

Д. Н. Садовский¹, О. В. Калачик¹, Г. В. Жук¹, А. А. Маханек²

ВЛИЯНИЕ ОПТИМИЗАЦИИ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА НА НАЧАЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ ТРАНСПЛАНТАТА ПОЧКИ

УЗ «9-я городская клиническая больница», г. Минск¹,
ГНУ «Институт тепло- и массообмена им. А. В. Лыкова» НАН Беларуси²

Совокупность факторов влияют на возникновение отсроченной функции трансплантата почки. Целью данного исследования явилось оценка влияния температурного фактора на начальную функцию почечного трансплантата от донора со смертью мозга. В вычислительном эксперименте и клиническом исследовании в группах реципиентов, где применялась комбинация мер по снижению времени перфузии органов с охлаждением афферентной перфузионной магистрали для предотвращения нагревания консервирующего раствора «Кустодиол», выявлено статистически значимое снижение числа дисфункций трансплантата почки.

Целью данного исследования явилась оценка влияния температурного фактора на начальную функцию почечного трансплантата от донора со смертью мозга. В вычислительном эксперименте и клиническом исследовании в группах реципиентов, где применялась комбинация мер по снижению времени перфузии органов с охлаждением афферентной перфузионной магистрали для предотвращения нагревания консервирующего раствора «Кустодиол», выявлено статистически значимое снижение числа дисфункций трансплантата почки.

Ключевые слова: магистраль для перфузии, консервирующий раствор, канюля для перфузии органа, трансплантация почки, дисфункция трансплантата.

D. N. Sadovskiy, O. V. Kalachik, H. V. Zhuk, A. A. Mahanek

INFLUENCE OF TEMPERATURE FACTOR OPTIMIZATION ON SHORT FOLLOW-UP KIDNEY TRANSPLANT FUNCTION

The aim of investigation is assessment of influence of preserving solution temperature on early function of kidney graft from cadaveric brain dead donors. In experiment and during the clinical study in groups of patients there was found a statistically valuable decreasing of kidney transplant dysfunction in case of applying complex of measures for protection of preservation solution Custodiol from warming up in the afferent lines combined with decrease of the flushing time.

Key words: organ perfusion set, preservation solution, cannula for organ perfusion, kidney transplantation, graft dysfunction.

Несмотря на все успехи трансплантации почки, как одного из методов почечно-заместительной терапии, который характеризуется лучшими результатами по выживаемости, затратам и качеством жизни в сравнении с программным гемодиализом [1], краткосрочная и долгосрочная выживаемость трансплантата являются актуальной проблемой [7, 11].

Отсроченная функция трансплантата (ОФТ) и замедленная функция трансплантата (ЗФТ), которые, по сути, являются одним процессом [1], но с разными проявлениями дисфункции, являются важными факторами, определяющими краткосрочную и долгосрочную выживаемость трансплантата.

Важными факторами возникновения дисфункции трансплантата являются температура охлаждения паренхимы почки [1] и время холодовой ишемии (ВХИ) [8]. Время флешинга (ВФ) является первым периодом ВХИ. В условиях эксплантации у донора со смертью мозга ВФ, как единственный фактор, не влияет на частоту возникновения дисфункций. Но значение ВФ в совокупности с другими факторами, например, температурным фактором, является неизученным. В наших исследованиях [3] выявлено, что при прохождении консервирующего раствора «Кустодиол» (КР) по аффе-

рентной магистрали для перфузии происходит его нагревание, начальная температура перфузирующего раствора коррелирует с температурой охлаждения почки, а наблюдаемое превышение температуры выше 13,4 °С может быть ассоциировано с более высокой частотой возникновения ОФТ и ЗФТ. Поэтому предотвращение нагревания раствора «Кустодиол» и снижение ВФ является актуальным.

Целью данной работы является оценка влияния температурного фактора на начальную функцию почечного трансплантата.

