

ГИПОТЕРМИЧЕСКАЯ ОКСИГЕНИРОВАННАЯ ПЕРФУЗИОННАЯ КОНСЕРВАЦИЯ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ ОТ ДОНОРОВ С РАСШИРЕННЫМИ КРИТЕРИЯМИ

А.В. Шабунин^{1, 2}, О.Б. Лоран^{1, 2}, Д.Ю. Пушкарь¹, Е.И. Велиев¹, М.Г. Минина^{1, 3},
П.А. Дроздов^{1, 2}, С.А. Астапович¹, Э.А. Лиджиева²

¹ ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Российская Федерация

² ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Цель: улучшить результаты трансплантации печени от доноров с расширенными критериями посредством внедрения гипотермической оксигенированной перфузионной консервации. **Материал и методы.** В исследование включены 63 наблюдения трансплантации печени, полученной от субоптимальных доноров с констатированной смертью головного мозга. Группу I (контрольную) составили 34 наблюдения, в которых консервация трансплантата печени осуществлялась только посредством статического холодового хранения, группу II (основную) – 29 наблюдений, где после статической консервации выполнялась гипотермическая оксигенированная *ex situ* перфузия. Эффективность и безопасность применения последней была оценена нами в сравнительном клиническом исследовании, а также посредством изучения ультраструктурных изменений печени на электронной микроскопии. **Результаты.** Между группами не было получено статистически значимых различий по исходным характеристикам доноров, реципиентов и ряду периоперационных параметров ($p > 0,05$). Пиковые концентрации АСТ и АЛТ в первую неделю после трансплантации в группе применения гипотермической перфузии составили 1052 (IQR: 712–1842) ЕД/л и 1213 (IQR: 613–2032) ЕД/л, в контрольной – 1943 (IQR: 1294–5214) ЕД/л и 2318 (IQR: 1032–6219) ЕД/л, что было статистически значимо ниже ($p = 0,002$ и $p < 0,001$ соответственно). Медиана комплексного индекса осложнений (CCI) в основной группе составила 0 (IQR: 0–22,6), в контрольной – 27,6 (IQR: 0–100), различия были статистически значимыми ($p = 0,001$). Аналогично, статистически значимые различия были зафиксированы по времени нахождения реципиента в ОРИТ и общей длительности госпитализации ($p = 0,042$ и $p = 0,028$) – они были меньше в группе гипотермической перфузии. Морфологическая оценка трансплантатов печени посредством электронной микроскопии выявила меньшее повреждение гепатоцитов в ходе перфузионной консервации. **Выводы.** Гипотермическая оксигенированная перфузия *ex situ* является безопасным и эффективным методом консервации трансплантата печени. Ее применение при трансплантации печени от доноров с расширенными критериями позволяет снизить тяжесть ишемически-реперфузионного повреждения органа и дать дополнительную оценку пригодности органа к пересадке.

Ключевые слова: трансплантация печени, консервация, доноры с расширенными критериями.

Для корреспонденции: Дроздов Павел Алексеевич. Адрес: 117148, Москва, ул. Брусилова, д. 15, кв. 8. Тел. (962) 985-04-41. E-mail: dc.drozdov@gmail.com

Corresponding author: Pavel Drozdov. Address: 15/8, Brusilov str., Moscow, 117148, Russian Federation. Phone: (962) 985-04-41. E-mail: dc.drozdov@gmail.com

HYPOTHERMIC OXYGENATED PERFUSION IN LIVER TRANSPLANTATION FROM EXPANDED CRITERIA DONORS

A.V. Shabunin^{1, 2}, O.B. Loran^{1, 2}, D.Yu. Pushkar¹, E.I. Veliev¹, M.G. Minina^{1, 3},
P.A. Drozdov^{1, 2}, S.A. Astapovich¹, E.A. Lidzhieva²

¹ Botkin Hospital, Moscow, Russian Federation

² Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russian Federation

³ Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

Objective: to improve the outcomes of liver transplantation (LTx) from expanded criteria donors (ECDs) through hypothermic oxygenated machine perfusion (HOPE). **Material and methods.** The study included 63 cases of LTx from suboptimal brain-dead donors. Group I (control) consisted of 34 persons in which liver transplant was preserved only by static cold storage (SCS), while group II (main) comprised 29 cases where *ex situ* HOPE was used after static preservation. We evaluated the efficacy and safety of the latter in a comparative clinical study and by studying ultrastructural changes in the liver using electron microscopy. **Results.** No statistically significant differences between the groups in terms of baseline characteristics of donors, recipients and several perioperative parameters ($p > 0.05$) were obtained. Peak aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) levels in the first week after transplantation were 1,052 (IQR: 712–1,842) U/L and 1,213 (IQR: 613–2,032) U/L in the HOPE group, and 1,943 (IQR: 1,294–5,214) U/L and 2,318 (IQR: 1,032–6,219) U/L in the SCS group (control). The levels were statistically significantly lower ($p = 0.002$ and $p < 0.001$, respectively). Median comprehensive complication index (CCI) in the main and control groups was 0 (IQR: 0–22.6) and 27.6 (IQR: 0–100) respectively. The differences were statistically significant ($p = 0.001$). Similarly, statistically significant differences were noted in terms of recipient time in the intensive care unit (ICU) and overall length of hospital stay ($p = 0.042$ and $p = 0.028$) – they were less in the HOPE group. Electron microscopy evaluation of the morphology of liver grafts revealed that hepatocytes sustained less injury during HOPE. **Conclusion.** *Ex situ* HOPE is a safe and effective way of preserving liver transplants. Its use in LTx from expanded criteria donors can lessen the severity of ischemia-reperfusion injury (IRI) in the organ and enable additional assessment of the suitability of an organ for transplantation.

