

DOI: 10.15825/1995-1191-2023-4-150-159

НОРМОТЕРМИЧЕСКАЯ АУТОПЕРФУЗИЯ СЕРДЕЧНО-ЛЕГОЧНОГО КОМПЛЕКСА *EX VIVO*: ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА И МЕТАБОЛИЗМА

А.Р. Таркова¹, И.С. Зыков¹, М.О. Жульков¹, А.В. Протопопов¹, Я.М. Смирнов³,
А.Г. Макаев¹, А.В. Гусева¹, Ф.Ю. Косимов², М.Н. Муртазалиев¹, А.Д. Лиманский^{1, 3},
Д.А. Сирота^{1, 2}, Е.Э. Кливер¹, В.Е. Кливер², А.М. Волков¹, А.М. Чернявский^{1, 2}

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

³ Институт медицины и психологии В. Зельмана Новосибирского государственного университета, Новосибирск, Российская Федерация

Цель: провести сравнительное исследование эффективности 6-часовой нормотермической аутоперфузии сердечного трансплантата *ex vivo* и фармакохолодовой консервации раствором Bretschneider (Custodiol®, Германия). **Материалы и методы.** В качестве модели для проведения серии острых экспериментов были использованы свиньи породы ландрас весом 50 ± 5 кг в возрасте 4–5 месяцев ($n = 10$). В экспериментальной группе ($n = 5$) кондиционирование сердечно-легочного комплекса проводили методом аутоперфузии в течение 6 часов. В контрольной группе восстановление насосной функции сердца выполняли после 6-часовой фармакохолодовой консервации раствором Bretschneider. Оценка эффективности консервации трансплантата проводили путем измерения параметров гемодинамики, сократительной функции миокарда, потребления миокардом кислорода. **Результаты.** После реперфузии и повторной изоляции работающего сердечно-легочного комплекса сердечный выброс составил $0,63 [0,37; 0,8]$ л/мин и $0,37 [0,23; 0,37]$ л/мин в экспериментальной и контрольной группах соответственно ($p < 0,05$). Показатели – глобальная ударная работа левого желудочка и рекрутируемая преднагрузка ударная работа сердца – были значительно выше в экспериментальной группе ($p < 0,05$). **Заключение.** В ходе проведенного исследования было показано значительное преимущество нормотермической аутоперфузии в сохранении морфофункционального статуса донорского сердца по сравнению со статической фармакохолодовой консервацией раствором Bretschneider в течение 6 часов.

Ключевые слова: фармакохолодовая консервация, трансплантация сердца, консервация сердца, аутоперфузия, нормотермическая перфузия, реперфузионное повреждение.

NORMOTHERMIC *EX VIVO* HEART AND LUNG AUTOPERFUSION: ASSESSMENT OF FUNCTIONAL STATUS AND METABOLISM

A.R. Tarkova¹, I.S. Zykov¹, M.O. Zhulkov¹, A.V. Protopopov¹, Ya.M. Smirnov³, A.G. Makaev¹,
A.V. Guseva¹, F.Yu. Kosimov², M.N. Murtazaliev¹, A.D. Limansky^{1, 3}, D.A. Sirota^{1, 2},
E.E. Kliver¹, V.E. Kliver², A.M. Volkov¹, A.M. Chernyavsky^{1, 2}

¹ Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russian Federation

² Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

Objective: to carry out a comparative study of the efficacy of a 6-hour normothermic *ex vivo* heart and lung autoperfusion and cold cardioplegia using Bretschneider's solution (Custodiol®, Germany). **Materials and methods.** Landrace pigs weighing 50 ± 5 kg at the age of 4–5 months ($n = 10$) were used as a model for a series of acute

Для корреспонденции: Макаев Александр Геннадьевич. Адрес: 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15. Тел. (905) 198-33-31. E-mail: makaev_a@meshalkin.ru

Corresponding author: Alexander Makaev. Address: 15, Rechkunovskaya str., Novosibirsk, 630055, Russian Federation. Phone: (905) 198-33-31. E-mail: makaev_a@meshalkin.ru

experiments. In the experimental group ($n = 5$), the cardiopulmonary complex was conditioned by autoperfusion for 6 hours. In the control group, the heart pumping function was restored after 6-hour cold cardioplegia using Bretschneider's solution. The efficiency of graft preservation was assessed by measuring hemodynamic parameters, myocardial contractile function, and myocardial oxygen consumption. **Results.** After reperfusion and repeated isolation of the working cardiopulmonary complex, cardiac output was 0.63 [0.37; 0.8] L/min and 0.37 [0.23; 0.37] L/min in the experimental and control groups, respectively ($p < 0.05$). Indicators – global left ventricular stroke work index and preload recruitable stroke work – were significantly higher in the experimental group ($p < 0.05$). **Conclusion.** Normothermic autoperfusion is significantly more effective in preserving the morphofunctional status of a donor heart than static cold storage with Bretschneider solution for 6 hours.

Keywords: cold cardioplegia, cardiac transplantation, heart preservation, autoperfusion, normothermic perfusion, ischemia-reperfusion injury.

ВВЕДЕНИЕ

Ишемическое реперфузионное повреждение (ИРП) является основным неблагоприятным результатом восстановления кровотока в донорском сердце, а также главной причиной ранней дисфункции трансплантата. В большинстве случаев забор донорского сердца начинается с прекращения кровоснабжения и отмывки *in situ* холодным консервирующим раствором с последующей эксплантацией и хранением на льду [1]. При этом, несмотря на целый ряд негативных последствий, данный способ фармакохолодовой консервации остается «золотым стандартом» сохранения донорских органов. Охлаждение органа до 4 °С замедляет клеточный обмен веществ, тем самым снижая потребность в кислороде, однако анаэробный метаболизм и другие клеточные метаболические процессы продолжают и при более низких температурах [2–4].