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 доноров со смертью мозга. Их средний возраст составил 43,2 (10,0) года. Причиной смерти мозга доноров были: в 33/65 (50,8%) случаях – тяжелая черепно-мозговая травма (ЧМТ), в 32/65 (49,2%) случаях – острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК). Изъятие почек проводилось в 49/65 (75,4%) эпизодах в ходе

Оригинальные научные публикации

изолированного забора (ИЗ) и в 16/65 (24,6%) эпизодах – в ходе мультиорганного забора (печень и почки) (МЗ). 48/65 (73,8%) доноров имели нестабильную гемодинамику на момент эксплантации и нуждались в инотропной поддержке кардиотоническими средствами.

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

Измерение температуры (°C) КР до эксплантации производилась путем введения через мембрану дополнительного канала упаковочной емкости стерильного игольчатого дистанционного термодатчика термометра, производства HANNA Instruments (США), а также в приводящей (артериальной или афферентной) магистральной – введением термодатчика в просвет этой магистральной.

Измерение температуры трансплантата почки в ходе операции по эксплантации органа проводилось по разработанной методике (заявка на изобретение № 201400511/26): введение датчика температуры на всю длину почечной вены вглубь почки, не повреждая ее изнутри.

Операция аллотрансплантации почки выполнялась по стандартной методике в гетеротопическую позицию. Иммуносупрессивная терапия проводилась по трехкомпонентной схеме.

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 периоде трансплантации). Немедленная начальная 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 – Ме (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.

Постановка тепловой задачи. Эффективность холодной защиты в процессе консервации почки определяется глубиной и скоростью охлаждения органа, так как повреждающее действие тепла в условиях ишемии зависит от уровня температуры и продолжительности ишемии. Во время флашинга из-за подвода тепла от окружающей среды охлажденный КР нагревается в магистральной, по которой он подводится к почке. В случае, когда она была предварительно охлаждена, часть подводимого извне тепла уходит на ее нагрев, а температура КР на выходе из магистральной оказывается ниже, чем в случае неохлажденной магистральной с начальной температурой стенки T_w равной комнатной температуре T_{env} . При прочих равных условиях можно ожидать, что за счет предварительного охлаждения магистральной будет обеспечиваться лучшая холодная защита органа с меньшим числом осложнений после его трансплантации. Суще-

ствуют и другие факторы, способные повлиять на степень охлаждения почки во время ее консервации. Таковыми являются продолжительность предварительного охлаждения почки ледяной шугой до флашинга t_c , продолжительность флашинга t_p , начальная температура охлажденного КР T_c .

Для оценки теплового состояния почки во время ее консервации, а также влияния на среднюю температуру почки перечисленных выше факторов было выполнено численное моделирование переноса тепла в магистральной и почке. Тепловой расчет охватывал два этапа: подготовительный, когда почка еще перфузировалась кровью донора, но уже охлаждалась снаружи ледяной шугой, и этап собственно флашинга. Рассматривались различные сочетания перечисленных выше условий охлаждения, а также разные уровни температур крови (36 и 37 °C) и ледяной шуги (0, 1 и 2 °C).

Уравнение энергии для подводящей КР магистральной имеет вид:

$$\rho C \left(\frac{\partial T}{\partial t} + u \frac{\partial T}{\partial z} \right) = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(\lambda r \frac{\partial T}{\partial r} \right). \quad (1)$$

Теплоперенос в почке описываем с учетом не только кондуктивного, но и внутритканевого конвективного теплообмена и тепла метаболизма Q_{met} [10]:

$$\rho C \frac{\partial T}{\partial t} = \lambda_k \Delta T - (\rho C)_f W (T - T_{in}) + Q_{met}. \quad (2)$$

Здесь ρ , C и λ – плотность, теплоемкость и теплопроводность вещества, u – профиль скорости КР (в стенке магистральной $u = 0$). Параметр W – перфузия крови, а во время консервации почки – перфузия КР. Удельная скорость основного обмена Q_{met} уменьшается с понижением температуры биоткани согласно модели [6]

$$Q_{met} = Q_{bas} \cdot 1,07^{(T - T_{bas})/0,5}. \quad (3)$$

Поскольку метаболические потребности биоткани обеспечиваются кровотоком, то в первом приближении можно предполагать, что и величина перфузии крови W будет зависеть от температуры, примерно, как и Q_{met} . Такое допущение не противоречит известным данным. Согласно литературным данным [9], интенсивность почечного кровотока снижается на половину при понижении температуры почки до 27–30 °C. В ходе флашинга полагаем величину перфузии КР неизменной.

