

Статья поступила в редакцию 28.01.2020 г.

Разумов А.С., Будаев А.В., Вавин Г.В., Радионов И.А., Сидорова О.Д., Ставицкий Е.Е.,
Раева Д.А., Будаев Ф.А., Мозес В.Г.

Кемеровская областная клиническая больница имени С.В. Беляева,
Кемеровский государственный медицинский университет,
г. Кемерово, Россия

ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕХНИКИ ЭКСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

Цель исследования – уменьшение механических и ишемических повреждений печени при эксплантации.

Материалы и методы. Выполнен эксперимент по эксплантации печени на 14 половозрелых беспородных кроликов обоего пола золотильным наркозом. В сравнении с традиционным методом эксплантации печени в предложенной технике были следующие отличия: мобилизация желудка и петель кишечника выполнялась со смещением их влево и вниз, что обеспечивало оптимальный доступ к мезентеральным венам и задней (нижней) полой вене; катетеризация воротной вены производилась через переднюю мезентеральную вену, что снижало риск экспульсии катетера; извлечение печени производилось в составе комплекса печень-диафрагма с использованием зажимов на диафрагме, что снижало риск травматизации органа; отмывание сосудистого русла печени от крови начиналось еще до полного завершения мобилизации органа и заканчивалось практически сразу после его извлечения, что уменьшало продолжительность первичной ишемии.

Во время эксплантации проводилось отмывание сосудистого русла печени от крови 0,9 % раствором хлорида натрия с добавлением гепарина (500 ЕД/кг) под давлением 20-35 мм рт. ст. антеградно по открытому контуру через катетер в воротной вене с оттоком через катетер в нижней полой вене до появления перфузата, в котором визуально не определялась кровь. Животные были разделены на 2 серии: 1-я серия (n = 6), которым отмывание проводилось при помощи нормотермической перфузии (раствор температурой $37 \pm 1^\circ\text{C}$); 2-я серия (n = 8), которым отмывание проводилось при помощи гипотермической перфузии (раствор температурой $3 \pm 1^\circ\text{C}$). После проведения хронометража животные из 1-й серии ранжировались на две подгруппы: «нормотермия 1» (n = 3), у которых хронометраж составил менее 25 минут; «нормотермия 2» (n = 3), у которых хронометраж составил более 25 минут.

Через 14 часов консервации печени проводилось ее гистологическое исследование.

Результаты. Экспериментальная апробация разработанного алгоритма эксплантации печени показала уменьшение трудоемкости и травматичности операции, которое выражалось в сокращении времени ее выполнения и в уменьшении морфологических изменений трансплантатов при последующей пролонгированной статической гипотермической консервации.

Ключевые слова: трансплантация печени; эксплантация; жизнеспособность трансплантатов печени; перфузия; нормотермия; гипотермия

Razumov A.S., Budaev A.V., Vavin G.V., Radionov I.A., Sidorova O.D., Stavickij E.E., Raeva D.A., Budaev F.A.,
Mozes V.G.

Kemerovo Regional Clinical Hospital,
Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia

LIVER EXPLANATION TECHNOLOGY OPTIMIZATION

Objective – to reduce mechanical and ischemic damage to the liver during explantation.

Materials and methods. An experiment was conducted on liver explantation on 14 sexually mature outbred rabbits of both sexes with zoetill anesthesia. In comparison with the traditional method of liver explantation, the proposed technique had the following differences: the mobilization of the stomach and intestinal loops was performed with their displacement to the left and down, which provided optimal access to the mesenteric veins and the posterior (inferior) vena cava; portal vein catheterization was performed through the anterior mesenteric vein, which reduced the risk of catheter expulsion; liver extraction was performed as part of the liver-diaphragm complex using clamps on the diaphragm, which reduced the risk of organ trauma; The washing of the vascular bed of the liver from the blood began even before the complete completion of the mobilization of the organ and ended almost immediately after its extraction, which reduced the duration of primary ischemia.

During explantation, the vascular bed of the liver was washed from the blood with a 0.9 % sodium chloride solution with the addition of heparin (500 ME/kg) under a pressure of 20-35 mmHg antegrade along an open circuit through a catheter in the portal vein with an outflow through the catheter in the inferior vena cava until a perfusate appears in which blood was not visually detected. The animals were divided into 2 series: 1st series (n = 6), which were washed using normothermic perfusion (solution at $37 \pm 1^\circ\text{C}$); 2nd series (n = 8) with which washing was carried out using hypothermic perfusion (solution with a temperature of $3 \pm 1^\circ\text{C}$). After 14 hours of liver preservation, its histological examination was performed.

