

*Л. В. Курковский, Д. Н. Садовский, Д. А. Федорук,
А. М. Федорук, О. В. Калачик, О. О. Руммо*

МАШИННАЯ ПЕРФУЗИЯ ПРИ КОНСЕРВАЦИИ ПОЧЕЧНЫХ ТРАНСПЛАНТАТОВ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

*ГУ «Минский научно-практический центр хирургии,
трансплантологии и гематологии»*

Представлены сведения по проблеме машинной перфузии почечных трансплантатов. Приведены данные о видах машинной перфузии.

Описаны особенности проведения процесса перфузии в зависимости от его вида, отмечены положительные и отрицательные эффекты на функцию графта.

Отражены преимущества и недостатки применения различных дополнительных решений при машинной перфузии аллогraftов.

Ключевые слова: *трансплантация почки, машинная перфузия, отсроченная функция.*

***L. V. Kirkovsky, D. N. Sadouski, D. A. Fedoruk,
A. M. Fedoruk, O. V. Kalachik, O. O. Rummo***

MACHINE PERFUSION FOR KIDNEY TRANSPLANT PRESERVATION AT THE MODERN STAGE

Kidney graft machine perfusion data is presented. Information of machine perfusion types is discussed. The features of the perfusion process, depending on it's type, positive and negative effects on the graft function are noted.

The advantages and disadvantages of using various additional solutions for machine perfusion of allografts are reflected.

Key words: *kidney transplantation, machine perfusion, delayed function, acute rejection.*

Актуальность проблемы лечения пациентов с терминальной стадией хронических заболеваний почек была и остаётся одной из самых значимых в современной медицине.

Приоритетным методом лечения хронических заболеваний почек в терминальной стадии является гетеротопическая трансплантация почки (ГТП). Это обусловлено, в первую очередь, лучшим качеством жизни и выживаемости реципиентов после ГТП по сравнению с пациентами, которые получают лечение различными видами диализа [26].

С прошлого века и до сегодняшних дней консервация органов основывается на статической гипотермической консервации. Этот простой и относительно финансово не затратный метод позволяет сохранять орган вне тела человека с момента забора от донора до трансплантации реципиенту. Тем не менее, статическая холододовая консервация (СХК) имеет свои ограничения, преимущества и недостатки [2].

Проблема возникновения отсроченной функции трансплантата (ОФТ) при СХК и как следствие снижение выживаемости графта является актуальными в современной трансплантологии. Рост числа пациентов с хроническими заболеваниями почек и нехватка органов от умерших доноров для трансплантации побуждают специалистов по всему миру изучать и внедрять различные методики машинной перфузии аллографтов от доноров с расширенными критериями, доноров после остановки сердца, а также почек от умерших доноров, не выходящих за критерии маргинальности для снижения отсроченной функции и увеличения выживаемости аллографта.

Гипотермическая машинная перфузия. Со времени внедрения в 70-х годах СХК, вопрос о её преимуществе по сравнению с гипотермической машинной перфузией (ГМП) в консервации почек остаётся дискуссионным. Несомненно, простота СХК является значительным преимуществом перед ГМП. Тем не менее, считается, что ГМП является потенциально предпочтительным методом, так как она позволяет обеспечить постоянную промывку микроциркуляторного русла от форменных элементов крови, что при СХК является важным фактором, влияющим на отсроченную функцию аллографта почки [1], предотвращает накопление в нём продуктов метаболизма, поддерживает более высокую скорость метаболизма, защищает от деполаризации мембраны клеток и уменьшает образование свободных радикалов [30].