На входе в магистраль температура КР равна T_c . Теплообмен магистральной с окружающим ее воздухом описывается уравнением Ньютона-Рихмана

$$-\lambda \left. \frac{\partial T}{\partial r} \right|_{r=R_{met}} = \alpha (T|_{r=R_{met}} - T_{env}), \quad (4)$$

содержащем коэффициент теплообмена α , вычисляемый для условий естественной конвекции по известным эмпирическим формулам [4]. При имитации идеальной теплоизоляции полагали тепловой поток через стенку трубки равным нулю.

До начала внешнего охлаждения почки температура в ней была однородна и равна температуре крови трупного донора T_b . Во время охлаждения ледяной шугой температура почки на ее границе равна средней температуре этой шуги T_p .

До флашинга, т. е. во время охлаждения лишь поверхности почки ледяной шугой параметр $T_{in} = T_b$ – температура перфузирующей почку крови донора. Во время флашинга – это температура КР на выходе из магистральной (входе в почку). Аналогично, до флашинга параметр W – перфузия крови, а во время консервации почки – перфузия КР. Начальную перфузию крови полагали равной [5] $W_{bas} = 416$ мл крови/(100 г почки*мин), т. е. $0,0728$ с⁻¹. Пер-

фузию РК рассчитывали, исходя из того, что объем раствора «Кустодиол» $V_c = 2,5$ л прокачивался через почку за время флашинга t_f :

$$W_c = \frac{V_c \rho_c}{t_f m_k}, \quad (5)$$

где ρ_c – плотность КР, m_k – масса почки.

Результаты и обсуждение. Нестационарная тепловая задача (1)–(5) решалась методом конечных разностей с расщеплением по пространственным координатам. Последовательность решений была следующей. Вначале для промежутка времени от 0 до t_c решалось уравнение энергии (2) для почки на этапе ее перфузии кровью и поверхностного охлаждения ледяной шугой. Затем имитировалось охлаждение КР и совместно рассматривались две задачи: двухмерная осесимметричная тепловая задача для магистралей и трехмерная для почки при ее перфузии КР. Средняя температура КР на входе в почку определялась как средняя температура на выходе из магистралей. В результате решения этих задач находилась средняя температура КР на выходе из почки, равная средней температуре почки. Использовался тот факт, что в капиллярах имеет место тепловое равновесие между температурой перфузирующей жидкостью и температурой биоткани, окружающей микрососуды [2]. Количественная связь между повреждающим действием ишемии и уровнем температуры, а также продолжительностью ишемии для почки не известна. В данной работе неблагоприятный эффект от теплового воздействия на почку по время флашинга характеризовался интегральной величиной

$$HD = \int_{t_1}^{t_2} T_{out}(t) dt, \quad (6)$$

учитывающей как температурный, так и временной факторы и условно названной тепловой дозой (с размерностью град. С*мин). Поскольку речь везде идет о сравнении эффектов от изменения некоторых условий флашинга, то мы ограничиваемся лишь диапазоном времен от начала флашинга $t_1 = t_c$ до некоторого момента времени t_2 , к которому установится стационарное распределение температур в почке (температура КР на выходе из почки перестанет изменяться). Наши численные оценки показали, что для характерных условий проведения консервации почки промежуток времени $t_2 - t_1$ составляет от 2 до 4 минут (при обычной не теплоизолированной магистрали из ПВХ длиной 3,5 м, толщиной стенки 1 мм и внешним радиусом стенки 5 мм). Поэтому оценки величины тепловой дозы производились для интервала времени 3 минуты. Отметим, что во всех случаях, когда наблюдалось увеличение параметра HD, возрастала и средняя температура почки на всем протяжении флашинга.