Results. Experimental testing of the developed liver explantation algorithm showed a decrease in the laboriousness and invasiveness of the operation, which was expressed in a reduction in the time of its implementation and in a decrease in morphological changes in the transplants during subsequent prolonged static hypothermic preservation.

Key words: liver transplantation; explantation; viability of liver transplantates; perfusion; normothermia; hypothermia

Корреспонденцию адресовать:

РАЗУМОВ Александр Сергеевич,
650029, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а,
ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России.
Тел: 8 (3842) 73-28-39. E-mail: de-na@yandex.ru

Иформация для цитирования:

Разумов А.С., Будаев А.В., Вавин Г.В., Радионов И.А., Сидорова О.Д.,
Ставицкий Е.Е., Раева Д.А., Будаев Ф.А., Мозес В.Г. Оптимизация техни-
ки эксплантации печени // Медицина в Кузбассе. 2020. №1. С. 29-34.

DOI: 10.24411/2687-0053-2020-10005

Одной из актуальных проблем современной трансплантологии является своевременное обеспечение всех нуждающихся пациентов жизнеспособными и функционально активными трансплантатами [1]. Ежегодно до 25 % очередников умирают, так и не дождавись трансплантата [2]. Успех трансплантации печени напрямую зависит от качества печеночного трансплантата, поэтому дефицит донорских органов обусловлен не столько отсутствием самих органов, сколько сложностью сохранения жизнеспособности печени на всех этапах трансплантации, в том числе при изъятии (эксплантации) ее у донора [3].

Основными повреждающими факторами при эксплантации печени являются механические, ишемические и перфузионные, которые во многом обусловлены анатомическими особенностями расположения и кровоснабжения печени. Дополнительными факторами, влияющими на качество донорской печени при ее эксплантации, считаются не всегда адекватная последовательность выделения органа, перевязки и катетеризации сосудов; неправильный температурный и скоростной режимы отмывания печени от крови. В свою очередь, повреждения печени при эксплантации могут потенцировать развитие новых ишемических и реперфузионных повреждений при последующей консервации и имплантации трансплантата [4]. Поэтому во всем мире идет активный поиск новых техник и методик эксплантации печени, позволяющих минимизировать указанные риски.

Цель исследования — уменьшение механических и ишемических повреждений печени при эксплантации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 14 половозрелых беспородных кроликах обоего пола массой $2,9 \pm 0,38$ кг под золотильным наркозом (45 мг/кг вне-

брюшинно) в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996). Протокол исследования одобрен Комитетом по этике и доказательности медицинских научных исследований ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России.

Отмывание сосудистого русла печени от крови во время эксплантации проводилось 0,9 % раствором хлорида натрия с добавлением гепарина (500 ЕД/кг) под давлением 20-35 мм рт. ст. антеградно по открытому контуру через катетер в воротной вене с оттоком через катетер в нижней полой вене до появления перфузата, в котором визуально не определялась кровь.

Животные были разделены на 2 серии:

1-я серия ($n = 6$), в которой отмывание сосудистого русла печени от крови проводилось раствором с температурой $37 \pm 1^\circ\text{C}$ — нормотермическая перфузия;

2-я серия ($n = 8$), в которой отмывание сосудистого русла печени от крови проводилось раствором с температурой $3 \pm 1^\circ\text{C}$ — гипотермическая перфузия.

Всем животным выполнялись основные этапы операции:

1. Лапаротомия. Оперативный доступ «мерседес» [5] (рис. 1).

2. Выделение нижней полой и воротных вен.

3. Катетеризация нижней полой и воротной вен. Перфузия печени.

4. Эксплантация печени.

После вскрытия брюшной полости (рис. 2) петли кишечника и желудок аккуратно отводили влево и вниз (рис. 3), что позволяло освободить подпеченочное пространство и визуализировать нижнюю полую и воротную вены, которые выделяли и подводили под них лигатуры (рис. 4).

