

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-3-106-112

РАЗРАБОТКА НОВОГО МАЛООБЪЕМНОГО ОКСИГЕНАТОРА И СОЗДАНИЕ ГИДРОДИНАМИЧЕСКОГО СТЕНДА ДЛЯ EX VIVO ПЕРФУЗИИ ЛЕГКИХ НА МЕЛКИХ ЖИВОТНЫХ

О.Ю. Есипова¹, В.К. Богданов¹, А.С. Есипов², А.П. Кулешов¹, А.С. Бучнев¹,
Е.А. Волкова¹, А.А. Дробышев¹, Н.В. Грудинин¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр высоких медицинских технологий имени А.А. Вишневецкого» Минобороны России, Красногорск, Российская Федерация

В фундаментальных исследованиях широко используются модели мелких животных. Однако экспериментальные гидродинамические стенды, в состав которых входят экстракорпоральные контуры, часто имеют ограничения, связанные с размерами и объемами заполнения оборудования. Таким образом, мы стремились разработать и апробировать миниатюрный оксигенатор, а также малообъемную гидродинамическую систему для проведения *ex vivo* перфузии легких мелких животных. Была разработана и изготовлена серия малообъемных мембранных оксигенаторов ($n = 10$) с 90–100 выровненными микропористыми полипропиленовыми полыми волокнами, помещенными внутрь оболочки, запечатанной с обоих концов для изоляции перфузирующего раствора. Благодаря такой конструкции газ проходит через полые волокна, в то время как перфузат циркулирует вокруг волокон. Был разработан и собран гидродинамический стенд с малым объемом заполнения для проведения изолированной *ex vivo* перфузии легких, а также оценки рабочих характеристик оксигенаторов: потока газа и перфузата, перфузионного давления и температуры при диапазоне расхода 5–70 мл/мин.

Ключевые слова: малообъемный мембранный оксигенатор, оксигенатор, изолированный перфузионный орган, перфузия легких, гидродинамический стенд, оксигенация крови.

DEVELOPMENT OF A NEW LOW-VOLUME OXYGENATOR AND CREATION OF A HYDRODYNAMIC TEST BENCH FOR EX VIVO LUNG PERFUSION IN SMALL ANIMALS

O.Yu. Esipova¹, V.K. Bogdanov¹, A.S. Esipov², A.P. Kuleshov¹, A.S. Buchnev¹, E.A. Volkova¹,
A.A. Drobyshev¹, N.V. Grudin¹

¹ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

² Vishnevsky Central Military Clinical Hospital, Krasnogorsk, Russian Federation

Small animal models are widely used in basic research. However, experimental hydrodynamic test benches, which include extracorporeal circuits, often have limitations associated with the size and filling volume of equipment. Thus, we aimed at developing and validating a miniature oxygenator as well as a low-volume hydrodynamic system for *ex vivo* perfusion of small animal lungs. A series of low-volume membrane oxygenators ($n = 10$) with 90–100 aligned microporous polypropylene hollow fibers, placed inside a sheath that is sealed at both ends to isolate the perfusing solution, was designed and manufactured. This design makes gas to flow through the hollow fibers and perfusate to circulate around the fibers. A low-volume hydrodynamic test bench was designed and assembled for isolated *ex vivo* lung perfusion and for evaluation of the performance characteristics of the oxygenators: gas and perfusate flow, perfusion pressure and temperature at 5–70 ml/min flow range.

Keywords: low-volume membrane oxygenator, oxygenator, isolated perfused organ, lung perfusion, hydrodynamic test bench, blood oxygenation.

Для корреспонденции: Есипова Ольга Юрьевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (925) 190-96-14. E-mail: olgadmitrieva2008@yandex.ru

Corresponding author: Olga Esipova. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (925) 190-96-14. E-mail: olgadmitrieva2008@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Разработка мембранных оксигенаторов крови для проведения хирургических операций на сердце с искусственным кровообращением достигла высокого уровня качества и надежности [1–4]. В настоящее время существует несколько систем для взрослых пациентов, детей и новорожденных, но тем не менее даже самые миниатюрные системы не подходят для базовых протоколов проведения экспериментальных исследований на моделях мелких животных с искусственным кровообращением или для перфузии их изолированных органов. Уменьшение объема оксигенаторов, используемых в подобных экспериментальных исследованиях, имеет одно из решающих значений для возможности использования системы, поскольку объем заполнения оксигенатора обычно составляет основную часть общего объема заполнения системы.