Keywords: liver transplantation, preservation, expanded criteria donors.

ВВЕДЕНИЕ

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

Использование доноров с расширенными критериями (ДРК) является эффективным способом увеличения доступности трансплантации печени, однако это сопряжено с повышенным риском развития неблагоприятных последствий в послеоперационном периоде. Известно, что трансплантаты, полученные от субоптимальных доноров, в большей степени подвержены ишемическому повреждению в ходе консервации и последующему реперфузи-

онному – в организме реципиента [2]. Выраженное ишемически-реперфузионное повреждение (ИРП) приводит к развитию ранней дисфункции трансплантата печени (РДТП) [3]. По результатам крупного исследования, вышедшего из клиники Мейо, распространенность РДТП составила 26,5%, и ее развитие имело статистически значимое влияние как на ближайшие результаты трансплантации печени, так и на отдаленную выживаемость реципиентов [4]. В ряде случаев развитие РДТП может быть необратимым, что соответствует первичному нефункционированию трансплантата (ПНФТ), при развитии которого летальность превышает 50% [5].

Снизить тяжесть ИРП возможно, в частности, посредством улучшения условий консервации трансплантата. Перфузионные методы консервации печени от ДРК в сравнении со статическим холодовым хранением уже во многих исследованиях доказали свое преимущество [6–8]. В частности, по данным многоцентрового рандомизированного исследования, при трансплантации печени от ДРК использование гипотермической оксигенированной перфузии (НОРЕ) приводит к снижению риска развития РДТП, ранних послеоперационных осложнений и меньшей длительности госпитализации [7]. Тем не менее внед-

рение перфузионных технологий в клиническую практику трансплантационных программ все еще ограничено. Лишь в единичных центрах Российской Федерации перфузионная консервация донорских органов выполняется рутинно.

В Боткинской больнице с 2020 г. внедряются и активно используются различные перфузионные технологии, используемые для консервации солидных органов [9–11]. В данном исследовании мы проанализировали первые результаты применения гипотермической оксигенированной перфузии при трансплантации печени от субоптимальных доноров с констатированной смертью головного мозга.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В основу исследования включен анализ результатов лечения 63 реципиентов печени, оперированных в ГКБ им. С.П. Боткина в период с 2018-го по 2023 г. Во всех наблюдениях выполнялась изолированная трансплантация целой печени, полученной от донора с констатированной смертью головного мозга с расширенными критериями. Принадлежность донора к категории расширенных критериев определяли согласно рекомендациям Eurotransplant при наличии как минимум одного из нижеперечисленных факторов:

- возраст >65 лет;
- длительность нахождения в ОРИТ >7 дней;
- ИМТ >30 кг/м²;
- макровезикулярный стеатоз >40%;
- натрий >155 ммоль/л;
- АЛТ >105 ЕД/л, АСТ >90 ЕД/л;
- общий билирубин >3 мг/дл.

Характеристика групп

В группу I (контрольную) включены 34 наблюдения, в которых консервация трансплантата печени осуществлялась только посредством статического холодового хранения. Медиана возраста реципиентов составила 49 (IQR: 26–54) лет, медиана ИМТ – 24 (IQR: 21,0–32,0) кг/м². Среди всех реципиентов мужчин было 21 (61,7%), женщин – 13 (38,2%). Медиана индекса MELD составила 16 (IQR: 14–19) баллов. Возраст доноров составил 54 (IQR: 31–66) года, ИМТ – 29 (IQR: 24,0–35,0) кг/м². Медиана времени нахождения в реанимации – 78 (IQR: 25,0–137,0) часов. Вазопрессорная поддержка норадреналином имела место у всех (100%) доноров, среди них у 13 (34,7%) его доза превышала 1000 нг/кг/мин, либо использовался второй вазопрессор. Медиана сывороточного уровня натрия составила 148 (IQR: 134–155) ммоль/л, АСТ и АЛТ – 44,0 (IQR: 24,0–79,0) и 59,0 (IQR: 26,0–142) ЕД/л соответственно. Минимальный стеатоз (менее 40%) имел место у 10 (29,4%), умеренный (40–60%) – у 24 (70,6%) трансплантатов печени.