Воротную вену катетеризировали через переднюю (верхнюю) мезентериальную вену, что позволяло надежно фиксировать катетер, избежать мани-

Сведения об авторах:

РАЗУМОВ Александр Сергеевич, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой медицинской биохимии, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: de-na@yandex.ru

ВАВИН Г.В., канд. мед. наук, руководитель ЦНИЛ, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России; зам. глав. врача по лабораторной диагностике, ГАУЗ КО КОКБ им. С.В. Беляева, г. Кемерово, Россия. E-mail: okb-lab@yandex.ru

БУДАЕВ А.В., доктор мед. наук, доцент, профессор кафедры патологической физиологии, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Ворошилова 22а, 650029, Россия. Телефон 8 (384) 273-28-39, E-mail: kemsma@kemsma.ru

РАДИОНОВ И.А., доктор мед. наук, доцент, профессор кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: kemsma@kemsma.ru

СИДОРОВА О.Д., доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: kemsma@kemsma.ru

СТАВИЦКИЙ Е.Е., студент 5 курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия.

E-mail: kemsma@kemsma.ru

РАЕВА Д.А., студентка 5 курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия.

E-mail: kemsma@kemsma.ru

БУДАЕВ Ф.А., аспирант, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: kemsma@kemsma.ru

МОЗЕС Вадим Гельевич, доктор мед. наук, доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии им. Г.А. Ушаковой, ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: vadimmoses@mail.ru

Рисунок 1
Оперативный доступ
Picture 1
Online access



Рисунок 2
Вскрытие брюшной полости
Picture 2
Dissection of the abdominal cavity



Рисунок 3
Иммобилизация петель кишечника и желудка
Picture 3
Immobilization of intestinal and stomach loops

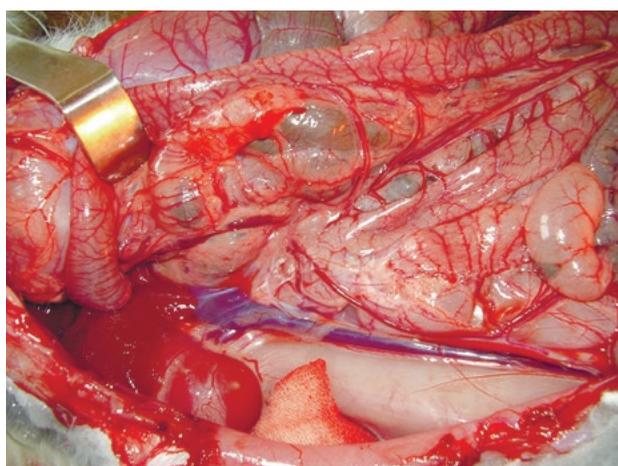
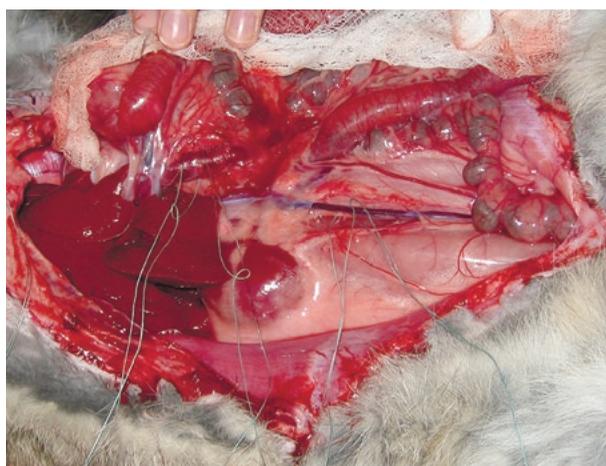


Рисунок 4
Визуализация и выделение сосудов
Picture 4
Vascular imaging and isolation



Information about authors:

RAZUMOV Alexander Sergeevich, doctor of medical sciences, professor, head of the department of medical biochemistry, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia. E-mail: de-na@yandex.ru

VAVIN G.V., candidate of medical sciences, head of the central research laboratory, Kemerovo State Medical University; deputy chief physician for laboratory diagnostics, Kemerovo Regional Clinical Hospital, Kemerovo, Russia. E-mail: okb-lab@yandex.ru

BUDAEV A.V., doctor of medical sciences, docent, professor of the department of pathological physiology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia. E-mail: kemsma@kemsma.ru

RADIONOV I.A., doctor of medical sciences, docent, professor of the department of hospital surgery, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia. E-mail: kemsma@kemsma.ru

SIDOROVA OD, doctor of medical sciences, professor, head of the department of histology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia. E-mail: kemsma@kemsma.ru

STAVITSKY E.E., 5th year student of the faculty of medicine, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia. E-mail: kemsma@kemsma.ru

RAEVA D.A., 5 year student of the faculty of medicine, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia. E-mail: kemsma@kemsma.ru

BUDAEV F.A., graduate student, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia. E-mail: kemsma@kemsma.ru

MOZES Vadim Gelievich, doctor of medical sciences, docent, professor of the department of obstetrics and gynecology named after G.A. Ushakova, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia. E-mail: vadimmoses@mail.ru

пуляций в области ворот печени и, тем самым, ограничить ее механические повреждения и риск кровотечений. После катетеризации воротной вены незамедлительно катетеризировали заднюю (нижнюю) полую вену (рис. 5) и начинали отмывание сосудистого русла печени от крови.

