

Статья поступила в редакцию 07.10.2016 г.

Сохарев А.С., Краснов К.А., Будаев А.В., Плотникова Е.Ю., Шрайбер С.А.
Городская клиническая больница № 3 им. М.А. Подгорбунского,
Кемеровский государственный медицинский университет,
г. Кемерово

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЗАЩИТЫ ПЕЧЕНОЧНОГО ЭКСПЛАНТАТА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ИШЕМИИ С ПОМОЩЬЮ КОМБИНИРОВАННОГО СПОСОБА КОНСЕРВАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Цель – оценить эффективность противоишемической защиты комбинированного раствора на основе НТК (гистидин-триптофан-кетоглутарат) и НЭПФОС (неоксигенированная эмульсия перфторорганических соединений) при консервации печеночного эксплантата.

Материалы и методы. Исследования проведены на 60 кроликах. Для гистологического исследования и морфометрии была выполнена биопсия печени кроликов до консервации и после 8 часов консервации в различных консервирующих растворах. Произведено 240 гистологических и морфометрических исследований.

Результаты. При 8-часовой консервации печеночных эксплантатов комбинированным раствором на основе НТК и НЭПФОС развивались менее выраженные ишемические изменения в тканевых структурах печени, чем при использовании моноконсервантов: стандартный НТК и контрольная НЭПФОС. Следовательно, комбинированный способ консервации уменьшает интенсивность ишемического повреждения печеночного эксплантата и, тем самым, повышает его жизнеспособность, что является необходимым условием для снижения риска развития возможных посттрансплантационных осложнений.

Выводы. Применение комбинированного способа консервации позволяет минимизировать патоморфологические изменения в тканях эксплантата и профилактировать ишемическое повреждение печени.

Ключевые слова: консервация печени; ишемическое повреждение печени; неоксигенированная эмульсия перфторорганических соединений.

Sokharev A.S., Krasnov K.A., Budaev A.V., Plotnikova E.Yu., Schreiber S.A.
City Clinical Hospital N 3,
Kemerovo State Medical University, Kemerovo

PATHOLOGICAL ASSESSMENT OF LIVER EXPLANT IN PROLONGED ISCHEMIA USING THE COMBINED METHOD OF CONSERVATION IN THE EXPERIMENT

Objective – to evaluate the efficacy of ischemic protection of the combined solution based on the HTK (histidine-tryptophan-ketoglutarate) and NEPFOS (not oxygenated perfluororganic solution) in the liver explant conservation.

Materials and methods. We performed a study on 60 rabbits. For histology and morphometry the biopsy of rabbit liver was performed before the conservation and in 8 hours after the conservation in different preservative solutions. Histological and morphometric studies numbered 240.

Results. In 8-hour conservation of liver explants using the combined solution based on HTK and NEPFOS less severe ischemic changes in liver tissue structures have developed compared to monopreservative solutions: standard HTK and control NEPFOS. Therefore, the combined method of conservation reduces the intensity of ischemic injury of the liver explant and thereby increases its vitality, it being the necessary condition for reducing the risk of possible post-transplant complications.

Conclusions. The use of the combined method of conservation can minimize pathological changes in the explant tissues and prevent ischemic liver injury.

Key words: liver conservation; ischemic liver injury; not oxygenated perfluororganic solution.

Трансплантация печени является признанным жизнесохраняющим методом лечения пациентов с терминальной стадией заболевания печени. Несмотря на улучшения в способах консервации органа и хирургических методах, первично не функционирующий трансплантат (ПНФ) и отсроченная функция трансплантата (ОФТ) до сих пор широко распространены и актуальны [1, 2]. На протяжении последних десятилетий расширение критериев для трансплантации печени привели к значительному дефициту органов. Все чаще используются трансплантаты от доноров с расширенными критериями (ДРК): возрастные доноры, доноры с небьющимся сердцем, доноры с малым размером трансплантата и стеатозом печени [3].

Ишемическое повреждение (ИП) неизбежно при трансплантации печени (первичная тепловая ишемия, холодовая ишемия, вторичная тепловая ишемия) и является главным фактором риска для ПНФ и ОФТ [4, 5]. Органы от ДРК наиболее уязвимы к ИП при консервации и трансплантации [6, 7]. ИП печени представляет собой мультифакторный патологический процесс, включающий повреждения синусоидальных эндотелиальных клеток, активацию клеток Купфера, нарушение микроциркуляции, окислительный стресс, активацию факторов комплемента, накопление лейкоцитов, апоптоз и некроз [8].

Несмотря на значительные успехи в трансплантации печени, управление факторами, связанными с сохранением органа, по-прежнему остается в критическом состоянии [9]. Дальнейшее понимание молекулярных путей и регуляторов, участвующих в ИП, может привести к открытию новых терапевтических вмешательств (ишемическое прекондиционирование с применением фармакологических препаратов), направленных на улучшение качества эксплантата печени [10].