В настоящее время в литературе описаны некоторые «самодельные» оксигенаторы с малым объемом заполнения (табл. 1), однако для большинства исследований по-прежнему требуется устройство с первичным объемом заполнения в несколько миллилитров, что требует дополнительных объемов донорской крови животных [5–10].

В дополнение к техническим трудностям миниатюризация оксигенатора является сложной задачей с позиции его функциональности и эффективности,

чтобы гарантировать воспроизводимость и точность эксперимента [11–13].

Таким образом, создание малообъемного оксигенатора позволит разрабатывать эталонные перфузионные системы для экспериментальных исследований с участием мелких животных или их изолированных органов. В текущей статье мы представляем описание собственной разработки малообъемного мембранного оксигенатора, его характеристик, доказывающих функциональность и надежность оксигенатора, а также новый гидродинамический стенд для проведения перфузий легких мелких животных с использованием оксигенатора собственной разработки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Конструктивные особенности создания малообъемного оксигенатора

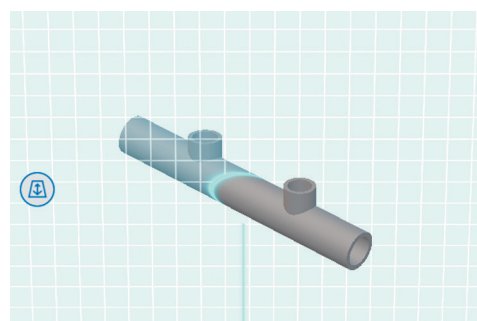
Была спроектирована идеальная 3D-конструкция нового мини-оксигенатора с заданными исходными параметрами: общая длина оксигенатора – 10 см, внутренний диаметр – 5 мм, внешний диаметр – 7 мм, сухой вес оксигенатора – до 15 г, среднее количество волокон 90–95 ед., общая эффективная рабочая площадь поверхности – до 90 см², расход перфузата – до 80 мл/мин. Блок-схема работы и 3D-конструкция малообъемного оксигенатора представлены на рис. 1.

Таблица 1

Краткие свойства и характеристики ранее разработанных малообъемных оксигенаторов

Brief properties and characteristics of previously developed low-volume oxygenators

Автор	Объем заполнения, мл	Расход перфузата, мл/мин	Размер оксигенатора, мм	Время перфузии, мин
Kim W.G.	29	21,2	–	30
Gunzinger R.	4	54	40 × 40 × 15	60
Jungwirth B.	4	57–64	128 × 27	45–105
Ordodi V.L.	8	17–42	–	180
Dong G.H.	4	50–75	–	60
Shang H.W.	10	14–40	–	60



Поток газа

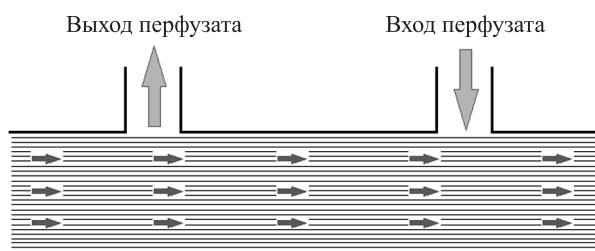


Рис. 1. Слева – идеальная модель спроектированного малообъемного оксигенатора. Справа – блок-схема работы малообъемного оксигенатора

Fig. 1. On the left is an ideal model of the designed low-volume oxygenator. On the right is a block diagram of how the low-volume oxygenator operates

Физическая модель оксигенатора представляет собой корпус, состоящий из двух одноразовых полистироловых соединителей $\frac{1}{4} \times \frac{1}{4}$ дюйма, каждый с одним портом Люэра (Maquet Cardiopulmonal AG, Hirrlingen, Германия), соединенных силиконовой трубкой (Raumedic AG, Helmbrechts, Германия) и симметрично ориентированных (рис. 2).

