

**АСТАПОВИЧ СЕРГЕЙ АНДРЕЕВИЧ**

**Аппаратная перфузия и флуоресцентная ангиография в профилактике хирургических осложнений трансплантации печени**

3.1.9. Хирургия (медицинские науки)

3.1.14. Трансплантология и искусственные органы (медицинские науки)

**АВТОРЕФЕРАТ**

**Диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

**Научные руководители:**

**Шабунин Алексей Васильевич**, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор.

**Дроздов Павел Алексеевич**, доктор медицинских наук

**Официальные оппоненты:**

**Восканян Сергей Эдуардович**, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ "ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России", заместитель главного врача по хирургической помощи, руководитель Центра хирургии и трансплантологии

**Мойсюк Ян Геннадьевич**, доктор медицинских наук, профессор, ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского», руководитель хирургического отделения трансплантации и хирургии печени

**Ведущая организация:**

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова» Департамента здравоохранения города Москвы

Защита состоится « 19 » июня 2025 года в 10:00 часов на заседании диссертационного совета 21.3.054.06 при ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства Здравоохранения Российской Федерации по адресу: 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр.1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства Здравоохранения Российской Федерации по адресу: 125445, г. Москва, ул. Беломорская д. 19/38 и на сайте ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России <http://www.rmapo.ru>

Автореферат разослан «   » \_\_\_\_\_ 2025 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета

**Самсонова Любовь Николаевна**

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность темы исследования**

Трансплантация печени является единственным методом радикального лечения заболеваний печени в терминальной стадии [Готье С.В., 2017]. По данным европейского регистра (European Liver Transplant Registry) в последнее время в Европе выполняется более 7 тысяч трансплантаций печени ежегодно. Однако, ввиду общемирового дефицита донорского ресурса, количество больных, ожидающих трансплантацию, не уменьшается [Хубутя М.Ш., 2018]. Согласно статистике Eurotransplant на 2022 год смертность в листе ожидания составила 33,9%, что практически не отличается от результатов десятилетней давности.

Одним из наиболее оправданных путей увеличения доступности трансплантационной помощи является расширение критериев к посмертному донорству печени [Минина М.Г., 2022]. С другой стороны, использование трансплантатов, полученных от доноров с расширенными критериями, ассоциировано с повышенной частотой развития послеоперационных осложнений [Мойсюк Я.Г., 2016]. К таковым относятся первичное нефункционирование трансплантата (ПНФТ), его ранняя дисфункция (РДТП), артериальные и билиарные осложнения. Большинство из них напрямую зависят от тяжести ишемически-реперфузионного повреждения трансплантата, что диктует необходимость разработки и внедрения эффективных профилактических мер.

Перфузионные методы консервации, на сегодняшний день, доказали свою приоритетность при трансплантации печени, полученной от субоптимального донора [Руммо О.О., 2020]. Во время перфузии происходит очищение микроциркуляторного русла от сладжа форменных элементов и удаляются токсичные продукты анаэробного метаболизма. Активная оксигенация перфузионного раствора позволяет доставлять кислород митохондриям клеток трансплантата, предупреждая их дисфункцию, и, уменьшая тем самым тяжесть ишемического и последующего реперфузионного повреждения [Dutkowski P., 2019]. Тем не менее, в отношении их использования остается ряд нерешенных вопросов, которые не позволяют обосновать их высокую эффективность. На данный момент, ни в одном трансплантационном центре Российской Федерации

перфузионная консервация трансплантатов печени рутинно не выполняется.

Билиарные осложнения трансплантации печени, по мнению ряда авторов, и на сегодняшний день, считаются «ахиллесовой пятой» данной операции [Новрузбеков М.С., 2018]. В отличие от неанастомотических стриктур желчных протоков, причинами которых являются хроническая недостаточность артериального кровоснабжения, выраженное ишемически-реперфузионное повреждение трансплантата и другие [Schlegel A., 2018], стриктура и несостоятельность билиарного анастомоза наиболее вероятно являются результатом локального нарушения кровоснабжения холедоха. На сегодняшний день, в мировой литературе не описано эффективных мероприятий, направленных на профилактику осложнений со стороны билиарного анастомоза.