Определение эффективных фармакологических препаратов может дополнить имеющиеся возможности для хирургов и расширить использование эксплантатов печени от ДРК при трансплантации [11]. К сожалению, перспективные фармакологические препараты и стратегии против ИП не стали рутинной частью в клинической практике до сих пор [12].

В Российской Федерации единственным консервирующим раствором является НТК (гистидин-триптофан-кетоглутарат). Входящие в состав НТК компоненты (маннит, триптофан, гистидин, α -кетоглутарат), имея большую молекулярную массу, не проникают в клетку, следовательно, препятствуют отеку гепатоцита. Гистидин является составляющей буферной системы и стабилизирует клеточные мембраны. Клинические исследования показали, что консервация в НТК связана с более высоким риском первично нефункционирующего трансплантата и отсроченной функции трансплантата при консервации в течение 8 часов и более [13]. Это связано с тем, что органосохраняющие эффекты НТК обусловлены, прежде всего, осмолярностью раствора, которая профилактирует (в условиях гипоксии) развитие внутриклеточного отека, а, следовательно, и механизма осмотического повреждения гепатоцита [14]. Однако реализующиеся в условиях ишемии механизмы свободно-радикального повреждения гепатоцитов НТК не устраняет. Данный раствор не оказывает влияния на патогенез ИП и, следовательно, не обладает противоишемической защитой трансплантата. Это приводит к росту осложнений и неблагоприятных исходов для пациентов после трансплантации при использовании органа от ДРК, а также в случае затянувшейся холодовой или тепловой ишемии (транспортировка донорского органа, технические сложности на этапе имплантации) [15].

Нами предложена новая методика консервации печеночного эксплантата, заключающаяся в добавлении неоксигенированной эмульсии перфторорганических соединений (НЭПФОС) в стандартный консервирующий раствор для профилактики ИП и возможных осложнений после трансплантации печени.

Цель исследования — оценить эффективность противоишемической защиты комбинированного раство-

Корреспонденцию адресовать:

СОХАРЕВ Анатолий Сергеевич,
650099, г. Кемерово, ул. Н. Островского, д. 22,
МАУЗ «ГКБ № 3 им. М.А. Подгорбунского».
Тел.: +7-923-630-89-71.
E-mail: sokharevas@mail.ru

ра на основе НТК и НЭПФОС (неоксигенированная эмульсия перфторорганических соединений) при консервации печеночного эксплантата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на 60 кроликах самцах породы Шиншилла в возрасте 6-7 месяцев, массой 2000 ± 150 г, в соответствии с требованиями приказов № 1179 МЗ СССР от 10.10.1983, № 267 МЗ РФ от 19.06.2003, «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», принципами Европейской конвенции (Страсбург, 1986) и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996). Кролики разделены на 3 группы по 20 животных. В первой группе консервация печени проводилась раствором НТК. Во второй группе применялся комбинированный способ: раствор НТК и НЭПФОС. Соотношение НТК и НЭПФОС = 4 : 1. Данный расчет произведен из рекомендаций производителя: максимальная суточная доза перфторорганической эмульсии составляет 75 мл на кг массы тела, а расход раствора НТК должен составлять 300 мл на 1 кг массы тела донора на 1 пересадку. В третьей группе консервация печени проводилась в НЭПФОС. Консервация печени проводилась бесперфузионным методом в течение 8 часов при температуре 4-5°C.

Эффективность противоишемической защиты используемых в эксперименте консервирующих растворов оценивали и сравнивали с помощью гистологического анализа биоптатов печени. Биопсию производили до и после 8 часов консервации в различных консервирующих растворах. Было выполнено 240 гистологических и морфометрических исследований. Методы окраски гистологических препаратов: гематоксилином и эозином, по Ван Гизону. При изучении гистологических препаратов использовался лабораторный микроскоп Leica DME с фотокамерой.

Протокол патоморфологической оценки печени основан на патогистологических критериях, выраженных в баллах:

1. Жировая дистрофия гепатоцитов: 0 б. — отсутствует; 1 б. — 1 степень (до 33 %); 2 б. — 2 степень (до 66 %); 3 б. — 3 степень (более 66 %).
2. Белковая дистрофия гепатоцитов: 0 б. — отсутствует; 1 б. — лёгкой степени (очаговая); 2 б. — умеренной степени (очагово-диффузная); 3 б. — тяжёлой степени (диффузная гидропическая).

