

Д. Н. Садовский, О. В. Калачик, Г. В. Жук

ТЕМПЕРАТУРНЫЙ ФАКТОР ПРИ ЭКСПЛАНТАЦИИ И КОНСЕРВАЦИИ АЛЛОГРАФТА ПОЧКИ ОТ ДОНОРА СО СМЕРТЬЮ МОЗГА, КАК ФАКТОР-ПРЕДИКТОР ОТСРОЧЕННОЙ ФУНКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТА

УЗ «9-я городская клиническая больница», г. Минск

Отсроченная функция трансплантата почки зависит от целого ряда факторов, связанных с донором и реципиентом почки. Большинство из них нельзя модифицировать с целью улучшения результатов трансплантации почки.

Целью данного исследования явилось выявление оптимальной температуры охлаждения почечных трансплантатов, ассоциированной с меньшим количеством дисфункций аллографтов от умерших доноров. Изучалась температура консервирующего раствора и почечного

трансплантата на этапах эксплантации и подготовки почки к трансплантации в группах реципиентов с удовлетворительной функцией и дисфункцией пересаженного органа. Целевое значение температуры почки, с которой ассоциировано статистически значимое снижение числа дисфункций трансплантата, составило $\leq 13,3$ °C.

Ключевые слова: холодовая консервация, консервирующий раствор, эффлюент, дисфункция трансплантата, трансплантация почки.

D. N. Sadozsky, O. V. Kalachik, G. V. Zhuk

TEMPERATURE FACTOR AT THE EX-PLANTATION AND ALLOGRAFT'S PRESERVATION OF THE KIDNEY FROM THE DONOR WITH DEATH OF THE BRAIN, AS THE FACTOR THE PREDICTOR OF THE DELAYED FUNCTION OF THE TRANSPLANT

Appearance of kidney graft dysfunction depends on many donors and recipient factors. Part of it cannot be changed for better results of operation. The aim of our investigation is determination of optimal temperature of dead brain donor kidney transplants. We estimated temperature of cold preservation solution and kidney transplant during procurement and preparation in groups of transplant patients with normal and insufficient function of transplanted organ. Statistically valuable decreasing of transplant dysfunction is associated with temperature of 13,3 °C.

Key words: cold preservation, preservation solution, effluent, graft dysfunction, kidney transplantation.

За последние несколько десятилетий трансплантация почек стала одним из основных видов лечения терминальной стадии хронических диффузных заболеваний почек, обеспечивая лучшие показатели выживаемости, снижение затрат и улучшение качества жизни [1]. Число трансплантаций органов ежегодно увеличивается, но дефицит органов приводит к тому, что на каждого пациента, который получает донорский орган, приходится четверо других, которые остаются в листе ожидания. По данным «Eurotransplant», в листе ожидания каждые полтора часа умирает один пациент, не успев получить трансплантат почки [8]. С 1996 года лист ожидания трансплантата почки в «Eurotransplant» увеличился на 12–17% [11].

Таким образом, существует прогрессирующий дефицит донорских органов.

Одним из направлений в решении проблемы нехватки донорских органов является борьба за длительность выживаемости пересаженных почек.

Отсроченная функция трансплантата (ОФТ) является важным фактором воздействия на краткосрочную и долгосрочную выживаемость трансплантата [9, 7].

Основными причинами возникновения ОФТ являются ишемическое и реперфузионное повреждение трансплантата, в основе которого лежит развитие острого канальцевого некроза (ОКН) [2]. Частота ОКН увеличивается при пролонгировании холодовой ишемии свыше 24 часов [6], зависит от состояния донора, наличия артериальной гипертензии и сосудистой патологии, а также от типа консервирующего раствора [5], условий консервации и температуры охлаждения донорского органа [1].

Важным аспектом статической гипотермической консервации органов является температура консервирующего раствора, а также температура хранения органа и температура его охлаждения на разных этапах эксплантации [1].