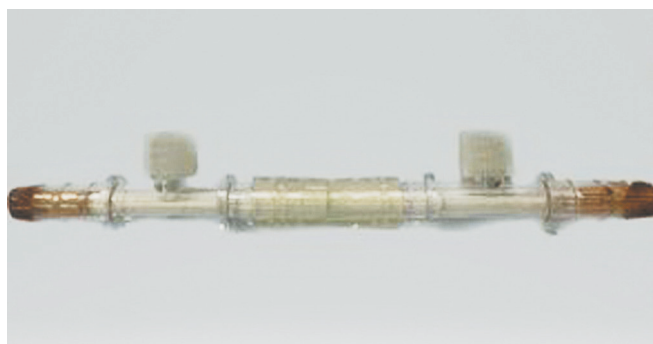


Рис. 2. Разработанная экспериментальная модель малообъемного оксигенатора

Fig. 2. A developed experimental model of the low-volume oxygenator

Микropopистые полипропиленовые полые волокна (Oxyphan PP50/200, Membrana GmGh, Wuppertal, Германия), помещенные в наш корпус, герметизированы вместе с соединителями на каждом конце оболочки с помощью эпоксидной смолы (эпоксидная смола на основе бисфенола А/В и отвердитель модифицированный циклоалифатический амин, Ероху Master, Россия). Эта конструкция позволяет изолировать газовое отделение, где газ проходит через внутреннюю часть полых волокон, от отделения для перфузата, где раствор циркулирует вокруг полых волокон снаружи. Перфузат проходит через малообъемный оксигенатор противотоком по отношению к потоку газа.

Была спроектирована 3D-модель поперечного среза запаянных концов оксигенатора, чтобы оценить необходимую эффективную рабочую площадь поверхности волокон (рис. 3), а также сделан срез разработанного оксигенатора для сравнения теоретических расчетов и полученных фактических результатов (рис. 4).

Теоретические расчеты на 98% совпали с практическими (при доверительном интервале 0,05% с

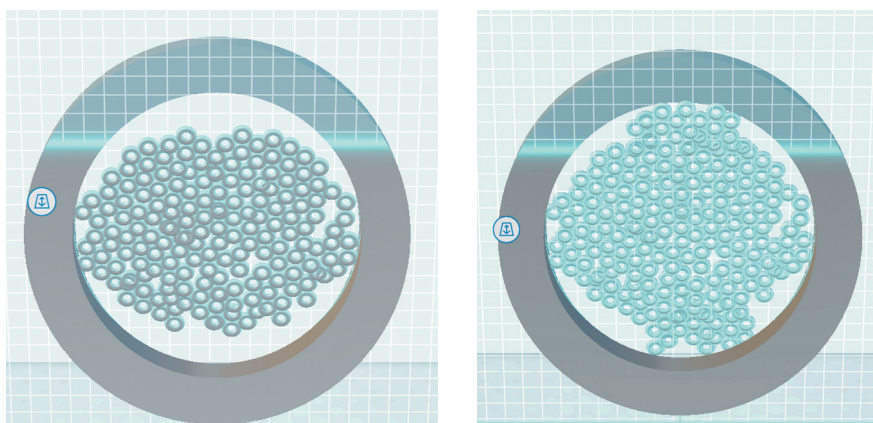


Рис. 3. 3D-модель поперечного среза концов оксигенатора

Fig. 3. A 3D model of the cross section of the ends of the oxygenator

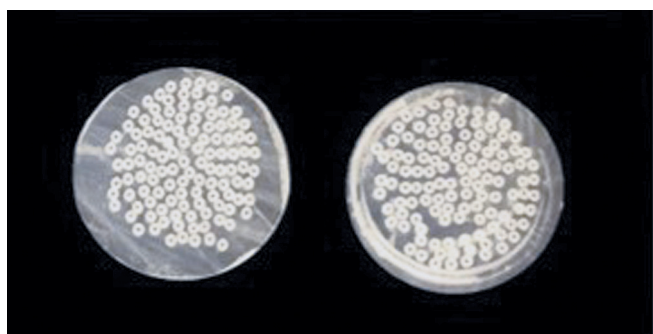


Рис. 4. Визуализация срезов запаянных концов оксигенатора с помощью цифрового микроскопа

Fig. 4. Visualization of slices of the sealed ends of the oxygenator using a digital microscope

параметром генеральной совокупности с расчетным уровнем достоверности), то есть более 95% полипропиленовых полых волокон были открыты с обоих концов.

Оценка производительности разработанных малообъемных оксигенаторов *in vitro*

Оксигенационная способность разработанных малообъемных оксигенаторов была протестирована с помощью модифицированного буфера Кребса–Хенселейта (КХ) *in vitro* на гидродинамическом стенде рециркуляции перфузии. Схема стенда показана на рис. 5.

