

Ы.А. Алмабаев¹, Ж.Н. Къжыров¹, М.Е. Сафаргалиев¹, А.Т. Шапиева¹, И.Р. Фахрадиев²

Казахский Национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова

¹Кафедра «Клинической анатомии и оперативной хирургии»

²Лаборатория экспериментальной медицины НИИ ФМ им. Б. Атчабарова

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРФУЗИОННЫХ РАСТВОРОВ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИОННЫХ ПРОГРАММ

В данной научно исследовательской статье проведено изучение эффективности консервирующих растворов для трансплантационных программ. Проведено сравнение раствора Висконсинского университета (UW) и раствора гистидин-триптофан-кетоглутарат (НТК, кустадиол) в условиях острого эксперимента на лабораторных животных. Разработана принципиально новая методика оценки консервирующих растворов для трансплантационных программ. Получены данные о биохимических показателях мочи, на фоне имитированной консервации и трансплантации почки. Сегодня растворы UW (University of Wisconsin) и НТК (гистидин-триптофан-кетоглутарат), почти одинаково эффективны и являются стандартными для многоорганоческих или единичных процедур по консервации почек.

Ключевые слова: перфузионные растворы, трансплантация почки

Введение.

В настоящее время проблема трансплантации органов и тканей сохраняет свою актуальность. В истории мировой и отечественной трансплантологии сделаны большие прорывы, но, несмотря на это, сохраняется ряд трудностей [1].

По сравнению с трансплантацией других органов, такое направление как трансплантация почки имеет более чем полувековую историю. За этот период накоплен колоссальный опыт, касающийся модернизации хирургической техники, консервации органов, совершенствования и оптимизации протоколов иммуносупрессии, а также послеоперационного ведения пациентов. Уже к концу 90-х годов были достигнуты современные показатели выживаемости почечных трансплантатов и реципиентов. Успехи трансплантации почки, тем не менее, привели к тому, что «листы ожидания» на операцию ежегодно неуклонно растут во всем мире [2].

Наряду с тем, что в РК первая ТП проведена в 1979 г., проблема сохраняется сегодня. В 2013 г. в ТП нуждалось около 3000 человек. По состоянию на 20.06.17 в ЛО на ТП в РК находятся 2803 взрослых человека, по состоянию на 11.04.18 – 2472 человека. Проблема сохраняется и объяснима, в частности, нехваткой доноров [5].

Однако принципы хранения и транспортировки заслуживают отдельного внимания. Одним из таких принципов является холодовая консервация, где на фоне гипотермического подавления активности катаболических и анаболических энзимов происходит консервация органа [3].

Необходимо отметить что, консервация донорских почек в основном обеспечивается за счет гипотермии, в условиях которой уменьшается метаболическая активность тканей, сохраняются запасы аденозина трифосфата (АТФ) и предотвращается образование свободных радикалов в фазу реперфузии.

Задачами ХК органов являются:

- 1) снижение уровня клеточного метаболизма;
- 2) поддержание целостности клеточных мембран;
- 3) обескровливание органа для предотвращения внутрисосудистых тромбозов;
- 4) уменьшение образования свободных радикалов кислорода.

Однако, несмотря на свойства ХК к возможности качественного консервирования органа, на сегодняшний день большинство исследователей рекомендуют максимально сокращать время холодовой ишемии. К увеличению длительности холодовой ишемии трансплантата ассоциируется с первичным отсутствием функции печени и сердца, а также с отсроченной функцией трансплантированной почки [4]. Поэтому дополнительное применение перфузионных растворов является обязательным.

Требования к перфузионному раствору сводятся к предотвращению:

- 1) отека клетки;
- 2) потери энергетического запаса клетки;
- 3) ацидоза клетки;
- 4) образования свободных радикалов кислорода.

Растворы для перфузии органов, применяемые в США:

1. Раствор Висконсинского университета (UW) – органы брюшной полости, сердце.
2. НТК – (Custodiol) – органы брюшной полости, сердце.

Признанным «золотым стандартом» перфузионного раствора в США является UW. Его использует более 80% трансплантационных программ в США. Новым раствором, который появился на рынке в Европе, стал IGL [5,6].

В отделениях трансплантологии РК после забора органа, промывание и консервация проводится преимущественно двумя типами растворов - раствор Висконсинского университета (UW) и раствор гистидин-триптофан-кетоглутарат (НТК, кустадиол). Большинство органов также подвергается последующей холодовой консервации, что связано с необходимостью транспортировки их в другой трансплантационный центр.

Необходимо отметить, что применение растворов Висконсинского университета (UW) и растворов гистидин-триптофан-кетоглутарат (НТК, кустадиол) при которых возможна качественная консервация органов, diskutabelna. Что и послужило целью нашего экспериментального исследования.

Цель. Дать оценку эффективности консервирующего раствора Висконсинского университета (UW) и раствора гистидин-триптофан-кетоглутарат (НТК, кустадиол) в условиях острого эксперимента на лабораторных животных.

Материалы и методы исследования.