Таким образом, разработка и внедрение технологий, направленных на снижение тяжести ишемически-реперфузионного повреждения трансплантата печени и профилактику хирургических осложнений позволит улучшить непосредственные и отдаленные результаты трансплантации печени, а также безопасно повысить доступность трансплантационной помощи за счет использования доноров с расширенными критериями.

### **Степень разработанности темы**

Первый опыт клинического применения гипотермической оксигенированной перфузии (НОРЕ) трансплантата печени был опубликован Phillip Dutkowski и соавт. в 2014 году. НОРЕ выполнялась в течение 1-2 часов после статической холодной консервации трансплантатов печени, полученных от контролируемых DCD-доноров (3 тип по Маастрихтской классификации). Для каждого из 8 наблюдений данной серии была зафиксирована удовлетворительная функция трансплантата. В 2015 году группа авторов под руководством J.V. Guarrega продемонстрировала успешный опыт использования маргинальных трансплантатов печени от DBD, от которых отказывались другие центры. НОРЕ продемонстрировала достоверно лучшие результаты по сравнению со статической холодной консервацией. Данные мировой литературы указывают на реальную возможность улучшения результатов трансплантации печени и увеличения количества данных операций за счет использования трансплантатов, полученных от доноров с

расширенными критериями, благодаря внедрению в клиническую практику перфузионных технологий, однако на данный момент невозможно сказать какой из методов более эффективен.

В настоящее время существует всего две публикации, посвященные методу флуоресцентной визуализации кровоснабжения желчного протока во время трансплантации печени. Так, L. Coubeau Laurent и др. (2017) опубликовали первый клинический случай эффективного использования данного метода при трансплантации печени. Второе исследование было проведено в университете Монпелье во Франции, Panaro F. и др. (2018) представили 6 клинических наблюдений. Срок наблюдения пациентов составил 12 месяцев – ни в одном наблюдении развития стриктуры не зафиксировано. На основании полученных данных можно сделать вывод о потенциальном преимуществе диагностического метода в профилактике анастомотических ишемических стриктур, однако, в настоящее время отсутствуют опубликованные результаты сравнительных исследований, подтверждающие его пользу.

### **Цель исследования**

Улучшить результаты лечения пациентов с терминальной стадией заболеваний печени с помощью аппаратной перфузии и флуоресцентной ангиографии как профилактики хирургических осложнений трансплантации печени.

### **Задачи исследования**

1. На основании ретроспективного анализа определить частоту развития и факторы риска хирургических осложнений трансплантации печени.
2. Разработать методику гипотермической оксигенированной перфузии трансплантата печени *ex situ* с использованием аппарата искусственного кровообращения и оценить непосредственные результаты ее применения.
3. Оценить влияние гипотермической оксигенированной перфузии трансплантата печени *ex situ* на результаты трансплантации печени от доноров с расширенными критериями.
4. Разработать методику флуоресцентной визуализации кровоснабжения гепатикохоледоха с использованием индоцианина зеленого и оценить непосредственные результаты ее применения.

5. Оценить влияние флуоресцентной визуализации кровоснабжения гепатикохоледоха с использованием индоцианина зеленого в профилактике хирургических осложнений трансплантации печени.

#### **Объект и предмет исследования**

Объект исследования – 292 пациента с заболеваниями печени в терминальной стадии, перенесших трансплантацию печени в ММНКЦ им. С. П. Боткина в период с 2018 по 2024 гг. Предмет исследования – профилактика развития хирургических осложнений трансплантации печени, в том числе у пациентов, получивших трансплантат от донора с расширенными критериями.

#### **Научная новизна исследования**

Впервые разработана оригинальная методика гипотермической оксигенированной перфузии трансплантата печени *ex situ* с использованием аппарата искусственного кровообращения (патент на изобретение №2830104).

Доказано влияние применения гипотермической оксигенированной перфузии на уменьшение выраженности митохондриального повреждения гепатоцитов донорской печени в ходе холодной консервации.

Впервые разработана методика флуоресцентной визуализации кровоснабжения гепатикохоледоха трансплантата печени с использованием индоцианина зеленого и определены ее чувствительность и специфичность в отношении ишемии, подтвержденной результатами морфологического исследования.

#### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Впервые внедрена в клиническую практику методика гипотермической оксигенированной перфузии трансплантата печени *ex situ* с использованием аппарата искусственного кровообращения.