Фолькерт Бельцер был первым разработчиком портативной системы для машинной перфузии в 1960-х г. [5]. Однако в связи с успешным опытом применения СХК в 1970-х г. развитие этой технологии затормозилось на несколько десятилетий. С увеличением в последнее время количества доноров с расширенными критериями включения и доноров с остановкой сердечной деятельности интерес к ГМП снова возрос. Были разработаны новые относительно

но простые портативные системы, например, такие как Lifeport Kidney Transporter (Organ Recovery System, США), которые вывели эту технологию на новый уровень. Многие экспериментальные работы доказали, что ГМП улучшает качество консервации и качество трансплантата почки [14]. Европейское мультицентровое клиническое исследование сравнения СХК с ГМП у доноров со смертью мозга выявило, что при использовании ГМП снижается риск отсроченной функции трансплантата (OR 0,57; $p = 0,01$), также улучшается однолетняя и трёхлетняя выживаемость трансплантата [19].

Данные исследований указывают на то, что ГМП может лучше снижать развитие отсроченной функции трансплантата в маргинальных почках. В Европейском суб-анализе 82 пар почек полученных от доноров с остановкой кровообращения было показано, что отсроченная функция трансплантата при использовании ГМП была в 53,7 %, а при СХК в 69,5 % [21]. Однако значительной разницы в однолетней и трёхлетней выживаемости трансплантата не было. В последующих в дальнейшем исследованиях у доноров с расширенными критериями включения, при использовании ГМП частота отсроченной функции трансплантата снижается с 29,7 до 22 %, также улучшается и однолетняя и трёхлетняя выживаемость графта [19].

Методики ГМП до сих пор подвержены критике из-за предположения повышенного повреждения эндотелия, которое было обнаружено в исследовании на свиньях, а также риска травмирования сосудов и вопросов экономической эффективности в сравнении с СХК [27]. Тем не менее, выявлено, что при правильном модифицировании методик ГМП можно добиться большого преимущества в снижении холододового ишемического повреждения трансплантата по сравнению с СХК. В настоящее время клинически применяется только гипотермическая машинная перфузия почек [3].

Нормотермическая машинная перфузия. Альтернативной методикой консервации органов является методика поддержания его экстракорпорального состояния в условиях нормотермии. Продолженная нормотермическая перфузия почки с доставкой нутриентов и кислорода имеет преимущество в части отсутствия гипотермического повреждения и гипоксии.

Ранние попытки этой методики были неудачными из-за невозможности поддержания целостности клеток и метаболизма почки. Технологии, позаимствованные из кардиохирургии, помогли решить многие проблемы. Разработка менее травматичных перфузионных насосов и осознание необходимости доставки кислорода и нутриентов для успеха перфузии сделали нормотермическую машинную перфузию реальным кандидатом для внедрения в клиническую трансплантологию [15].

Нормотермическая машинная перфузия может производиться различными методиками. Для поддер-

жания тканевой перфузии после остановки сердца применяется концепция экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО). Её применение позволяет обеспечивать экстракорпоральную циркуляцию при комнатной температуре или температуре тела гипероксигенированной кровью. Было доказано, что нормотермическая рециркуляция предпочтительна при заборе сердца, лёгких и абдоминальных органов. Valero и соавт. оценил эффекты при внедрении этой технологии в клиническую практику у небольшой группы доноров с остановкой кровообращения [20]. Циркуляция крови поддерживалась до 60 минут, перед тем как выполнить общее охлаждение тела. Отмечено снижение частоты ОФТ и первичного не функционирования трансплантата по сравнению со стандартным охлаждением *in situ* или общим охлаждением тела донора. Считается, что поддержание в органе повышенной регуляции аденозиновых рецепторов для снижения повреждения, вызванного консервацией, достигается поддержанием циркуляции вплоть до выполнения забора [20]. Резник и др. сообщил о применении экстракорпоральной нормотермической рециркуляции с применением лейкодеплецированной крови у неконтролируемой группы доноров с остановкой кровообращения [28]. Первичное функционирование трансплантата было достигнуто у 6 из 16 пациентов. Однако, для применения нормотермической машинной перфузии при пересадке почки необходимо изучить её корреляцию с ранними и поздними показателями функционирования трансплантата.