В группу II (основную) вошли 29 реципиентов, при трансплантации печени которых после стати-

ческой консервации проводилась гипотермическая оксигенированная машинная перфузия. При этом в 7 наблюдениях выполнялась «классическая» HOPE только через портальную систему, в 22 – «двойная»: как через воротную, так и через печеночную артерию. Медиана возраста реципиентов составила 51 (IQR: 32–59) год, ИМТ – 25 (IQR: 23,0–32,5). Мужчин было 16 (55,2%), женщин – 13 (44,8%). Медиана индекса MELD составила 17 (IQR: 14–20) баллов. Возраст доноров составил 58 (IQR: 31–67) лет, ИМТ – 29 (IQR: 25,0–33,0) кг/м², медиана времени нахождения в реанимации – 86 (IQR: 34,0–122,0) часов. Вазопрессорная поддержка имела место у всех (100%) доноров, среди них у 13 (44,8%) доза норадреналина превышала 1000 нг/кг/мин, либо использовался второй вазопрессор. Медиана сывороточного уровня натрия составила 152 (IQR: 137–159) ммоль/л, АСТ и АЛТ – 43,0 (IQR: 32,0–77,0) и 59,0 (IQR: 22,0–82,5) ЕД/л соответственно. Минимальный стеатоз (менее 40%), определяемый по результатам экстренного либо планового гистологического исследования, имел место у 9 (31%), умеренный (40–60%) – у 20 (69%) трансплантатов печени. Подробная сравнительная характеристика групп представлена в табл. 1.

Трансплантация печени и послеоперационный период

Оперативные вмешательства по эксплантации печени у посмертного донора выполнялись по стандартной общепринятой технике. Во всех случаях консервация осуществлялась с использованием раствора Бретшнайдера (НТК «Кустодиол»). Трансплантация печени во всех наблюдениях выполнялась с сохранением нижней полой вены реципиента и кавальной реконструкцией по методике Belghiti. Ведение реципиента в послеоперационном периоде осуществлялось по стандартным протоколам, в соответствии с Национальными клиническими рекомендациями. В качестве индукционной иммуносупрессивной терапии использовался базиликсимаб 20 мг, вводимый интраоперационно и на 4-е сутки после трансплантации. Непосредственно перед реперфузией внутривенно вводился метилпреднизолон в дозе 10 мг/кг веса реципиента, с последующим снижением суточной дозы и полной отменой на 4-е сутки. Для большинства реципиентов поддерживающая иммуносупрессия представляла собой монотерапию такролимусом пролонгированного действия, целевая концентрация которого поддерживалась в пределах 7–10 нг/мл.

Интенсивность ишемически-реперфузионного повреждения определяли по наиболее высокому уровню трансаминаз в первую неделю после трансплантации. Раннюю дисфункцию трансплантата печени определяли в соответствии с критериями Olthoff et al. [3] при наличии как минимум одной из нижеперечисленных лабораторных характеристик:

- общий билирубин ≥ 10 мг/дл (171 мкмоль/л) на 7-й день после операции;
- МНО $\geq 1,6$ на 7-й день после операции;
- АЛТ или АСТ > 2000 МЕ/мл в течение первой недели после операции.

Гипотермическая оксигенированная перфузия трансплантата печени *ex situ*

Гипотермическая оксигенированная перфузия трансплантата печени проводилась в условиях операционной отделения трансплантации (по принципу back-to-base) с использованием аппарата искусственного кровообращения. Трансплантат печени в

асептических условиях извлекается из транспортного контейнера в емкость с охлажденным до 4–10 °С консервирующим раствором Бретшнайзера (НТК «Кустодиол»), производится канюляция воротной вены и артерии трансплантата (рис. 1, а). В классическом варианте канюлируется только воротная вена (рис. 1, б).

Процедура перфузии осуществлялась посредством двух роликовых насосов, двух перфузионных контуров и одного оксигенатора. Объемные скорости потоков, определяемых работой роликовых насосов, подбирались оператором с поддержанием перфузионного давления 5 мм рт. ст. для портальной системы

Таблица 1

Сравнительный анализ результатов трансплантации печени в зависимости от метода консервации Comparative analysis of liver transplant outcomes depending on preservation method