Разработана научная концепция динамической консервации трансплантатов печени от посмертного донора с использованием гипотермической оксигенированной перфузии *ex situ*.

Впервые внедрена в клиническую практику методика флуоресцентной визуализации кровоснабжения гепатикохоледоха трансплантата печени с использованием индоцианина зеленого.

Определена хирургическая тактика формирования билиарного анастомоза в зависимости от результатов ICG-флуоресцентной визуализации.

## **Методология и методы исследования**

В работе был применен клинический, инструментальный (ультразвуковой, рентгенологический), лабораторный методы исследования, анализ историй болезни, морфологических исследований трансплантатов печени (световая, электронная микроскопия). Статистическая обработка и анализ данных выполнялись в программе SPSS Statistics для Microsoft Windows 26 версии (США). Для сравнения двух групп количественных показателей ввиду небольшого объема выборки вне зависимости от распределения использовался U-критерий Манна-Уитни. Сравнение категориальных показателей выполнялось с использованием  $\chi^2$ -критерия Пирсона либо точного критерия Фишера с определением отношения шансов (ОШ). Для определения связи между количественными показателями выполнялся корреляционный анализ с определением коэффициента ранговой корреляции  $\rho$  Спирмена. Статистически значимыми различия считались при  $p < 0,05$ .

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Гипотермическая оксигенированная перфузионная консервация *ex situ* (патент на изобретение №2830104) позволяет уменьшить интенсивность ишемически-реперфузионного повреждения трансплантата печени, снизить частоту развития его ранней дисфункции и ассоциированных с ней хирургических осложнений.

2. Интраоперационная флуоресцентная ангиография позволяет определить степень кровоснабжения дистальной части гепатикохоледоха с высокой чувствительностью и специфичностью к ишемии и снизить риск развития хирургических осложнений со стороны билиарного анастомоза.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационное исследование «Аппаратная перфузия и флуоресцентная ангиография в профилактике хирургических осложнений трансплантации печени», соответствует паспорту специальности 3.1.9. Хирургия и областям исследования: п. № 4 «Экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней и их внедрение в клиническую практику» и паспорту специальности 3.1.14. Трансплантология и искусственные органы и областям исследования: п. № 1 «Экспериментальная и клиническая разработка, а также внедрение в практику методов пересадки органов, тканей. Трансплантационная хирургия. Оценка функции пересаженных органов и тканей» и п. № 3 «Теоретическая и

экспериментальная разработка и применение в клинической практике методов консервации и реабилитации донорских органов, тканей».

Диссертационная работа включает разработку технологий, направленных на снижение тяжести ишемически-реперфузионного повреждения трансплантата печени и профилактику хирургических осложнений, что позволит улучшить непосредственные и отдаленные результаты трансплантации печени, а также безопасно повысить доступность трансплантационной помощи за счет использования доноров с расширенными критериями.

#### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Значимость результатов исследования обеспечиваются репрезентативным и достаточным объемом выборки обследованных пациентов (n=292), многообразием хирургических методик, статистической значимостью результатов. Проведение диссертационного исследования одобрено Независимым этическим комитетом ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол № от 25 сентября 2024 г.). Тема диссертации утверждена Советом хирургического факультета ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России от 17 сентября 2024 года, протокол № 6. Основные положения диссертации представлены на заседании сотрудников кафедры хирургии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол № 42 от 17 марта 2025 года).

Основные положения диссертации представлены на 1-м Кубанском конгрессе хирургов «Инновационные технологии в хирургии» (Сочи, 2024 г.), научно-практической конференции «ICG-технологии в онкологии и хирургии» (Москва, 2024 г.), 1-м Казанском конгрессе хирургов (Казань, 2024 г.), Юбилейном XII Всероссийский съезде транспантологов с международным участием (Москва, 2024 г.),

XXXI Международном конгрессе «Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии» (Казань, 2024 г.).