Hosgood and Nicholson применили в клинике нормотермическую перфузию почек [13]. Это одно наблюдение кратковременной нормотермической перфузии маргинального трансплантата почки оксигенированным раствором на основе эритроцитарной массы. У реципиента отмечена немедленная функция графта. В то время, как у его парной почки, которая хранилась в условиях СХК, была отмечена ОФТ.

Тем не менее, несмотря на потенциально обнадеживающие результаты, применение нормотермической машинной перфузии связано со значительными логистическими трудностями и дороговизной систем для перфузии.

Биомаркеры. Измерив степень ишемического повреждения во время консервации, можно оценить качество почки и определить её жизнеспособность. С практической точки зрения это необходимо при заборе почки от маргинальных доноров и должно снизить частоту развития первично нефункционирующего трансплантата. Жизнеспособность графта обычно оценивается по анамнезу заболевания донора, длительности остановки кровообращения, качества перфузии *in situ*, времени холодовой ишемии и визуальному осмотру почки, в конечном итоге все зависит от субъективного мнения опытного хирурга-трансплантолога [17]. Гипотермическая машинная

перфузия используется для улучшения жизнеспособности графта. Можно измерять два основных показателя. Во-первых, при машинной перфузии консервирующим раствором через почку можно определить перфузионное давление и рассчитать внутривисцеральную резистентность. Во-вторых, можно исследовать сам перфузат для определения внутриклеточного повреждения.

Клинически индекс перфузионного потока (PFI) используется в качестве показателя потока и сопротивления, этот показатель основан на минимальном потоке, полученном для данного давления. По рекомендации трансплантационной группы из Ньюкасла, PFI должен быть более 0,6 мл/мин/мм рт. ст./100 г почки для того, чтобы почка считалась пригодной для трансплантации [29]. Однако способность этих измеряемых параметров предсказывать ОФТ и первичное нефункционирование трансплантата лимитированы. По мнению Jochman и соавт. сопротивление почечной ткани (RR) в конце гипотермической машинной перфузии является независимым фактором риска ОФТ и однолетней выживаемости графта, но достоверность данного предиктора являлось низкой, поэтому на этот показатель нельзя полагаться как на единственный при оценке жизнеспособности трансплантата [16].

Жизнеспособность также может быть оценена путем отбора проб перфузата для определения биомаркеров повреждения клеток. Такие маркеры, как глутатион-S-трансфераза (GST), общая глутатион-S-трансфераза (tGST), лактатдегидрогеназа (LDH), N-ацетил-β-D-люкозаминидаза (NAG), белок, связывающий жирные кислоты сердечного типа (H-FABP) и аланинаминопептидаза (Ala-AP) использовались для определения повреждения почечной ткани [29, 16]. В настоящее время существует мало информации об их прогностической ценности. Тем не менее, Jochman и соавт. опубликовали результаты европейского исследования ГМП, в котором были взяты образцы перфузата для оценки биомаркеров в конце ГМП [16]. GST, NAG и H-FABP оказались независимыми предикторами для ОФТ, но не для однолетней выживаемости трансплантата. Обнаружено, что LDH и Ala-AP не имеют прогностического потенциала для исхода после трансплантации. Кроме того, биомаркеры не коррелировали с внутривисцеральной резистентностью. Нормотермическая машинная перфузия может быть более перспективной для оценки жизнеспособности по сравнению с ГМП.

Экспериментальные исследования. Оксигенация. Существует все больше доказательств в поддержку восстановления ишемически поврежденных органов с кислородными методами консервации при низких температурах. Исторически оксигенация считалась важным компонентом гипотермического сохранения почек с целью поддержать митохондриальный ресинтез аденозинтрифосфата (АТФ) и отсро-

чить процесс травмы аллографта [25]. При применении современных методов СХК, кислород не считался жизненно важным ингредиентом и, как таковой, обычно не применяется в клинических условиях. Различные методы были использованы для подачи кислорода при СХК и ГМП.

