

© Коллектив авторов, 2017  
УДК 616.36-089.843-089.6:615.47

С. Ф. Багненко<sup>1</sup>, О. Н. Резник<sup>1,3</sup>, А. Е. Скворцов<sup>1</sup>, А. В. Лопота<sup>2</sup>, Н. А. Грязнов<sup>2</sup>,  
В. В. Харламов<sup>2</sup>, Г. С. Киреева<sup>2</sup>

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ПЕРФУЗИИ ДОНОРСКОЙ ПЕЧЕНИ

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» (ректор — академик РАН проф. С. Ф. Багненко); <sup>2</sup> ФГАНУ «Центральный научно-исследовательский и опытно-конструкторский институт робототехники и технической кибернетики» (дир. — канд. эконом. наук А. В. Лопота), Санкт-Петербург; <sup>3</sup> ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И. И. Джанелидзе» (дир. — проф. В. Е. Парфёнов)

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ.** Разработать аппаратно-техническое обеспечение, позволяющее сохранять и поддерживать жизнеспособность органа в период от момента его забора у донора и до пересадки реципиенту. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Было произведено доклиническое испытание экспериментального аппаратно-программного комплекса для нормотермической перфузии печени, разработанного в Центральном научно-исследовательском и опытно-конструкторском институте робототехники и технической кибернетики. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** По итогам проведённых доклинических испытаний на свиной печени продемонстрировано, что нормотермическая перфузия позволяет восстанавливать функцию печени после 30-минутной тепловой ишемии и приводит к нормализации биохимических параметров функционирования органа.

**Ключевые слова:** трансплантация печени, нормотермическая перфузия *ex vivo*, аппаратно-программный комплекс

*S. F. Bagnenko<sup>1</sup>, O. N. Reznik<sup>1, 3</sup>, A. E. Skvortsov<sup>1</sup>, A. V. Lopota<sup>2</sup>, N. A. Gryaznov<sup>2</sup>, V. V. Kharlamov<sup>2</sup>, G. S. Kireeva<sup>2</sup>*

### Experimental perfusion device for preservation of donor's liver

<sup>1</sup> I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University; <sup>2</sup> Central Research and Experimental-design Institute of Robotics and Technical Cybernetics, St. Petersburg; <sup>3</sup> I. I. Dzhanelidze St. Petersburg Research Institute of Emergency Medicine

**OBJECTIVE.** The authors aimed to develop complex perfusion medical device in order to successfully maintain viability of donor liver until transplantation. **MATERIAL AND METHODS.** Experimental perfusion device for normothermic perfusion donor's liver was developed and tested in the Central Research and Experimental-design Institute of Robotics and Technical Cybernetics. **RESULTS.** The pre-clinical tests were performed on porcine liver. It was demonstrated that normothermic machine perfusion could restore liver function after 30 minutes of warm ischemia time and provide normalization of biochemical parameters of organ functioning.

**Key words:** liver transplant, normothermic perfusion *ex vivo*, experimental device

**Введение.** Главной проблемой, ограничивающей применение трансплантации во всем мире и снижающей её доступность, является дефицит донорских органов, обусловленный стандартной практикой их получения от умерших с диагностированной смертью мозга [11]. Установление диагноза смерти мозга является длительной процедурой и требует привлечения большого числа специалистов, что в ряде случаев приводит к утрате качества донорского органа как в результате

внезапной остановки его сердца, так и за счёт прижизненных системных изменений в организме умершего. В организме донора развивается системная воспалительная реакция, сопровождающаяся процессами тромбообразования, а также активацией системы комплемента. Комплекс патологических явлений получил название ишемически-реперфузионной травмы, которая ложится в основу «окислительного стресса», неизбежно наступающего при взаимодействии

продуктов анаэробного метаболизма с насыщенной кислородом кровью реципиента после трансплантации [8]. Последующее так называемое «простое холодовое хранение» печёночного трансплантата в консервирующем кардиоплегическом растворе приводит к появлению дополнительных факторов повреждения [5, 7]. Поэтому в современных условиях, когда качество практически всех печёчных трансплантатов невысокое, приходится отказываться от пересадки значительной их части, действуя в интересах потенциального реципиента. Для предотвращения посттрансплантационной дисфункции при пересадке печени с субоптимальными характеристиками, а также для восстановления жизнеспособности печёчных трансплантатов, полученных от доноров с остановкой кровообращения, адекватным способом консервации являлась бы рутинно применяемая нормотермическая перфузия *ex vivo*, до выполнения пересадки.