Несмотря на то что каскад ИРП включается во всех донорских трансплантатах, его обратимость, как и пределы пластичности компенсаторных механизмов эндотелиальной ауторегуляции, главным образом определяются длительностью периода ишемии трансплантата. Длительная ишемия особенно опасна для сердечного трансплантата из-за чрезвычайной чувствительности миокарда к гипоксии [5]. При использовании фармакохолодового способа консервации трансплантаты сердца могут быть безопасно сохранены в течение 4–6 часов, дальнейшее увеличение времени ишемии приводит к повышению риска развития ранней дисфункции трансплантата [1, 6]. Технологии аппаратной перфузии донорского сердца позволяют избежать развития характерных для методов статичной холодовой консервации осложнений, однако поиск оптимальной схемы и режима проведения коронарной перфузии сердечного трансплантата *ex vivo* продолжает оставаться предметом исследований. Несмотря на доказанную безопасность перфузионной поддержки донорского сердца *ex vivo* на этапе транспортировки, проблема оценки сократительной способности трансплантата остается нерешенной. Устройство, используемое в клинической практике – система OCS™ Heart Transmedics®

(Andover, MA, USA), – базируется на принципе, описанном О. Лангендорфом в конце 1800-х годов [7]. В данной системе оксигенированный перфузат нагнетается ретроградно в корень аорты, заставляя аортальный клапан закрываться, при этом оттекающая из коронарного синуса венозная кровь дренируется активно либо за счет собственного выброса правого желудочка в резервуар [8, 9].

Коронарная перфузия, по О. Лангендорфу, является эффективным способом обеспечения метаболических потребностей миокарда, но поскольку в данной схеме перфузии левый желудочек остается разгруженным, оценка насосной функции сердца, а значит, и прогнозирование функционального исхода трансплантации, затруднены. Описанные в 1926 году Е.Н. Starling и М.В. Visscher эксперименты с гемодинамической изоляцией сердечно-легочного комплекса стали широко известны благодаря обнаруженной авторами закономерности, описывающей взаимосвязь диастолического объема сердца и силы сердечных сокращений [10, 11]. В то же время использование методики изоляции аутоперфузируемого сердечно-легочного комплекса может обеспечить не только длительное и эффективное существование трансплантата *ex situ*, но и проведение динамической оценки сократительной способности с использованием ультразвуковых методов диагностики [12].

Невозможность эффективно оценить качество донорского органа часто приводит к ошибкам прогнозирования последствий его использования, а идея «лучше перестраховаться, чем потом сожалеть» приводит к значительному числу отказов от использования органов, несмотря на то что они, возможно, были пригодны для пересадки [13]. В дополнение к оценке лабораторных параметров качества функционирования донорского органа нормотермическая аутоперфузия позволит проводить более сложные диагностические процедуры, такие как эхокардиография *ex vivo* или коронароангиография [14]. Техника функциональной эхокардиографической оценки донорского сердца в эксперименте была подробно описана в недавно опубликованной работе G.M. Ruggeri et al., в данном исследовании были получены сопоставимые

результаты *ex vivo* оценки сердца при условии объемной нагрузки с таковыми при стандартной чреспищеводной или трансторакальной эхокардиографии сердца [15].

Таким образом, возможность замены периода холодовой асистолии нормотермической аутоперфузией имеет потенциал устранения негативных последствий длительной ишемии. Это может позволить доставлять донорские органы на большие расстояния, увеличить доступ к трансплантации в отдаленных регионах, а также обеспечить подбор оптимального донора и реципиента вне зависимости от их географической удаленности [16].

Цель: провести сравнительную оценку функционального и метаболического статуса сердечного трансплантата после 6-часовой нормотермической аутоперфузии и фармакохолодовой консервации раствором Bretschneider (Custodiol®), Германия).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подготовка животных к эксперименту

В качестве модели для проведения серии экспериментов были использованы свиньи породы ландрас, самки, весом 50 ± 5 кг в возрасте 4–5 месяцев ($n = 10$). Уход, 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). В экспериментальной группе ($n = 5$) кондиционирование сердца проводили в условиях 6-часовой нормотермической аутоперфузии сердечно-легочного комплекса *ex vivo*, затем выполняли фармакохолодовую консервацию раствором Bretschneider при 4°C в течение 1 часа с последующей реперфузией аппаратом искусственного кровообращения. В качестве группы контроля ($n = 5$) выступали сердца, консервированные в течение 6 часов согласно принятому в клинике протоколу фармакохолодовой консервации трансплантата раствором Bretschneider.

В день эксперимента всем животным натошак выполняли премедикацию (золетил-100). Дозу подбирали индивидуально, согласно весоростовым параметрам. После наступления сна подготавливали операционное поле и область катетеризации сосудов шеи. Затем животное транспортировали на операционный стол 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 (рокурония бромид). Искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) проводили с помощью наркозно-дыхательного аппарата FabiusPlus (Draeger, ФРГ) 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. Параметры жизнедеятельности фиксировали с помощью монитора типа IntelliVue MP70 (Philips, Нидерланды).

Во время экспериментов проводили мониторинг инвазивного артериального давления в полостях сердца и магистральных сосудах, нарушений ритма сердца (электрокардиография), температуры органокомплекса. Анализ крови проводили с помощью автоматического гематологического анализатора XT-4000i (Sysmex, Германия) согласно рекомендациям производителя. Параметры центральной гемодинамики исследовали путем катетеризации правых отделов сердца катетером Свана–Ганса, а также с помощью портативной многофункциональной ультразвуковой системы Philips CX50 (Philips Ultrasound, USA) с ЭКГ-синхронизацией с использованием секторного фазированного датчика S5-1. Позиция датчика *ex vivo* по длинной оси левого желудочка и в апикальной четырехкамерной позиции. Диастолическую функцию левого желудочка оценивали путем расчета скорости изменения давления в ЛЖ во время изоволюмического расслабления ($-dP/dt$). Ввиду отсутствия митральной регургитации показатель $-dP/dt$ был рассчитан альтернативным методом неинвазивной оценки по формуле:

$$-dP/dt = (DBP - LVEDP) = IVRT,$$

где DBP – диастолическое артериальное давление; LVEDP – конечно-диастолическое давление в левом желудочке.

LVEDP оценивали на основании отношения пиковой скорости митрального притока E/A: LVEDP = 10 мм рт. ст., если E/A 1,6, и 20 мм рт. ст., если E/A >1,6. IVRT – время изоволюмического расслабления, которое рассчитывается путем вычитания T1 (времени от начала QRS до окончания кровотока в выходном тракте ЛЖ) из T2 (время от начала QRS до начала потока через митральную клапан) согласно методике, подробно описанной в работе R. Parekh et al. [17]. Сердечную функцию оценивали путем расчета сердечного выброса (CB), глобальной ударной работы левого желудочка – SWLV (от англ. stroke work left ventricular) по формуле $SW = SV \times (ESP - EDP)$, где SV (от англ. stroke volume) – ударный объем, ESP (от англ. end-systolic pressure) – конечно-систолическое давление и EDP (от англ. end-diastolic pressure) – конечно-диастолическое давление, рекрутируемой преднагрузкой ударной работы сердца – PRSW (от англ. preload recruitable stroke work) как отношение SWLV и EDP.