Буферный раствор КХ был свежеприготовленным для каждого эксперимента (ммоль): NaCl 118, KCl 4,7, KH_2PO_4 1,2, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1,2, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,25, NaHCO_3 25 и глюкоза 11. Гидродинамический стенд содержал в себе деоксигенирующий резервуар, в котором перфузат барботировали газовой смесью 95% N_2 / 5% CO_2 , а также малообъемный оксигенатор, через который пропускали 95% O_2 / 5% CO_2 . Показатели N_2/CO_2 поддерживали на уровне 0,4 л/мин, а O_2/CO_2 на уровне 0,8–1,2 л/мин. Перистальтический насос использовался для циркуляции перфузата из резервуара через оксигенатор и обратно в резервуар. Также были установлены в контуре порты для забора перфузата до и после прохождения через малообъемный оксигенатор.

Давление перфузата регистрировали с помощью датчиков давления (Edwards Lifesciences, США), датчики расхода (Transonic Systems, США) и датчики температуры были включены в контур непосредственно перед и после оксигенатора. Измерения расхода и давления постоянно записывались с использованием многоканального модуля «Ангиотон» (Biosoft-M, Россия) на высокопроизводительную систему сбора данных Рumph (Biosoft-M, Россия). Парциальное давление кислорода ($p\text{O}_2$) оксигенированного и деоксигенированного буфера, скорость потока газа, давление перфузата перед и после оксигенатора и температуру измеряли каждые 10 минут при скорости потока перфузата от 5 до 65 мл/мин. На время эксперимента (90 минут) газовая смесь нагревалась до уровня 37,0 °С с помощью термостата и водяной бани (ХМТЕ-205, Китай).

Проектирование и разработка новой изолированной *ex vivo* системы для перфузии легких мелких животных с использованием нового оксигенатора

Была разработана принципиальная схема гидродинамического стенда для проведения *ex vivo* перфузии легкого мелкого животного с использованием нового малообъемного оксигенатора (рис. 6).

Был проведен аналитический обзор техники сборки, настройки вентиляции с положительным давлением, состава перфузата, условий скорости потока и канюляции легкого. По его результатам и на основе блок-схемы был собран гидродинамический стенд, представленный на рис. 7.

После установки и подключения всех канюль в контур мы убедились, что легкие вентилируются и на протяжении всей линии нет протечек перфузата. Кислородный обмен увеличивался, как только аппарат искусственной вентиляции легких включался в работу и раздувал легкие, чтобы задействовать больше альвеол для газообмена. Нам предстоит дальнейшие исследования в области оптимизации гидродинамического стенда и дальнейшей проработки методики *ex vivo* перфузии легких.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Была спроектирована и разработана серия малообъемных мембранных оксигенаторов ($n = 10$). В табл. 2 приведены расчетные и полученные физические характеристики оксигенаторов.

