

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЯМОЙ КОРОНАРНОЙ ПЕРСУФФЛЯЦИИ КАК МЕТОДА КОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ДОНОРСКОГО СЕРДЦА

М.О. Жульков¹, Д.А. Сирота¹, И.С. Зыков¹, А.К. Сабетов¹, Х.А. Агаева¹, А.Г. Макаев¹, Д.М. Осинцев¹, А.П. Надеев², В.Е. Кливер², Е.Э. Кливер¹, А.М. Волков¹, А.Р. Таркова¹, А.В. Фомичев¹, А.М. Чернявский¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, Новосибирск, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Российская Федерация

Цель: оценить техническую возможность выполнения, а также функциональную, метаболического и структурную целостность миокарда донорского сердца после 4 часов прямой внутрикоронарной кислородной персфуляции в эксперименте. **Материалы и методы.** В качестве экспериментальной модели были использованы поросята (mini-pig) сибсы в возрасте 3 месяцев с массой тела 23–36 кг. В контрольной группе (n = 8) фармакохолодовую консервацию донорского сердца выполняли введением в корень аорты 2 литров раствора Bretschneider (Custodiol[®], Германия, НТК). В экспериментальной группе (n = 8) для инициации кардиopleгии использовали модифицированный раствор НТК (с добавлением 40 мг/л гиалуронидазы), затем в восходящий отдел аорты нагнетали увлажненный карбоген (95% O₂, 5% CO₂), поддерживая давление в корне аорты на уровне 40–45 мм рт. ст. Сердца хранили в растворе мНТК при температуре 0–4 °С. По окончании 3 часов консервации донорского сердца выполняли ортотопическую трансплантацию сердца реципиенту. В посттрансплантационном периоде исследовали параметры центральной гемодинамики, потребление миокардом кислорода, уровень маркеров ишемии миокарда (тропонин I, КФК-МВ, ЛДГ), гистологические признаки структурных клеточных повреждений. **Результаты.** В ходе исследования было выполнено 16 ортотопических трансплантаций сердца. Через 120 минут после восстановления самостоятельной сердечной деятельности уровень сердечного выброса составил 2,99 [4,85; 3,17] л/мин и 2,48 [2,04; 2,92] л/мин (p > 0,05) в контрольной и экспериментальной группах соответственно. Изменения концентрации ЛДГ, тропонина I и лактата в оттекающей из коронарного синуса крови было достоверно выше в раннем реперфузионном периоде, однако статистически значимого отличия между группами выявлено не было (p > 0,05). Потребление миокардом кислорода составило 8,2 [7,35; 9,35] и 7,7 [6,75; 10,12] мл-O₂/мин/100 г соответственно в контрольной и экспериментальной группе (p > 0,05). Морфологические исследования также не показали значимых ишемических повреждений миокарда в группе персфуляции по сравнению с контрольной группой. **Заключение.** В ходе проведенного эксперимента была доказана техническая возможность и безопасность проведения прямой внутрикоронарной кислородной персфуляции в течение 4 часов на этапе кондиционирования донорского сердца *ex vivo*. При этом, по данным экспериментов, не было обнаружено значимых преимуществ коронарной персфуляции по сравнению со стандартным протоколом фармакохолодовой консервации донорского сердца раствором Bretschneider.

Ключевые слова: кислородная персфуляция, консервация сердца, терминальная стадия хронической сердечной недостаточности, расширенные донорские критерии, сердечный выброс, трансплантация сердца, фармакохолодовая консервация сердца.

Для корреспонденции: Макаев Александр Геннадьевич. Адрес: 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская д. 15. Тел. (383) 347-60-66. E-mail: makaev_a@meshalkin.ru

Corresponding author: Alexander Makaev. Address: 15, Rechkunovskaya str., Novosibirsk, 630055, Russian Federation. Phone: (383) 347-60-66. E-mail: makaev_a@meshalkin.ru

RESULTS OF A STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF DIRECT CORONARY OXYGEN PERSUFFLATION AS A DONOR HEART CONDITIONING METHOD

M.O. Zhulkov¹, D.A. Sirota¹, I.S. Zykov¹, A.K. Sabetov¹, K.A. Agaeva¹, A.G. Makaev¹, D.M. Osintsev¹, A.P. Nadeev², V.E. Kliver², E.E. Kliver¹, A.M. Volkov¹, A.R. Tarkova¹, A.V. Fomichev¹, A.M. Chernyavsky¹

¹ Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

² Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Objective: to evaluate the technical feasibility as well as functional, metabolic and structural integrity of donor heart myocardium after 4 hours of direct intracoronary oxygen persufflation in an experiment. **Materials and methods.** Mini-pig siblings aged 3 months with a body weight of 23–36 kg were used as the experimental model. In the control group (n = 8), donor hearts were cold preserved by injecting 2 liters of Bretschneider cardioplegic solution (Custodiol®, Germany, HTK) into the aortic root. In the experimental group (n = 8), modified HTK solution (with 40 mg/L hyaluronidase added) was used to initiate cardioplegia, then moistened carbogen (95% O₂, 5% CO₂) was injected into the ascending aorta, maintaining 40–45 mm Hg aortic root pressure. The hearts were stored in an mHTK solution at 0–4 °C. After 3 hours of donor heart preservation, orthotopic heart transplantation (OHTx) was performed. In the post-transplant period, we studied central hemodynamic parameters, myocardial oxygen consumption, level of myocardial ischemia markers (troponin I, TnI; creatine phosphokinase-MB, CPK-MB; lactate dehydrogenase, LDH), and histological signs of structural cellular injury. **Results.** Sixteen OHTx surgeries were performed during the study. At 120 minutes after restoration of spontaneous cardiac activity, cardiac output was 2.99 [4.85; 3.17] L/min and 2.48 [2.04; 2.92] L/min (p > 0.05) in the control and experimental groups, respectively. Changes in LDH, TnI and lactate levels in the blood flowing from the coronary sinus were significantly higher in the early reperfusion period. However, there was no statistically significant difference between the groups (p > 0.05). Myocardial oxygen consumption in the control and experimental groups was 8.2 [7.35; 9.35] ml-O₂/min/100 g and 7.7 [6.75; 10.12] ml-O₂/min/100 g, respectively (p > 0.05). Morphological examinations also showed no significant myocardial ischemia injury in the persufflation group compared to the control group. **Conclusion.** The experiment showed the technical feasibility and safety of direct intracoronary oxygen persufflation for 4 hours at the ex vivo donor heart conditioning stage. At the same time, experimental data showed no significant advantages of coronary persufflation over the standard protocol of cold preservation of donor heart with Bretschneider cardioplegic solution.