В Российской Федерации создан научно-практический задел по применению нормотермической перфузии для восстановления и поддержания жизнеспособности донорских почек у доноров до эксплантации, *in situ*, однако наличие такого задела не приводит к комплексному решению проблемы [1, 2]. Поскольку пересадка печени является «хирургией одного шанса», то проведение нормотермической перфузии донорской печени требует второго этапа — перфузии *ex vivo* [9, 14]. Такой двухэтапный подход позволит проводить оценку качества, функции, а также коррекцию и лечение печени до пересадки реципиенту.

В настоящее время в ФГАНУ «Центральный научно-исследовательский и опытно-конструкторский институт робототехники и технической кибернетики» (ЦНИИ РТК) впервые был разработан аппаратно-программный комплекс (АПК) для нормотермической перфузии донорской печени (рис. 1). В данной статье представлены результаты доклинических испытаний данного комплекса.

**Материал и методы.** Доклинические исследования. Эксперименты проводились на свиные модели в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и прочих научных целях (принята в Страсбурге 18.03.1986 г., подтверждена в Страсбурге 15.06.2006 г.). Для эксперимента была использована свинья породы Дюрок массой 32,3 кг.

Операцию животному выполняли под общей анестезией. После лапаротомии выполняли лигирование и пересечение круглой связки печени. При необходимости лигировали мелкие сосуды печени. Печень мобилизовали, перевязывали гепатодуоденальную связку, лигировали общий жёлчный проток и воротную вену, пересекали гастродуоденальную

артерию. Затем общую печёночную артерию выделяли к точке начала селезёночной артерии. Вслед за этим свинье внутрисердечно вводили тетракаина гидрохлорид, после чего наступала смерть от остановки сердца. Внутривенно вводили гепарин в дозе 25 000 ЕД.

Изолированную печень свиньи подвергали 30-минутной тепловой ишемии, после чего выполняли изъятие печени по стандартной методике. На втором операционном столе выполняли обработку сосудов печени, фиксировали артериальный и венозные фрагменты с помощью специальных коннекторов. После этого печень помещали в кювету АПК и подсоединяли к магистралям перфузионного контура в следующей последовательности: воротная вена, общая печёночная артерия, нижняя полая вена. Перфузионный раствор имел следующий состав: донорская кровь, Кустодиол (до 2 л), гепарин (25 000 ЕД), стрептокиназа (1,5 млн МЕ), перфторан (минимум 400 мл), метилпреднизолон (500 мг), верапамил (5 мг), нитроглицерин (5 мг), 20% альбумин (200 мл). На протяжении перфузии из перфузионного контура брали пробы перфузата для общего и биохимического анализов крови.

**Результаты.** Перфузию изолированной свиной печени производили со скоростью 1,2 л/мин (начиная с 0,005 л/мин), скорость подачи кислорода составляла 25–550 мл/мин. Лабораторные и биохимические параметры мониторировали каждые 20 мин (таблица).