Показатель	Подгруппа I.I (SCS) n = 34	Подгруппа II.I (HOPE) n = 29	Уровень значимости (p-value)
Характеристики реципиентов			
Возраст, лет	49 (IQR: 26–54)	52 (IQR: 31–58)	0,32
Мужской пол, n (%)	21 (61,7%)	15 (51,7%)	0,422
ИМТ, кг/м ²	24 (IQR: 21,0–32,0)	22 (IQR: 21,0–34,0)	0,29
MELD	16 (IQR: 14–19)	17 (IQR: 13–19)	0,531
Характеристики доноров			
Возраст, лет	54 (IQR: 31–66)	56 (IQR: 28–64)	0,357
Время нахождения в ОРИТ, ч	78 (IQR: 25,0–137,0)	86 (IQR: 32,0–166,0)	0,092
ИМТ, кг/м ²	29 (IQR: 24,0–35,0)	32 (IQR: 25,0–38,0)	0,252
Доза норадреналина > 1000 нг/мл либо 2 вазопрессора, n (%)	13 (34,7)	7 (41,1)	0,231
Na, ммоль/л	148 (IQR: 134–155)	142 (IQR: 135–154)	0,152
АСТ, ЕД/л	44,0 (IQR: 24,0–79,0)	47,0 (IQR: 24,0–78,0)	0,82
АЛТ, ЕД/л	59,0 (IQR: 26,0–142)	61,0 (IQR: 32,0–91,5)	0,139
Макростеатоз $> 40\%$	24 (70,6%)	23 (79,3%)	0,564
Периоперационные параметры			
Время холодовой ишемии, ч	5,2 (IQR: 4,4–8,0)	5,7 (IQR: 4,3–7,8)	0,29
Время статической холодовой консервации, ч	7,2 (IQR: 4,8–8,3)	2,5 (IQR: 1,5–4,5)	0,012
Длительность операции, мин	6,8 (IQR: 5,5–7,5)	6,3 (IQR: 4,8–8,3)	0,457
Вторичная тепловая ишемия, мин	40 (IQR: 30–45)	35 (IQR: 35–45)	0,28
Билиарная ишемия, мин	40 (IQR: 35–45)	40 (IQR: 35–50)	0,93
Кровопотеря, мл	1400 (IQR: 1100–2500)	1100 (IQR: 1000–2500)	0,21
Реинфузия, мл	300 (IQR: 100–450)	250 (IQR: 50–450)	0,62
Трансфузия СЗП, доз	6 (IQR: 3–8)	4 (IQR: 2–7)	0,42
Трансфузия эр. взвеси, доз	1 (IQR: 0–3)	1 (IQR: 0–2)	0,652
Непосредственные результаты ТП			
Длительность нахождения в ОРИТ, сут	5 (IQR: 3–9)	3 (IQR: 2–5)	0,042
Длительность госпитализации, сут	21 (IQR: 17–35)	15 (IQR: 12–24)	0,028
Пиковая концентрация АСТ, ЕД/л	1052 (IQR: 712–1842)	1943 (IQR: 1294–5214)	0,002
Пиковая концентрация АЛТ, ЕД/л	1213 (IQR: 613–2032)	2318 (IQR: 1032–6219)	<0,001
РДТП, n (%)	21 (61,8)	12 (41,3)	0,106
Неспецифические хирургические осложнения, n (%)	11 (32,3)	5 (9,4)	0,01
Артериальный тромбоз, n (%)	3 (8,9)	1 (3,4)	0,383
CCI	27,6 (IQR: 0–100)	0 (IQR: 0–22,6)	<0,001
Ретрансплантация, n (%)	1 (2,9)	0	1
Летальность, n (%)	2 (5,9)	0	0,495

Температура перфузата поддерживалась в пределах 10 °С в течение всей процедуры. Каждые 30 минут осуществлялся контроль лабораторных показателей перфузии: КЩС (с определением парциального давления кислорода), АСТ и АЛТ. Целевое PaO_2 перфузионного раствора поддерживалось на уровне 400–600 мм рт. ст.

В ходе перфузии выполнялась предтрансплантационная обработка трансплантата и проверка его сосудов на герметичность. Машинная перфузия прекращалась по завершении этапа гепатэктомии непосредственно перед погружением трансплантата в рану.

Морфологическая оценка трансплантатов печени в ходе консервации

С целью определения интенсивности повреждения клеток печени на ультраструктурном уровне в условиях ишемии в зависимости от метода консервации мы проводили электронное микроскопическое исследование. После доставки трансплантата в операционную непосредственно перед началом машинной перфузии из края печени иссекался и фиксировался первый образец (1.1). На этом же этапе из печени иссекался фрагмент 2×2 см и отдельно погружался в охлажденный неоксигенированный консервирующий раствор. По завершении перфузионной консервации как из целой печени, так и из заранее вырезанного фрагмента, который находился в условиях статического холодового хранения, иссекались и фиксировались образцы (1.2 и 1.3). Последовательность взятия образцов для выполнения электронной микроскопии трансплантата печени представлена на рис. 3.

Непосредственные результаты трансплантации печени в зависимости от метода консервации были проанализированы нами в сравнительном клиническом исследовании.

Статистика

Статистическая обработка и анализ данных выполнялись в программе SPSS Statistics для Microsoft Windows версии 26 (США). Для сравнения двух групп количественных показателей ввиду небольшого объема выборки вне зависимости от распределения использовался U-критерий Манна–Уитни. Сравнение категориальных показателей выполнялось с использованием χ^2 -критерия Пирсона либо точного критерия Фишера. Для определения связи между количественными показателями выполнялся корреляционный анализ с определением коэффициента ранговой корреляции ρ Спирмена, тесноты связи по шкале Чеддока. Статистически значимыми различия считались при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительный анализ результатов трансплантации печени в зависимости от метода консервации

Между группами не было получено статистически значимых различий по исходным характеристикам донора и реципиента ($p > 0,05$). Общее время холодовой консервации не различалось между группами: 5,2 (IQR: 4,4–8,0) против 5,4 (IQR: 4,2–7,3), $p = 0,32$. Не было зафиксировано статистически значимых различий по общему времени оперативного вмешательства, вторичной тепловой и билиарной ишемии ($p > 0,05$). Интраоперационная кровопотеря и потребность в трансфузии компонентов крови также не различались ($p > 0,05$).