Keywords: oxygen persufflation, heart preservation, end-stage chronic heart failure, expanded donor criteria, cardiac output, heart transplantation, cold heart preservation.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема дефицита донорских органов во многом определяется географическими особенностями расположения донорских баз и трансплантологических центров. Поиск новых стратегий пролонгированного кондиционирования донорских органов продолжается. По-прежнему фармакохолодовая консервация донорского сердца раствором Bretschneider является наиболее часто используемым методом сохранения трансплантата на территории нашей страны и стран Европы. Однако уже через четыре часа консервации раствором Bretschneider функция трансплантата может быть скомпрометирована, особенно у доноров старшей возрастной группы [1, 2]. Этот способ консервации органов является наибольшим фактором риска для первичной дисфункции аллотрансплантата и смерти [3]. Увеличение времени холодовой ишемии с 3 до 6 часов удваивает риск смерти через

1 год после трансплантации по сравнению с 50% снижением прогнозируемой смертности через 1 год, в случае если период ишемии составляет менее 1 часа [4]. По данным J. Kobashigawa et al., ишемия, превышающая 4 часа, значительно увеличивает риск первичной дисфункции трансплантата, который связан с 8% смертностью через 30 дней и повышенной смертностью через 5 и 15 лет после трансплантации сердца [5].

Оптимальный метод консервации донорского органа включает три основных аспекта: гипотермия, состав консервирующего раствора, оксигенация [6]. Если первые два условия выполняются и могут быть скорректированы в любом из методов фармакохолодовой защиты, обогащение тканей кислородом сопряжено с целым рядом проблем. Ранее было доказано, что изменение рецептуры консервирующего раствора (даже с имеющимися макроэргами и бу-

ферами) для удаления отходов метаболизма имело незначительное влияние на функциональный исход трансплантации, в то время как качество оксигенации оказывало огромное влияние. Многочисленные вариации прописей адьювантных кардиопротекторов, включающих широкий спектр фармакологических, метаболических и физических агентов, до сих пор не привели к сколь бы то ни было значимым успехам [7].

В естественных условиях субстратом-транспортером кислорода является гемоглобин крови, именно поэтому наиболее физиологичным способом доставки кислорода кардиомиоцитам трансплантата является непрерывная аппаратная перфузия трансплантата донорской кровью или макроэргическим субстратом. Система TransMedics (Massachusetts, USA) является первым коммерчески доступным устройством для транспортировки донорского сердца в нормотермическом перфузионном состоянии. Перфузат представляет собой запатентованный раствор для заливки с добавлением инсулина, антибиотика, метилпреднизолона, бикарбоната натрия, поливитаминов и свежей донорской крови [8]. Однако подобные методы являются дорогостоящими и требуют постоянного мониторинга, усложняя этап транспортировки органа [9–12].

В 1902 году R. Magnus сделал неожиданное наблюдение во время перфузии изолированного сердца кошки [13]. Несмотря на опустошение резервуара с перфузатом и поступление воздушной смеси под давлением в коронарное русло, сердце продолжало ритмично сокращаться в течение 9 мин. Несмотря на целый ряд успехов, достигнутых в последующих исследованиях консервации сердца путем подачи кислородной смеси в коронарное русло (в 1971 году термин «персифляция» (COP – от англ. coronary oxygen persufflation) официально заменил термин «газообразная кислородная перфузия» [14]), с 1960-х по 1990-е годы интерес к этим работам был снижен в пользу исследований персифляции печени и почек [15]. Однако в 2000-х интерес к длительной консервации сердца путем коронарной персифляции возродился, были опубликованы результаты нескольких исследований, доказывающие физиологическую возможность и эффективность длительного (до 14 часов) кондиционирования сердца с помощью персифляции, в том числе после непродолжительных (до 16 минут) периодов тепловой ишемии [15–18].

Не только безопасность, но и сама идея проведения COP по-прежнему подвергается серьезной критике со стороны клиницистов, несмотря на результаты исследований, доказывающих высокую эффективность COP как способа длительного кондиционирования трансплантата. Техническая адаптация методики COP к действующему клиническому протоколу ортотопической трансплантации сердца и оценка эффективности данного метода по сравнению

с принятой техникой фармакохолодовой консервации сердца стали целью данного исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подготовка экспериментальных животных, анестезия

В качестве экспериментальной модели были использованы поросята (mini-pig) в возрасте 3 месяцев. Уход за животными, обеспечение эксперимента, наблюдение и вывод животных из него выполняли в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18.03.1986). Протокол проведения исследования был одобрен локальной комиссией по биоэтике ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России (протокол № 1 от 12.10.2020 года).