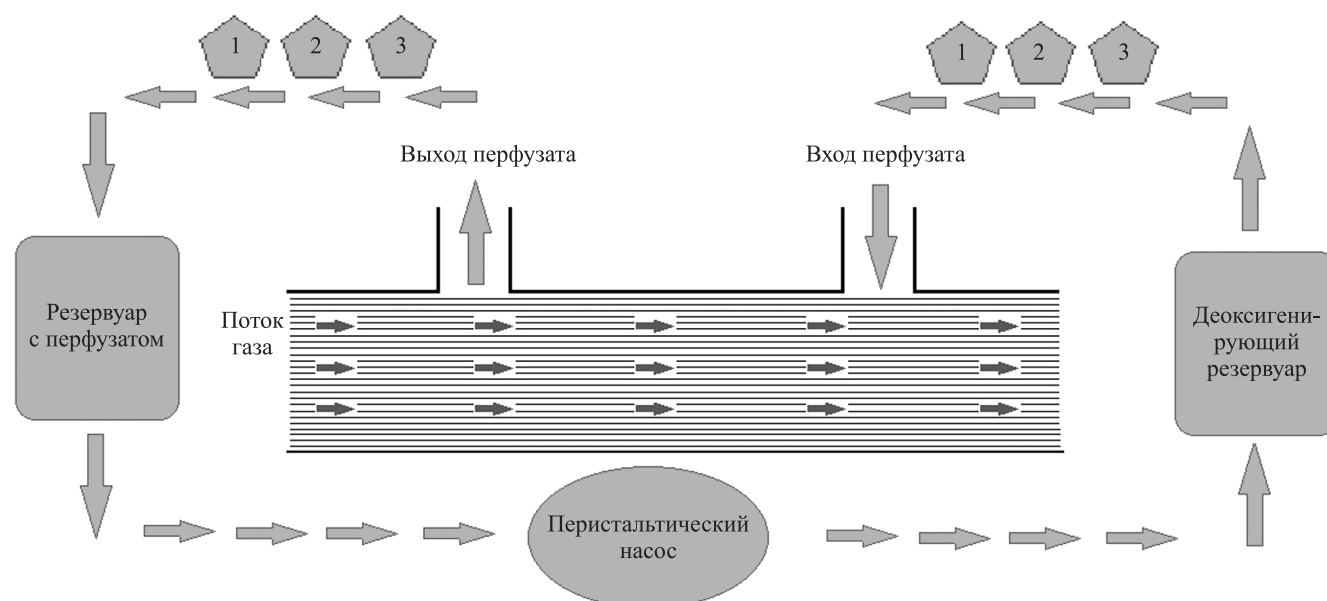


Рис. 5. Схема гидродинамического стенда для исследования разработанных оксигенаторов *in vitro* (1, 2, 3 — датчики температуры, давления и порт для отбора проб)

Fig. 5. Diagram of the hydrodynamic test bench for the study of the developed oxygenators *in vitro* (1, 2, 3 — temperature and pressure sensors and a sampling port)

Средний объем заполнения разработанного оксигенатора составляет $1,5 \pm 0,5$ мл.

Экспериментальные исследования на гидродинамическом стенде для оценки работы оксигенатора с буферным раствором КХ при диапазоне изменения скорости потока перфузата от 5 до 70 мл/мин позволили получить следующие значения показателей: парциальное давление кислорода после прохождения через оксигенатор варьировало в среднем на уровне от 400 до 500 мм рт. ст., после деоксигенирующего резервуара значение составляло в среднем от 100 до 200 мм рт. ст. Перенос кислорода и PO_2 в оксигенированном буфере постепенно уменьшались с увеличением скорости потока перфузата, тогда как PO_2 постепенно увеличивалось в деоксигенированном буфере (рис. 8).

Разработанный гидродинамический стенд для изолированной *ex vivo* перфузии не выявил очевидных проблем, поэтому в дальнейшем планируется проведение серий научных исследований с мелкими животными.

ОБСУЖДЕНИЕ

Разработан эффективный мини-оксигенатор с очень малым объемом заполнения, $\approx 1,2$ мл, что является одним из самых низких показателей в настоящее время среди мембранных оксигенаторов. Наш оксигенатор эффективно оксигенирует буферный раствор КХ при скорости потока перфузата до 70 мл/мин, обеспечивая уровень парциального давления кислорода ≈ 400 мм рт. ст. в течение как минимум 90 минут.

В настоящее время в открытом доступе содержится большое количество информации об экспериментальных моделях на мелких лабораторных животных (крысы), которые представляют собой большую ценность в плане исследования многих аспектов сердечно-сосудистой и сердечно-легочной систем [14–20]. Оценка воспалительной реакции, оценка растворов, активация системы свертывания, биосовместимость новых материалов – эти и многие другие аспекты медицинской практики могут быть изучены на экспериментальных моделях животных. В данных ситуациях удобна и эффективна