Существует необходимость дальнейшего изучения влияния температурного фактора на развитие дисфункции трансплантата почки. До сих пор нет точных данных об оптимальных температурах охлаждения паренхимы почки по окончании процедуры холодовой перфузии почек (флашинга). По мнению многих исследователей оптимальная температура консервирующего раствора при холодовой консервации составляет 0–4 °C, а оптимальная температура охлаждения паренхимы аллогraftа после перфузии находится в пределах – от 4 °C до 15 °C. Некоторые из них считают, что относительно высокие температуры уско-

ряют клеточный метаболизм и повышают потребность в питательных веществах для поддержания метаболических требований в процессе перфузии и во время консервации [3, 10, 12, 13].

До настоящего времени не существует данных о связи между температурой консервирующего раствора и температурой аллогraftов почек, эксплантируемых у умерших доноров. Таким образом, изучение и оптимизация температурного фактора при консервации трансплантата почки является актуальным.

Целью исследования было установление оптимальных характеристик температурного фактора при эксплантации и консервации трансплантатов почек, ассоциированного с меньшим количеством дисфункций почек после трансплантации.

Материалы и методы

Донорами трансплантатов почки были умершие пациенты с констатированной смертью мозга и без критериев маргинальности, находившиеся в отделениях реанимации и интенсивной терапии государственных учреждений здравоохранения Республики Беларусь.

В исследование включено 65 умерших доноров. Их средний возраст составил 43,1(10,2) года. Причиной смерти доноров были в 38/65 (58,5%) случаях – тяжелая черепно-мозговая травма (ЧМТ), в 27/65(41,5%) случаях – острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК). Изъятие почек проводилось в 47/65(72,3%) эпизодах в ходе изолированного забора (ИЗ) и в 18/65(27,7%) эпизодах – в ходе мультиорганного забора (МЗ). 45/65(69,2%) доноров имели нестабильную гемодинамику на момент эксплантации и нуждались в инотропной поддержке с помощью «кардиотоников».

Эксплантация органов производилась по стандартной методике, описанной в «Клиническом протоколе трансплантации почки», утвержденном приказом Минздрава Республики Беларусь от 05.01.2010 г. № 6. В качестве консервирующего раствора (КР) для холодовой перфузии и консервации почек был использован раствор «Кустодиол», производства компании Dr. F. Köhler Chemie (Германия). Объем КР «Кустодиол» для холодовой перфузии (флашинга) определялся в зависимости от объема эксплантации и составлял от 5 (при ИЗ почек) до 10 литров (при МЗ).

Измерение температуры КР внутри упаковочной емкости производилось путем введения через мембрану дополнительного канала в этой емкости стерильного иглычатого дистанционного термодатчика термометра, производства HANNA Instruments

□ Оригинальные научные публикации

(США), а в приводящей (артериальной) магистрали введением термодатчика в просвет этой магистрали. Разрешение термометра – 0,1 °С.

Измерение температуры трансплантата почки в ходе операции по эксплантации органа проводилось по разработанной методике (заявка на изобретение № 201400511/26): после обнажения забрюшинного пространства производилось выделение левой почечной вены от ворот почки до места впадения в нижнюю полую вену. Далее лигировали левую надпочечниковую и гонадную вены на расстоянии 0,5 см до левой почечной вены. Перевязка сосудов производилась с целью исключения попадания венозной крови и эффуэнта из других источников и измерения температуры жидкости оттекающей только от почки. После создания закрытого перфузионного контура начинали перфузию охлажденным консервирующим раствором (флашинг) через отверстие в брюшной аорте. На последней минуте флашинга левую почечную вену отсекали у места впадения в нижнюю полую вену. Оставшуюся часть левой почечной вены пережимали на $\frac{3}{4}$ ее диаметра и в свободную от зажима $\frac{1}{4}$ часть вводили датчик температуры через всю длину вены в полость почки, не повреждая ее изнутри.

Температуру в почке на этапе ее подготовки к трансплантации определяли до и после окончательной перфузии в центре трансплантации. Термометрия проводилась путем введения датчика температуры на всю длину почечной вены вглубь почки, не повреждая ее изнутри.

Операция аллотрансплантации почки выполнялась из стандартного забрюшинного доступа с помещением почечного трансплантата в гетеротопическую позицию в подвздошной ямке реципиента. Сосудистые анастомозы накладывались по типу «конец в бок», уретеронеоцистоанастомоз формировался по Личу-Грегару. Иммуносупрессивная терапия проводилась по трехкомпонентной схеме (ингибиторы кальциневрина, мофетила-микофенолат и глюкокортикостероиды).