Сразу же после начала перфузии вскрывали грудную клетку и перевязывали грудной отдел задней полую вены и аорту. Избегая механических воздействий на печень, завершали ее мобилизацию, производили отсечение грудинной и реберной частей диафрагмы. На оставшуюся часть диафрагмы накладывали зажимы, с помощью которых смещали ее каудально и обнажали ножки диафрагмы; после их пересечения комплекс печень-диафрагма извлекался (рис. 6).

После извлечения завершали отмывание печени от крови и через катетер в воротной вене заполняли сосудистое русло печени охлажденным раствором кустодиола. Затем погружали печень в раствор кустодиола и хранили при температуре $3 \pm 1^\circ\text{C}$ до последующих исследований [6].

При оценке хронометража продолжительности первичной ишемии печени при выполнении предложенной техники эксплантации печени первой фиксажной точкой являлось начало перевязки и катетеризации воротной вены, второй фиксажной точкой являлось заполнение сосудистого русла печени кустодиолом. Замеры времени производились независимым наблюдателем сборачельным способом с помощью секундомера – наблюдатель по фиксажным точкам засекал время и заносил показания секундомера в статистическую карту. Полученные значения продолжительности операции записывались в хронометражный вариационный ряд.

После проведения хронометража животные из 1-й серии ранжировались на две подгруппы: «нормотермия 1» ($n = 3$), у которых хронометраж составил менее 25 минут; «нормотермия 2» ($n = 3$), у которых хронометраж составил более 25 минут.

Через 14 часов статической гипотермической консервации из краевой и центральной части правой латеральной доли печени производился забор материала для гистологического исследования (рис. 7). Срезы окрашивались гематоксилин-эозином, исследование материала проводилось под 1000-кратным увеличением.

Описание количественных признаков, подчиняющихся закону нормального распределения, описано средней величиной и среднеквадратическим отклонением ($M \pm \delta$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средняя продолжительность первичной ишемии печени (время от перевязки и катетеризации воротной вены до заполнения сосудистого русла печени кустодиолом) при выполнении предложенной техники эксплантации составила $22,33 \pm 4,67$ мин.

Рисунок 5
Катетеризация воротной и задней (нижней) полых вен
Picture 5
Catheterization of the portal and posterior (inferior) vena cava



Рисунок 6
Извлечение комплекса печень-диафрагма
Picture 6
Extraction of the liver-diaphragm complex



Результаты проведенного эксперимента показали, что, по сравнению с традиционными методами, предложенная техника сопровождалась меньшей трудоемкостью и травматичностью операции и механическим воздействием на печень [7-9]. Это достигалось двумя факторами.

Во-первых, за счет мобилизации желудка и петель кишечника со смещением их влево и вниз обеспечивался оптимальный доступ к мезентериальным венам и задней (нижней) полую вене.