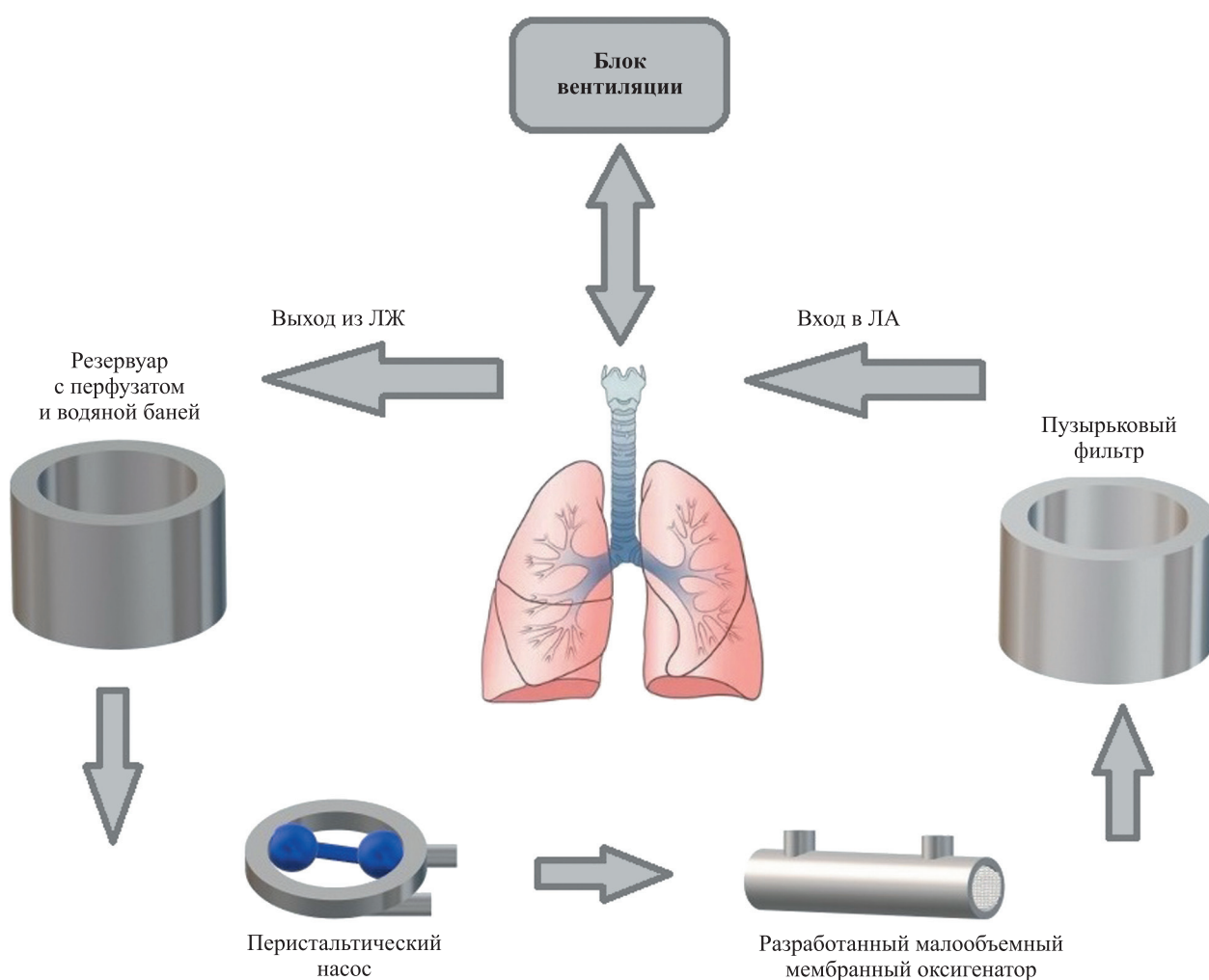


Рис. 6. Схема гидродинамического стенда для проведения изолированной *ex vivo* перфузии легкого мелкого животного

Fig. 6. Diagram of hydrodynamic test bench for isolated *ex vivo* perfusion of small animal lung

миниатюрная гидродинамическая система, особенно если для проведения эксперимента требуется контур с заполнением кровью. Именно для подобных контуров с малым объемом заполнения перфузатом и требуется оксигенатор, подобный тому, который был разработан.

Несмотря на то что была произведена серия из нескольких мини-оксигенаторов с объемом заполнения <2,0 мл, наблюдались некоторые различия между образцами, повлиявшие на первичную оценку разработанного мини-оксигенатора. Представленные в статье результаты следует рассматривать как стартовый шаг к разработке более совершенной модели и оптимизации ее производства.

Потенциал использования данных оксигенаторов высокий. Большой научный и практический интерес представляют данные, полученные при использовании мини-оксигенатора в составе контура на разработанном гидродинамическом стенде для

изолированной *ex vivo* перфузии легких мелких животных. Как мини-оксигенатор, так и миниатюрный гидродинамический стенд открывают принципиально новые возможности в техническом обеспечении экспериментов по изучению *ex vivo* перфузии легких на модели мелких лабораторных животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан мини-оксигенатор и оценена его функция. Оксигенатор эффективен и надежен для оксигенации физиологического буферного раствора в диапазоне скоростей потока, обычно используемых при работе с экспериментальными моделями мелких лабораторных животных.

Параметры работы оксигенатора остаются стабильными в течение не менее 90 минут, что является достаточным периодом времени для большинства экспериментальных протоколов.