Всем животным в день имплантации натошак выполняли премедикацию комбинацией препаратов атропин и золетил-100. Дозу подбирали индивидуально, согласно массоростовым параметрам. После наступления сна подготавливали операционное поле и область катетеризации сосудов шеи. Затем животных транспортировали в операционную и закрепляли в положении на спине для последующей интубации трахеи, установки центрального артериального и венозного катетеров. Эксперимент выполняли в условиях эндотрахеального наркоза севофлюраном и миорелаксации (пипекурония бромид). Искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) поддерживали с помощью наркозно-дыхательного аппарата FabiusPlus (Draeger, Germany) с положительным давлением на вдохе (20–30 см вод. ст.) и на выдохе (5–8 см вод. ст.) с дыхательным объемом 8 мл/кг с частотой 12–14 дыханий в минуту. Во время эксперимента проводили мониторинг инвазивного артериального давления (иАД) путем катетеризации левой общей сонной артерии, центрального венозного давления (ЦВД) путем катетеризации правой наружной яремной вены, нарушений ритма сердца (электрокардиография), температуры тела, газового состава крови, активированного времени свертываемости (ACT). Для мониторинга диуреза устанавливали эпицистостому. Анализ крови выполняли с помощью автоматического гематологического анализатора ХТ-4000i (Sysmex, Germany), согласно рекомендациям производителя. Параметры центральной гемодинамики исследовали путем катетеризации правых отделов сердца катетером Свана–Ганса. Измерение проводили у донора после наркотизации и начала искусственной вентиляции легких, затем после имплантации донорского сердца в тело реципиента в течение двух часов после окончания искусственного кровообращения согласно протоколу (рис. 1).

Параметры жизнедеятельности фиксировали с помощью монитора типа IntelliVueMP70 (Philips, Netherlands). Протокол исследования включал взятие образцов крови из коронарного синуса для измерения маркеров ишемии миокарда – тропонина I, КФК-МВ, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), лактата, а также биопсии миокарда верхушки левого желудочка сердца до и после периода ишемии донорского органа.

Потребление миокардом кислорода рассчитывали по формуле:

$$LV\ O_2\ cons. = \frac{([O_2]_a) - ([O_2]_{cs}) \times CAF}{LVmass},$$

ml-O₂/min/100 g,

где [O₂]_a – содержание кислорода в артериальной крови; [O₂]_{cs} – содержание кислорода в крови коронарного синуса; CAF – коронарный кровоток; LVmass – масса миокарда левого желудочка.

Содержание кислорода в крови рассчитывали по формуле:

$$O_2 = \frac{\%O_2\ Sat \times [Hb] \times O_2\ capacity\ of\ Hb\ (1.34\ ml - O_2/g)}{100},$$

ml-O₂/dl.

Хирургическая техника эксперимента

Донор: эксплантация сердца и методика консервации сердца

Поросята-доноры с массой тела в среднем 33 ± 3,2 кг получали премедикацию и анестезиологическое пособие по описанной выше методике. Во всех случаях доступ к сердцу осуществляли через срединную стернотомию. После введения гепарина в дозе 3 мг/кг массы тела в корень аорты устанавливали кардиоплегическую канюлю 7 Fr. В группе контроля после окклюзии полых вен пережимали аорту и выполняли кардиopleгию введением в корень аорты 2 литров раствора Bretschneider (Custodiol®, Germany, НТК) под давлением 75 мм рт. ст. в первую минуту и затем под давлением 40 мм рт. ст. в течение последующих 9 минут. Затем сердца хранили в соответствующем растворе при температуре от 0 до 1 °С. В экспериментальной группе сердце подвергали персфуляции по описанной в работе J. Fischer методике [19]. Для инициации кардиopleгии использовали модифицированный раствор НТК (mНТК) (с добавлением 40 мг/л гиалуронидазы), затем устанавливали блокатор аортального клапана, выкроенный из перчаточной резины в виде трилистника, и фиксировали



Рис. 1. Протокол исследования

Fig. 1. Study protocol

одним узловым швом в центре. В восходящий отдел аорты через поперечный разрез либо через брахиоцефальный ствол начинали подавать увлажненный карбоген (95% O₂, 5% CO₂), поддерживая давление в корне аорты на уровне 40–45 мм рт. ст. Сердце помещали в пластиковый мешок, заполненный раствором mНТК и окруженный ледяной крошкой. В полость правого и левого желудочков устанавливали дренажные трубки, свободные концы которых оставляли в растворе для определения свободного выхода газа. По истечении 3 часов консервации приступали к подготовке трансплантата и этапу имплантации реципиенту.