#### **Внедрение результатов диссертационной работы**

Результаты исследования внедрены в работу хирургического отделения трансплантации органов и/или тканей человека №20 ГБУЗ «Московский многопрофильный научно-клинический центр имени С.П. Боткина Департамента здравоохранения Москвы» (акт внедрения в практическую деятельность от 24 ноября 2024 года)

Полученные в результате диссертационного исследования данные используются в учебно-педагогической работе кафедры хирургии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (акт внедрения

от 28 ноября 2024 года), основные результаты, положения и выводы диссертации включены в лекционный курс "Хирургия", в раздел № 9 «Хирургия органов брюшной полости» основной профессиональной образовательной программы высшего образования – подготовка кадров высшей квалификации в ординатуре по специальности «Хирургия»; в учебные планы циклов профессиональной переподготовки специалистов и циклов повышения квалификации врачей по направлению «Хирургия».

### **Личный вклад автора**

Личный вклад автора в получении результатов, изложенных в диссертации, является основным на всех этапах работы – анализ научной отечественной и зарубежной литературы, обоснование актуальности темы и степень ее разработанности, создание идеи работы, формулировку цели и задач, определение методологического подхода и методов их решения; в и получении исходных данных. Самостоятельно выполнена основная часть работы - выполнение хирургических операций по изъятию печени у посмертного донора, проведение ее гипотермической оксигенированной перфузии *ex situ*, хирургических операций по трансплантации печени, в частности с применением технологии флуоресцентной ангиографии холедоха на этапе формирования билиарного анастомоза, наблюдение и лечение реципиентов в послеоперационном периоде. Проведен анализ и статистическая обработка полученных данных, обобщение результатов, формулировка положений, выносимых на защиту, выводов и практических рекомендаций, подготовка публикаций и апробация результатов исследования.

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 6 печатных работ, из них 3 согласно Перечню рецензируемых научных изданий ВАК. Разработан 1 патент на изобретение РФ.

### **Объем и структура работы**

Диссертационная работа изложена на 134 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, характеристики материала и методов исследования, шести глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 16 отечественных и 121 зарубежный источников. Работа иллюстрирована 10 таблицами и 20 рисунками.

# СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

## КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП БОЛЬНЫХ.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### Характеристика клинического материала

В соответствии с поставленной целью и задачами нами было проведено исследование, в которое было включено 292 больных с заболеваниями печени в терминальной стадии, медиана возраста реципиентов составила 52 (IQR: 48-56) лет. Мужчин было 158 (54,1%), женщин 134 (45,9%). Медиана MELD реципиентов составила 18 (IQR: 13-22) балла. Медиана возраста доноров составила 48 (IQR: 42-53) лет, ИМТ - 25,2 (IQR: 22,0-31,0) кг/м<sup>2</sup>, медиана времени нахождения в реанимации – 54 (IQR: 48,0-78,0) часов. Вазопрессорная поддержка имела место у всех (100%) доноров, среди них у 44 (15,1%) доза норадреналина превышала 1000 нг/мг/мл, либо использовался второй вазопрессор. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

I. Ретроспективный анализ непосредственных и отдаленных результатов трансплантации печени. Определение факторов риска развития основных осложнений

Группа I (2018-2023 г.): n = 142



Разработка методов профилактики осложнений трансплантации печени в раннем и отдаленном послеоперационном периоде

Исследование безопасности и эффективности гипотермической оксигенированной перфузии трансплантатов печени ex situ, полученных от доноров с расширенными критериями

Исследование безопасности и эффективности ICG-флуоресцентной визуализации гепатикохоледоха трансплантата печени в профилактике билиарных осложнений