Ретроградная кислородная персифляция – это простая техника, при которой кислород фильтруется, увлажняется во время СХК и барботируется непосредственно через сосудистую систему почек. Газ выходит из органа через небольшие перфорации непосредственно на его поверхности. Отчёты о применении такой методики датируются 1970-ми годами [23].

Гипербарическая оксигенация – это доставка кислорода при повышенном атмосферном давлении. Гипербарическая оксигенация обычно используется для лечения кессонной болезни, отравления угарным газом, газовой эмболии, нарушений кровообращения и для стимуляции заживления ран [7, 8].

Тем не менее, метод был использован при консервации органов. При нормальном атмосферном давлении существует ограничение на количество кислорода, которое может быть перенесено в кровь. Повышение атмосферного давления, при котором он доставляется, увеличивает количество растворенного кислорода в плазме, обеспечивая более глубокое проникновение в ткани (закон Генри). Следовательно, ткани могут быть адекватно насыщены кислородом при отсутствии кровотока, что является особым преимуществом при консервации органов [7, 8].

Кислород также может быть использован во время ГМП. В настоящее время ГМП не дополняется кислородом, исходя из предположения, что уравнивание воздуха в перфузатах в достаточной степени поддерживает энергетический обмен, и что потребление кислорода при 4 °С составляет около 5 % от потребления при температуре тела [21]. Однако во время перфузии можно частично восстановить АТФ, добавив кислород и энергетические субстраты, а короткие периоды оксигенированной перфузии после СХК также использовались для кондиционирования органов, коррекции потери АТФ, снижения уровня окислительного стресса и улучшения жизнеспособности органов [10].

Кислород транспортирующие растворы. Кислород также может быть эффективно введён во время консервации с использованием его искусственных носителей. Перфторуглероды (ПФУ) представляют собой инертные растворы, которые обладают высокой способностью растворять кислород. Они выделяют кислород в градиенте концентрации, создавая сильно насыщенную кислородом среду, на которую не влияет температура [11]. Они могут быть добавлены во время СХК по методике, называемой двухслойным методом. Плотность ПФУ позволяет сформировать два слоя: ПФУ снизу и раствор для консервации сверху. Орган помещается в раствор и остаётся

между двумя слоями. Кислород может добавляться непрерывно, обеспечивая адекватную диффузию через орган. Использование двухслойного метода продемонстрировало потенциал в других органах, но не получило большого распространения, так как было поставлено под сомнение способность кислорода проникать глубоко в ткани в более плотно капсулированные органы. В почке его положительный эффект был продемонстрирован в модели на крысах, однако при применении в модели на свиньях результаты не показали преимуществ по сравнению с СХК [11, 12].

ПФУ в форме эмульсии для непрерывной перфузии применялся во время ранних попыток машинной перфузии [12]. Однако нестабильность и неблагоприятные эффекты эмульсий в то время препятствовали их дальнейшему применению [11].

Экспериментально при консервации почек были применены и другие кислородные носители. *Neomarina M101* (M101) представляет собой респираторный пигмент, полученный из морского беспозвоночного – *Arenicola marina* [24]. Он имеет чрезвычайно высокое сродство к кислороду и функционирует в широком диапазоне температур (4–37 °С), выделяя кислород против градиента.

Как и в гипотермических условиях, перфторхимические растворы и растворы гемоглобина могут также использоваться для доставки кислорода при нормотермических температурах. Так, растворы на основе гемоглобина, такие как гемоглобин без стромы, не смогли продемонстрировать пользу в эксперименте из-за токсического воздействия на почку. Однако недавно разработанный пиридоксалированный гемоглобин-олоксиэтилен считается более безопасным [6]. Разрабатываются новые, более стабильные ПФУ 2-го и 3-го поколения, некоторые из них проходят клинические испытания для оценки их безопасности. Humphreys и соавторы использовали коммерчески доступный ПФУ «Oxygent» для обеспечения оксигенации и уменьшения ишемического повреждения почки в ишемии у доноров с небьющимся сердцем путем ретроградной инфузии через мочевой катетер [4].