Дисфункция трансплантата почки диагностировалась при наличии в послеоперационном периоде замедленной (уровень креатинина крови более 300 мкмоль/л через 7 дней после операции) и/или отсроченной функции трансплантата (потребность в 1-м и более сеансах гемодиализа (ГМД) или перитонеального диализа (ПД) в послеоперационном периодетрансплантации). Немедленная функция трансплантата почки характеризовалась выделением мочи с первого дня после операции в количестве, достаточном для поддержания удовлетворительного гомеостаза пациентов.

Статистический анализ проводился с использованием непараметрических методов. Средние величины показаны как медиана с 25% и 75% квартильным интервалом – Me (25;75), среднее арифметическое со средним квадратичным отклонением – M(SD). Сравнение количественных величин выполнялось с использованием Mann-Whitney и Fisher-тестов. При значениях $p < 0,05$ результаты считались статистически значимыми.

Для выявления корреляционной связи использовался непараметрический метод корреляционного анализа по Спирману – R.

Результаты и обсуждение

Проведено ретроспективное, одно центровое исследование с дизайном «случай-контроль». В зависимости от типа функционирования трансплантата, были сформированы две группы реципиентов. Основная группа (с дисфункцией трансплантата) включала 29 реципиентов трансплантата почки от умершего донора. Группа сравнения (с немедленной функцией) включала 48 реципиентов трансплантата почки. Группы различны, кроме показателя среднего возраста.

Демография реципиентов и лабораторные характеристики функции трансплантатов почки приводится в таблице 1.

Исходя из ранних результатов трансплантации почки проведен ретроспективный анализ измеренных на различных этапах температурных параметров консервирующего раствора и трансплантата почки.

Установлено, что единственным предиктором, достоверно ассоциированным с развитием ранней дисфункцией почечно-

Таблица 1. Характеристика реципиентов в группах

	Основная группа, n = 48	Группа сравнения, n = 29	Mann-Whitney, p
Среднийвозраст, лет	43,04(12,02)	46(12,18)	0,33
Neutrophil gelatinase-associated lipocalin(NGAL), нг/мл	212,9 (92,1;317,2)	680 (486,4;1017)	$p < 0,0001$
Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) по MDRD на 7 сутки ПП, мл/мин.	43,5(33;57,5)	13(10;21)	$p < 0,0001$
Длительность диализа до трансплантации, мес.	24,5(13,5;41)	49(30;108)	0,0012

го трансплантата была степень охлаждения паренхимы почек в конце процедуры флашинга при эксплантации.

В группе пациентов с немедленной функцией температуры почки на этом этапе была достоверно ниже и составила 13 °С (11,1;14), чем в группе с дисфункцией трансплантата почки – 14,1 °С (13;14,8) ($p = 0,0039$).

В остальных контрольных точках измерения температурного фактора результаты термометрии между исследуемыми группами не отличались (таблица 2).

При продвижении КР по приносящей магистрали во время процедуры флашинга от упаковочной емкости до места введения в организм донора он нагревался в среднем более чем на 1,5 °С, и на момент доставки раствора к консервируемому органу превысил максимальную рекомендуемую температуру при МЗ почти на 3 °С.

Выявлены корреляционные связи между температурой КР в упаковочной емкости с температурой эффуэнта в почечной вене, и температурой КР в приносящей магистрали и эффуэнта в почечной вене в конце процедуры флашинга. Установлены, соответственно, прямая слабая связь – Spearman R = 0,27, $p = 0,029$ и прямая умеренная связь – Spearman R = 0,52, $p < 0,0001$.

После забора органов их транспортировка и хранение органа осуществлялась в условияхнеобходимых для охлаждения трансплантата в пределах от 0 °С до 4 °С.

Нами установлено, что после окончательной перфузии почек, проведенной в центре трансплантации, их температура увеличивалась более чем в два раза по сравнению с температурой транспортировки и хранения (таблица 2).

С помощью ROC – анализа рассчитано целевое значение температуры охлаждения почки на этапе окончания процедуры флашинга для достижения наилучших функциональных результатов. Целевой критерий температурного фактора ассоциированного с немедленной функцией трансплантата составил $\geq 13,3$ °С. Предиктивная ценность положительного результата составила – 78,8%, отрицательного – 57,6%.