Реципиент: имплантация донорского сердца

Поросятам с массой тела $25 \pm 1,7$ кг выполняли срединную стернотомию. После введения гепарина в дозе 3 мг/кг массы тела устанавливали соответствующие канюли в правую общую сонную артерию и полые вены. После начала искусственного кровообращения (ИК) сердце донора эксплантировали с оставлением широкой манжеты легочных вен, тело реципиента охлаждали до 28 °С. Ортотопическую имплантацию донорского сердца выполняли с использованием бикавальной техники, последовательно анастомозируя левое предсердие, легочный ствол, аорту, нижнюю и верхнюю полые вены. С целью иммуносупрессии все реципиенты получали пульс-терапию метилпреднизолоном (Метипред® Орион, Portugal) в дозе 1500 мг перед снятием зажима с аорты и этапом реперфузии. В группе персусфляции имплантацию донорского сердца проводили, не прекращая подачу в коронарное русло газовой смеси вплоть до формирования аортального анастомоза. Реперфузию сердца начинали с 10-минутного согревания сердца оксигенированным модифицированным раствором Кребса–Хенселейта, содержащим только 50 мкмоль/л кальция и 15 мкмоль/л аденозина при давлении 50 мм рт. ст. с целью удаления пузырьков газа из капиллярного русла. В течение первых минут реперфузии производили забор проб крови из артериальной магистрали аппарата искусственного кровообращения и коронарного синуса с целью вычисления потребления миокардом кислорода и определения уровня маркеров ишемии миокарда. Через 30 минут после снятия зажима с аорты выполняли биопсию миокарда верхушки левого желудочка. Постепенно согревали тело реципиента и отлучали от искусственного кровообращения. Через 2 часа наблюдений выполняли эвтаназию введением 100 мл 4% раствора хлорида калия в условиях общей комбинированной анестезии (пропофол – 4–7 мг/кг, фентанил – 0,006–0,008 мг/кг и ингаляция севофлурана – 2–4 об%).

Образцы миокарда для гистологического исследования иссекали из верхушечной части левого желудочка сердца, фиксировали в 10% растворе формалина на фосфатном буфере (рН 7,4) и заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм готовили на микротоме фирмы Microm HM 550 и окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Ван-Гизона с комбинированной докраской эластических волокон орсеином; ставили также ШИК-реакцию. Обзорную гистологию и морфометрические исследования проводили с помощью программно-микроскопного комплекса, который включал в себя световой микроскоп (фирмы Carl Zeiss), цифровую видеокамеру AxioCam MRc и компьютер Pentium 4.

Статистическую обработку проводили с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft Inc., USA). Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка с последующей оценкой равенства дисперсий по критерию Левена. В том случае когда распределение в экспериментальных группах было нормальным и соблюдалось межгрупповое равенство дисперсий, дальнейшую обработку проводили с помощью метода параметрической статистики – t-критерия Стьюдента. При распределении, отличном от нормального, – методы непараметрической статистики. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Всего в ходе исследования было выполнено 16 ортотопических трансплантаций сердца. Время ишемии донорского сердца в экспериментальной и контрольной группе составило 248 ± 12 и 242 ± 10 минут ($p > 0,05$) соответственно, время имплантации достоверно не отличалось между группами и в среднем составило 47 ± 6 и 39 ± 7 минут ($p > 0,05$). Во всех экспериментах время реперфузии составило 60 ± 8 минут, после чего всем реципиентам начинали инфузию кардиотонических препаратов (допамин 10 мкг/кг/мин, адреналин 0,1 мкг/кг/мин) и постепенно отключали от искусственного кровообращения. Изменение сердечного выброса (СВ) оценивали в трех точках: 1 – сразу после отключения от искусственного кровообращения, 2 – через 60 минут самостоятельной работы трансплантата, 3 – через 120 минут (табл. 1). В обеих группах наблюдалось достоверное снижение сердечного выброса после остановки искусственного кровообращения по сравнению с исходными значениями, однако отличия показателей между группами были статистически не достоверными ($p > 0,05$).

В группе персусфляции восстановление насосной функции сердца требовало более активной антиаритмической и кардиотонической поддержки. Во всех случаях в группе СОР наблюдалась устойчивая

форма фибрилляции желудочков, а восстановление правильного ритма требовало многократных (до 10) попыток дефибрилляции. Напротив, в группе контроля у всех животных наблюдалось спонтанное восстановление координированных сердечных сокращений.

Изменения концентрации ЛДГ, тропонина I и лактата в оттекающей из коронарного синуса крови представлено в табл. 2, в ходе сравнительного анализа статистически значимого отличия между группами выявлено не было ($p > 0,05$).

В группе персфузии потребление миокардом кислорода было достоверно ниже после этапа реперфузии ($p = 0,011$), однако при межгрупповом сравнении потребление кислорода не отличалось ($p > 0,05$).

Гистологическая картина паренхимы и стромы миокарда животных контрольной и экспериментальной групп в общем была однотипна. При окраске гематоксилин-эозином мышечные волокна обычных размеров, саркоплазма мышечных сегментов рав-

номерно и умеренно воспринимали эозин (рис. 2). В продольно срезанных волокнах четко определялась поперечно-полосатая исчерченность, местами отмечались участки контрактуры миофибрилл легкой степени. Ядра мышечных волокон в основном были средних размеров, овальной палочковидной или вытянутой формы, однородно окрашивались в темно-синий цвет с глыбками хроматина с четкими ядрышками.

В контрольной группе строма в эпикарде была умеренно и неравномерно отечна. Артерии и вены с широким овальным просветом, вокруг части сосудов слабый периваскулярный отек, единичные лимфоциты в капиллярах. В экспериментальной группе в отличие от контрольной группы краевое стояние лимфоцитов в капиллярах носило диффузный характер, в отдельных кардиомиоцитах отмечался незначительный перинуклеарный отек, дилатация сосудов с сохранением округлого контура. В обеих группах

Таблица 1

**Изменение сердечного выброса (л/мин)
Changes in cardiac output (L/min)**

Группа	Исходно	После ИК	Через 60'	Через 120'
Контрольная (n = 8)	3,36 [3,36; 3,97]	2,35* [2,14; 2,71]	3,03 [2,96; 3,34]	2,99 [4,85; 3,17]
Экспериментальная (n = 8)	3,72 [3,15; 4,28]	2,15*# [2,01; 2,42]	2,95# [2,25; 3,12]	2,48# [2,04; 2,92]

Примечание. * – $p < 0,05$ в сравнении с исходными значениями; # – $p > 0,05$ в сравнении с группой контроля.