Другие консервирующие растворы, такие как Lifor, являются новой искусственной консервирующей средой, содержащий небелковый кислородный носитель, который можно использовать при комнатной температуре, также могут быть использованы для консервации [22]. Эти новые растворы могут быть перспективными для дальнейшего развития перфузатов с сохранением нормотермических свойств. Тем не менее, использование этих нормотермических перфузатов в клинической практике все ещё ожидается.

Успех трансплантации почки в раннем послеоперационном периоде зависит от кондиционирования донора, особенностей операции эксплантации, качества донорского органа, способа консервации орга-

на, сопутствующей патологии донора и реципиента, времени тепловой и холодовой ишемии, хирургических и анестезиологических аспектов при операции трансплантации реципиенту, совпадения по HLA-антигенам. Интегрирующим фактором является степень ишемически-реперфузионного повреждения.

Доказано, что перфузионные технологии снижают ишемически-реперфузионное повреждение при использовании донорских органов с расширенными критериями и от доноров с остановкой сердечной деятельности.

Пройден долгий путь от экспериментальных исследований на животных до внедрения в клиническую практику машинной перфузии почек. В настоящее время применяемые методики субнормотермической машинной перфузии и нормотермической машинной перфузии для клинического применения не разработаны и требуют дальнейшего исследования.

Литература

1. Комплексная защита трансплантата почки / Д. Н. Садовский [и др.] // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 2. – С. 70–76.
2. Консервация почечных трансплантатов в условиях статического холодого хранения: современное состояние проблемы / Кирковский [и др.] // Военная медицина. – 2019. – № 4. – С. 45–51.
3. Перфузионное кондиционирование аллографтов печени и почек / А. М. Федорук // Новости хирургии. – 2018. – Т. 26, № 2.
4. Can the kidney function as a lung? Systemic oxygenation and renal preservation during retrograde perfusion of the ischaemic kidney in rabbits / M. R. Humphreys [et al.] // BJU Int. – 2006. – Vol. 98, № 3. – P. 674–679.
5. Current methods of kidney storage / F. O. Belzer // Cryobiology. – 1969. – Vol. 5, № 6. – P. 444–446.
6. Daniels, F. H. The use of hemoglobin solutions in kidney perfusions / F. H. Daniels, R. E. McCabe, Jr. E. F. Leonard // Crit. Rev. Biomed. Eng. – 1984. – Vol. 9, № 4. – P. 315–345.
7. Edwards, M. L. Hyperbaric oxygen therapy. Part 1: history and principles / M. L. Edwards // J. Vet. Emerg. Crit. Care. – 2010. – Vol. 20, № 3. – P. 284–288.
8. Edwards, M. L. Hyperbaric oxygen therapy. Part 2: history and principles / M. L. Edwards // J. Vet. Emerg. Crit. Care. – 2010. – Vol. 20, № 3. – P. 289–297.
9. Function and quality of kidneys after cold storage, machine perfusion, or retrograde oxygen persufflation: results from a porcine autotransplantation model / J. Treckmann [et al.] // Cryobiology. – 2009. – Vol. 59, № 1. – P. 19–23.
10. Gaseous oxygen persufflation or oxygenated machine perfusion with Custodiol-N for long-term preservation of ischemic rat livers? / J. Stegemann [et al.] // Cryobiology. – 2009. – Vol. 58, № 1. – P. 45–51.
11. Hosgood, S. A. The role of perfluorocarbon in organ preservation / S. A. Hosgood, M. L. Nicholson // Transplantation. – 2010. – Vol. 89, № 10. – P. 1169–1175.
12. Hosgood, S. A. The two layer method does not improve the preservation of porcine kidneys / S. A. Hosgood, I. H. Mohamed, M. L. Nicholson // Med. Sci Monit. – 2011. – Vol. 17, № 1. – P. BR27–33.
13. Hosgood, S. A. First in Man Renal Transplantation After Ex Vivo Normothermic Perfusion / S. A. Hosgood,

M. L. Nicholson // Transplantation. – 2011. – Vol. 92, № 7. – P. 735–738.

14. Hypothermic machine perfusion of kidneys retrieved from standard and high-risk donors / I. Jochmans [et al.] // Transpl Int. – 2015. – Vol. 28, № 6. – P. 665–676.