Для изучения прямого влияния температуры охлаждения почки на развитие дисфункции трансплантата мы разделили

Таблица 2. Динамика температур консервирующего раствора и охлаждения почки в группах

	Немедленная функция	Дисфункция почки	Mann-Whitney, p
T °С КР в упаковочной емкости	5,25(4,85;6,05)	5,55(5;6,1)	0,24
T °С КР из артериальной магистрали	6,85(6,2;7,25)	7,15(7;8)	0,18
T °С почки после флашинга	13 (11,1; 14)	14,1(13;14,8)	0,0039
T °С почки до окончательной перфузии	3,3(2,75;3,95)	2,45(2;3,3)	0,29
T °С почки после окончательной перфузии	8(7,15;8,1)	8(7,3;8,2)	0,59

всех реципиентов в соответствии с полученным целевым значением. В группе № 1 пациенты имели более глубокое охлаждение трансплантата почки на момент $\leq 13,3$ °C, а в группу № 2 были включены реципиенты, у которых трансплантат был охлажден до температуры 13,4 °C.

Доноры почек для реципиентов 1-й и 2-й групп не имели статистически значимых отличий по возрасту – 40,6(11,38) и 45,93(7,77), $p = 0,1$; причинам смерти мозга: ЧМТ – 22(59,46%) и 16(57,14%), ОНМК – 15(40,54%) и 12(42,86%), $p = 0,52$; частоте применения инотропной поддержки кардиотониками – 24(64,8%) и 21(75%), $p = 0,41$.

Демография реципиентов, структура их заболеваемости и вида диализотерапии приводится в таблице 3.

Таблица 3. Характеристика реципиентов в группах, различающихся по температуре охлаждения почки

	Группа 1, n = 42	Группа 2, n = 35	** - Mann-Whitney; * - Fisher, p
Мужчины/женщины, n (%)	26(61,9)/16(38,1)	15(42,9)/20(57,1)	0,075*
Средний возраст, лет	46,8(10,7)	41,85(13,03)	0,093**
Сахарный диабет, n (%)	1(2,4)	1(2,9)	0,7*
Подагра, n (%)	2(4,8)	1(2,9)	0,57*
Поликистоз, n (%)	9(21,4)	2(5,7)	0,048*
Артериальная гипертензия, n (%)	4(9,5)	0	0,08*
Врожденная аномалия мочевыводящих путей, n(%)	2(4,8)	3(8,5)	0,41*
Хронический гломерулонефрит, n (%)	24(57,1)	28(80)	0,03*
ПД/ГМД, n (%)	4(9,5)/38(90,5)	2(5,7)/33(94,3)	0,43*

При анализе количества немедленной функции и дисфункций в группах сравнения выявлено статистически значимое различие по всем показателям. Также установлено, что пациенты в группе с целевым значением температуры охлаждения (группа 1) имели статистически значимые различия в уровне uNGAL и тенденцию к повышению СКФ, и снижению креатинина (таблица 4).

Таблица 4. Характеристика функции трансплантата почки в группах сравнения температурного фактора

	Группа № 1	Группа № 2	** - Mann-Whitney; * - Fisher, p
NGAL, мг/мл	212,9 (92,1;7;598)	480,1 (233,8;680)	0,035**
СКФ MDRD на 7 сутки, мл / мин	41(24;55)	25(13;44)	0,079**
Креатинин на 7 сутки, мкмоль/л	236 (140;350)	256 (145;498)	0,06**
Длительность диализа до трансплантации, мес.	26(13;72)	36(27;72)	0,092**
Замедленная функция	2/42 (4,76%)	9/35 (25,71%)	0,003*
Отсроченная функция	7/42 (16,67%)	11/35 (31,43%)	0,0276*
Всего дисфункций	9/42 (21,43%)	20/35 (57,14%)	0,0013*
Немедленная функция	33/42 (78,57%)	15/35 (42,86%)	0,0013*

Нами получены данные, подтверждающие важность оценки температурного фактора на этапе эксплантации и холодовой консервации трансплантата почки.