Note. * – $p < 0.05$ versus baseline; # – $p > 0.05$ versus control group.

Таблица 2

**Изменение концентраций биохимических маркеров в оттекающей из коронарного синуса крови
Changes in the levels of biochemical markers in blood flowing out of the coronary sinus**

Показатель	Контрольная (n = 8)		Экспериментальная (n = 8)	
	до ОТС	после ОТС	до ОТС	после ОТС
ЛДГ, Ед/л	429,85 [355,8; 546,3]	693,60* [491,25; 778,87]	442,05 [329,4; 555,8]	773,25*# [654,35; 948,67]
Тропонин I, пг/мл	5,15 [2,35; 8,17]	48,45* [26,53; 73,75]	4,85 [2,55; 7,37]	67,10*# [27,78; 104,8]
Лактат, ммоль/л	1,45 [1,12; 2,02]	9,55* [8,53; 10,25]	1,30 [1,05; 2,12]	9,55*# [8,53; 10,25]
КФК-МВ, Ед/л	204,00 [166,5; 324,0]	326,15* [225,5; 453,25]	168,00 [118; 324]	376,15*# [225,5; 535,75]

Примечание. ЛДГ – лактатдегидрогеназа; КФК-МВ – креатинфосфокиназа; ОТС – ортотопическая трансплантация сердца; * – $p < 0,05$ против концентрации до трансплантации сердца; # – $p > 0,05$ в сравнении с группой контроля.

Note. ЛДГ – lactate dehydrogenase; КФК-МВ – creatine phosphokinase; ОТС – orthotopic heart transplantation; * – $p < 0.05$ versus pre-heart transplant level; # – $p > 0.05$ versus control group.

Таблица 3

**Потребление миокардом кислорода (мл-О₂/мин/100 г)
Myocardial oxygen consumption (ml-O₂/min/100 g)**

Группа	Исходно	После реперфузии	p
Контрольная (n = 8)	9,15 [7,17; 11,9]	8,2 [7,35; 9,35]	0,31
Экспериментальная (n = 8)	10,6 [8,18; 15,42]	7,7# [6,75; 10,12]	0,011

Примечание. # – $p > 0,05$ в сравнении с группой контроля.

Note. # – $p > 0.05$ versus control group.

клетки эндотелия были распределены равномерно, плоско расположены, сохраняли свою целостность (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Дефицит времени ишемии – один из основных факторов, лимитирующих географию донорских баз, и соответственно, возможности донорского потенциала. В настоящее время продолжительность ишемии донорского сердца в клинической практике ограничена 3–5 часами в случае применения фармакохолодовой методики консервации [20]. К сожалению, существующий на сегодняшний день способ

фармакохолодовой консервации предполагает восполнение всех дефицитов в период ишемии, кроме одного – кислорода. Перфузионные системы донорских органов, а также устройства гипербарической оксигенации не нашли широкого распространения в клинической практике из-за громоздкости и высокой стоимости комплектующих расходных материалов [20–22]. В отличие от методов непрерывной перфузии кислородсодержащим консервирующим раствором или кровью открытая больше века назад методика СОР не требует сложного перфузионного оборудования. Персфуляция представляет собой комбинацию первичной остановки сердца фармако-

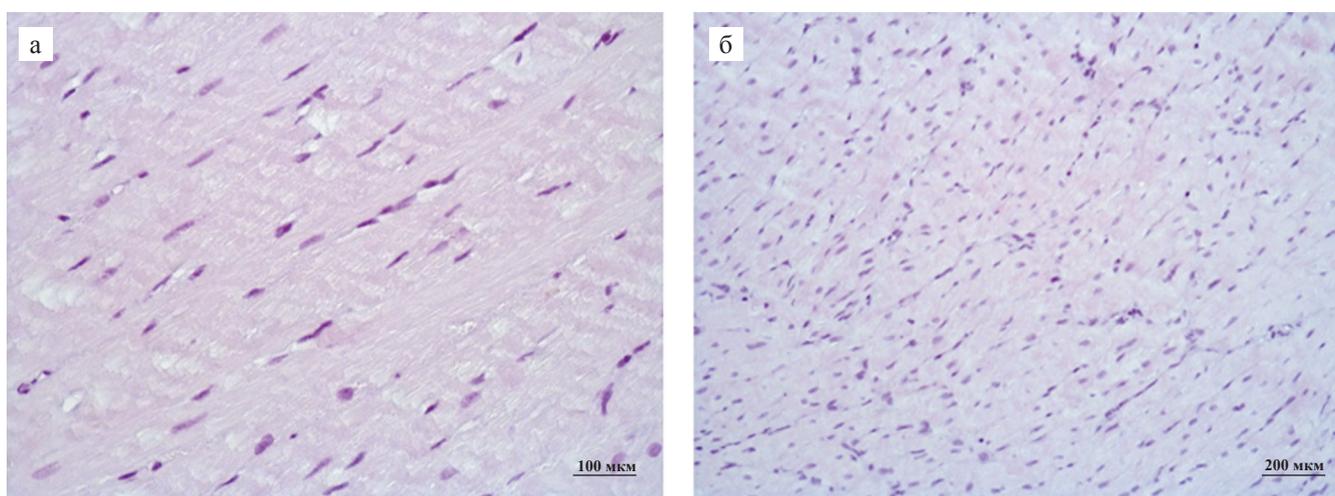


Рис. 2. Миокард левого желудочка сердца с сохранением диаметров мышечного волокна и контрактурами легкой степени: а – контрольная группа, $\times 400$; б – экспериментальная группа, $\times 200$. Окраска гематоксилин-эозином