В процессе перфузии наблюдалось спонтанное восстановление оттока жёлчи через канюлю, установленную в общем жёлчном протоке. Объём отделяемой жёлчи (7,5 мл), цвет и однородность перфузируемой печени не отличались от нормальных параметров. Биохимические показатели стабилизировались на уровне физиологических

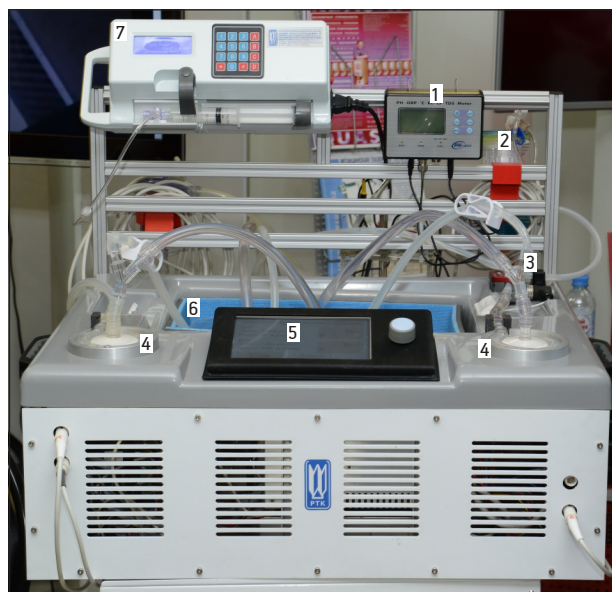


Рис. 1. Экспериментальный образец аппаратно-программного комплекса для перфузии печени

значений через 3,5 ч после начала перфузии: рН=7,38,  $\text{Na}^+$  142 ммоль/л,  $\text{K}^+$  8,5 ммоль/л, активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) 160 ед./л, активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ) — 150 ед./л. Через 35 мин от начала перфузии содержание лейкоцитов в перфузате снизилось почти до  $1 \cdot 10^9$ /л. Динамика изменения активности АлАТ и АсАТ в перфузате представлена на рис. 2.

**Обсуждение.** Известно, что гипотермическая аппаратная перфузия (ГАП) снижает риск отсроченной функции трансплантата, увеличивает время хранения и повышает выживаемость реципиентов, по сравнению со статическим холодным хранением [6, 13]. В настоящее время ГАП рутинно выполняется для почек, особенно в случае маргинальных органов [6]. В экспериментальных исследованиях на печени было доказано, что ГАП не уступает в эффективности холодовому хранению или даже превосходит его [15]. J. V. Guarrega и соавт. [10] выявили, что человеческая печень хорошо переносит 4 ч ГАП после 5 ч статического холодового хранения. Выживаемость пациентов через 1 год после пересадки была сопоставима с соответствующими значениями для холодового хранения, а по функциональным параметрам, продолжительности пребывания в стационаре и качеству жизни больных ГАП+холодовое хранение оказались лучше, чем только холодовое хранение трансплантата. Однако существует

мнение, что гипотермия вносит дополнительный вклад в реперфузионную травму после ишемии [4]. Степень данной травмы напрямую коррелирует с длительностью холодового хранения органа, и она ответственна за 10 % всех острых и хронических отторжений органов [8].

Для борьбы с повреждениями, вызванными гипотермией, было предложено перфузировать органы при физиологических температурах (37 °C) [12]. Данный метод имеет дополнительное преимущество, поскольку он позволяет оценить статус органа путем сравнения данных нормотермической аппаратной перфузии (НАП) с известными параметрами *in vivo* [3]. НАП успешно восстанавливала печень после 60 мин тепловой ишемии с последующей трансплантацией на крысиной и свиной моделях, при этом на крысиной модели срок наблюдения за животными составлял 4 нед после операции [16–17]. Говоря об аппаратно-техническом обеспечении НАП, необходимо отметить, что в мире на сегодняшний день разработана только одна система, которая предназначена для НАП трансплантируемой печени. Остальные перфузионные системы могут использоваться только для ГАП. В связи с этим подобные разработки вызывают значительный и интерес. В ЦНИИ РТК был создан оригинальный АПК для нормотермической перфузии изолированной донорской печени. В ходе доклинических испытаний на свиной печени было