15. Improving the outcomes of organs obtained from controlled donation after circulatory death donors using abdominal normothermic regional perfusion / E. Minambres [et al.] // Am J. Transplant. – 2017. – Vol. 17. – P. 2165–2172.

16. Jochmans, I. Graft quality assessment in kidney transplantation: not an exact science yet! / I. Jochmans, J. Pirenne // Curr Opin Organ Transplant. – 2011. – Vol. 16, № 2. – P. 174–179.

17. Kidney Transplantation from Donors after Cardiac Death: Uncontrolled versus Controlled Donation / E. R. Hoogland [et al.] // Am J. Transplant. – 2011. – Vol. 11, № 7. – P. 1427–1434.

18. Machine perfusion versus cold storage for the preservation of kidneys donated after cardiac death: a multicenter, randomized, controlled trial / I. Jochmans [et al.] // Ann Surg. – 2010. – Vol. 252, № 5. – P. 756–764.

19. Machine Preservation Trial Study Group. Machine perfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation / C. Moers [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2012. – Vol. 366, № 8. – P. 770–771.

20. Normothermic recirculation reduces primary graft dysfunction of kidneys obtained from non-heart-beating donors / R. Valero [et al.] // Transpl. Int. – 2000. – Vol. 13, № 4. – P. 303–310.

21. Organ Preservation: Current Concepts and New Strategies for the Next Decade / E. E. Guibert [et al.] // Transfus. Med. Hemother. – 2011. – Vol. 38, № 2. – P. 125–142.

22. Room temperature pulsatile perfusion of renal allografts with Lifor compared with hypothermic machine pump solution / F. Gage [et al.] // Transplant Proc. – 2009. – Vol. 41, № 9. – P. 3571–3574.

23. Ross, H. Gaseous oxygen perfusion of the renal vessels as an adjunct in kidney preservation / H. Ross, M. L. Escott // Transplantation. – 1979. – Vol. 28, № 5. – P. 362–364.

24. Supplementation With a New Therapeutic Oxygen Carrier Reduces Chronic Fibrosis and Organ Dysfunction in Kidney Static Preservation / R. Thuillier [et al.] // Am J. Transplant. – 2011. – Vol. 11, № 9. – P. 1845–1860.

25. Taylor, M. J. Current state of hypothermic machine perfusion preservation of organs: The clinical perspective / M. J. Taylor, S. C. Baicu // Cryobiology. – 2010. – Vol. 60, № 3 Suppl. – P. 20–35.

26. The impact of waiting time and comorbid conditions on the survival benefit of kidney transplantation / J. S. Gill [et al.] // Kidney Int. – 2005. – Vol. 68, № 2. – P. 2345–2352.

27. The effectiveness and cost effectiveness of methods of storing donated kidneys from deceased donors: a systematic review and economic model / M. Bond [et al.] // Health Technol. Assess. – 2009. – Vol. 13, № 38. – P. 156.

28. The use of in-situ normothermic extracorporeal perfusion and leukocyte depletion for resuscitation of human donor kidneys / O. Reznik [et al.] // Perfusion. – 2010. – Vol. 25, № 5. – P. 343–348.

29. Use of two biomarkers of renal ischemia to assess machine-perfused non-heart-beating donor kidneys / M. A. Gok [et al.] // Clin. Chem. – 2003. – Vol. 49, № 1. – P. 172–175.

30. Vaziri, N. Analysis of machine perfusion benefits in kidney grafts: a preclinical study / N. Vaziri [et al.] // J. Transl. Med. – 2011. – Vol. 25, № 9. – P. 15.

Поступила 31.01.2020 г.