3. Некроз гепатоцитов: 0 б. — отсутствует; 1 б. — единичные клетки; 2 б. — очаговый; 3 б. — обширный центролобулярный.
4. Деструктивные изменения центральных вен: 0 б. — отсутствуют; 1 б. — лёгкая степень (отек и деструкция до 25 % периметра поперечного сечения вены); 2 б. — средняя степень (отек и деструкция более 25 % периметра поперечного сечения вены); 3 б. — тяжёлая степень (некроз всей стенки центральной вены).
5. Деструктивные изменения межклеточного матрикса: 0 б. — отсутствуют; 1 б. — лёгкая степень (отек и деструкция до 25 % межклеточного матрикса); 2 б. — средняя степень (отек и деструкция более 25 % межклеточного матрикса); 3 б. — тяжёлая степень (некроз всего межклеточного матрикса).
6. Отек портальных трактов: 0 б. — отсутствует; 1 б. — лёгкой степени (преимущественно в меньшей части триад); 2 б. — умеренной степени (в большей части триад); 3 б. — тяжёлой степени (в большей части триад с вовлечением перипортальных зон).
7. Деструктивные изменения артерий: 0 б. — отсутствуют; 1 б. — лёгкая степень (отек и деструкция до 25 % периметра поперечного сечения артерии); 2 б. — средняя степень (отек и деструкция более 25 % периметра поперечного сечения артерии); 3 б. — тяжёлая степень (некроз всей стенки печёночной артерии).
8. Деструктивные изменения портальных трактов: 0 б. — отсутствуют; 1 б. — лёгкая степень (отек и деструкция до 25 % периметра поперечного сечения вены); 2 б. — средняя степень (отек и деструкция более 25 % периметра поперечного сечения вены); 3 б. — тяжёлая степень (некроз всей стенки печёночной вены).

При комплексном суммировании баллов определяются патоморфологические изменения эксплантата печени: сумма баллов от 0 до 10 — патология лёгкой степени, от 11 до 15 — средней степени и от 16 до 24 — тяжёлой степени [16-18].

Обработка данных проводилась в программе Statistica 6.0, для описательных статистик были рассчитаны средние значения, стандартное отклонение, ошибка среднего. Сравнение процентов осуществлялось с помощью углового преобразования Фишера, для выявления взаимосвязей строились таблицы сопряженности и применялся критерий Пирсона. Различия считались значимыми при $p = 0,05$ [19].

Сведения об авторах:

СОХАРЕВ Анатолий Сергеевич, врач-хирург, Кузбасский областной гепатологический центр, МАУЗ «ГКБ № 3 им. М.А. Подгорбунского», г. Кемерово, Россия. E-mail: sokharevas@mail.ru

КРАСНОВ Константин Аркадьевич, канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России; директор, Кузбасский областной гепатологический центр, МАУЗ «ГКБ № 3 им. М.А. Подгорбунского», г. Кемерово, Россия.

БУДАЕВ Алексей Владимирович, доктор мед. наук, профессор, кафедра патологической физиологии, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия.

ПЛОТНИКОВА Екатерина Юрьевна, доктор мед. наук, профессор, кафедра подготовки врачей первичного звена здравоохранения, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия.

ШРАЙБЕР Станислав Александрович, врач-патологоанатом, ГБУЗ КО ОТ «Кемеровское областное патологоанатомическое бюро», г. Кемерово, Россия.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

До консервации, в печеночных эксплантатах 3-х групп кроликов выявлена незначительная (5-10 %) выраженность стеатоза и белковой дистрофии гепатоцитов. То есть, значимых различий в значениях показателей в сравниваемых группах эксплантатов печени кроликов до консервации не выявлено. Ишемических изменений в структуре тканей печеночных эксплантатов до консервации выявлено не было.

После консервации с помощью корреляционного анализа оценивалось влияние различных типов, применяемых препаратов (НТК, НТК + НЭПФОС, НЭПФОС) на показатели морфометрии печеночных эксплантатов (биопатов) кроликов, данные представлены в таблице 1.

Влияние препаратов на развитие жировой дистрофии гепатоцитов является статистически незначимым ($p = 0,07$). Однако сравнительный анализ процентов в данных группах показал, что развитие жировой дистрофии гепатоцитов эксплантатов печени кроликов третьей группы статистически значимо выше ($p = 0,01$), чем во второй группе.

Влияние препаратов на развитие белковой дистрофии гепатоцитов является значимым ($p = 0,000001$). Сравнение процентов в этих группах позволило сделать следующие выводы: в первой группе, по сравнению со второй, больший процент эксплантатов печени кроликов имеют умеренную и тяжелую степень белковой дистрофии гепатоцитов ($p = 0,007$ и $p = 0,02$, соответственно), а в третьей группе больший процент эксплантатов печени кроликов имеют тяже-

Таблица 1
Сопряженность, отражающая влияние применяемых консервантов в различных группах на патогистологические критерии в баллах
Table 1
Conjugation reflecting the effect of preservatives used in various groups on the development of histopathological criteria in points