Исследование было проведено на 8 крысах, возраст – 18 месяцев, массой тела 250 - 300 гр., полученных из вивария НИИ им. Б. Атчабарова, со стандартным рационом питания и ухода с учетом «Правил проведения доклинических исследований, медико-биологических экспериментов и клинических испытаний в РК» (от 25 июля 2007 года N 442).

Все манипуляции, проводимые на лабораторных животных, проведены с обязательным соблюдением Хельсинской декларации защиты позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей (от 1975 года и ее пересмотренного варианта 2008 г.).

Лабораторные животные (N - 6) рандомизировано поделены на 3 группы. Исследовались 2 типа растворов - раствор Висконсинского университета (UW) (первая группа, n - 3) и раствор гистидин-триптофан-кетоглутарат (вторая группа, n - 3). Третья группа лабораторных животных (n - 2) – контрольная.

Экспериментальное исследование на лабораторных животных проведено в условиях операционного блока Лаборатории экспериментальной медицины НИИ ФПМ им. Б. Атчабарова.

Всем лабораторным животным была проведена нефрэктомия. С предварительно тщательно выбранным операционным полем. Под

общей анестезией (Роментар 0,3 мг/кг, в/в) проведено фиксирование лабораторных животных на станке в положении на спине. Процедура операции включала в себя тотальную лапаротомию, гемостаз. Кишечник с брыжейкой были сдвинуты влево, впоследствии открыто правое забрюшинное пространство. Тупым путем из подкожной жировой клетчатки выделена почка вместе с капсулой. Почечные сосуды перевязывали и отсекали. Мочеточник выделяли дистально и отсекали. Произведена нефрэктомия. Операционная рана была накрыта стерильной салфеткой.

Извлеченные почки перфузировали раствором Висконсинского университета (UW) (n - 3) и раствором гистидин-триптофан-кетоглутарат (n - 3). Перфузия была произведена путем введения исследуемых растворов в артерию, вену и мочеточник почки через установленные в просветы сосудов периферические катетеры «Вазофикс». Далее извлеченные почки были помещены в стерильный контейнер с раствором хлорида натрия 0.9%, при температуре 36.6 градусов. Гипотермия удаленных органов не была произведена, чтобы исключить влияние холодовой ишемии на удаленный орган. Экспозиция органов в стерильном контейнере составляла 15 минут для обеих групп.

После 15 минутной экспозиции, удаленные почки были извлечены из стерильного контейнера. Далее, при помощи периферического катетера, производилось шунтирование артерии удаленной почки к артерии лабораторного животного, аналогичная манипуляция произведена и с веной удаленного органа.

Время шунтирования удаленных почек составляло 10 минут, за данный промежуток времени путем канюлирования мочеточника удаленных почек была получена моча в кол-ве 1.1±0,5 мл. Полученная моча в ходе эксперимента была подвергнута биохимическому анализу (Таблица №1).

Лабораторные животные были выведены из эксперимента по методу (Алмабаев Ы.А.; Алмабаев Г.Ы, Джолдыбаева Б. Б, и др./ Способ выведения подопытных животных из эксперимента/ № патента: 11756).

Результаты.

Методы статистической обработки основывались на использовании пакета статистических программ R 3.4.4 для Windows.

Результаты экспериментальных исследований анализировались с применением методов вариационной статистики (Бенсман В.М. Облегченные способы статистического анализа в клинической медицине. - Краснодар: издательство КГМА, 2002 - 32 с.). Оценка достоверности проводилась с использованием критерия Стьюдента (t) для малых выборок и величины вероятности (p). Различия оценивали как достоверные при значениях степени вероятности p<0,05.

Исходя из полученных данных (таблица 1), биохимические показатели мочи у контрольной группы лабораторных животных соответствуют нормальному состоянию почечной паренхиме.

Таблица 1 - Биохимические показатели мочи крыс

Исследуемые показатели	Контрольная группа	Раствор Висконсинского университета (UW)	Раствор гистидин-триптофан-кетоглутарат
Кол-во мочи, мл.	2,0±0,5	1,0±0,3	0,9±0,5
Белок, г/л	0,65±0,19	0,79±0,24	0,84±0,15
Мочевина, ммоль/л	415±49	489±79	501±67
Глюкоза, ммоль/л	<6	<9	<8
Калий, г/л	2,23±0,24	4,1±0,84	4,5±0,56
Натрий, г/л	0,37±0,16	0,87±0,37	0,92±0,42
Уробилиноген, мкмоль/л	<17	<29	<31
pH	6,4±0,5	6,9±0,4	7,0±0,6
Билирубин, мкмоль/л	<5	<9	<15
Кетоновые тела, ммоль/л	<1	<8	<7

Данные полученные в ходе биохимического анализа мочи для оценки способности почек отфильтровывать из крови и выделять в мочевые пути продукты распада, образующиеся в ходе метаболических процессов второй и третьей группы, показывают о состоятельности функции почек после 15 минутного изолирования от организма.