Для оценки эффективности дыхательной функции аутологических легких проводили мониторинг газового состава образцов крови, взятых из левого предсердия при помощи анализатора Radiometer

ABL800 FLEX (Дания). Потребление миокардом кислорода рассчитывали по формуле:

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

мл- O_2 /мин/100 г,

где $[O_2]_a$ – содержание кислорода в артериальной крови; $[O_2]_{cs}$ – содержание кислорода в крови коронарного синуса; CAF – коронарный кровоток; LV mass – масса миокарда левого желудочка.

Содержание кислорода в крови рассчитывали по формуле:

$$O_2 = \frac{\%O_2 \text{ Sat} \times [Hb] \times O_2 \text{ capacity of Hb (1,34 мл } - O_2/\text{г)}}{100},$$

мл- O_2 /дл.

Коронарное сосудистое сопротивление (CVR) рассчитывали по формуле:

$$CVR = \frac{(иАДАо(ср) - иДПП(ср))}{CBF \times 100 \text{ г}},$$

где иАДАо(ср) – среднее инвазивное давление в корне аорты; иДПП(ср) – среднее инвазивное давление в правом предсердии; CBF – коронарный кровоток (от англ. *coronary blood flow*, мл/мин).

Хирургическая техника эксперимента

Эксплантацию работающего сердечно-легочного комплекса (СЛК) выполняли через срединную стернотомию. Изоляцию СЛК начинали с удаления перикарда и мобилизации верхней полой вены (ВПВ), затем выделяли брахиоцефальный ствол (БЦС), левую подключичную артерию (ЛПКА), нижнюю полую вену (НПВ). Трахею осторожно отделяли от пищевода, используя электрокоагулятор, добываясь гемостаза. После введения гепарина (3 мг/кг массы тела) ЛПКА перевязывали максимально дистально, через культю артерии устанавливали интродьюсер для измерения иАД в корне аорты и проведения диагностических катетеров. Затем лигировали и пересекали БЦС, в культю артерии устанавливали артериальную канюлю 18 Fr, которую соединяли с артериальным резервуаром, фиксированным на высоте 1 метра над уровнем сердца. После пережатия нисходящей грудной аорты на уровне перешейка открывали артериальную магистраль и начинали забор артериальной крови в резервуар. После стабилизации уровня крови и артериального давления в бедренную вену вводили 1–1,5 литра раствора Рингера. После этого перевязывали и пересекали полые вены, трахею пересекали и повторно интубировали трубкой с манжетой. Функционирующий СЛК окончательно отделяли от окружающих тканей, переносили в контейнер с теплым физиологическим раствором (38 °C),

пережимали артериальную магистраль и продолжали наблюдение в течение 6 часов. На всем протяжении аутоперфузии производили непрерывную инфузию 5% раствора кальция хлорида (3–5 мл/ч) и 10% глюкозы (5–10 мл/ч) для поддержания уровня в крови в референтном интервале.

После 6 часов нормотермической аутоперфузии СЛК выполняли кардиоплегию введением в корень аорты 2 литров раствора Bretschneider (Custodiol® , Германия, НТК). Затем СЛК хранили в растворе Bretschneider при температуре 4 °C в течение 1 часа. По прошествии этого времени сердце перфузировали в течение 15–20 минут с использованием аппарата искусственного кровообращения, заполненного собственной кровью животного. В случае необходимости проводили электрическую дефибрилляцию. После согревания и восстановления сердечной деятельности СЛК наполняли кровью, изолировали и проводили ультразвуковую оценку сердечной деятельности.

Образцы тканей для гистологического исследования иссекали из верхушечной части левого желудочка сердца и средней доли левого и правого легких, фиксировали в 10% нейтральном формалине, после фиксации обезжировали в спиртах возрастающей крепости и заливали в парафин с помощью диспенсера с нагревающей и охлаждающей платами. Из парафиновых блоков на микротоме Microm HM 550 приготавливали гистологические срезы толщиной 4–5 мкм. Перед окраской проводили депарафинацию срезов по 10–15 минут в двух порциях чистого ксилола, с последующим удалением его в трех порциях спирта нисходящей крепости (абсолютный – 70°) до дистиллированной воды. Гистологические срезы окрашивали по стандартным методикам: гематоксилином и эозином, по методу Ван-Гизона с комбинированной докраской эластических волокон орсеином, а также проводили PAS-реакцию. Полярно-микроскопическое исследование миокарда проводили на микроскопе Axio Scope.A1 (Zeiss, Германия), снабженного анализатором и поляризатором, фотокамерами AxioCam HRm и AxioCam HRc (Zeiss, Германия) и программным обеспечением ZEN blue (Zeiss, Германия).

Статистическую обработку проводили с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка с последующей оценкой равенства дисперсий по критерию Левена. Достоверность различий между сравниваемыми группами (p) для непрерывных данных рассчитывалась с использованием непараметрических критериев Mann–Whitney в независимых группах и Wilcoxon – в зависимых. Уровень значимости между сравниваемыми группами считали достоверным при $p < 0,05$, что соответствует критериям, принятым в медико-биологических исследованиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Во всех экспериментах с целью компенсации ад-рэнергической стимуляции на этапе реперфузии вводили 0,3–0,5 мл 0,01% раствора эпинефрина. Однако несмотря на это, сердца контрольной группы не были способны поддерживать артериальное давление в корне аорты на уровне 60 мм рт. ст., а в большинстве экспериментов спустя 5–10 минут самостоятельной работы СЛК наблюдались брадикардия и выраженное расширение камер сердца, требующее неотложного дренирования камер и реперфузии при помощи аппарата искусственного кровообращения.

При этом в экспериментальной группе время реперфузии, необходимое для отлучения СЛК от искусственного кровообращения с возможностью самостоятельно поддерживать уровень артериального давления в корне аорты не ниже 60 мм рт. ст., составило 87 [67; 102] мин и 19 [17,5; 22,5] мин (p < 0,05) в контрольной и экспериментальной группах соответственно. При этом во всех экспериментах контрольной группы восстановление сердечного ритма требовало проведения многократной электрической дефибрилляции (до 10 разрядов) с последующей электрокардиостимуляцией. Основные параметры гемодинамики представлены в табл. 1.