Пиковые концентрации АСТ и АЛТ в первую неделю после трансплантации в группе II применения гипотермической перфузии составили 1052 (IQR: 712–1842) ЕД/л и 1213 (IQR: 613–2032) ЕД/л. В контрольной группе эти показатели составили 1943 (IQR: 1294–5214) ЕД/л и 2318 (IQR: 1032–6219) ЕД/л, что было статистически значимо ниже, чем в основной ($p = 0,002$ и $p < 0,001$ соответственно). При этом ста-



Рис. 3. Протокол взятия образцов для выполнения электронной микроскопии трансплантата печени

Fig. 3. Protocol for taking samples for liver graft electron microscopy

статистически значимых различий по частоте развития РДТП выявлено не было ($p = 0,106$). Тем не менее в группе перфузионной консервации она была ниже: 41,3% (12/29) против 61,8% (21/34). В группе I в 2 наблюдениях развитие РДТП оказалось необратимым, что было расценено как ПНФТ, и привело к ранней послеоперационной летальности реципиентов в обоих случаях. В 1 наблюдении была выполнена ретрансплантация по поводу тромбоза печеночной артерии. В группе II послеоперационной летальности, ПНФТ и ретрансплантаций не было.

Развитие осложнений в раннем послеоперационном периоде оценивалось с помощью расчета CCI (Comprehensive complication index) на момент выписки. В основной группе его медиана составила 0 (IQR: 0–22,6), в контрольной – 27,6 (IQR: 0–100), различия были статистически значимыми ($p = 0,001$). Аналогично статистически значимые различия были зафиксированы по времени нахождения реципиента в ОРИТ и общей длительности госпитализации ($p = 0,042$ и $p = 0,028$) – они были меньше в группе применения перфузионной консервации. Сравнительный анализ результатов трансплантации печени между группами представлен в табл. 1.

Влияние лабораторных параметров перфузии на клинические результаты трансплантации печени

В группе II применения гипотермической оксигенированной перфузионной консервации нами также было проанализировано влияние лабораторных параметров перфузата (АСТ и АЛТ), определяемых на

30-й минуте на результаты трансплантации в раннем послеоперационном периоде. Медиана уровня АСТ, определяемого в перфузате, составила 589 (IQR: 272–1712) ЕД/л, АЛТ – 482 (IQR: 214–1513). Уровни печеночных трансаминаз имели статистически значимые прямые корреляционные связи с пиковыми концентрациями таковых в крови реципиента в первую неделю после трансплантации. В частности, АСТ перфузата на 30-й минуте перфузии имела связи с пиковыми концентрациями АСТ и АЛТ в крови высокой тесноты ($p = 0,723$ и $p = 0,712$, $p < 0,001$ и $p < 0,001$). Концентрация АЛТ в перфузате также имела статистически значимые связи с трансаминазами крови, однако с меньшей теснотой связи ($p = 0,0662$ и $p = 0,389$, $p < 0,001$ и $p = 0,04$). Нами не было зафиксировано значимых связей уровня АСТ и АЛТ перфузата с концентрацией общего билирубина и значением МНО на 7-е сутки после трансплантации ($p > 0,05$). Длительность госпитализации в ОРИТ и общее время стационарного лечения также не были связаны с трансаминазами перфузата ($p > 0,05$). Результаты представлены в табл. 2.

Морфологическая оценка трансплантатов печени в зависимости от метода консервации

На рис. 4, а, представлен снимок электронной микроскопии фрагмента гепатоцита из образца 1.1 (печень перед началом перфузии). Хроматин в ядре имеет типичную организацию. Цитоплазма заполнена везикулами и митохондриями. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикула не рас-

Таблица 2

Влияние лабораторных параметров перфузии на непосредственные результаты трансплантации печени

Influence of laboratory perfusion parameters on immediate liver transplant outcomes

Показатель	Уровень значимости (p-value)	Коэффициент корреляции ρ Спирмена
АСТ перфузата на 30 мин перфузии		
Пиковая концентрация АСТ в первую неделю	<0,001	0,723
Пиковая концентрация АЛТ в первую неделю	<0,001	0,712
МНО на 7-е сутки	0,63	–
Общий билирубин на 7-е сутки	0,34	–
CCI	0,212	–
Длительность нахождения в ОРИТ	0,79	–
Длительность госпитализации	0,43	–
АЛТ перфузата на 30 мин перфузии		
Пиковая концентрация АСТ в первую неделю	<0,001	0,662
Пиковая концентрация АЛТ в первую неделю	0,04	0,389
МНО на 7-е сутки	0,74	–
Общий билирубин на 7-е сутки	0,82	–
CCI	0,65	–
Длительность нахождения в ОРИТ	0,29	–
Длительность госпитализации	0,72	–