Однако, несмотря на хорошие результаты, превышение показателя мочевины во второй (489±79 ммоль/литр) и третьей (501±67 ммоль/литр) группы по сравнению с контрольной, говорит о недостаточной выделительной работе почек и нарушении фильтрации.

Вывод.

Говоря об эффективности применяемых растворов, следует рассматривать их общие и отдельные эффекты. В собирательном понимании наиболее высокую эффективность показал раствора Висконсинского университета (UW), однако, сравнения показателей анализа мочи в исследуемых группах (второй и третьей) при помощи парного теста Стьюдента не обнаружили значимых различий. Вместе с тем, дальнейшего изучения их отдельные свойства: стимуляция диуреза, мембранопротекторные свойства, а также морфофункциональные данные в динамике. Сегодня растворы UW (University of Wisconsin) и НТК (гистидин-триптофан-кетоглутарат), почти одинаково эффективны и являются стандартными для многоорганоческих или единичных процедур по консервации почек.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Никоненко А. С. Здоровье Казахстана Третьего Тысячелетия. -2015. - № 8(39). - С. 71-78.
- 2 Шаршаткин А.В. Клинические и хирургические аспекты трансплантации почки от живого родственного донора: автореф. дисс. ... д-р.мед.наук - М., 2009. - 144 с.
- 3 Agarwal A., Murdock P., Fridell J.A. Comparison of histidine-tryptophan ketoglutarate solution and University of Wisconsin solution in prolonged cold preservation of kidney allografts // PubMed. -2006.-№81(3).-P. 480-482. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16477239>
- 4 Мухина Н.А. Национальное руководство по нефрологии. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 716 с.
- 5 Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М., Ибрагимова О.С. Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2011 г. IV сообщение регистра Российского трансплантологического общества // Вестник трансплантологии и искусственных органов. -2012.- №14(3). - С. 6–18.
- 6 Баймаханов Б.Б., Кыжыров Ж.Н., Сахипов М.М., Чорманов А.Т., Ибрагимов Р.П., Байдаулетов Ж.Ж., Стамкулов Ф.Т. Совершенствование технологии трансплантации родственной почки // Вестник КазНМУ. - 2013. - №1. - С. 199–201.

Ы.А. Алмабаев¹, **Ж.Н. Кыжыров¹**, М.Е. Сафарғалиев¹, А.Т. Шапиева¹, И.Р. Фахрәдиев²

С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық медициналық университет

¹*«Клиникалық анатомия және оперативті хирургия» кафедрасы,*

²*ҒЗИ ФМ Б. Атқабаров атындағы тәжірибелік медицина лабораториясы*

ТРАНСПЛАНТАЦИЯЛЫҚ БАҒДАРЛАМАЛАРҒА АРНАЛҒАН ПЕРФУЗИЯЛЫҚ ЕРІТІНДІЛЕРІН ТӘЖІРИБЕЛІК ЗЕРТТЕУ

Түйін: Осы ғылыми зерттеулік мақалада трансплантациялық бағдарламалары үшін консервациялық ерітінділерінің тиімділігін анықтау мақсатында зерттеу жүргізілді. Зертханалық жануарларға күрделі эксперимент жасау барысында Висконсин университетінің (UW) ерітіндісін және гистидин-триптофан-кетоглутаратты (НТС, кустадиол) ерітіндісін салыстыру жұмысы атқарылды. Трансплантациялық бағдарламалары үшін консервациялық ерітінділерінің түбегейлі жаңа бағалау әдісі жасалды. Имитациялық консервация және бүйрек трансплантациясы жасалу кезіндегі несептің биохимиялық көрсеткіштері алынды. Бүгінде UW (University of Wisconsin) және НТК (гистидин-триптофан-кетоглутарат) ерітінділері бірдей тиімді болып есептеледі және бүйрек консервациясына арналған көп органикалық немесе бір реттік әрісім жасау үшін стандартты болып табылады.

Түйінді сөздер: перфузиялық ерітінділері, бүйрек трансплантациясы.

Y.A. Almabaev¹, **Zh.N. Kyzhyrov¹**, M.E. Safargaliev¹, A.T. Shapieva¹, I.R. Fakhradiev²

Asfendiyarov Kazakh National medical university

¹*Chair of "Clinical Anatomy and Operative Surgery",*

²*Laboratory Experimental Medicine RI FM named. B. Atchabarov*

EXPERIMENTAL STUDY OF PERFUSION SOLUTIONS FOR TRANSPLANTATION PROGRAMS

Resume: In this research paper, a study was made of the effectiveness of preservative solutions for transplantation programs. A solution of a Wisconsin University (UW) solution and a histidine-tryptophan-ketoglutarate (NTC, kustadiol) solution under the conditions of an acute experiment in laboratory animals was compared. A fundamentally new method for evaluating canning solutions for transplantation programs has been developed. Data on biochemical parameters of urine were obtained, against the background of simulated conservation and kidney transplantation. Today, solutions of UW (University of Wisconsin) and NTC (histidine-tryptophan-ketoglutarate) are almost equally effective and are standard for multi-organic or single procedures for kidney preservation.

Keywords: perfusion solutions, kidney transplantation