Fig. 2. Left ventricular myocardium with preserved muscle fiber diameters and mild contractures: а – control group, $\times 400$; б – experimental group, $\times 200$. H&E staining

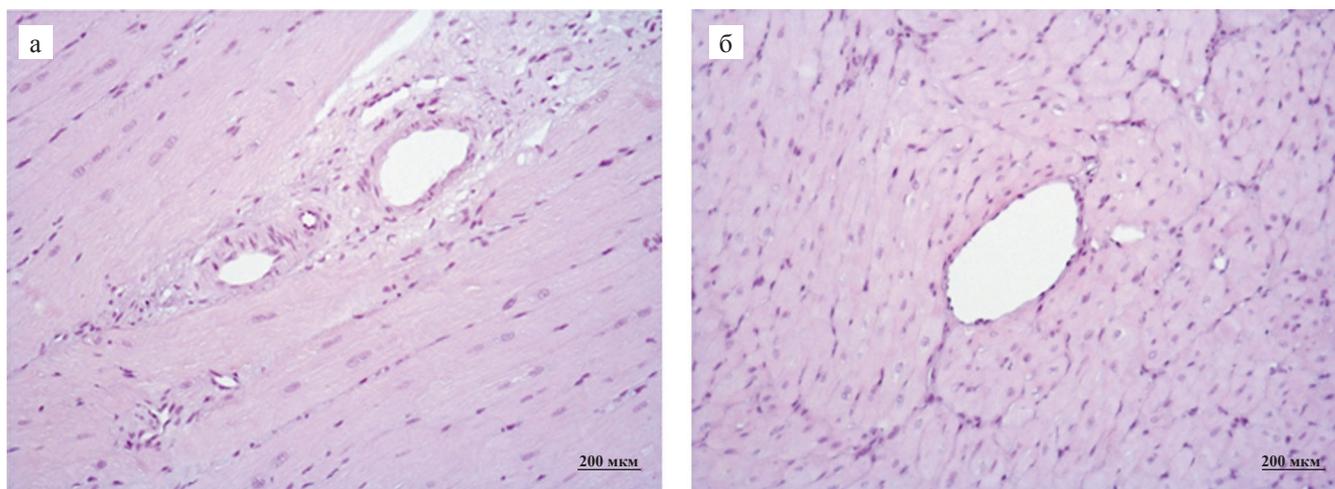


Рис. 3. Внутримиокардиальные сосуды левого желудочка сердца. Сохранность эндотелиальной выстилки: а – контрольная группа; б – экспериментальная группа. $\times 200$. Окраска гематоксилин-эозином

Fig. 3. Left ventricular intramyocardial vessels. Preserved endothelial lining: а – control group; б – experimental group. $\times 200$. H&E staining

холодовым способом с последующей непрерывной антеградной подачей газообразного кислорода в коронарные артерии.

Несмотря на результаты многочисленных исследований, демонстрирующие высокую эффективность СОР как способа длительного (14 часов) кондиционирования трансплантата, до сих пор это не оказало никакого влияния на отношение клиницистов к идее умышленного заполнения коронарного русла газовой смесью [9–11, 23]. Первые полноценные исследования эффективности и безопасности коронарной персифляции были проведены в 1959 году, D. Sabiston et al. в серии экспериментов по изучению антеградной СОР (А-СОР) увлажненным газообразным карбогеном (95% O₂, 5% CO₂) показали, что собачье сердце способно продолжать сокращаться в течение 5 часов (2,5–8 часов) *ex vivo* при поддержании нормотермии [24]. В следующей серии экспериментов авторы выполняли А-СОР *in situ* в течение 25–30 мин, после чего им удалось восстановить нормальный коронарный кровоток. При этом у большинства животных наблюдалось полное восстановление гемодинамической функции сердца. Основные выводы этого исследования: сердце способно использовать газообразный кислород путем прямой персифляции; после А-СОР и коронарной реперфузии кровью возможно успешное восстановление сократительной способности миокарда.

Позже, в 1960 году J. Talbert et al. ввели понятие ретроградной СОР (R-СОР) [25]. В это время ретроградная перфузия насыщенной кислородом крови через коронарный синус активно использовалась для поддержания сердечного ритма и защиты сердца от кратковременной ишемии при открытых вмешательствах на аортальном клапане [26, 27]. В своих исследованиях авторы вводили карбоген через коронарный синус, что позволяло поддерживать сердечные сокращения в среднем 3,5 часа, а в случае дополнительной канюляции передних вен сердца – до 5,5 часа. В 1966 г. R. Camishion et al. была опубликована статья, в которой описывались результаты применения R-СОР при вмешательствах на аортальном клапане [23]. В 1971 году термин «персифляция» официально заменил термин «газообразная кислородная перфузия» [14], после чего интерес к проведению исследований по персифляции значительно снизился.

В 90-х годах персифляция вновь стала предметом исследований. Так, в 1998 году F. Kuhn-Regnier et al. опубликовали исследование, посвященное использованию А-СОР в качестве метода кондиционирования сердца перед ортотопической аллотрансплантацией в эксперименте [28], похожее исследование было опубликовано J. Fischer et al. [29]. В среднем время ишемии трансплантата в этих исследованиях составило

14,5 часа. Авторы описали значительные преимущества в восстановлении сердечного выброса, коронарного кровотока, давления в левом желудочке и релаксации миокарда после длительного периода А-СОР по сравнению с группой изолированной фармакохолодовой консервации [30].