Группа II

Группа III

**Подгруппа II.I**  
Статическая консервация  
(2018-2023 г.)  
n = 34

**Подгруппа II.II**  
Перфузионная консервация  
(2023-2025 г.)  
n = 53

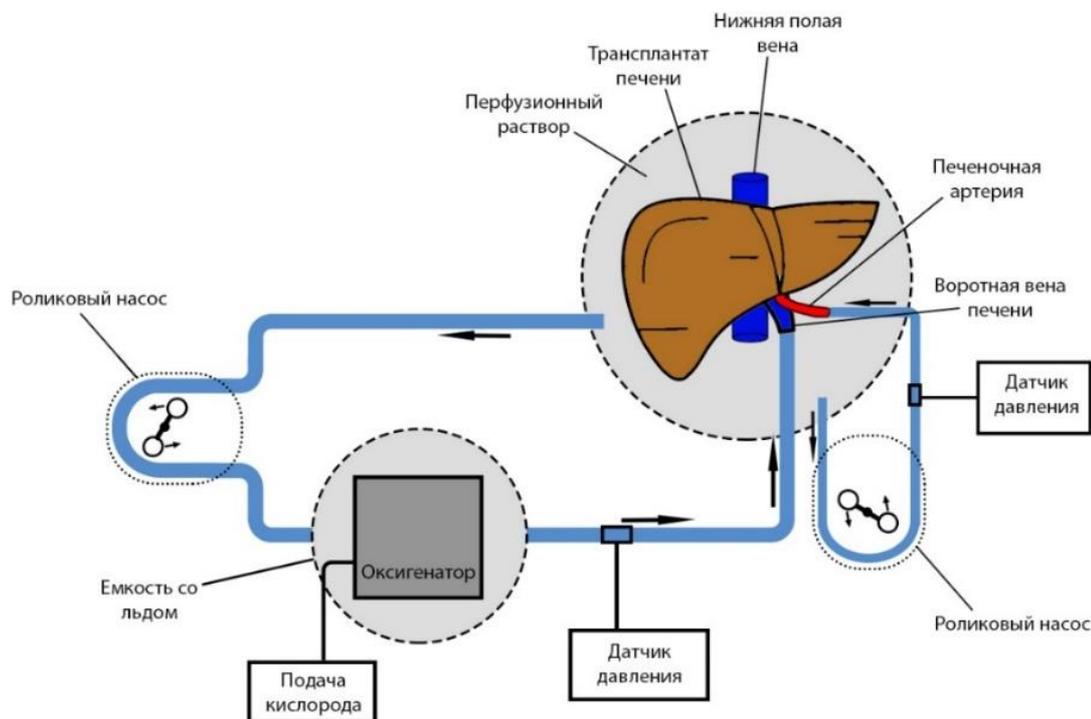
**Подгруппа III.I**  
Без ICG-визуализации  
(2018-2023 г.)  
n = 142

**Подгруппа III.II**  
ICG-флуоресцентная ангиография  
(2023-2025 г.)  
n = 150

**Рисунок 1. Дизайн исследования.**

## Особенности проведения гипотермической оксигенированной перфузии трансплантата печени *ex situ*

Гипотермическая оксигенированная перфузия трансплантата печени производилась в условиях операционной центра трансплантации (по принципу back-to-base) на этапе back-table. Для перфузии органа использовался аппарат искусственного кровообращения (АИК). Посредством двух роликовых насосов, двух стерильных перфузионных контуров и одного оксигенатора заблаговременно собиралась замкнутая система, по которой в последствии осуществлялась циркуляция и оксигенация раствора. К портальному контуру присоединялся оксигенатор, который погружался в емкость со льдом. В наиболее дистальной части в непосредственной близости к портальной и артериальной канюлям к обоим контурам присоединялись датчики давления. После вытеснения воздуха и проверки системы устанавливалась минимальная скорость вращения насоса (до 50 мл/мин). Включалась подача кислорода к оксигенатору со скоростью 5 л/мин. Схема перфузионной установки представлена на рисунке 2.



**Рисунок 2.** Схема проведения гипотермической оксигенированной перфузии трансплантата печени.

Последовательно производилась канюляция воротной вены и артерии трансплантата. Забор перфузионного раствора осуществлялся с помощью двух канюлей, закрепленных на дне емкости (рис. 3).



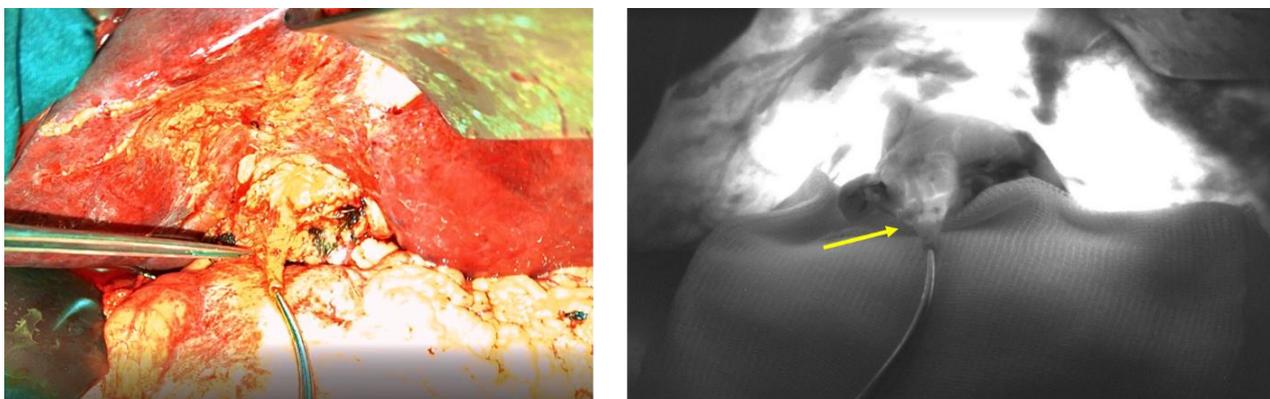
**Рисунок 3.** Интраоперационное фото: канюляция артерии и воротной вены трансплантата печени перед началом гипотермической оксигенированной перфузии.