Насосную функцию сердца оценивали исходно и в течение часа после окончания реперфузии и повторной гемодинамической изоляции СЛК. Основные параметры ультразвукового исследования сердца приведены в табл. 2.

Оценку диастолической функции проводили в трех точках: 1) исходно, 2) сразу после реперфузии и восстановления аутоперфузии, 3) через час после отлучения от искусственного кровообращения. При

Таблица 1

Основные параметры гемодинамики
Basic hemodynamic parameters

Параметр	Группа	Контрольная (n = 5)		Экспериментальная (n = 5)	
		До консервации	После консервации	До консервации	После консервации
ЧСС, уд/мин		91,2 ± 14,8	100 (ЭКС)	93,3 ± 11,7	100 (ЭКС)
иДПП _(ср) , мм рт. ст.		4,0 ± 1,4	11,4 ± 1,9*	7,4 ± 1,5	7,0 ± 2,3 [#]
иДЛП _(ср) , мм рт. ст.		4,0 ± 1,9	10,3 ± 1,6*	3,4 ± 1,8	9,4 ± 1,6*
иАДАо _(ср) , мм рт. ст.		70,6 ± 12,5	63,0 ± 15,8	67,2 ± 9,7	63,0 ± 7,5
иАДЛа _(ср) , мм рт. ст.		15,5 ± 3,2	16,4 ± 3,7	15,3 ± 4,2	13,3 ± 3,3
СVR, мм рт. ст. × мин/мл/100 г		8,03 ± 1,5	13,9 ± 4,3*	7,1 ± 1,3	8,8 ± 1,1* [#]

Примечание. Данные представлены как M ± SD; * – p < 0,05 в сравнении с исходными значениями; [#] – p < 0,05 в сравнении с группой контроля; ЧСС – частота сердечных сокращений; иДПП_(ср) – среднее инвазивное давление в правом предсердии; иДЛП_(ср) – среднее инвазивное давление в левом предсердии; иАДАо_(ср) – среднее инвазивное давление в аорте; иАДЛа_(ср) – среднее инвазивное давление в легочной артерии; CVR – коронарное сосудистое сопротивление; ЭКС – электрокардиостимулятор.

Note. Data are presented as M ± SD; * – p < 0.05 compared with baseline values; [#] – p < 0.05 compared with control group; ЧСС – heart rate; иДПП_(ср) – mean invasive right atrial pressure; иДЛП_(ср) – mean invasive left atrial pressure; иАДАо_(ср) – mean invasive aortic pressure; иАДЛа_(ср) – mean invasive pulmonary artery pressure; CVR – coronary vascular resistance; ЭКС – pacemaker.

Таблица 2

Основные параметры сократительной функции миокарда
Basic parameters of myocardial contractile function

Параметр	Группа	Контрольная (n = 5)		Экспериментальная (n = 5)	
		До консервации	После консервации	До консервации	После консервации
СО, л/мин		0,83 [0,74; 1,86]	0,37* [0,23; 0,37]	0,84 [0,78; 0,94]	0,63 [#] [0,37; 0,8]
SWLV, мл		26,09 [5,25; 48,25]	12,67* [1,9; 27,4]	33,89 [21,4; 47,9]	21,06 [#] [15,28; 27,25]
PRSW, мл		0,63 [0,06; 1,2]	0,25* [0,03; 0,57]	0,65 [0,42; 0,88]	0,57 [#] [0,34; 0,76]

Примечание. Данные представлены как Me [Q1; Q3]. * – p < 0,05 в сравнении с исходными значениями; [#] – p < 0,05 в сравнении с группой контроля.

Note. Data are presented as Me [Q1; Q3]. * – p < 0.05 compared with baseline values; [#] – p < 0.05 compared with control group.

оценке скорости изменения давления в ЛЖ во время изоволюмического расслабления ($-dP/dt$) в контрольной группе наблюдали значительное снижение $-dP/dt$, что говорит об ухудшении диастолической функции сердца, в то время как в экспериментальной группе данный показатель изменялся незначительно (рис. 1).

При гистологическом исследовании в образцах миокарда, взятых после реперфузии в контрольной группе, в кардиомиоцитах наблюдались явления карioreкиса и исчезновения ядер. Несмотря на наличие свободного просвета кровеносных сосудов, вокруг них наблюдался умеренный периваскуляр-

ный отек, распространяющийся на интерстиций, в котором встречались единичные лейкоциты (рис. 2).

В экспериментальной группе в отличие от контрольной степень выраженности внутриклеточного и межклеточного отека была значительно меньше, а явления лейкодиapedеза в интерстиции – более выраженными. Отмечалась сохранность поперечной исчерченности кардиомиоцитов с зонами усиления анизотропии и субсегментарных контрактур (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Нормотермическая перфузия *ex vivo* является перспективным методом кондиционирования донорского сердца, позволяющим существенно сократить период холодовой ишемии трансплантата, а также выполнять широкий скрининг метаболических и функциональных параметров [9, 18, 19]. Более того, применение методик аппаратной перфузии сердца *ex situ* доказанно позволяет восстановить функцию органа пограничного статуса и тем самым увеличить количество и качество трансплантатов, доступных для пересадки [20]. Однако несмотря на ряд проведенных исследований, выбор оптимального режима, а также чувствительность диагностических маркеров в прогнозировании функционального исхода трансплантации по-прежнему является предметом дискуссии.

Ауторегуляция коронарного кровотока – одно из важнейших свойств, сохранение которого во многом обуславливает компенсаторную пластичность трансплантата в разрешении ишемического реперфузионного повреждения. В свою очередь, сохранение данного свойства коронарного русла во многом

Таблица 3
Потребление миокардом кислорода
(мл-О₂/мин/100 г)
Myocardial oxygen consumption
(mL-O₂/min/100 g)

Группа	До консервации	После консервации
Контрольная (n = 5)	12,44 [7,9; 18,5]	8,52 [4,25; 12,65]
Экспериментальная (n = 5)	15,44 [8,7; 22,4]	117*# [106,5; 131]

Примечание. Данные представлены как Me [Q1; Q3]; * – $p < 0,05$ в сравнении с исходными значениями; # – $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля.