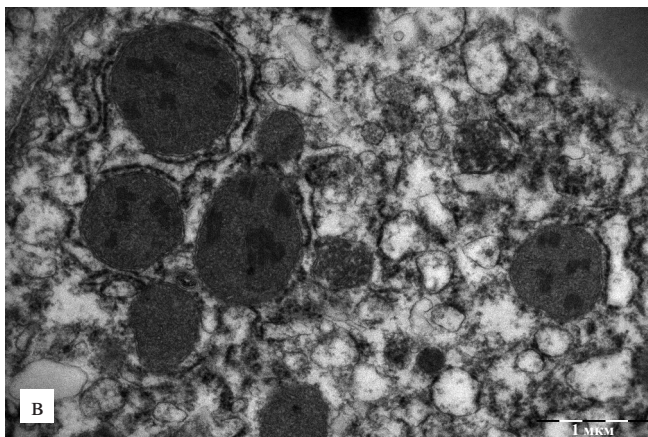
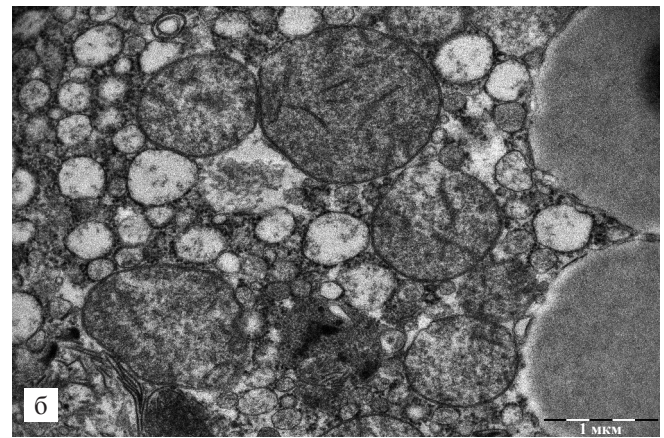
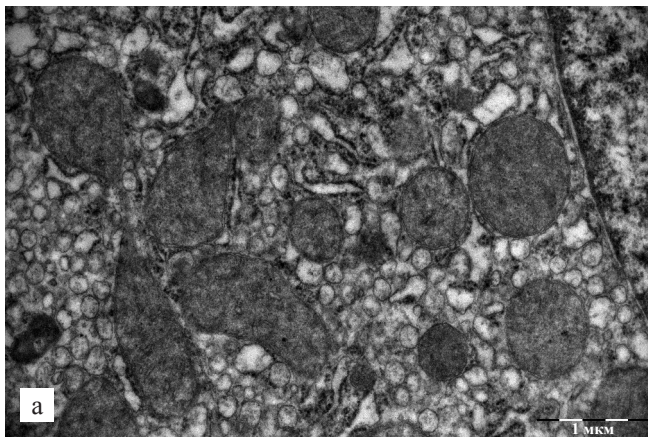


Рис. 4. Электронная микроскопия трансплантата печени: а – перед началом консервации (образец 1.1); б – после гипотермической оксигенированной перфузии (образец 1.2); в – после статической холодовой консервации (образец 1.3)

Fig. 4. Liver transplant electron microscopy: а – before preservation (sample 1.1); б – after HOPE (sample 1.2); в – after static cold storage (sample 1.3)

ширены. Матрикс митохондрий электронно плотный, кристы немногочисленные. Похожая картина наблюдалась в образце 1.2 (печень после гипотермической оксигенированной перфузии), за исключением незначительного просветления цитозоля и набухания цистерн гранулярного эндоплазматического ретикула. Ультраструктура митохондрий при этом не изменена (рис. 4, б). Напротив, при статической консервации печени (образец 1.3) в гепатоцитах были зафиксированы выраженные ультраструктурные изменения. Имела место существенная реорганизация структуры митохондрий, появление стопок мембран, набухание гранулярного эндоплазматического ретикула (рис. 4, в).

ОБСУЖДЕНИЕ

Трансплантация печени от доноров с расширенными критериями сопряжена с повышенным риском развития ранней дисфункции трансплантата и ассоциированных неблагоприятных последствий, что в очередной раз подтверждается представленными в данной работе результатами. В связи с этим разработка и внедрение технологий, направленных на профилактику ишемически-реперфузионного повреждения трансплантата печени, имеет безусловную актуальность.

Перфузионная консервация внедрена в клиническую практику трансплантации печени чуть более

10 лет назад, однако многими исследованиями уже доказала свое преимущество перед статическим холодовым хранением. В работе Guarrera et al. (2010) использование гипотермической перфузии привело к снижению тяжести реперфузионного повреждения, меньшей частоте развития РДТП и длительности госпитализации [12]. Dutkowski et al. в 2014 году опубликовали успешный опыт трансплантации печени от контролируемых асистолических доноров, в котором гипотермическая оксигенированная перфузия имела результаты, сравнимые с таковыми после трансплантации от донора с констатированной смертью головного мозга [13]. В нашем исследовании применение гипотермической оксигенированной перфузии было также связано с лучшими результатами трансплантации печени в раннем послеоперационном периоде. По сравнению со статической консервацией степень ишемического повреждения печени после выполнения перфузии была менее значительной, что наглядно подтвердили результаты электронного микроскопического исследования. Интенсивность реперфузионного повреждения трансплантата, определяемая по пиковому уровню трансаминаз в течение первой недели, в группе перфузионной консервации была статистически значимо ниже, чем при статической консервации ($p < 0,05$). Мы не обнаружили статистически значимого снижения риска развития ранней дисфункции трансплантата ($p = 0,106$), одна-

ко связываем это с небольшим размером выборки. В то же время было отмечено достоверное снижение показателя CCI ($p = 0,001$), характеризующего распространенность послеоперационных осложнений, длительности нахождения реципиента в ОРИТ ($p = 0,042$) и стационарного лечения ($p = 0,028$).

