкозы, ее метаболитов и глицерола лежал в относительно узких пределах, начиная с первых часов после операции и до окончания исследования.

Представленные наблюдения демонстрируют клиническую значимость и целесообразность продленного мониторинга функции пересаженной печени в раннем послеоперационном периоде с помощью внутритканевого микродиализа – высокая чувствительность метода позволяет быстро поставить диагноз дисфункции трансплантата и ускорить проведение диагностических мероприятий, направленных на уточнение ее этиологии, безотлагательно начать лечебные мероприятия. Вопрос о необходимости включения микродиализа в перечень рутинных диагностических исследований при трансплантации печени пока остается открытым. По-видимому, оптимальной стратегией является интраоперационное принятие решения о постановке катетера, когда у оперирующего хирурга имеются обоснованные предположения о возможном развитии дисфункции трансплантата или повышенном риске сосудистых осложнений.

Перспективным направлением клинических исследований мы считаем использование микродиализа не только в послеоперационном периоде, но и в работе донорской службы. При статическом гипотермическом варианте консервации целевыми следует считать стабильные и близкие к нулевым значениям уровни глюкозы, лактата и пирувата, что будет говорить о достижении цели консервации – остановке метаболических процессов в ткани трансплантата. А уровень глицерола и его динамика позволит объективно оценить тяжесть ишемического повреждения, что в совокупности с другими данными позволит обоснованно использовать для пересадки от доноров с расширенными критериями или отказываться от пересадки ввиду высокого риска развития ПНФТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование микродиализа позволяет обеспечить непрерывный мониторинг жизнеспособности и функционального состояния пересаженной печени в ранние сроки после ее трансплантации. Высокая чувствительность метода дает возможность ускорить диагностику сосудистых осложнений (в частности, тромбоза) или дисфункции трансплантата другой этиологии. Уточнение граничных значений внутритканевых концентраций глюкозы, лактата, пирувата и глицерола при различных состояниях и осложнениях, а также применение метода на этапе консервации являются предметом будущих исследований.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-75-10010).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Chen XB, Xu MQ. Primary graft dysfunction after liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2014 Apr; 13 (2): 125–137. Review. PubMed PMID: 24686540.
2. Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Seehofer D, Puhl G, Pratschke J, Neuhaus P. How to define initial poor graft function after liver transplantation? – a new functional definition by the LiMAx test. *Transpl Int.* 2010 Oct; 23 (10): 1023–1032. doi: 10.1111/j.1432-2277.2010.01089.x. PubMed PMID: 20444241.
3. Lock JF, Schwabauer E, Martus P, Videv N, Pratschke J, Malinowski M et al. Early diagnosis of primary nonfunction and indication for reoperation after liver transplantation. *Liver Transpl.* 2010 Feb; 16 (2): 172–180. doi: 10.1002/lt.21973. PubMed PMID: 20104485.
4. Levesque E, Saliba F, Benhamida S, Ichai P, Azoulay D, Adam R et al. Plasma disappearance rate of indocyanine green: a tool to evaluate early graft outcome after liver transplantation. *Liver Transpl.* 2009 Oct; 15 (10): 1358–1364. doi: 10.1002/lt.21805. PubMed PMID: 19790157.
5. De Gasperi A, Mazza E, Prosperi M. Indocyanine green kinetics to assess liver function: Ready for a clinical dynamic assessment in major liver surgery? *World J Hepatol.* 2016 Mar 8; 8 (7): 355–367. doi: 10.4254/wjh.v8.i7.355. Review. PubMed PMID: 26981173; PubMed Central PMCID: PMC4779164.
6. Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, Kaminski M, Abecassis M, Emond J et al. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transpl.* 2010 Aug; 16 (8): 943–949. doi: 10.1002/lt.22091. PubMed PMID: 20677285.
7. United Network For Organ Sharing. United Network for Organ Sharing Liver Disease Severity Score Committee. 2014. www.unos.org.