Note. Data are presented as Me [Q1; Q3]; * – $p < 0.05$ compared to baseline values; # – $p < 0.05$ compared to control group.

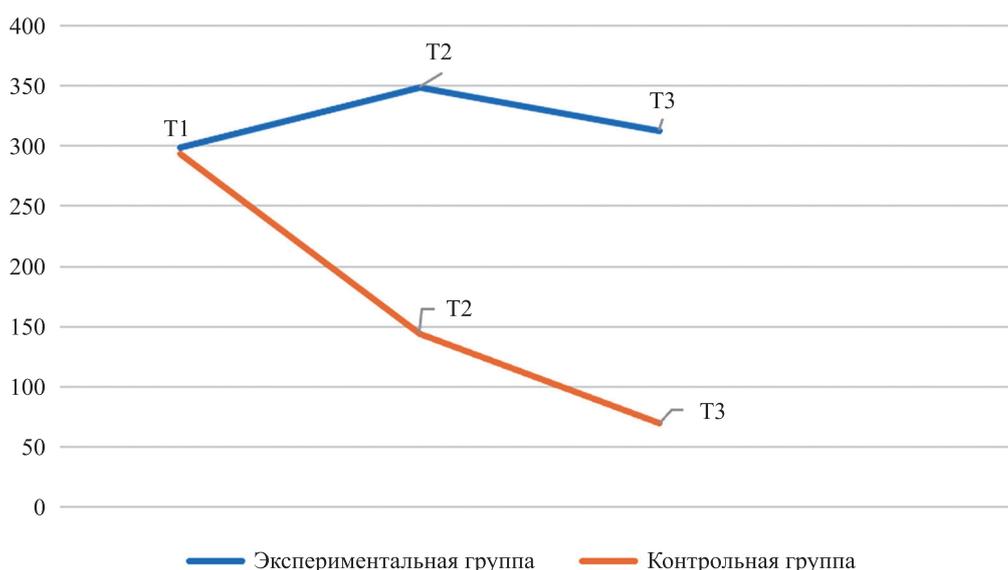


Рис. 1. Динамика изменения $-dP/dt$ в течение эксперимента. T1 – исходно; T2 – сразу после реперфузии и восстановления аутоперфузии; T3 – через час после отлучения от искусственного кровообращения

Fig. 1. Dynamics of $-dP/dt$ changes during the experiment. T1 – baseline; T2 – immediately after reperfusion and restoration of autoperfusion; T3 – one hour after weaning from cardiopulmonary bypass

определяется характеристиками коронарного потока. Успешно используемая сегодня система TransMedics Organ Care System (OCS) обеспечивает коронарный поток в диапазоне от 650 до 900 мл/мин, с перфузионным давлением от 60 до 80 мм рт. ст. [21, 22]. Однако S. Natami et al. в своих исследованиях пришли к выводу, что запасы энергии в миокарде могут быть сохранены при аортальном перфузионном давлении до 40 мм рт. ст. [23]. По данным S. Repse et al., вазомоторная регуляция коронарного русла существенно изменяется с увеличением продолжительности аппаратной нормотермической перфузии, что приводит к избыточности коронарного кровотока с течением времени [24]. Контролируемая коронар-

ная перфузия в условиях низкого перфузионного давления потенциально может ограничить травму миокарда и эндотелия [25]. В этой связи технология нормотермической аутоперфузии трансплантата как метод пролонгированного кондиционирования представляет большой интерес, так как в данном случае гемодинамические параметры функционирования комплекса определяются собственно насосной функцией трансплантата с учетом собственных метаболических потребностей.

Результаты проведенного исследования доказывают возможность эффективного обеспечения коронарного кровотока в аутоперфузируемом сердечно-легочном комплексе. Так, ранее установленная

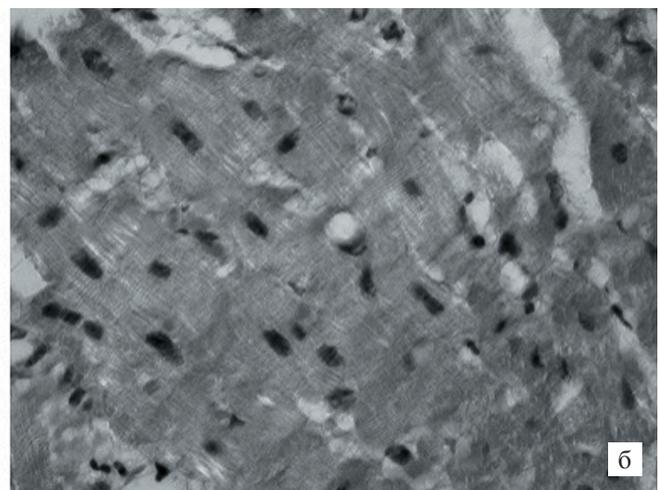
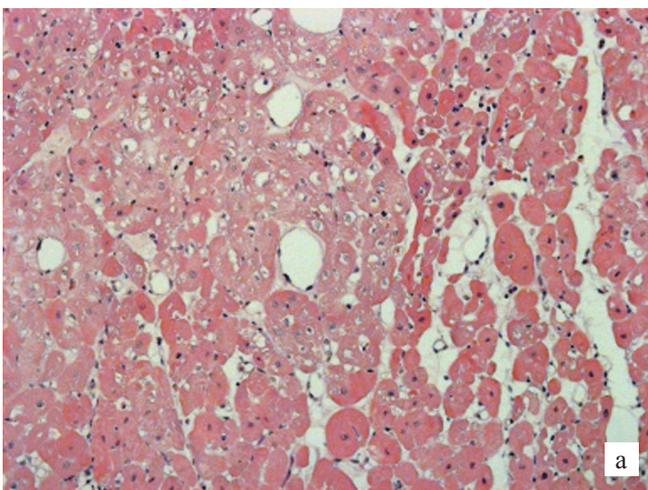


Рис. 2. Миокард левого желудочка сердца после реперфузии, контрольная группа: а – окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$; б – поляризационная микроскопия, $\times 630$

Fig. 2. Left ventricular myocardium after reperfusion, control group: a – H&E stain, $\times 400$; б – polarized light microscopy, $\times 630$