При моделировании почка представлялась в виде эллипсоида с размерами 11.2 см, 5.7 см и 4.1 см. Объем почки 136 см³, площадь поверхности 145 см². Теплофизические свойства показаны в таблице 1. Рассмотрены следующие варианты: 1) $t_f = 8$ мин, $t_c = 3$ мин, $T_w = 2$ °С, $T_c = 4$ °С, $T_i = 0$ °С, $T_b = 37$ °С (базовый вариант, относительно которого почеч-

Таблица 1. Параметры тепловой задачи

Параметр	Кровь	КР	Трансплантат почки	Магистраль (ПВХ)
Плотность, кг/м ³	1050	1000	1036	1390
Теплоемкость, Дж/(кг·град)	3617	4200	3673	1300
Теплопроводность, Вт/(м·град)	0,52	0,56	0,53	0,18

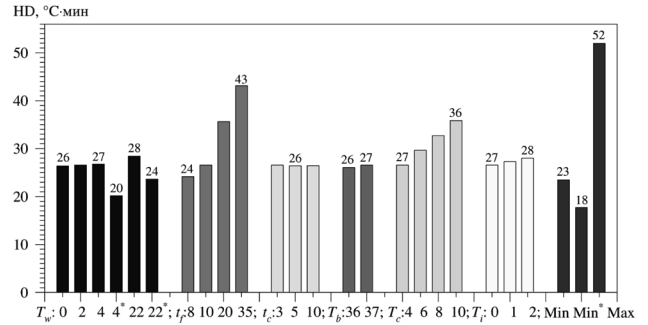


Рис. 1. Тепловая доза за первые три минуты флашинга при разных условиях: T_w – начальная температура стенки магистралей, °С (*- идеальная теплоизоляция); t_f – продолжительность флашинга, мин; t_c – продолжительность охлаждения почки до флашинга, мин; T_b – температура крови, перфузирующей почку до флашинга, °С; T_c – температура кустодиола на входе в магистраль во время флашинга, °С; T_i – средняя температура ледяной шуги, охлаждающей почку снаружи, °С; Min – минимальное значение тепловой дозы при самом благоприятном сочетании рассмотренных параметров тепловой задачи; Max – максимальное значение тепловой дозы при самом неблагоприятном сочетании рассмотренных параметров

редно варьировались параметры t_f , t_c , T_w , T_c , T_i , T_b); 2) $t_f = 10, 15, 20, 25, 30, 35$ мин; 3) $t_c = 4, 6, 8, 10$ мин; 4) $T_w = 3-22$ °С; 5) $T_i = 1, 2$ °С; 6) $T_b = 36$ °С; 7) благоприятные сочетания параметров среди рассмотренных – $t_f = 8$ мин, $t_c = 10$ мин, $T_w = 2$ °С, $T_c = 4$ °С, $T_i = 0$ °С, $T_b = 36$ °С при коэффициенте теплоотдачи $\alpha \neq 0$ и при идеальной теплоизоляции магистралей, когда, тепловой поток в (4) равен нулю; 8) самое неблагоприятное сочетание параметров – $t_f = 35$ мин, $t_c = 3$ мин, $T_w = 22$ °С ($\alpha \neq 0$), $T_c = 10$ °С, $T_i = 2$ °С, $T_b = 37$ °С.