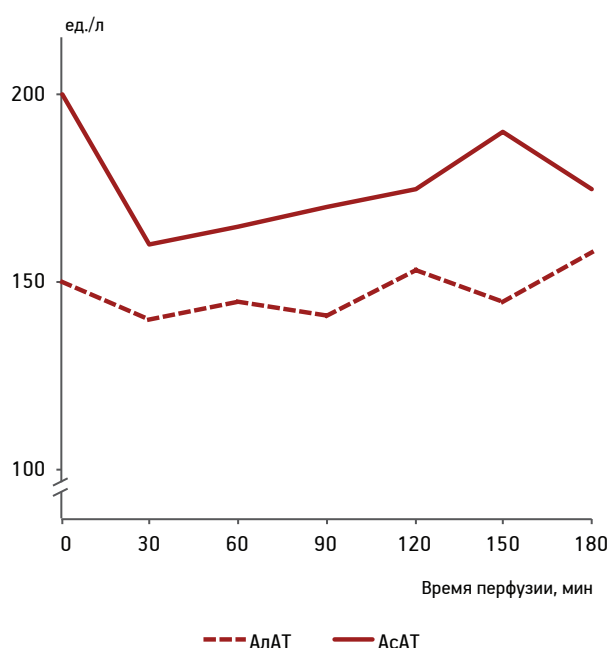


Рис. 2. Изменение активности АлАТ и АсАТ в перфузате во время перфузии печени

#### Характеристика параметров перфузии

| Параметры                                                       | Значение            |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------|
| Содержание гемоглобина, г/л                                     | 129,7               |
| Гематокритное число                                             | 0,33                |
| рН перфузата                                                    | 7,3                 |
| Температура перфузата, °C                                       | 28...32             |
| Начальная скорость перфузии по воротной вене, мл/мин            | 50                  |
| Начальная скорость перфузии по общей печёночной артерии, мл/мин | 50                  |
| Конечная скорость перфузии по воротной вене, мл/мин             | 1500                |
| Конечная скорость перфузии по общей печёночной артерии, мл/мин  | 350                 |
| $\text{pO}_2$ , мм рт. ст.                                      | 264,8               |
| $\text{pCO}_2$ , мм рт. ст.                                     | 89,8                |
| Длительность перфузии, мин                                      | 240                 |
| Содержание лейкоцитов в перфузате начальное                     | $6,8 \cdot 10^9$ /л |
| Содержание лейкоцитов в перфузате конечное                      | $5,7 \cdot 10^9$ /л |

установлено, что нормотермическая перфузия с помощью разработанного АПК позволяет восстанавливать функцию печени после 30 мин тепловой ишемии, что подтверждалось спонтанным восстановлением жёлчеотделения, а также сохранением нормального внешнего вида и консистенции органа. Нормотермическая перфузия печени сопровождалась также нормализацией биохимических показателей через 40 мин после начала перфузии.

**Выводы.** 1. Нормотермическая перфузия свиной печени с помощью разработанного АПК позволяет восстанавливать функцию печени после 30 мин тепловой ишемии, что подтверждается спонтанным восстановлением жёлчеотделения, сохранением нормального внешнего вида, консистенции органа, нормализацией биохимических показателей через 40 мин после начала перфузии.

2. Нормотермическая аппаратная перфузия печени — перспективный способ восстановления и сохранения донорских органов, в том числе от

доноров с внезапной необратимой остановкой сердца.

*Статья подготовлена при финансовой поддержке Минобрнауки в ходе выполнения работ по Соглашению от 23.09.2014 г. № 14.578.21.0058 RFMEFI57814X0058 о предоставлении субсидии в целях реализации федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2014–2020 годы».*