Помимо уменьшения повреждения трансплантата печени в ходе консервации еще одним преимуществом использования гипотермической оксигенированной перфузии явилась возможность дополнительной оценки качества органа и его пригодности к трансплантации. Так, нами было выявлено, что уровни трансаминаз, определяемые в перфузате на 30-й минуте, имели прямые корреляционные связи с таковыми в крови реципиента после трансплантации ($p < 0,05$). Однако они не имели связи с непосредственными результатами трансплантации, в связи с чем прогностическая значимость данных маркеров ограничена. Тем не менее мы полагаем их определение целесообразным, поскольку при определении крайне высоких показателей АСТ и АЛТ в перфузате трансплантационная бригада может принять решение не выполнять трансплантацию ввиду неопозволительного риска фатальных последствий. В своей практике мы имеем 4 подобных наблюдения, когда окончательное решение отказаться от трансплантации было принято на основании крайне высоких уровней АСТ в эффлюенте, определенных на 30-й минуте (более 6000 ЕД/л) перфузии. Полученные результаты согласуются с данными мировой литературы. В упомянутых работах Guaraga и Dutkowski уровни трансаминаз перфузата также имели статистически значимую связь с таковыми в крови реципиента после реперфузии, однако никак не влияли на прогноз реципиента [12–14]. На сегодняшний день многими авторами ведется поиск более точных маркеров, которые можно определять в ходе перфузионной консервации для оценки органа. В частности, определение в перфузирующем растворе маркеров митохондриального повреждения, к примеру FMN, в ряде работ продемонстрировало высокую эффективность в оценке пригодности органа, однако его широкое использование еще предстоит обосновать и доказать будущими исследованиями [14].

Несмотря на доказанную высокую эффективность перфузионной консервации при трансплантации печени от субоптимальных доноров, на сегодняшний день остается ряд нерешенных технических вопросов, касающихся ее применения. В частности, до конца не определено, имеет ли смысл дополнительная артериальная перфузия трансплантата («двойная» HOPE/DHOPE), или перфузии через портальную систему («классическая» HOPE) достаточно. Сторонники DHOPE предполагают, что данный вариант может позволить более эффективно осуществлять перфузию билиарного дерева, так как желчные протоки, в отличие от гепатоцитов, кровоснабжаются

только печеночной артерией. Поскольку развитие посттрансплантационной холангиопатии является одной из наиболее значимых проблем при ТП от маргинальных доноров (в частности, асистолических), профилактика ишемически-реперфузионного повреждения билиарной системы печени очень актуальна. С другой стороны, сторонники выполнения классической перфузии считают, что адекватное заполнение артериального русла перфузатом возможно за счет ретроградного тока, а дополнительные манипуляции с печеночной артерией могут привести к ее повреждению и развитию фатальных осложнений. Клинических исследований, демонстрирующих преимущество одного метода над другим, на сегодняшний день нет. Лишь в экспериментальной работе de Vries et al. (2021) в группе применения двойной перфузии были получены 2-кратное снижение пиковой концентрации аланинаминотрансферазы в перфузате ($p = 0,045$) и более низкая концентрация лактатдегидрогеназы в желчи ($p = 0,04$) по сравнению с классической HOPE [15]. При этом микроскопических признаков повреждения артерий не было ни в одной из групп. Безусловно, эти данные требуют клинического подтверждения, однако, по нашему мнению, дополнительная артериальная перфузия печени все же имеет несколько большую потенциальную эффективность по сравнению с классической. Мы полагаем, что прецизионная хирургическая техника работы с печеночной артерией и тщательный контроль потока и давления в артериальной перфузионной системе в действительности нивелируют риск ее повреждения в ходе процедуры.

Таким образом, гипотермическая оксигенированная перфузия *ex situ* является безопасным и эффективным методом консервации трансплантата печени. Ее применение при трансплантации печени от доноров с расширенными критериями позволяет снизить тяжесть ишемически-реперфузионного повреждения органа и дать дополнительную оценку пригодности органа к пересадке. Внедрение данной технологии, с одной стороны, позволяет качественно улучшить результаты трансплантации печени в послеоперационном периоде, а с другой – безопасно увеличить доступность трансплантационной помощи за счет использования субоптимальных доноров.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Eurotransplant Annual Report 2022. [Internet] Available from: <https://www.eurotransplant.org/statistics/annual-report/>.
2. Мойсюк ЯГ, Попцов ВН, Сушков АИ, Мойсюк ЛЯ, Малиновская ЮО, Бельских ЛВ. Ранняя дисфункция трансплантата печени: факторы риска, клиниче-