Патогистологические критерии	Баллы	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Уровень значимости различий (p)
Жировая дистрофия гепатоцитов $\chi^2 = 5,2$ ($p = 0,07$)	0	12 (60 %)	16 (80 %)	9 (45 %)	2-3 ($p = 0,01$)
	1	8 (40 %)	4 (20 %)	11 (55 %)	
Белковая дистрофия гепатоцитов $\chi^2 = 37,9$ ($p = 0,000001$)	1	0 (0 %)	12 (60 %)	0 (0 %)	1-2 ($p = 0,0001$); 2-3 ($p = 0,0001$)
	2	16 (80 %)	8 (40 %)	10 (50 %)	1-2 ($p = 0,007$); 1-3 ($p = 0,027$)
	3	4 (20 %)	0 (0 %)	10 (50 %)	1-2 ($p = 0,02$); 1-3 ($p = 0,027$)
Некроз гепатоцитов $\chi^2 = 40,6$ ($p = 0,000001$)	1	1 (5 %)	17 (85 %)	1 (5 %)	1-2 ($p = 0,000001$); 2-3 ($p = 0,000001$)
	2	14 (70 %)	3 (15 %)	8 (40 %)	1-3 ($p = 0,03$); 1-2 ($p = 0,0006$); 2-3 ($p = 0,04$)
	3	5 (25 %)	0 (0 %)	11 (55 %)	1-3 ($p = 0,03$)
Деструктивные изменения центральных вен $\chi^2 = 38,4$ ($p = 0,000001$)	0	0 (0 %)	6 (30 %)	0 (0 %)	1-2 ($p = 0,006$); 2-3 ($p = 0,006$)
	1	7 (35 %)	12 (60 %)	0 (0 %)	2-3 ($p = ,0001$); 1-3 ($p = 0,003$)
	2	11 (55 %)	2 (10 %)	15 (75 %)	1-2 ($p = 0,002$); 2-3 ($p = 0,0001$)
Деструктивные изменения межклеточного матрикса $\chi^2 = 11,3$ ($p = 0,02$)	0	1 (5 %)	8 (40 %)	5 (25 %)	1-2 ($p = 0,006$); 2-3 ($p = 0,04$)
	1	13 (65 %)	12 (60 %)	10 (50 %)	
	2	6 (30 %)	0 (0 %)	5 (25 %)	1-2 ($p = 0,006$); 2-3 ($p = 0,01$)
Отек портальных трактов $\chi^2 = 30,7$ ($p = 0,000001$)	1	10 (50 %)	17 (85 %)	1 (5 %)	1-2 ($p = 0,01$); 1-3 ($p = 0,001$); 2-3 ($p = 0,00001$)
	2	10 (50 %)	3 (15 %)	14 (70 %)	1-2 ($p = 0,01$); 2-3 ($p = 0,0006$)
	3	0 (0 %)	0 (0 %)	5 (25 %)	1-3 ($p = 0,01$); 2-3 ($p = 0,01$)
Деструктивные изменения артерий $\chi^2 = 44,4$ ($p = 0,000001$)	0	0 (0 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	
	1	10 (50 %)	18 (90 %)	0 (0 %)	1-2 ($p = 0,004$); 1-3 ($p = 0,0004$); 2-3 ($p = 0$)
	2	10 (50 %)	1 (5 %)	12 (60 %)	1-2 ($p = 0,001$); 2-3 ($p = 0,0003$)
Деструктивные изменения портальных трактов $\chi^2 = 43,56$ ($p = 0,000001$)	0	0 (0 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	
	1	9 (45 %)	14 (70 %)	0 (0 %)	1-2 ($p = 0,059$); 1-3 ($p = 0,0008$); 2-3 ($p = 0$)
	2	11 (55 %)	5 (25 %)	7 (35 %)	1-2 ($p = 0,03$)
	3	0 (0 %)	0 (0 %)	13 (65 %)	1-3 ($p = 0$); 2-3 ($p = 0$)

Information about authors:

SOKHAREV Anatoly Sergeevich, MD, surgeon, Kuzbass Regional Hepatological Center, City Clinical Hospital N 3, Kemerovo.

KRASNOV Konstantin Arkadyevich, MD, PhD, associate professor, department of hospital surgery, Kemerovo State Medical University; director, Kuzbass Regional Hepatological Center, City Clinical Hospital N 3, Kemerovo.

BUDAEV Alexey Vladimirovich, MD, PhD, department of pathological physiology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo.

PLOTNIKOVA Ekaterina Yurevna, MD, PhD, department of training doctors for primary care, Kemerovo State Medical University, Kemerovo.

SCHREIBER Stanislav Aleksandrovich, MD, forensic pathologist, Regional Bureau of Forensic Medical Examination, Kemerovo.

лую степень белковой дистрофии гепатоцитов, чем в первой ($p = 0,027$).