Созданный оксигенатор позволил разработать экспериментальные протоколы, для которых объем перфузата и/или размер доступных оксигенаторов были ограничивающими факторами для их обеспечения, в частности, гидродинамический стенд для изолированной *ex vivo* перфузии легких мелких животных

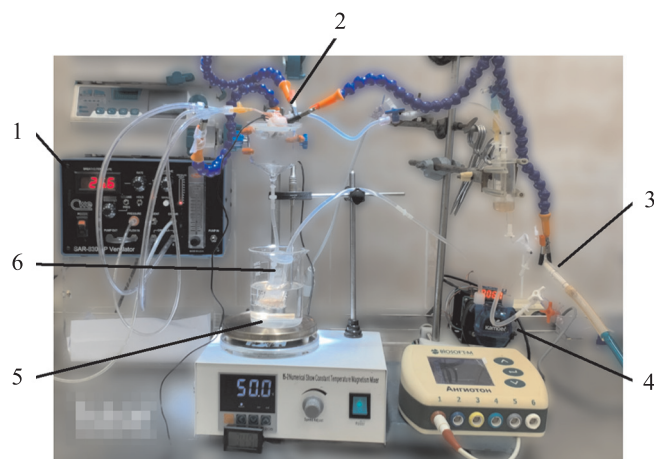


Рис. 7. Гидродинамический стенд для изолированной *ex vivo* перфузии легких мелких животных: 1 – блок вентиляции; 2 – донорские органы мелкого животного; 3 – новый малообъемный оксигенатор; 4 – перистальтический насос; 5 – водяная баня; 6 – резервуар с перфузатом

Fig. 7. Hydrodynamic test bench for isolated *ex vivo* perfusion of small animal lungs: 1 – ventilation unit; 2 – small animal donor organs; 3 – new low-volume oxygenator; 4 – peristaltic pump; 5 – water bath; 6 – perfusate tank

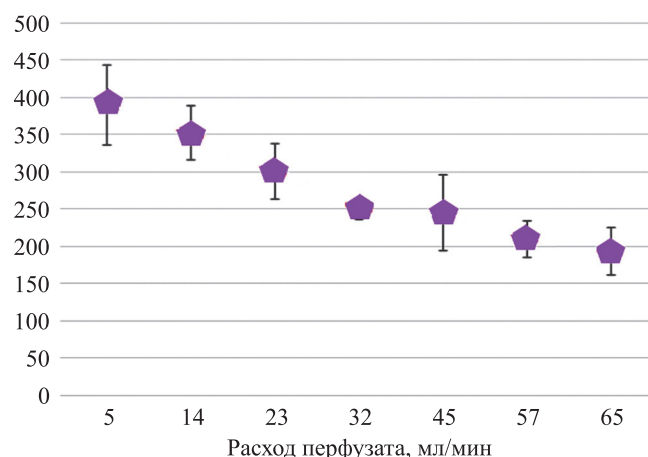


Рис. 8. Перенос кислорода, обеспечиваемый оксигенатором

Fig. 8. Oxygen transport provided by the oxygenator

Таблица 2

Теоретические и фактические характеристики малообъемных мембранных оксигенаторов Theoretical and actual characteristics of low-volume membrane oxygenators

	Теоретическое значение	Фактическое значение
Общая длина оксигенатора, см	10	13
Внешний диаметр оксигенатора, мм	5	5–6
Внутренний диаметр оксигенатора, мм	7	7–8
Вес оксигенатора, г	До 15	12,7 ± 1,1
Среднее количество открытых волокон, ед.	90–95	100 ± 8
Эффективная рабочая поверхность линейки волокон, см ²	90	78 ± 6
Расход перфузата, мл/мин	До 80	До 70

актуален для изучения и разработки собственных методов и подходов *ex vivo* перфузии донорских легких. Будут продолжаться дальнейшие исследования в данной области.