Наличие меньшего количества дисфункций трансплантата в группе с температурой охлаждения паренхимы почек менее 13,4 °C, показывает, что охлаждение ниже часто указываемой в литературе оптимальной температуры почек в 15 °C [13, 3], является безопасным. Несмотря на то, что имеются данные, что в условиях гипотермии в изолированных человеческих почках при температуре в 10–12 °C наступает прекращение реабсорбции и секреции в канальцах [4].

Выводы

1. Измерение температуры почки в конце процедуры флешинга является важной контрольной точкой, имеющей прогностическое значение дисфункции трансплантата почки.

2. Низкая температура КР перед началом флешинга, коррелирует с температурой охлаждения почки в конце процедуры флешинга. Более сильная прямая корреляционная связь выявлена между температурой КР в приносящей магистрале и температурой трансплантата почки по окончании процедуры флешинга.

3. Целевая температура охлаждения трансплантата почки при применении КР «Кустодиол» в конце процедуры флешинга не должна превышать 13,4 °C.

4. Требуется разработка мероприятий по предотвращению нагревания КР в приносящей магистрале на этапе процедуры флешинга органов с целью снижения числа ранних дисфункций трансплантата почки.

Литература

1. Данович, Г. М. Руководство по трансплантации почки / под ред. Г. М. Дановича; перевод с англ. / под ред. Я. Г. Мойсюка. 3-е изд. – Тверь: Триада, 2004. – 472 с.
2. Шамаева, Е. Н. Влияние специфических (антиген-зависимых) и неспецифических (антиген-независимых) факторов на отдаленные результаты трансплантации почки у больных сахарным диабетом 1 типа (Обзор литературы. Часть 1) / Е. Н. Шамаева, М. В. Шестакова, Н. А. Томилина // Журнал «Нефрология и диализ». – 2007. – Т. 9, № 2. – С. 142–147.
3. Шумаков, В. И. Трансплантология. Руководство / под ред. В. И. Шумакова. – М.: Медицина; Тула: Репроникс Лтд, 1995. – 391 с.
4. Шумаков, В. И. Консервация органов / В. И. Шумаков, Е. Ш. Штенгольд, Н. А. Онищенко; под ред. Б. В. Петровского. – М.: Медицина, 1975. – С. 88.
5. Шумаков, В. И. Трансплантация почки / В. И. Шумаков, Я. Г. Мойсюк, Н. А. Томилина [и др.] // Нефрология: руководство для врачей / под ред. И. Е. Тареевой. – М.: Медицина, 2000. – С. 658–683.
6. Cyclosporineprolongsdelayedgraftfunctionin kidney transplantation: are rabbit anti-human thymocyte globulins the answer? / P. Cravedi [et al.] // Nephron Clin. Pract. – 2005. – Vol. 101, № 2. – P. 65–71.
7. Effects of ischemia-reperfusion injury in kidney transplantation: risk factors and early and long-term outcomes in a single center / P. Ditonno[et al.] // Transplant Proc. – 2013 Sep. – Vol. 45, № 7. – P. 2641–4.
8. Lee, C. Preservation methods for kidney and liver / C. Lee, M. Mangino // Organogenesis. – 2009. – Vol. 5, № 3. – P. 105–112.
9. Major effects of delayed graft function and cold ischemia time on renal allograft survival / I. Quiroga [et al.] // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2006. – Vol. 21, № 6. – P. 1689–96.
10. Organ Preservation: Current Concepts and New Strategies for the Next Decade / E. E. Guibert [et al.] // Transfus Med Hemother. – 2011. Apr. – Vol. 38, № 2. – P. 125–142.
11. The non-heart-beating donor: Bridging the gap to the future / St. D. S. Peter [et al.] // Transplantation. Reviews. – 2002. – Vol. 16, № 1. – P. 51–61.
12. Variations in temperature of the donor kidney during cold ischemia time and subsequent assessment of reperfusion using the application of thermovision camera / K. Pabisiak [et al.] // Transplant Proc. – 2003. – Vol. 35, № 6. – P. 2157–9.
13. Ward, J. P. Determination of the Optimum temperature for regional renal hypothermia during temporary renal ischaemia / J. P. Ward // Br J. Urol. – 1975. – Vol. 47, № 1. – P. 17–24.

Поступила 18.05.2015 г.