Эффекты вариаций параметров t_f , t_c , T_w , T_c , T_i , T_b сравнивались на примере тепловой дозы HD, определяемой выражением (6). Большее значение HD соответствует и большее тепловое (в сочетании с ишемией) повреждение почки на стадии ее консервации. Рис. 1 показывает влияние разных условий рассматриваемой задачи на величину накопленной за первые три минуты флашинга тепловой дозы. Среди поочередно изменяемых параметров (при постоянстве всех остальных условий) наиболее влиятельными на среднюю температуру почки оказались продолжительность флашинга, температура КР и предварительное охлаждение магистралей в сочетании с ее теплоизоляцией. В последнем случае достигается максимальный положительный эффект, оцениваемый величиной тепловой дозы HD = 20 град. С*мин. Еще меньшее значение (18 град. С*мин) получается при оптимальном сочетании всех других параметров задачи.

С учетом полученных результатов эксперимента для изучения комбинации влияния охлаждения афферентной магистралей и уменьшения времени флашинга на развитие дисфункции трансплантата мы разделили всех реципиентов на две группы. В группе № 1 (сравнения) пациенты получили трансплантат от доноров, у которых эксплантация произведена в стандартных условиях. В группу № 2 (основная) были включены реципиенты, у которых на этапе эксплантации донорских почек охлаждалась афферентная магистраль для введения КР в сочетании с применением канюлей для перфузии органов, разработанных с целью ускорения процедуры флашинга (Патент РФ на изобретение № 18199 «Канюля для перфузии органа при эксплантации» МПК А61М31/00, опубл. 30.04.2014 г.) (рис. 2). Канюля имеет несколько размеров для одновременного введения в просвет аорты и нижней полой вены. Афферентная магистраль охлаждалась в транспортировочном контейнере с пакетами КР.

Оригинальные научные публикации

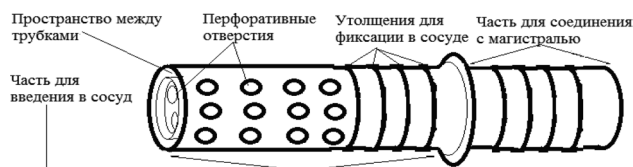


Рис. 2. Оригинальная канюля для перфузии органа при эксплантации

В основной и группе сравнения средний возраст составил (лет) – 43,6(12,2); 44,5(12,5), ($p = 0,71$). По виду диализотерапии и длительности нахождения на диализе до трансплантации в группах также не выявлено статистически значимых различий ($p > 0,05$).

При анализе данных выявлены статистически значимые отличия в группах. Применение комбинации охлаждения афферентной магистрали с набором оригинальных канюль для ускорения флашинга в группе № 2 было ассоциировано со статистически значимым снижением температуры КР в приносящей магистрали и температуры почки в конце процедуры флашинга по сравнению с первой группой. Температуры КР в упаковке не отличались (таблица 2).

Применение разработанного нами набора канюль позволило сократить время флашинга в основной группе до 14 (10,5;17,5) мин, против 16 (14;20) мин в группе сравнения ($p = 0,022$).

При изучении функциональных характеристик трансплантата почки было установлено снижение частоты ранних дисфункций трансплантата почки в результате применения комплекса мер по оптимизации температурного фактора и скорости охлаждения трансплантата почки. Отмечено снижение частоты отсроченной функции ($p = 0,0036$),

Таблица 2. Динамика температуры КР и трансплантата почки в группах

T, °C	Группа 1, n = 44	Группа 2, n = 35	p, Mann-Whitney
КР в упаковочной емкости	5,3(5;6,2)	5,25(4,55;6,05)	0,25
КР в артериальной (афферентной) магистрали	7,3(8;7,3)	6,3(5,6;7)	< 0,0001
Трансплантата почки после флашинга	14,1 (13,9; 14,8)	12(10,35;13)	< 0,0001

Таблица 3. Функциональные характеристики трансплантата почки в группах

Параметр функции в ПОП	Группа 1, n = 44	Группа 2, n = 35	p
NGAL, мг/мл	430,0(189,3; 768)	204,4(90,7;420,3)	0,046**
Мочевина на 7 сутки, ммоль/л	15,85(11,9;24,25)	12,3(9,4;18,3)	0,009**
Креатинин на 7 сутки, мкмоль/л	252 (158;490)	163 (125;297)	0,049**
Замедленная функция, n (%)	7(15,9%)	4 (11,4%)	0,4*
Отсроченная функция, n (%)	16(36,4%)	3(8,6%)	0,0036*
Всего дисфункций, n (%)	23(52,3%)	7(20%)	0,003*
Немедленная функция, n (%)	21(47,7%)	28(80%)	0,003*

** – Mann-Whitney; * – Fisher two tailed exact test.

замедленной функции ($p = 0,4$) и общего количества дисфункций ($p = 0,003$) трансплантата почки.