Учитывая результаты экспериментальных исследований, остается неясным, почему СОР не получила широкой поддержки. Возможно, «барьер» прямого и умышленного введения воздушной смеси в сосудистое русло, сформированный общими представлениями клиницистов об опасности эмболии, по-прежнему заставляет скептически относиться к безопасности СОР. Техническое проведение персифляции, учитывая необходимость непрерывной подачи газа в корень аорты на всем протяжении этапа имплантации сердца, не оказывает существенного влияния на ход операции. Более того, нами не было получено данных, свидетельствующих об отрицательном влиянии СОР на восстановление насосной функции сердца по сравнению с контрольной группой, так, при исследовании маркеров ишемии миокарда определялось достоверное повышение концентрации ЛДГ, тропонина I, КФК-МВ и лактата в оттекающей из коронарного сердца крови как в группе персифляции, так и в контрольной группе. Морфологические исследования также не показали значимых ишемических повреждений миокарда по сравнению с контрольной группой. Сохранялись целостность эндотелиальной выстилки сосудов и их проходимость. Кроме того, необходимо учитывать возможное влияние на результаты отсутствия какого-либо *cross-match* подбора, с развитием острого отторжения трансплантата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного эксперимента была доказана техническая возможность и безопасность проведения прямой внутрикоронарной кислородной персифляции на этапе кондиционирования донорского сердца *ex vivo*. При этом, по данным экспериментов, не было обнаружено значимых преимуществ коронарной персифляции по сравнению со стандартным протоколом фармакохолодовой консервации донорского сердца раствором Bretschneider. Отсутствие значимых отличий функциональной, биохимической и структурной целостности трансплантата между группами, возможно, объясняется коротким периодом консервации органа и малым периодом наблюдения, что требует проведения более обширных и длительных наблюдений.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Costanzo MR, Dipchand A, Starling R, Anderson A, Chan M, Desai S et al. The International Society of Heart and Lung Transplantation Guidelines for the care of heart transplant recipients. *The Journal of heart and lung transplantation*, 2010; 29 (8): 914–956.
2. Фомичев АВ, Хван ДС, Агаева ХА, Жульков МО, Доронин ДВ, Чернявский АМ. Опыт использования донорского сердца с продленной холодовой ишемией. *Российский кардиологический журнал*. 2020; 25 (8): 4011. Fomichev AV, Khvan DS, Agaeva HA, Zhulkov MO, Doronin DV, Chernyavsky AM. Experience of heart transplantation with an extended cold ischemic time of donor heart. *Russian Journal of Cardiology*. 2020; 25 (8): 4011. [In Russ, English abstract]. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2020-4011>.
3. Banner NR, Thomas HL, Curnow E, Hussey JC, Rogers CA, Bonser RS et al. The importance of cold and warm cardiac ischemia for survival after heart transplantation. *Transplantation*. 2008; 86 (4): 542–547. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e31818149b9>.
4. Russo MJ, Iribarne A, Hong KN, Ramlawi B, Chen JM, Takayama H et al. Factors associated with primary graft failure after heart transplantation. *Transplantation*. 2010 Aug 27; 90 (4): 444–450. doi: 10.1097/TP.0b013e3181e6f1eb. PMID: 20622755.
5. Schnitzler MA, Hauptman P, Takemoto S, Burroughs TE, Salvalagio P, Lentine KL et al. The impact of cold ischemia time on the life-year benefit of heart transplant. *Transplantation*. 2006; 82 (1): 382.
6. Жульков МО, Фомичев АВ, Альсов СА, Кливер ЕН, Чернявский АМ. Современное состояние проблемы и результаты *ex vivo* перфузии донорских сердец. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (4): 143–146. Zhulkov MO, Fomichev AV, Alsov SA, Cleaver EN, Chernyavsky AM. Current state of the problem and results of *ex vivo* perfusion of donor hearts. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2019; 21 (4): 143–146. [In Russ, English abstract]. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2019-4-143-146>.
7. Хороненко ВЭ, Мандрыка ЕА, Баскаков ДС, Суворин ПА. Адьювантная кардиопротекция в торакальной онкохирургии. *Анестезиология и реаниматология*. 2019; 1: 35–43. Khoronenko VE, Mandryka EA, Baskakov DS, Suvorin PA. Adjuvant cardioprotection in thoracic oncosurgery. *Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology = Anesteziologiya I Reanimatologiya*. 2019; 1: 35–43. [In Russ, English abstract]. <https://doi.org/10.17116/anaesthesiology201901135>.
8. Messer S, Ardehali A, Tsui S. Normothermic donor heart perfusion: current clinical experience and the future. *Transpl Int*. 2015 Jun; 28 (6): 634–642. doi: 10.1111/tri.12361. Epub 2014 Jul 7. PMID: 24853906.
9. Imber CJ, St Peter SD, Lopez de Cenarruzabeitia I, Pigott D, James T, Taylor R et al. Advantages of normothermic perfusion over cold storage in liver preservation. *Transplantation*. 2002 Mar 15; 73 (5): 701–709. doi: 10.1097/00007890-200203150-00008. PMID: 11907414.
10. Bagul A, Hosgood SA, Kaushik M, Kay MD, Walker HL, Nicholson ML. Experimental renal preservation by normothermic resuscitation perfusion with autologous blood. *Br J Surg*. 2008 Jan; 95 (1): 111–118. doi: 10.1002/bjs.5909. PMID: 17696214.
11. Osaki S, Ishino K, Kotani Y, Honjo O, Suezawa T, Kanki K, Sano S. Resuscitation of non-beating donor hearts using continuous myocardial perfusion: the importance of controlled initial reperfusion. *Ann Thorac Surg*. 2006 Jun; 81 (6): 2167–2171. doi: 10.1016/j.athoracsur.2006.01.066. PMID: 16731148.
12. Collins MJ, Moainie SL, Griffith BP, Poston RS. Preserving and evaluating hearts with *ex vivo* machine perfusion: an avenue to improve early graft performance and expand the donor pool. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2008 Aug; 34 (2): 318–325. doi: 10.1016/j.ejcts.2008.03.043. Epub 2008 Jun 6. PMID: 18539041; PMCID: PMC2649718.
13. Magnus R. Die Thätigkeit des überlebenden Säugethierherzens bei Durchströmung mit Gasen. *Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie*. 1902; 47: 200–208. <https://doi.org/10.1007/BF01929646>.
14. Denecke H, Isselhard W, Stelter W, Berger M, Sachweh D. Recovery of the kidney from aerobic and anaerobic ischemia in deep hypothermia. *Eur Soc Exp Surgery*. 1971: 182.
15. Suszynski TM, Rizzari MD, Scott WE 3rd, Tempelman LA, Taylor MJ, Papas KK. Persufflation (or gaseous oxygen perfusion) as a method of organ preservation. *Cryobiology*. 2012 Jun; 64 (3): 125–143. doi: 10.1016/j.cryobiol.2012.01.007. Epub 2012 Jan 26. PMID: 22301419; PMCID: PMC3519283.
16. Reddy MS, Carter N, Cunningham A, Shaw J, Talbot D. Portal Venous Oxygen Persufflation of the Donation after Cardiac Death pancreas in a rat model is superior to static cold storage and hypothermic machine perfusion. *Transpl Int*. 2014 Jun; 27 (6): 634–639. doi: 10.1111/tri.12313. Epub 2014 Apr 12. PMID: 24628941.
17. Arata K, Iguro Y, Yotsumoto G, Ueno T, Terai H, Sakata R. Use of continuous retrograde gaseous oxygen persufflation for myocardial protection during open heart surgery. *Surg Today*. 2010 Jun; 40 (6): 549–554. doi: 10.1007/s00595-008-4093-z. Epub 2010 May 23. PMID: 20496137.
18. Kuhn-Régnier F, Bloch W, Tsimpoulis I, Reismann M, Dagktekin O, Jeschkeit-Schubbert S et al. Coronary oxygen persufflation for heart preservation in pigs: analyses of endothelium and myocytes. *Transplantation*. 2004 Jan 15; 77 (1): 28–35. doi: 10.1097/01.TP.0000090162.96787.D0. PMID: 14724431.
19. Fischer JH. Methods of Cardiac Oxygen Persufflation. *Organ Preserv Reengineering*. 2011: 105–126.
20. Reichenspurner H, Russ C, Uberfuhr P, Nollert G, Schlüter A, Reichart B et al. Myocardial preservation using HTK solution for heart transplantation. A multicenter study. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1993; 7 (8): 414–419. doi: 10.1016/1010-7940(93)90005-v. PMID: 8398188.
21. Steinberg JB, Doherty NE, Munfakh NA, Geffin GA, Titus JS, Hoaglin DC et al. Oxygenated cardioplegia: the metabolic and functional effects of glucose and insu-