Авторы заявляют об отсутствии

конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fu X, Su Z, Wang Y, Sun A, Wang L, Deng X et al. Comparison of hemodynamic features and thrombosis risk of membrane oxygenators with different structures: A numerical study. *Comput Biol Med.* 2023; 159: 106907.
2. De Vroeghe R, Wagemakers M, Te Velthuis H, Bulder E, Paulus R, Huybregts R et al. Comparison of three commercially available hollow fiber oxygenators: Gas transfer performance and biocompatibility. *ASAIO J.* 2001; 47: 37–44.
3. Berner M, Clement D, Stadelmann M, Kistler M, Boone Y, Carrel TP et al. Development of an ultra mini-oxygenator for use in low-volume, bufferperfused preparations. *Int J Artif Organs.* 2012; 35: 308–315.
4. Karimova A, Robertson A, Cross N, Smith L, O'Callaghan M, Tuleu C et al. A wet-primed extracorporeal membrane oxygenation circuit with hollowfiber membrane oxygenator maintains adequate function for use during cardiopulmonary resuscitation after 2 weeks on standby. *Crit Care Med.* 2005; 33: 1572–1576.
5. Kim WG, Choi SH, Kim JH. Temperature control using a heat exchanger of a cardioplegic system in cardiopulmonary bypass model for rats. *Artif Organs.* 2008; 32 (12): 993–998.
6. Günzinger R, Wildhirt SM, Schad H, Heimisch W, Gurdan M, Mendler N et al. A rat model of cardiopulmonary bypass with cardioplegic arrest and hemodynamic assessment by conductance catheter technique. *Basic Res Cardiol.* 2007; 102 (6): 508–517.
7. Jungwirth B, Mackensen GB, Blobner M, Neff F, Reichart B, Kochs EF, Nollert G. Neurologic outcome after cardiopulmonary bypass with deep hypothermic circulatory arrest in rats: description of a new model. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006; 131 (4): 805–812.
8. Ordodi VL, Paunescu V, Mic AA, Ionac M, Sandesc D, Mic FA. A small scale oxygenator for cardiopulmonary bypass in rats. *Int J Artif Organs.* 2006; 29 (8): 750–755.
9. Dong GH, Xu B, Wang CT, Qian JJ, Liu H, Huang G et al. A rat model of cardiopulmonary bypass with excellent survival. *J Surg Res.* 2005; 123 (2): 171–175.
10. Shang HW, Xiao YB, Liu M, Chen L. Establishment of an animal model of non-transsthoracic cardiopulmonary bypass in rats. *Chin J Traumatol.* 2005; 8 (5): 289–292.
11. Alexander B, Von Arnem T, Aslam M, Kolhe PS, Benjamin IS. Practical miniaturized membrane oxygenator for isolated organ perfusion. *Lab Invest.* 1984; 50 (5): 597–603.
12. You XM, Nasrallah F, Darling E, Robins M, Nieman G, Searles B. Rat cardiopulmonary bypass model: application of a miniature extracorporeal circuit composed of asanguinous prime. *J Extra Corpor Technol.* 2005; 37 (1): 60–65.
13. Ogura M, Yamamoto Y, Ogura Y. A new simple temperaturecontrolled membrane oxygenator for the perfusion of isolated rat livers. *Experientia.* 1985; 41 (1): 139–141.
14. Gourlay T, Ballaux PK, Draper ER, Taylor KM. Early experience with a new technique and technology designed for the study of pulsatile cardiopulmonary bypass in the rat. *Perfusion.* 2002; 17: 191–198.
15. Fabre O, Zegdi R, Vincentelli A et al. A recovery model of partial cardiopulmonary bypass in the rat. *Perfusion.* 2001; 16 (3): 215–220.
16. Houston RJ, de Lange F, Kalkman CJ. A new miniature fiber oxygenator for small animal cardiopulmonary bypass. *Adv Exp Med Biol.* 2003; 540: 313–316.
17. Bell RM, Mocanu MM, Yellon DM. Retrograde heart perfusion: The Langendorff technique of isolated heart perfusion. *J Mol Cell Cardiol.* 2011; 50 (6): 940–950.
18. DeCampos KN, Keshavjee S, Liu M, Slutsky AS. Optimal inflation volume for hypothermic preservation of rat lungs. *J Heart Lung Transplant.* 1998; 17: 599–607.
19. Noda K, Shigemura N, Tanaka Y, Bhama JK, D'Cunha J, Luketich JD, Bermudez CA. Successful prolonged *ex vivo* lung perfusion for graft preservation in rats. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2014; 45: 54–60.
20. Cypel M, Yeung JC, Liu M, Anraku M, Chen F, Karolak W et al. Normothermic *ex vivo* lung perfusion in clinical lung transplantation. *N Engl J Med.* 2011; 364: 1431–1440.

Статья поступила в редакцию 20.06.2023 г.

The article was submitted to the journal on 20.06.2023