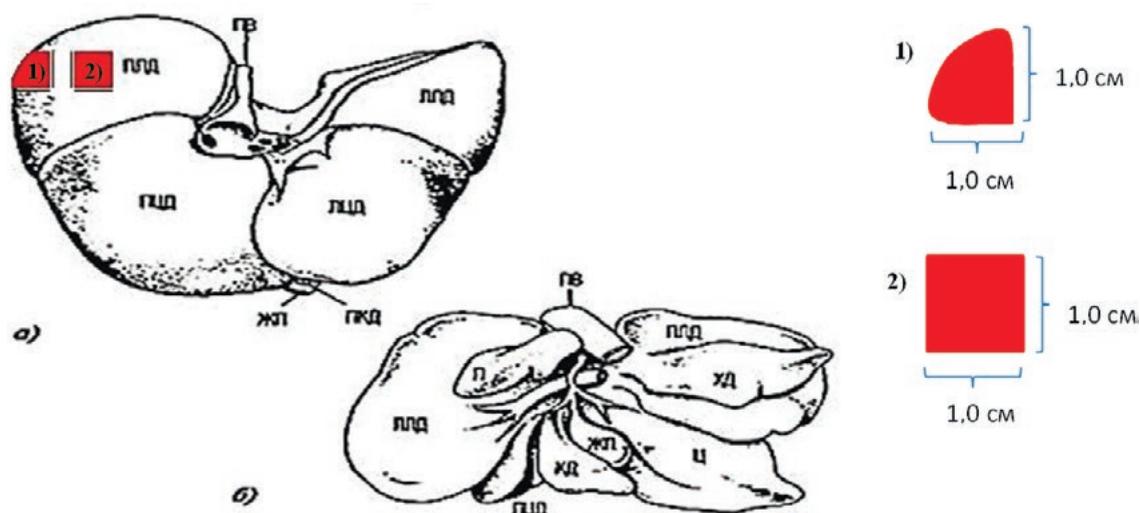
Во-вторых, катетеризация воротной вены из-за ее анатомических особенностей (малая протяженность, прочная связь с жировой клетчаткой, содержащей множество мелких сосудов) сопряжена с техническими трудностями ее выделения, высоким риском травматизации сосудистой стенки и ворот печени. Малая протяженность воротной вены не позволяет надежно фиксировать катетер, который

Рисунок 7

Локализация участков забора материала для гистологического исследования

Picture 7

Localization of material sampling sites for histological examination



Примечание (Note): а) диафрагмальная поверхность печени (diaphragmatic surface of the liver); б) висцеральная поверхность печени (the visceral surface of the liver); ПВ – полая вена (vena cava); ЖП – желчный пузырь (gall bladder); ПКД – правая квадратная доля (the right square fraction); ПЦД – правая центральная доля (the right central lobe); ПЛД – правая латеральная доля (the right lateral lobe); ЛЦД – левая центральная доля (the left central lobe); ЛЛД – левая латеральная доля (the left lateral lobe); ПД – папиллярная доля (papillary lobe); КД – квадратная доля (square fraction); ХД – хвостатая доля (caudate lobe). Забор материала (sampling of material): 1. краевой участок ПЛД (the regional section of the PLD) (п); 2. центральный участок ПЛД (the central section of the PLD) (ц)

может легко выйти из вены, особенно при извлечении печени. Предлагаемая катетеризация воротной вены через переднюю мезентеральную вену позволяет минимизировать эти риски.

В-третьих, извлечение печени в составе комплекса печень-диафрагма с использованием зажимов на диафрагме позволяет практически полностью исключить механические воздействия хирурга на печень.

В-четвертых, отмывание сосудистого русла печени от крови начинается еще до полного завершения мобилизации печени и заканчивается практически сразу после ее извлечения, что позволяет существенно уменьшить продолжительность первичной ишемии органа.

Результаты морфологического исследования печени (табл.) показали, что использование для отмывания сосудистого русла печени от крови охлажденного раствора ($3 \pm 1^\circ\text{C}$) позволяет уменьшить морфологические изменения в трансплантате печени при пролонгированной статической гипотермической консервации в кустадиоле по сравнению с нормотермической перфузией при эксплантации.

Однако это происходит только при одинаковой продолжительности первичной ишемии. При уменьшении времени нормотермической перфузии («нормотермия 1») морфологические изменения менее

выражены по сравнению с таковыми после более продолжительной гипотермической перфузии.

ВЫВОДЫ

1. Применение предложенной техники алгоритма эксплантации печени позволяет уменьшить трудоемкость и травматичность операции, совместить два этапа – извлечения печени и ее отмывку от крови, уменьшить морфологические изменения трансплантатов при последующей пролонгированной статической гипотермической консервации.

2. Извлечение печени с участком диафрагмы при помощи зажимов позволяет исключить механические воздействия на орган со стороны хирурга.