#### ЛИТЕРАТУРА [REFERENCE]

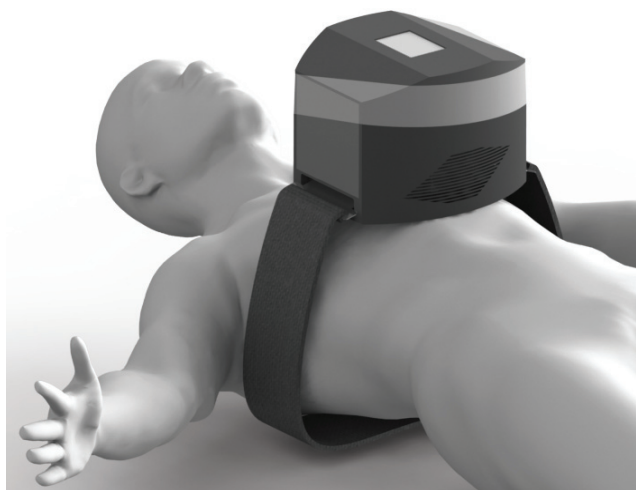
1. Готьё С.В., Багненко С.Ф., Мойсюк Я.Г., Резник О.Н., Скворцов А.Е., Москвин А.Л. Патент № 2441608 от 10.02.2012 г. Способ восстановления и поддержания жизнеспособности ишемически повреждённого донорского органа. Патентообладатель: Государственное учреждение Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И.Джанелидзе. Оpubl. 10.02.2012 в БИ № 4 [Got'e S.V., Bagnenko S.F., Moisyuk Ya.G., Reznik O.N., Skvortsov A.E., Moskvina A.L. Patent № 2441608 ot 10.02.2012 g. Sposob vosstanovleniya i podderzhaniya zhiznesposobnosti ishemicheski povrezhdennogo donorskogo organa. Patentoobladatel': Gosudarstvennoe uchrezhdenie Sankt-Peterburgskii nauchno-issledovatel'skii institut skoroi pomoshchi im. I.I. Dzhanelidze. Opubl. 10.02.2012 v BI № 4].



Государственный научный центр Российской Федерации  
Федеральное государственное автономное научное учреждение  
"Центральный научно-исследовательский и опытно-конструкторский институт робототехники  
и технической кибернетики" (ЦНИИ РТК)

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ОБРАЗЕЦ РОБОТИЗИРОВАННОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ НЕПРЯМОГО МАССАЖА СЕРДЦА

Предназначен для замены ручного массажа сердца при выполнении процедуры  
сердечно-легочной реанимации



### Преимущества

- глубина компрессии грудной клетки в диапазоне 3–6 см;
- частота компрессии до 120 компр./мин;
- время работы в автономном режиме до 45 мин;
- наличие адаптивного режима подстройки параметров компрессии;
- защита от перелома ребер;
- максимально быстрая установка на пациента — менее 1 мин

194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 21  
Лаборатория "Медицинской техники"