- lin. *Ann Thorac Surg.* 1991 Apr; 51 (4): 620–629. doi: 10.1016/0003-4975(91)90322-h. PMID: 2012422.
22. Effect of oxygenation and consequent pH changes on the efficacy of St. Thomas' Hospital cardioplegic solution – PubMed [Electronic resource]. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1908927/> (accessed: 12.05.2022).
 23. Retrograde perfusion of the coronary arteries with gaseous oxygen cardiopulmonary bypass – PubMed [Electronic resource]. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5901448/> (accessed: 12.05.2022).
 24. Sabiston Jr DC, Talbert JL, Riley Jr LH, Blalock A. Maintenance of the heart beat by perfusion of the coronary circulation with gaseous oxygen. *Annals of Surgery.* 1959; 150 (3): 361.
 25. Retrograde perfusion of the coronary sinus with gaseous oxygen – PubMed [Electronic resource]. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13836716/> (accessed: 16.05.2022).
 26. Retrograde perfusion of the coronary sinus for direct vision aortic surgery – PubMed [Electronic resource]. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13422152/> (accessed: 16.05.2022).
 27. Sinusal standstill with ventricular automatism during retrograde perfusion of the coronary sinus under hypothermia for direct surgical approach to the aortic valves: an experimental study – PubMed [Electronic resource]. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13576547/> (accessed: 16.05.2022).
 28. Kuhn-Régnier F, Fischer JH, Jeschkeit S. Coronary oxygen persufflation for long-term myocardial protection. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1998 Sep; 46 Suppl 2: 308–312. doi: 10.1055/s-2007-1013091. PMID: 9822185.
 29. Fischer JH, Kuhn-Régnier F, Jeschkeit S, Switkowski R, Bardakcioglu O, Sobottke R, Rainer de Vivie E. Excellent recovery after prolonged heart storage by preservation with coronary oxygen persufflation: orthotopic pig heart transplantations after 14-hr storage. *Transplantation.* 1998 Dec 15; 66 (11): 1450–1459. doi: 10.1097/00007890-199812150-00007. PMID: 9869085.
 30. Laine GA, Allen SJ. Left ventricular myocardial edema. Lymph flow, interstitial fibrosis, and cardiac function. *Circ Res.* 1991 Jun; 68 (6): 1713–1721. doi: 10.1161/01.res.68.6.1713. PMID: 2036720.

Статья поступила в редакцию 14.06.2022 г.

The article was submitted to the journal on 14.06.2022