8. Feng S, Goodrich NP, Bragg-Gresham JL, Dykstra DM, PUNCH JD, DebRoy MA et al. Characteristics associated with liver graft failure: the concept of a donor risk index. *Am J Transplant.* 2006 Apr; 6 (4): 783–790. PubMed PMID: 16539636.
9. Nowak G, Ungerstedt J, Wernerman J, Ungerstedt U, Ericzon BG. Clinical experience in continuous graft monitoring with microdialysis early after liver transplantation. *Br J Surg.* 2002 Sep; 89 (9): 1169–1175. PubMed PMID: 12190684.
10. Silva MA, Murphy N, Richards DA, Wigmore SJ, Bramhall SR, Buckels JA et al. Interstitial lactic acidosis in the graft during organ harvest, cold storage, and reperfusion of human liver allografts predicts subsequent ischemia reperfusion injury. *Transplantation.* 2006 Jul 27; 82 (2): 227–233. PubMed PMID: 16858286.
11. Haugaa H, Thorgersen EB, Pharo A, Boberg KM, Foss A, Line PD et al. Early bedside detection of ischemia and rejection in liver transplants by microdialysis. *Liver Transpl.* 2012 Jul; 18 (7): 839–849. doi: 10.1002/lt.23425. PubMed PMID: 22407878.
12. Haugaa H, Almaas R, Thorgersen EB, Foss A, Line PD, Sanengen T et al. Clinical experience with microdialysis catheters in pediatric liver transplants. *Liver Transpl.* 2013 Mar; 19 (3): 305–314. doi: 10.1002/lt.23578. PubMed PMID: 23193034.
13. Yao FY, Ferrell L, Bass NM, Watson JJ, Bacchetti P, Venook A et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: expansion of the tumor size limits does not adversely impact survival. *Hepatology.* 2001 Jun; 33 (6): 1394–1403. PubMed PMID: 11391528.
14. Hammarlund-Udenaes M. Microdialysis as an Important Technique in Systems Pharmacology – a Historical and Methodological Review. *AAPS J.* 2017 Sep; 19 (5): 1294–1303. doi: 10.1208/s12248-017-0108-2. Epub 2017 Jul 31. Review. PubMed PMID: 28762127.
15. Zeiler FA, Thelin EP, Helmy A, Czosnyka M, Hutchinson PJA, Menon DK. A systematic review of cerebral microdialysis and outcomes in TBI: relationships to patient functional outcome, neurophysiologic measures, and tissue outcome. *Acta Neurochir (Wien).* 2017 Dec; 159 (12): 2245–2273. doi: 10.1007/s00701-017-3338-2.
16. Nowak G, Ungerstedt J, Wernerman J, Ungerstedt U, Ericzon BG. Metabolic changes in the liver graft monitored continuously with microdialysis during liver transplantation in a pig model. *Liver Transpl.* 2002 May; 8 (5): 424–432.
17. Gillispie A, Rooyackers O, Wernerman J, Nowak G. Effect of extended cold ischemia time on glucose metabolism in liver grafts: experimental study in pigs. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2007; 14 (2): 183–188.
18. Keller AK, Jorgensen TM, Ravlo K, Nielsen TK, Olsen LH, Stolle LB. Microdialysis for detection of renal ischemia after experimental renal transplantation. *J Urol.* 2009 Oct; 182 (4 Suppl): 1854–1859. doi: 10.1016/j.juro.2009.03.015
19. Fonouni H, Esmaeilzadeh M, Jarahian P, Rad MT, Goloriz M, Faridar A et al. Early detection of metabolic changes using microdialysis during and after experimental kidney transplantation in a porcine model. *Surg Innov.* 2011 Dec; 18 (4): 321–328. doi: 10.1177/1553350610392063.
20. Хубутя МШ, Журавель СВ, Козлов ИА, Романов АА, Гончарова ИИ. Микродиализ – новый метод мониторинга функции трансплантированной трупной почки. *Анестезиология и реаниматология.* 2015 Jan-Feb; 60 (1): 69–72. *Khubutia MSh, Zhuravel SV, Kozlov IA, Romanov AA, Goncharova II.* Microdialysis – a new method of monitoring of the transplanted cadaveric kidneys function. *Anesteziol Reanimatol.* 2015 Jan-Feb; 60 (1): 69–72. [In Russ].
21. Bekker J, Ploem S, de Jong KP. Early hepatic artery thrombosis after liver transplantation: a systematic review of the incidence, outcome and risk factors. *Am J Transplant.* 2009 Apr; 9 (4): 746–757. doi: 10.1111/j.1600-6143.2008.02541.x. Epub 2009 Mar 2. Review. PubMed PMID: 19298450.

*Статья поступила в редакцию 10.09.2018 г.
The article was submitted to the journal on 10.09.2018*