• Тел.: (812) 552-01-00, e-mail: rtc@rtc.ru, rtc.ru

• Тел.: (812) 556-33-51, e-mail: v.harlamov@rtc.ru



2. Reznik O.N., Skvortsov A.E., Reznik A.O., Ananyev A.N., Tulin A.P., Kuzmin D.O., Bagnenko S.F. Uncontrolled donors with controlled reperfusion after sixty minutes of asystole: a novel reliable resource for kidney transplantation // PLOS one. 2013. Vol. 8, № 5. [Электронный ресурс]. URL: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0064209> (Дата обращения: 09.11.2016).
3. Angelico R., Perera M.T.P.R., Ravikumar R. et al. Normothermic machine perfusion of deceased donor liver grafts is associated with improved postreperfusion hemodynamics // Transplant Direct. 2016. Vol. 2. P. 97–102.
4. Clavien P.A., Harvey P.R., Strasberg S.M. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts: an overview and synthesis of current studies // Transplantation. 1992. Vol. 53. P. 957–978.
5. Daemen J.W., Kootstra G., Wijnen R.M. Nonheart-beating donors: the Maastricht experience // Clin. Transpl. 1994. P. 303–316.
6. De Deken J., Kocabayoglu P., Moers C. Hypothermic machine perfusion in kidney transplantation // Curr. Opin. Organ Transplant. 2016. Vol. 21. P. 294–300.
7. Deshpande R.H., Heaton N. Can non-heart-beating donors replace cadaveric heart-beating liver donors? // J. Hepatol. 2006. Vol. 45. P. 499–503.
8. Fondevila C., Busuttil R.W., Kupiec-Weglinski J.W. Hepatic ischemia reperfusion injury: a fresh look // Exp. Mol. Pathol. 2003. Vol. 74. P. 86–93.
9. Friend P.J., Imber C., St Peter S., Lopez I., Butler A.J., Rees M.A. Normothermic perfusion of the isolated liver // Transplant. Proc. 2001. Vol. 33. P. 3436–3438.
10. Guarrera J.V., Estevez J., Boykin J. et al. Hypothermic machine perfusion of liver grafts for transplantation: technical development in human discard and miniature swine models // Transplant. Proc. 2005. Vol. 37. P. 323–325.
11. Hashimoto K., Miller C. The use of marginal grafts in liver transplantation // J. Hepatobiliary Pancreat. Sci. 2008. Vol. 15. P. 92–101.
12. Jamieson R.W., Friend P.J. Organ reperfusion and preservation // Frontiers in Bioscience. 2008. Vol. 13. P. 221–235.
13. Moers C., Pirenne J., Paul A., Ploeg R.J. Machine Preservation Trial Study Group, Machine perfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation // N. Engl. J. Med. 2009. Vol. 360. P. 7–19.
14. Op den Dries S., Karimian N., Sutton M.E., Westerkamp A.C., Nijsten M.W., Gouw A.S., Wiersema-Buist J., Lisman T., Leuvenink H.G., Porte R.J. Ex vivo normothermic machine perfusion and viability testing of discarded human donor livers // Amer. J. Transplant. 2013. Vol. 13. P. 1327–1335.
15. Schlegel A., Kron P., Dutkowski P. Hypothermic machine perfusion in liver transplantation // Curr. Opin. Organ Transplant. 2016. Vol. 21. P. 308–314.
16. Tolboom H., Pouw R., Uygun K. et al. A model for normothermic preservation of the rat liver // Tissue Eng. 2007. Vol. 13. P. 2143–2151.
17. Tolboom H., Pouw R.E., Izamis M.L. et al. Recovery of warm ischemic rat liver grafts by normothermic extracorporeal perfusion // Transplantation. 2009. Vol. 87. P. 170–177.

Поступила в редакцию 08.02.2017 г.

#### Сведения об авторах:

*Багненко Сергей Фёдорович* (e-mail: [rector@1spbgmu.ru](mailto:rector@1spbgmu.ru)), д-р мед. наук, проф.; *Скворцов Андрей Евгеньевич* (e-mail: [skvortsov.spb@gmail.com](mailto:skvortsov.spb@gmail.com)), канд. мед. наук; Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8;

*Лопота Александр Витальевич* (e-mail: [rtc@rtc.ru](mailto:rtc@rtc.ru)), канд. эконом. наук; *Грязнов Николай Анатольевич* (e-mail: [gna@rtc.ru](mailto:gna@rtc.ru)), канд. физ.-мат. наук, зам. дир. по науке; *Харламов Вячеслав Валентинович* (e-mail: [sl@rtc.ru](mailto:sl@rtc.ru)), нач. 6-го науч.-исслед. отдела; *Киреева Галина Сергеевна* (e-mail: [galinakireyeva@mail.ru](mailto:galinakireyeva@mail.ru)), канд. биол. наук; Центральный научно-исследовательский и опытно-конструкторский институт робототехники и технической кибернетики, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 21;

*Резник Олег Николаевич* (e-mail: [onreznik@gmail.com](mailto:onreznik@gmail.com)), д-р мед. наук, руководитель отдела трансплантологии и трансплантационной нефрологии с клиникой; Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И. И. Джанелидзе, 192242, Санкт-Петербург, ул. Будапештская, 3.