Влияние препаратов на некроз гепатоцитов является статистически значимым ($p = 0,000001$). Так, во второй группе, по сравнению с первой и третьей, статистически значимо выше процент эксплантатов печени кроликов с минимальной зоной некроза гепатоцитов ($p = 0,000001$). В первой группе, по сравнению с третьей, статистически значимо выше процент умеренного некроза гепатоцитов ($p = 0,03$) и, соответственно, ниже процент эксплантатов печени кроликов с тяжелой степенью некроза гепатоцитов ($p = 0,03$).

Влияние препаратов на развитие деструктивных изменений центральных вен является значимым ($p = 0,000001$). Сравнение процентов в этих группах позволило сделать следующие выводы: во второй группе, по сравнению с первой и третьей, больший процент эксплантатов печени кроликов не имеют деструктивных изменений в центральных венах ($p = 0,006$), либо имеют легкую степень ($p = 0,003$ и $p = 0,0001$, соответственно) и, соответственно, меньший процент эксплантатов печени кроликов имеет среднюю степень ($p = 0,002$ и $p = 0,0001$).

Влияние препаратов на развитие деструктивных изменений межклеточного матрикса является статистически значимым ($p = 0,02$). Сравнение процентов в этих группах позволило сделать следующие выводы: во второй группе, по сравнению с первой и третьей, больший процент эксплантатов печени кроликов не имеют деструктивных изменений межклеточного матрикса ($p = 0,006$ и $p = 0,04$, соответственно). Эксплантатов печени кроликов с тяжелой степенью деструктивных повреждений межклеточного матрикса во второй группе не наблюдалось.

Влияние препаратов на развитие отека портальных трактов является значимым ($p = 0,000001$). Во второй группе, по сравнению с первой и третьей, больший процент эксплантатов печени кроликов имеют легкую и среднюю степень отека портальных трактов. В то время как в третьей группе процент эксплантатов печени кроликов с отеком портальных трактов тяжелой степени статистически значимо выше, чем в остальных группах ($p = 0,01$).

Влияние препаратов на развитие деструктивных изменений артерий является значимым ($p = 0,000001$). Во второй группе, по сравнению с первой и третьей, у большего процента эксплантатов печени кроликов деструктивных изменений артерий не выявлено, либо выявлены изменения легкой степени. При сравнении результатов в первой и третьей группах было получено, что в третьей группе 40 % эксплантатов печени кроликов имеют тяжелую степень

деструктивных изменений, в то время как в первой и второй группах не было эксплантатов, имеющих данную степень деструкции.

Влияние препаратов на развитие деструктивных изменений портальных трактов является значимым ($p = 0,000001$). Во второй группе, по сравнению с первой и третьей группами, либо не было деструктивных изменений портальных трактов, либо наблюдались деструктивные изменения легкой степени. При сравнении результатов в первой и третьей группах было получено, что в третьей группе 65 % эксплантатов печени кроликов имеют тяжелую степень деструктивных изменений, в то время как в первой и второй группах не было эксплантатов, имеющих данную степень деструкции.

Данные, представленные в таблицах 2 и 3, позволяют сделать следующие выводы: все эксплантаты печени кроликов из второй группы имеют патоморфологические изменения легкой степени. Статистически значимо больший процент эксплантатов печени кроликов из первой группы, по сравнению с третьей группой, имеют средний уровень патоморфологических изменений в печени ($p = 0,0003$). В то время как 60 % эксплантатов печени кроликов из третьей группы имеют тяжелую степень патоморфологических изменений.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенная патоморфологическая оценка показала отсутствие статистически значимых различий в

Таблица 2
Морфометрическая оценка до и после консервации печеночного эксплантата в различных группах исследования
Table 2
Morphometric assessment before and after conservation of the liver explant in different study groups

Группа	Описательные статистики морфометрической оценки печеночного эксплантата					
	До консервации			После консервации		
	Среднее значение	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка	Среднее значение	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
1	0,15	0,37	0,082	12,35	0,88	0,196
2	0,2	0,41	0,092	7,5	1,36	0,303
3	0,15	0,37	0,082	16,05	1,15	0,256

Таблица 3
Распределение по уровням морфометрической оценки печеночного эксплантата в трех группах кроликов
Table 3
Distribution according to the levels of morphometric assessment of liver explant in three groups of rabbits

Уровень морфометрической оценки печеночного эксплантата	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Уровень значимости различий (p)
Патоморфологические изменения лёгкой степени	1 (5 %)	20 (100 %)	0 (0 %)	1-2 ($p = 0,0000001$); 2-3 ($p = 0,0000001$)
Патоморфологические изменения средней степени	19 (95 %)	0 (0 %)	8 (40 %)	1-3 ($p = 0,0003$)
Патоморфологические изменения тяжёлой степени	0 (0 %)	0 (0 %)	12 (60 %)	

значениях показателей в сравниваемых группах эксплантатов печени кроликов до консервации. На рисунке 1 представлена ткань печени кролика до консервации.