- ское течение и исходы. *Трансплантология*. 2016; (2): 16–28. Moysyuk YaG, Poptsov VN, Sushkov AI, Moysyuk LYa, Malinovskaya YuO, Belskikh LV. Early liver allograft dysfunction: risk factors, clinical course and outcomes. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2016; (2): 16–28. [In Russ, English abstract].
3. Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, Kaminski M, Abecassis M, Emond J et al. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transpl*. 2010; 16 (8): 943–949. doi: 10.1002/lt.22091.
 4. Lee DD, Croome KP, Shalev JA, Musto KR, Sharma M, Keaveny AP et al. Early allograft dysfunction after liver transplantation: an intermediate outcome measure for targeted improvements. *Ann Hepatol*. 2016; 15 (1): 53–60. doi: 10.5604/16652681.1184212.
 5. Hartog H, Hann A, Perera MTPR. Primary Nonfunction of the Liver Allograft. *Transplantation*. 2022; 106 (1): 117–128. doi: 10.1097/TP.0000000000003682.
 6. Федорук ДА, Кирковский ЛВ, Садовский ДН, Петренко КИ, Лебедь ОА, Федорук АМ и др. Влияние гипотермической оксигенированной машинной перфузии на степень ишемического повреждения трансплантатов печени. *Военная медицина*. 2020; (2): 68–75. Fedoruk DA, Kirkovsky LV, Sadovsky DN, Petrenko KI, Lebed' OA, Fedoruk AM et al. Influence of hypothermic oxygenated machine perfusion on the degree of ischemic damage of ecd liver grafts. *Military medicine*. 2020; (2): 68–75. [In Russ, English abstract].
 7. Czigany Z, Pratschke J, Froněk J, Guba M, Schöning W, Raptis DA et al. Hypothermic Oxygenated Machine Perfusion Reduces Early Allograft Injury and Improves Post-transplant Outcomes in Extended Criteria Donation Liver Transplantation From Donation After Brain Death: Results From a Multicenter Randomized Controlled Trial (HOPE ECD-DBD). *Ann Surg*. 2021; 274 (5): 705–712. doi: 10.1097/SLA.0000000000005110.
 8. Mugaanyi J, Dai L, Lu C, Mao S, Huang J, Lu C. A Meta-Analysis and Systematic Review of Normothermic and Hypothermic Machine Perfusion in Liver Transplantation. *J Clin Med*. 2022; 12 (1): 235. doi: 10.3390/jcm12010235.
 9. Шабунин АВ, Минина МГ, Дроздов ПА, Нестеренко ИВ, Макеев ДА, Журавель ОС и др. Первый опыт применения машинной холодовой оксигенированной перфузии почечного трансплантата от доноров с расширенными критериями. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2022; 24 (1): 143–150. Shabunin AV, Minina MG, Drozdov PA, Nesterenko IV, Makeev DA, Zhuravel OS et al. Early experiments with hypothermic oxygenated machine perfusion of kidney grafts from extended criteria donors. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2022; 24 (1): 143–150. doi: 10.15825/1995-1191-2022-1-143-150.
 10. Шабунин АВ, Минина МГ, Дроздов ПА, Севостьянов ВМ, Нестеренко ИВ, Макеев ДА и др. Асистолическое донорство почек с использованием автоматизированной системы компрессии грудной клетки и машинной оксигенированной холодовой перфузии (первый опыт в Российской Федерации). *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2022; 24 (2): 102–107. Shabunin AV, Minina MG, Drozdov PA, Sevostianov VM, Nesterenko IV, Makeev DA et al. Asystole kidney donation using automated chest compression system and hypothermic oxygenated machine perfusion (first experience in the Russian Federation). *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2022; 24 (2): 102–107. doi: 10.15825/1995-1191-2022-2-102-107.
 11. Шабунин АВ, Минина МГ, Дроздов ПА, Милосердов ИА, Сайдулаев ДА, Севостьянов ВМ и др. Комплексное использование перфузионных технологий при трансплантации почек от донора с внегоспитальной остановкой кровообращения (клинический случай). *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2023; 25 (3): 113–121. Shabunin AV, Minina MG, Drozdov PA, Miloserdov IA, Saydulaev DA, Sevostyanov VM et al. Complex use of perfusion techniques in kidney transplantation from a donor with out-of-hospital cardiac arrest (clinical case). *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2023; 25 (3): 113–121. doi: 10.15825/1995-1191-2023-3-113-121.
 12. Guarrera JV, Henry SD, Samstein B, Odeh-Ramadan R, Kinkhabwala M, Goldstein MJ et al. Hypothermic machine preservation in human liver transplantation: the first clinical series. *Am J Transplant*. 2010; 10 (2): 372–381. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02932.x.
 13. Dutkowski P, Schlegel A, de Oliveira M, Mullhaupt B, Neff F, Clavien PA. HOPE for human liver grafts obtained from donors after cardiac death. *J Hepatol*. 2014; 60: 765–772. doi: 10.1016/j.jhep.2013.11.023.
 14. Muller X, Schlegel A, Kron P, Eshmunov D, Würdinger M, Meierhofer D et al. Novel Real-time Prediction of Liver Graft Function During Hypothermic Oxygenated Machine Perfusion Before Liver Transplantation. *Ann Surg*. 2019; 270 (5): 783–790. doi: 10.1097/sla.0000000000003513.
 15. De Vries Y, Brüggewirth IMA, Karangwa SA, von Meijenfeldt FA, van Leeuwen OB, Burlage LC et al. Dual Versus Single Oxygenated Hypothermic Machine Perfusion of Porcine Livers: Impact on Hepatobiliary and Endothelial Cell Injury. *Transplant Direct*. 2021; 7 (9): e741. doi: 10.1097/TXD.0000000000001184.

Статья поступила в редакцию 21.01.2024 г.

The article was submitted to the journal on 21.01.2024