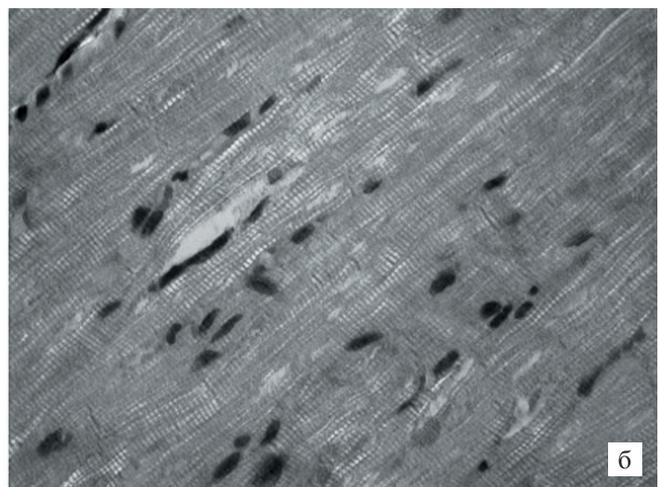
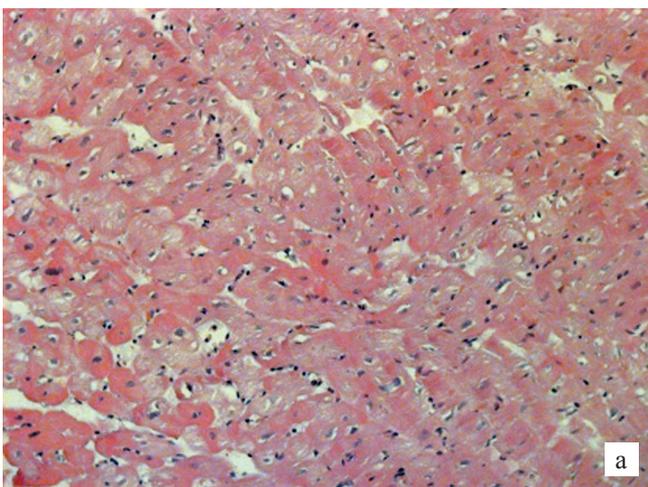


Рис. 3. Миокард левого желудочка сердца после реперфузии, экспериментальная группа: а – окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$; б – поляризационная микроскопия, $\times 630$

Fig. 3. Left ventricular myocardium after reperfusion, experimental group: a – H&E stain, $\times 400$; б – polarized light microscopy, $\times 630$

способность коронарных артерий к вазодилатации в ответ на увеличение потребления миокардом кислорода была подтверждена в проведенной серии экспериментов [26]. По данным D.J. Duncker et al., сопротивление коронарного русла в контрольной группе после реперфузии было статистически значимо выше, чем в группе аутоперфузии. Данный факт свидетельствует о сохранении регионарной вазомоторной ауторегуляции с целью поддержания адекватной, но не чрезмерной поставки кислорода миокарду.

Примененная схема полной анатомической изоляции аутоперфузируемого сердечно-легочного комплекса позволила создать необходимые условия для эффективного функционирования трансплантата *ex situ*, а также оценки функции и метаболизма. Однако наряду с очевидными преимуществами технологии аутоперфузии перед статичной холодовой консервацией вопрос сохранения структуры и газообменной функции аутологичных легких остается открытым. Наблюдаемая в ходе аутоперфузии секвестрация лейкоцитов была описана и в более ранних работах [27, 28]. При этом данное явление наблюдалось даже в случае использования лейкоцитарно обедненного перфузата. Учитывая тот факт, что степень и скорость секвестрации лейкоцитов в легких обратно пропорциональна скорости легочного кровотока, полноценное моделирование исходного сердечного выброса является главным условием успешного и длительного функционирования аутологичных легких. Сохранение исходных параметров гемодинамики также важно для прогнозирования функционального исхода трансплантации и оценки трансплантата с позиций возможности эффективно обеспечивать минутный объем кровообращения в теле реципиента.

Несмотря на ряд успешных апробаций OCS, достоверность использования профилей лактата в качестве оценочных маркеров была поставлена под сомнение множеством групп исследователей [29–31]. Также было высказано предположение, что параметры сократимости левого желудочка способны более точно предсказать поведение трансплантата после пересадки в отличие от метаболических маркеров, включая тренд лактата [32, 33].

По данным В. Gellner et al., рабочий режим перфузии с пассивной постнагрузкой позволяет более детально прогнозировать посттрансплантационную функцию сердца [34]. С.W. White et al. и L. Xin et al. в своих работах пытались нагружать левое и правое предсердия, облегчая выброс желудочков во время активной перфузии корня аорты. В серии экспериментов авторы использовали нагнетание перфузата как антеградно в левое предсердие, так и ретроградно в аорту [32, 35]. При этом в систолу левый желудочек преодолевал противодействие аорты, выбрасывая перфузат в резервуар, соединенный с брахицефальными артериями, а в диастолу противодействие в

аорте облегчало коронарную перфузию. Также в качестве альтернативы был предложен режим перфузии с пассивной постнагрузкой [28]. Вместо использования ретроградного потока для поддержания коронарной перфузии во время диастолы использовали модуль постнагрузки, основанный на принципе Windkessel [36]. Однако единственная на сегодняшний день доступная для клинического применения перфузионная платформа предполагает «холостую» работу левого желудочка.

По нашему мнению, использование в качестве ресивера Windkessel сохраненного фрагмента грудной аорты является крайне недостаточным и в случае объемной перегрузки СЛК угрожает серьезным эндотелиальным повреждением. Собственные эластические свойства стенки аорты не позволяют эффективно демпфировать сердечный выброс, превышающий 1000–1500 мл/мин, предотвращая коронарную гиперперфузию с обеспечением физиологического профиля артериального давления.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования были показаны значительные преимущества нормотермической аутоперфузии СЛК перед статичной фармакохолодовой консервацией сердца. Однако патоморфологические изменения, вызванные редукцией кровотока в малом круге кровообращения и полостях сердца, приводящие к лейкоцитарной секвестрации и отеку легких, требуют модификации контура циркуляции с включением эффективного ресивера сердечного выброса и пути возврата крови к правым отделам сердца.