Кроме этого, в исследуемой группе маркеры почечной функции (Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) мочи, сывороточные уровни мочевины и креатинина) в раннем послеоперационном периоде (ПОП) имели достоверно лучшие показатели, чем у реципиентов группы сравнения (таблица 3).

Выводы

1. Проведенное численное моделирование влияния температурного фактора на охлаждение трансплантата почки до и во время ее консервации выявило, что влиятельными на среднюю температуру почки оказались продолжительность флашинга, температура КР и предварительное охлаждение магистрали в сочетании с ее теплоизоляцией.

2. Применение набора канюль для перфузии органа и предварительного охлаждения приносящей магистрали дополнительно к стандартной процедуре консервации органов оказалось эффективным для снижения продолжительности флашинга и снижения температуры трансплантата почки после его окончания, а также характеризовалось улучшением функциональных характеристик пересаженной почки (снижением частоты начальных дисфункций трансплантата, значимой редукцией азотемии и показателя острого почечного повреждения – NGAL мочи).

3. Дальнейшие исследования могут быть посвящены поиску способа теплоизоляции приносящей магистрали КР с целью предотвращения нагревания КР и оптимизации температурного фактора забора почек.

Литература

- Данович, Г. М. Руководство по трансплантации почки / под ред. Г. М. Дановича; перевод с англ. / под ред. Я. Г. Мойска. – 3-е изд. – Тверь: Триада, 2004. – 472 с.
- Иванов, К. П. Эффективность теплообмена между тканями и кровью в кровеносных сосудах различного диаметра / К. П. Иванов, Ю. И. Лучаков // Физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 1994. – Т. 80, № 2. – С. 100–105.
- Садовский, Д. Н. Температурный фактор при эксплантации и консервации аллогraftа почки от донора со смертью мозга, как фактор предиктор отсроченной функции трансплантата / Д. Н. Садовский, О. В. Калачик, Г. В. Жук // «Медицинский журнал». – 2015. – № 3. – С. 142–147.
- Тепло- и массообмен. Теплотехнический эксперимент. Справочник / под ред. В. А. Григорьева и В. М. Зорина. – М.: Энергоиздат, 1982. – С. 177–178.
- Физиология человека. В 3-х томах. Т. 3. Пер. с англ. / под ред. Р. Шмидта и Г. Тевса – М.: Мир, 1996. – С. 786.
- Charny, C. K. A whole body thermal model of man during hyperthermia tissues / C. K. Charny, M. J. Hagmann, R. L. Levin // IEEE Trans. on Biomed. Eng. – 1987. – Vol. 34. – P. 375–386.
- Chronic allograft dysfunction in kidney transplant recipients: long-term single-center study / M. Boratyńska [et al.] // Transplant Proc. – 2014. – Vol. 46, № 8. – P. 2673–2677.
- 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.
- Mallet, M. L. Pathophysiology of accidental hypothermia / M. L. Mallet // Q. J. Med. – 2002. – Vol. 95. – P. 775–785.
- Pennes, H. H. Analysis of tissue and arterial blood temperature in the resting human forearm / H. H. Pennes // J. Appl. Physiol. – 1948. – Vol. 1. – P. 93
- Prominent impact of community risk factors on kidney transplant candidate processes and outcomes / J. D. Schold [et al.] // Am. J. Transplant. – 2013. – Vol. 13, № 9. – P. 2374–83.

Поступила 8.09.2015 г.