После 8-часовой консервации в эксплантатах печени кролика в 1 группе имеют преимущественно (95 %) среднюю степень патоморфологических изменений, а 5 % – изменения легкой степени, и имеют статистически значимые различия по средней степени изменений ($p_{1-2} = 0,0000001$; $p_{1-3} = 0,0003$). На рисунке 2 представлена ткань печени кролика (1 группа) после 8-часовой консервации. На рисунке изображен ишемический мелкоочаговый некроз гепатоцитов.

При дисперсионном анализе после 8-часовой консервации в эксплантатах печени кролика отмечено, что во 2 группе (комбинированный консервант) патоморфологические изменения имеют легкую степень и статистически значимые различия по легкой степени изменений (p_{1-2} и $p_{2-3} = 0,0000001$). На рисунке 3 представлена ткань печени кролика (2 группа) после 8-часовой консервации. На рисунке изображены минимальная ишемическая дегенерация и некроз гепатоцитов и почти полное сохранение лобулярной архитектуры.

После 8-часовой консервации в эксплантатах печени кролика в 3 группе 60 % биоптатов имеют тяжелую степень патоморфологических изменений, а 40 % – среднюю степень и статистически значимые различия по тяжелой степени изменений ($p_{1-3} = 0,0000001$; $p_{2-3} = 0,0000001$). На рисунке 4 представлена ткань печени кролика (3 группа) после 8-часовой консер-

вации. На рисунке изображена картина обширного централобулярного некроза гепатоцитов, некроза межклеточного матрикса и сосудистых структур.

Дисперсионный анализ показал, что выявлены статистически значимые изменения в средних значениях показателя, произошедшие до и после 8-часовой консервации в разных группах ($p = 0,00001$). Причем, если до консервации средние значения морфометрической оценки эксплантатов в трех группах различались незначительно, то после 8-часовой консервации патоморфологические изменения легкой степени наблюдаются во второй группе (комбинация НТК и НЭП-ФОС), а патоморфологические изменения тяжелой степени – в третьей группе (моноконсервант НЭП-ФОС).

В патогенезе ишемического повреждения печеночного эксплантата ключевым звеном является гипоксия, вследствие которой возникает дефицит АТФ, ацидоз, ферментативный и осмотический лизис, инициация свободно-радикального процесса. Именно они и определяют в конечном итоге пригодность донорского органа для последующей имплантации реципиенту. Целью настоящего исследования являлось сохранить структурно-морфологическую целостность печеночного эксплантата при длительных сроках консервации (ишемии).

Для устранения свободно-радикального повреждения в данных экспериментах была использована НЭПФОС. Его способность растворять в 20 раз больше кислорода, чем плазма крови, и послужила основанием комбинированной консервации органа с целью

Рисунок 1
Окраска гематоксилин-эозин.
Ткань печени кролика
до консервации
Figure 1
Hematoxylin-eosin dye.
Rabbit liver tissue
before conservation

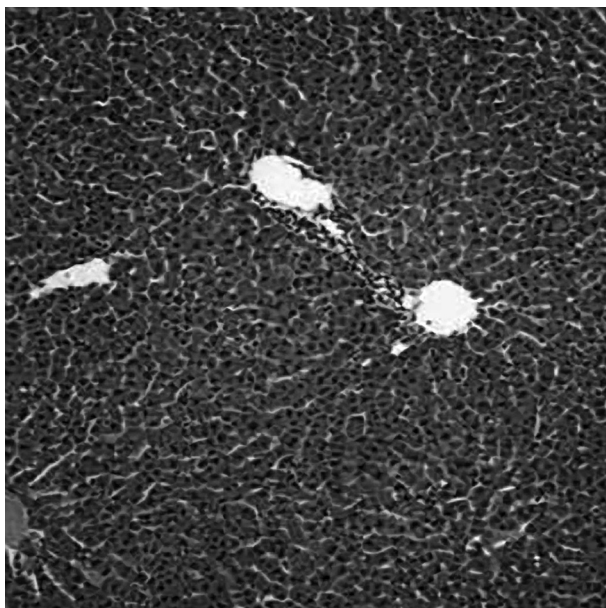


Рисунок 2
Окраска гематоксилин-эозин.
Ткань печени кролика
после 8 часовой консервации 1 группа
Figure 2
Hematoxylin-eosin dye.
Rabbit liver tissue
after 8-hour conservation, group 1