Исследование выполнено в рамках проекта № 23-25-10013 (Соглашение № 23-25-10013 от 20.04.2023 г. с РНФ, Соглашение № р-52 от 03.04.2023 г. с Министерством науки и инновационной политики НСО).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Guibert EE, Petrenko AY, Balaban CL, Somov AY, Rodriguez JV, Fuller BJ. Organ Preservation: Current Concepts and New Strategies for the Next Decade. *Transfus Med Hemother.* 2011; 38 (2): 125–142. doi: 10.1159/000327033. Epub 2011 Mar 21. PMID: 21566713; PMCID: PMC3088735.
2. Van Raemdonck D, Rega F, Rex S, Neyrinck A. Machine perfusion of thoracic organs. *J Thorac Dis.* 2018 Apr; 10 (Suppl 8): S910–S923. doi: 10.21037/jtd.2018.02.85.
3. Verhoven BM, Karim AS, Bath NM, Sarabia Fahl CJ, Wilson NA, Redfield RR 3rd et al. Significant Improvement in Rat Kidney Cold Storage Using UW Organ Preservation Solution Supplemented With the Imme-

- diate-Acting PrC-210 Free Radical Scavenger. *Transplant Direct*. 2020 Jul 15; 6 (8): e578. doi: 10.1097/TXD.0000000000001032. PMID: 33134502; PMCID: PMC7581037.
4. Natalini JG, Diamond JM. Primary Graft Dysfunction. *Semin Respir Crit Care Med*. 2021 Jun; 42 (3): 368–379. doi: 10.1055/s-0041-1728794. Epub 2021 May 24. PMID: 34030200.
 5. Dhital KK, Chew HC, Macdonald PS. Donation after circulatory death heart transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2017 Jun; 22 (3): 189–197. doi: 10.1097/MOT.0000000000000419. PMID: 28379853.
 6. Dani A, Vu Q, Thangappan K, Huang B, Wittekind S, Lorts A et al. Effect of ischemic time on pediatric heart transplantation outcomes: is it the same for all allografts? *Pediatr Transplant*. 2022 Jun; 26 (4): e14259. doi: 10.1111/petr.14259. Epub 2022 Mar 8. PMID: 35258159; PMCID: PMC9159355.
 7. Skrzypiec-Spring M, Grotthus B, Szelag A, Schulz R. Isolated heart perfusion according to Langendorff – still viable in the new millennium. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2007 Mar-Apr; 55 (2): 113–126. doi: 10.1016/j.vascn.2006.05.006. Epub 2006 May 26. PMID: 16844390.
 8. Schechter MA, Southerland KW, Feger BJ, Linder D Jr, Ali AA, Njoroge L et al. An isolated working heart system for large animal models. *J Vis Exp*. 2014 Jun 11; (88): 51671. doi: 10.3791/51671. PMID: 24962492; PMCID: PMC4189428.
 9. White CW, Ali A, Hasanally D, Xiang B, Li Y, Mundt P et al. A cardioprotective preservation strategy employing ex vivo heart perfusion facilitates successful transplant of donor hearts after cardiocirculatory death. *J Heart Lung Transplant*. 2013 Jul; 32 (7): 734–743. doi: 10.1016/j.healun.2013.04.016. PMID: 23796155.
 10. Starling EH, Visscher MB. The regulation of the energy output of the heart. *J Physiol*. 1927 Jan 12; 62 (3): 243–261. doi: 10.1113/jphysiol.1927.sp002355. PMID: 16993846; PMCID: PMC1514842.
 11. Huisman PH, Schipperheyn JJ. The isolated heart-lung preparation. The Hague: Martinus Nijhoff Medical Division, 1978: 36–36.
 12. Жульков МО, Зыков ИС, Макаев АГ, Протопопов АВ, Муртазалиев МН, Косимов ФЮ и др. Хирургическая техника эксплантации работающего сердечно-легочного комплекса в эксперименте. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2023; 25 (3): 122–128. Zhulkov MO, Zykov IS, Makaev AG, Protopopov AV, Murtazaliev MN, Kosimov FYu et al. Surgical technique for explantation of a functioning cardiopulmonary complex in an experiment. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2023; 25 (3): 122–128. [In Russ.]. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2023-3-122-128>.
 13. 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 Transplantation and Artificial Organs*. 2019; 21 (4): 143–146. [In Russ, English abstract]. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2019-4-143-146>.
 14. Koerner MM, Ghodsizad A, Schulz U, El Banayosy A, Koerfer R, Tenderich G. Normothermic ex vivo allograft blood perfusion in clinical heart transplantation. *Heart Surg Forum*. 2014 Jun; 17 (3): E141–E145. doi: 10.1532/HSF98.2014332. PMID: 25002389.
 15. Ruggeri GM, Qua Hiansen J, Pivetta E, Mashari A, Ballocca F, Pinto Ribeiro RV et al. Description of a Novel Set-up for Functional Echocardiographic Assessment of Left Ventricular Performance During Ex Vivo Heart Perfusion. *Anesth Analg*. 2018 Sep; 127 (3): e36–e39. doi: 10.1213/ANE.0000000000002866. PMID: 29505446.
 16. Жульков МО, Зыков ИС, Сирота ДА, Агаева ХА, Сабетов АК, Повещенко ОВ и др. Способ длительного кондиционирования донорского сердца методом аутоперфузии. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2022; 15 (3): 214–220. Zhulkov MO, Zykov IS, Sirota DA, Agaeva HA, Sabetov AK, Poveschenko OV et al. Long-Term Conditioning of a Donor Heart by Autoperfusion. *Journal of experimental and clinical surgery*. 2022; 15 (3): 214–220. doi: 10.18499/2070-478X-2022-15-3-214-220 [In Russ.].
 17. Parekh R, Kolia TJ. A novel noninvasive method to assess left ventricular –dp/dt using diastolic blood pressure and isovolumic relaxation time. *Echocardiography*. 2013 Mar; 30 (3): 267–270. doi: 10.1111/echo.12042. Epub 2012 Nov 8. PMID: 23134266.
 18. Ardehali A, Esmailian F, Deng M, Soltesz E, Hsieh E, Naka Y et al. PROCEED II trial investigators. Ex-vivo perfusion of donor hearts for human heart transplantation (PROCEED II): a prospective, open-label, multicentre, randomised non-inferiority trial. *Lancet*. 2015 Jun 27; 385 (9987): 2577–2584. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60261-6. Epub 2015 Apr 14. PMID: 25888086.
 19. Жульков МО, Зайнобудинов ШШ, Сирота ДА, Протопопов АВ, Зыков ИС, Макаев АГ и др. Оценка коронарного статуса аутоперфузируемого донорского сердца в эксперименте. *Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского*. 2023; 11 (3): 00–00. Zhulkov MO, Zaynobudinov ShSh, Sirota DA, Protopopov AV, Zykov IS, Makaev AG et al. Evaluation of the coronary status of an autoperfused donor heart in the experiment. *Clinical and Experimental Surgery. Petrovsky Journal*. 2023; 11 (3): 00–00. <https://doi.org/10.33029/2308-1198-2023-11-3-00-00>. [In Russ.].
 20. Alomari M, Garg P, Yazji JH, Wadiwala IJ, Alamouti-Fard E, Hussain MWA et al. Is the Organ Care System (OCS) Still the First Choice With Emerging New Strategies for Donation After Circulatory Death (DCD) in Heart Transplant? *Cureus*. 2022 Jun 24; 14 (6): e26281. doi: 10.7759/cureus.26281. PMID: 35754437; PMCID: PMC9229932.
 21. Dhital KK, Iyer A, Connellan M, Chew HC, Gao L, Doyle A et al. Adult heart transplantation with distant procurement and ex-vivo preservation of donor hearts after circulatory death: a case series. *Lancet*. 2015