3. Гипотермическая перфузия печени при эксплантации уменьшает морфологические изменения в печени по сравнению с нормотермической, но решающее значение имеет уменьшение продолжительности первичной ишемии.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Таблица
Морфологическая характеристика микропрепаратов печени
Table
Morphological characteristics of liver micropreparations

№	Балочно-радиарное строение	Некроз/Апоптоз	Клеточный отек	Липофузцин	Двухядерные гепатоциты	ЦВ	ПД	ПТ
Гипотермия								
ц	стертое	нет/нет	группами	отдельные	множество	да	умеренное расширение	да
п	чёткое	нет/нет	группами	отдельные	группами	да	слабо выраженное расширение	да
Нормотермия 1								
ц	стёрто	нет/да	сплошь	отдельные	множество	да	умеренно выраженное расширение	да
п	мозаичность	нет/да	сплошь в очаге	нет	нет	да	выраженное расширение	да
Нормотермия 2								
ц	чёткое	нет/нет	единичные	нет	нет	да	слабо выраженное расширение	да
п	чёткое	нет/нет	нет	нет	группами	да	слабо выраженное расширение	да

Примечание (Note): ЦВ – центральная вена (расширена/запустевшая) [central vein (expanded/launched)]; ПД – пространство Диссе [Disse space]; ПТ – портальный тракт (расширен/запустевший) [portal path (expanded/launched)]; ц – центральный участок правой латеральной доли печени [the central section of the right lateral lobe of the liver]; п – краевой (периферический) участок [marginal (peripheral) section].

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

- ZHiv A, Shilov V, Afonin V, Bulanova K, Lobanyuk L, Alekseenko O, Zabelo O. Innovative preservative solution for vascular surgery. *Science and innovation*. 2015; 11(153): 68-72. Russian (Жив А., Шилов В., Афонин В., Буланова К., Лобанюк Л., Алексеев О., Забело О. Инновационный консервирующий раствор для сосудистой хирургии // Наука и инновации. 2015. № 11(153). С. 68-72.)
- Bagnenko SF, Reznik ON, Skvortsov AE, Lopota AV, Gryaznov NA, Kharlamov VV. The relevance of normothermic perfusion of the liver ex vivo during transplantation. *Grekov's Bulletin of Surgery*. 2015; 174(2): 124-129. Russian (Багненко С.Ф., Резник О.Н., Скворцов А.Е., Лопота А.В., Грязнов Н.А., Харламов В.В. Актуальность нормотермической перфузии печени ex vivo при трансплантации // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 2015. Т. 174, № 2. С. 124-129.)
- Bellomo R, Suzuki S, Marino B, Starkey GK, Chambers B, Fink MA, et al. Normothermic extracorporeal perfusion of isolated porcine liver after warm ischaemia: a preliminary report. *Crit Care Resusc*. 2012; 14(3): 173-176.
- Bellomo R, Marino B, Starkey G, Wang BZ, Fink MA, Zhu N, et al. Normothermic extracorporeal human liver perfusion following donation after cardiac death. *Crit Care Resusc*. 2013; 15(2): 78-82.
- Demirbas T, Bulutcu F, Dayangac M, Yaprak O, Guler N, Oklu L, et al. Which incision is better for living-donor right hepatectomy? *Transplant Proc*. 2013; 45(1): 218-221.
- Krasnov OA, Krasnov KA, Sokharev AS. et al. A method of preservation of the liver during transplantation. RU patent No. 2482674. 2013. Russian (Краснов О.А., Краснов К.А., Сохарев А.С. и др. Способ консервации печени при трансплантации. Патент РФ № 2482674. 2013.)
- Weigand K, Brost S, Steinebrunner N, Büchler M, Schemmer P, Müller M. Ischemia/reperfusion injury in liver surgery and transplantation: pathophysiology. *HPB Surg*. 2012; 2012: 176723. doi: 10.1155/2012/176723.
- Belyaev AM, Kotiv BN, Soloviev IA, Gafton GI, Senchik KYu, Vasilchenko MV, et al. Isolated hepatic perfusion in test. *Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center*. 2016; 11(1): 59-63. Russian (Беляев А.М., Котив Б.Н., Соловьёв И.А., Гафтон Г.И., Сенчик К.Ю., Васильченко М.В. и др. Изолированная перфузия печени в эксперименте // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. 2016. Т. 11, № 1. С. 59-63.)
- Bobrova MM, Safonova LA, Agarova OI, Krashennikov ME, Shagidulin MY, Agapov II. Liver Tissue Decellularization as a Promising Porous Scaffold Processing Technology for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Modern technologies in medicine*. 2015; 7(4): 6-13. Russian (Боброва М.М., Сафонова Л.А., Агапова О.И., Крашенинников М.Е., Шагидулин М.Ю., Агапов И.И. Децеллюляризация ткани печени как перспективная технология получения пористого матрикса для тканевой инженерии и регенеративной медицины // Современные технологии в медицине. 2015. Т. 7, № 4. С. 6-13.)