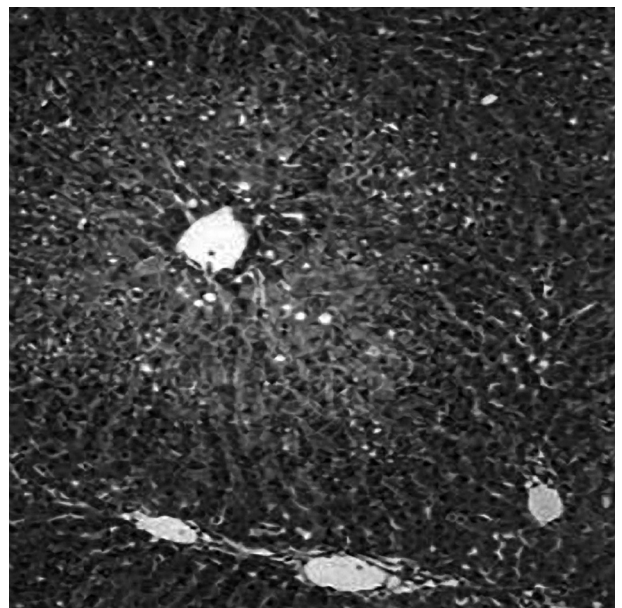


Рисунок 3
Окраска гематоксилин-эозин.
Ткань печени кролика
после 8 часовой консервации 2 группа
Figure 3
Hematoxylin-eosin dye.
Rabbit liver tissue
after 8-hour conservation, group 2

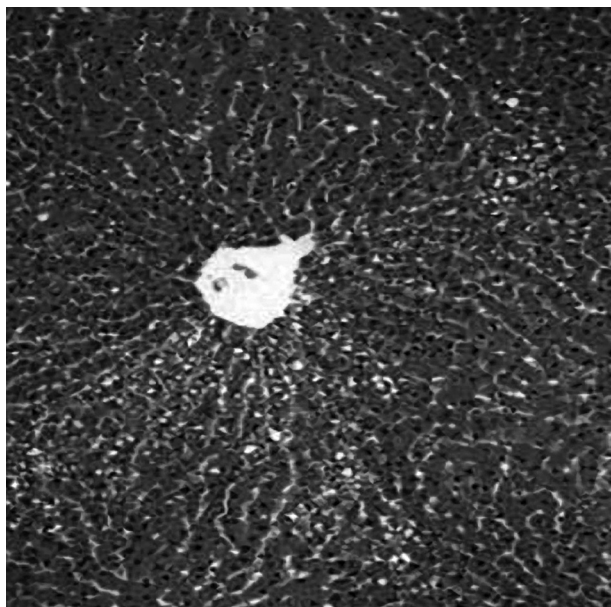
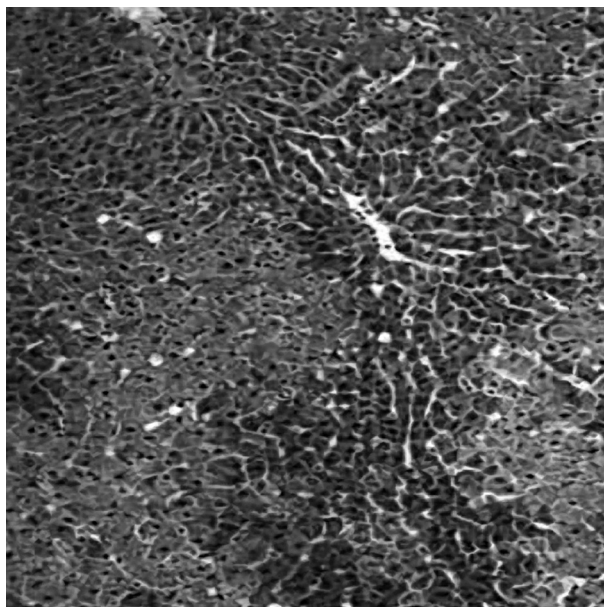


Рисунок 4
Окраска гематоксилин-эозин.
Ткань печени кролика
после 8 часовой консервации 3 группа
Figure 4
Hematoxylin-eosin dye.
Rabbit liver tissue
after 8-hour conservation, group 3



уменьшения образования свободных радикалов в ишемизированном печеночном эксплантате. НЭПФОС не влияет на внутриклеточный метаболизм и, тем самым, не поддерживает внутриклеточный гомеостаз во время холодовой ишемии. Применение перфторорганической эмульсии заключается в акцепции активных форм кислорода и отсутствии влияния на клеточный метаболизм в условиях ишемии [20].

Органосохраняющие эффекты комбинированного консервирующего раствора на основе НТК и НЭПФОС обусловлены его осмолярностью и антиоксидантной активностью, препятствующей в условиях ишемии развитию внутриклеточного отека, осмотического и свободно-радикального лизиса и, следовательно, минимизируется цитолитический гепатоцитов. Добавление НЭПФОС в НТК в соотношении 1 : 4 в и консервации при + 4С° в течение 8 часов повышает качество и надежность противоишемической защиты эксплантата печени в данном растворе.

Таким образом, применение комбинированного консерванта позволяет профилактировать ИП в пе-

ченочном эксплантате путем поглощения активных форм кислорода молекулами перфторорганической эмульсии, предотвращая повреждение органов и тканей. Комбинированный консервант статистически значимо уменьшает ИП печеночного эксплантата по патоморфологическим изменениям в трансплантате, в отличие от других групп.