- Jun 27; 385 (9987): 2585–2591. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60038-1. Epub 2015 Apr 14. PMID: 25888085.
22. Macdonald PS, Chew HC, Connellan M, Dhital K. Extracorporeal heart perfusion before heart transplantation: the heart in a box. *Curr Opin Organ Transplant*. 2016 Jun; 21 (3): 336–342. doi: 10.1097/MOT.0000000000000309. PMID: 26967996.
 23. Hatami S, White CW, Shan S, Haromy A, Qi X, Ondrus M et al. Myocardial Functional Decline During Prolonged Ex Situ Heart Perfusion. *Ann Thorac Surg*. 2019 Aug; 108 (2): 499–507. doi: 10.1016/j.athoracsur.2019.01.076. Epub 2019 Mar 12. PMID: 30872100.
 24. Repse S, Pepe S, Anderson J, McLean C, Rosenfeldt FL. Cardiac reanimation for donor heart transplantation after cardiocirculatory death. *J Heart Lung Transplant*. 2010 Jul; 29 (7): 747–755. doi: 10.1016/j.healun.2010.02.009. Epub 2010 Apr 22. PMID: 20417128.
 25. Qi X, Hatami S, Bozso S, Buchko M, Forgie KA, Olafson C et al. The evaluation of constant coronary artery flow versus constant coronary perfusion pressure during normothermic ex situ heart perfusion. *J Heart Lung Transplant*. 2022 Dec; 41 (12): 1738–1750. doi: 10.1016/j.healun.2022.08.009. Epub 2022 Aug 20. PMID: 36137869.
 26. Duncker DJ, Bache RJ. Regulation of coronary blood flow during exercise. *Physiol Rev*. 2008 Jul; 88 (3): 1009–1086. doi: 10.1152/physrev.00045.2006. PMID: 18626066.
 27. Genco CM, Bernstein EA, Connolly RJ, Peterson MB, Zhang X, Somerville K et al. Leukocyte redistribution and eicosanoid changes during the autoperfused working heart-lung preparation. *J Invest Surg*. 1991; 4 (4): 477–485. doi: 10.3109/08941939109141178. PMID: 1777442.
 28. Martin BA, Wright JL, Thommasen H, Hogg JC. Effect of pulmonary blood flow on the exchange between the circulating and marginating pool of polymorphonuclear leukocytes in dog lungs. *J Clin Invest*. 1982 Jun; 69 (6): 1277–1285. doi: 10.1172/jci110567. PMID: 7085874; PMCID: PMC370200.
 29. Freed DH, White CW. Donor heart preservation: straight up, or on the rocks? *Lancet*. 2015 Jun 27; 385 (9987): 2552–2554. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60614-6. Epub 2015 Apr 14. PMID: 25888084.
 30. Hatami S, White CW, Ondrus M, Qi X, Buchko M, Himmat S et al. Normothermic Ex Situ Heart Perfusion in Working Mode: Assessment of Cardiac Function and Metabolism. *J Vis Exp*. 2019 Jan 12; (143). doi: 10.3791/58430. PMID: 30688296.
 31. Page A, Messer S, Axell R, Naruka V, Colah S, Fakelman S et al. Does the assessment of DCD donor hearts on the organ care system using lactate need redefining? *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. 2017; 36 (4): S16–S17.
 32. White CW, Ambrose E, Müller A, Li Y, Le H, Hiebert B et al. Assessment of donor heart viability during ex vivo heart perfusion. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015 Oct; 93 (10): 893–901. doi: 10.1139/cjpp-2014-0474. Epub 2015 May 7. PMID: 26317524.
 33. Ribeiro R, Alvarez J, Xin L, Gellner B, Paradiso E, Yu F et al. Contractility versus metabolic cardiac assessment during ex situ heart perfusion: a pre-clinical transplant study. *Canadian Journal of Cardiology*. 2019; 35 (10): S171.
 34. Gellner B, Xin L, Pinto Ribeiro RV, Bissoondath V, Adamson MB, Yu F et al. The implementation of physiological afterload during ex situ heart perfusion augments prediction of posttransplant function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2020 Jan 1; 318 (1): H25–H33. doi: 10.1152/ajpheart.00427.2019. Epub 2019 Nov 27. PMID: 31774696.
 35. Xin L, Gellner B, Ribeiro RVP, Ruggeri GM, Banner D, Meineri M et al. A New Multi-Mode Perfusion System for Ex Vivo Heart Perfusion Study. *J Med Syst*. 2017 Dec 23; 42 (2): 25. doi: 10.1007/s10916-017-0882-5. PMID: 29273867.
 36. Kung EO, Taylor CA. Development of A Physical Windkessel Module to Re-Creat In-Vivo Vascular Flow Impedance for In-Vitro Experiments. *Cardiovasc Eng Technol*. 2011 Mar; 2 (1): 2–14. doi: 10.1007/s13239-010-0030-6. PMID: 26316899; PMCID: PMC4548962.

Статья поступила в редакцию 30.09.2023 г.
The article was submitted to the journal on 30.09.2023