ВЫВОДЫ:

1. Применение комбинированного способа консервации позволяет минимизировать и профилактировать развитие ишемических повреждений в тканях печеночного эксплантата на этапах изъятия и консервации органа.
2. Использование комбинированного способа консервации позволяет сохранить жизнеспособность печеночного эксплантата (надежность консервации), увеличить продолжительность срока консервации и вероятность скорейшего восстановления функции после трансплантации органа.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Jadlowiec CC, Taner T. Liver transplantation: Current status and challenges. *World J Hepatol.* 2016; 22(18): 4438-4445.
2. Lee DD, Croome KP, Shalev JA et al. Early allograft dysfunction after liver transplantation: an intermediate outcome measure for targeted improvements. *Annals of Hepatology.* 2016; 15(1): 53-60.
3. Qin1 J, Zhou1 J, Dai1 X et al. Short-term starvation attenuates liver ischemia-reperfusion injury (IRI) by sirt1-autophagy signaling in mice. *Am J Transl Res.* 2016; 8(8): 3364-3375.
4. Boga S, Munoz-Abraham AS, Rodriguez-Davalos MI et al. Host factors are dominant in the development of post-liver transplant non-alcoholic steatohepatitis. *World J Hepatol.* 2016; 8(15): 659-664.

5. Chu MJJ, Premkumar R, Hickey AJR et al. Steatotic livers are susceptible to normothermic ischemia-reperfusion injury from mitochondrial Complex-I dysfunction. *World J Gastroenterol.* 2016; 22(19): 4673-4684.
6. Folch-Puy E, Panisello A, Oliva J et al. Relevance of endoplasmic reticulum stress cell signaling in liver cold ischemia reperfusion injury. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; (17): 807-819.
7. Nastos C, Kalimeris K, Papoutsidakis N et al. Global consequences of liver ischemia/reperfusion injury. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2014; Article ID 906965: P.13.
8. Cakirl T, Aslaner IA, Tekelilil SO et al. Grape seed protects cholestatic rats liver from ischemia/reperfusion injury. *Acta Cirurgica Brasileira.* 2016; 31(3): 183-189.
9. Hashimoto N. Protective effect of ischemic preconditioning on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *OA Lib J.* 2015; (2): e1306
10. Jia JJ, Li JH, Jiang L. Liver protection strategies in liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2015; 14(1): 34-42.
11. Yamanaka K, Houben P, Bruns H et al. A systematic review of pharmacological treatment options used to reduce ischemia reperfusion injury in rat liver transplantation. *PLoS ONE.* 2015; 10(4): e0122214.
12. Perez JCJ, Ramirez AC, Gonzalez LT et al. Spironolactone effect in hepatic ischemia/reperfusion injury in wistar rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2016; Article ID 3196431: 9.
13. Peng N, Ai Z, Wang Y et al. Injury mechanism in liver transplantation and its protective measures. *JSM Biotechnol Bioeng.* 2016; 3(2): 1054-1057.
14. Theodoraki K, Karmanioliou I, Tympa A et al. Beyond preconditioning: postconditioning as an alternative technique in the prevention of liver ischemia-reperfusion injury. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2016; Article ID 8235921: 21.
15. Schoening W, Ariyakhagorn V, Schubert T et al. Warm HTK donor pretreatment reduces liver injury during static cold storage in experimental rat liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2015; 14(2): 1-7.
16. Melin C, Miick R, Young NA. Approach to intraoperative consultation for donor liver biopsies. *Arch Pathol Lab Med.* 2013; 137: 270-274
17. Shaimardanova C, Fedotovskikh G, Savchuk A. Pathologic criteria to stimate the state of the liver in potential donors. *Experimental and Clinical Transplantation.* 2015; (3): 33-35.
18. Naini BV, French SW. Liver Transplant Pathology In: WD Wallace, BV Naini (Eds.), Practical atlas of transplant pathology. Springer International Publishing Switzerland, 2016. P. 111-131.
19. Petrie A, Sabin K. Reference Medical Statistics. Textbook. 3rd ed., Rev. and ext. Moscow, 2015. 216 p. Russian (Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика. Учеб. пособие. 3-е изд., перераб. и доп. М., 2015. 216 с).
20. Sukhorukov VP, Ragimov AA, Pushkin SY et al. Perftoran – perfluorocarbon blood substitute with gas transmission function: A guide for physicians. 2nd ed., Rev. and ext. Moscow, 2008. 79 p. Russian (Сухоруков В.П., Рагимов А.А., Пушкин С.Ю. и др. Перфторан – перфторуглеродный кровезаменитель с газотранспортной функцией: пособие для врачей. 2-е изд., перераб. и доп. М., 2008. 79 с.)