Обработка трансплантата осуществлялась в ходе гипотермической перфузии. По завершению этапа гепатэктомии, машинная перфузия останавливалась, производилась деканюляция артерии и воротной вены, трансплантат погружался в рану.

### **Особенности проведения интраоперационной флуоресцентной визуализации кровоснабжения гепатикохоледоха трансплантата печени с использованием индоцианина зеленого**

После выполнения холецистэктомии на этапе подготовки холедоха трансплантата к реконструкции анестезиологом внутривенно вводилось 5 мл раствора индоцианина зеленого (ИЦЗ) 2,5 мг/мл. С помощью визуализационной системы Karl Storz в режиме наложения ближнего инфракрасного света на белый свет фиксировалась флуоресценция ИЦЗ в тканях холедоха. В случае отрицательного результата флуоресцентной визуализации - при равномерной флуоресценции гепатикохоледоха трансплантата на всем протяжении избыток его длины иссекается и формируется анастомоз с гепатикохоледохом реципиента по типу конец-в-конец. В случае положительного результата исследования - при

гипоперфузии дистальной части холедоха трансплантата – она иссекается в пределах удовлетворительно кровоснабжаемых тканей (рис. 4).



**Рисунок 4.** ICG-флуоресцентная визуализация кровоснабжения холедоха трансплантата печени. Положительный результат исследования – в дистальном участке отмечается зона нарушения перфузии (желтая стрелка).

Когда длина холедоха трансплантата оказывается недостаточной для формирования билиарного анастомоза без натяжения, холедох реципиента мобилизуется из окружающих тканей, но не скелетизируется. Контроль удовлетворительности кровоснабжения холедоха реципиента в данном случае также осуществляется посредством ICG-флуоресцентной визуализации. Во всех наблюдениях проводилось светомикроскопическое исследование полутонких срезов с помощью прямого универсального микроскопа Axio Lab.A1 (Karl Zeiss, Германия).

#### **Анализ непосредственных результатов ортотопической трансплантации печени от посмертного донора в группе I.**

На начальном этапе исследования был выполнен ретроспективный анализ непосредственных и отдаленных результатов трансплантации печени у 142 реципиентов, оперированных в ММНКЦ им. С.П. Боткина в период с 2018 по 2023 гг., составивших группу I. Ранняя дисфункция трансплантата печени (РДТП), определяемая в соответствии с критериями Olthoff, имела место у 49 реципиентов (34,5%). Развитие РДТП было ассоциировано с увеличением сроков нахождения реципиента в ОПИТ: 5 (IQR: 3-8) суток против 2 (IQR: 1-3) суток ( $p = 0,024$ ) общей длительности госпитализации: 22 (IQR: 12-35) койко-дней против 15 (IQR: 7-18) койко-дней ( $p=0,002$ ), острого почечного повреждения: 21/49 (42,9) против 12/93 (12,9%) ( $p < 0,001$ ). Пациенты с развитием ранней дисфункции трансплантата имели

большой риск развития осложнений со стороны операционной раны: 22,2% (11/49) против 8,6% (8/93),  $p = 0,036$ . Потребность в повторных хирургических вмешательствах в группе развития РДТП была у 7 пациентов (14,3%), что было статистически значимо выше, чем у реципиентов с удовлетворительной функцией трансплантата – 3/93 (3,2%),  $p = 0,032$ . Результаты анализа представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Влияние развития ранней дисфункции трансплантата печени на течение раннего послеоперационного периода**

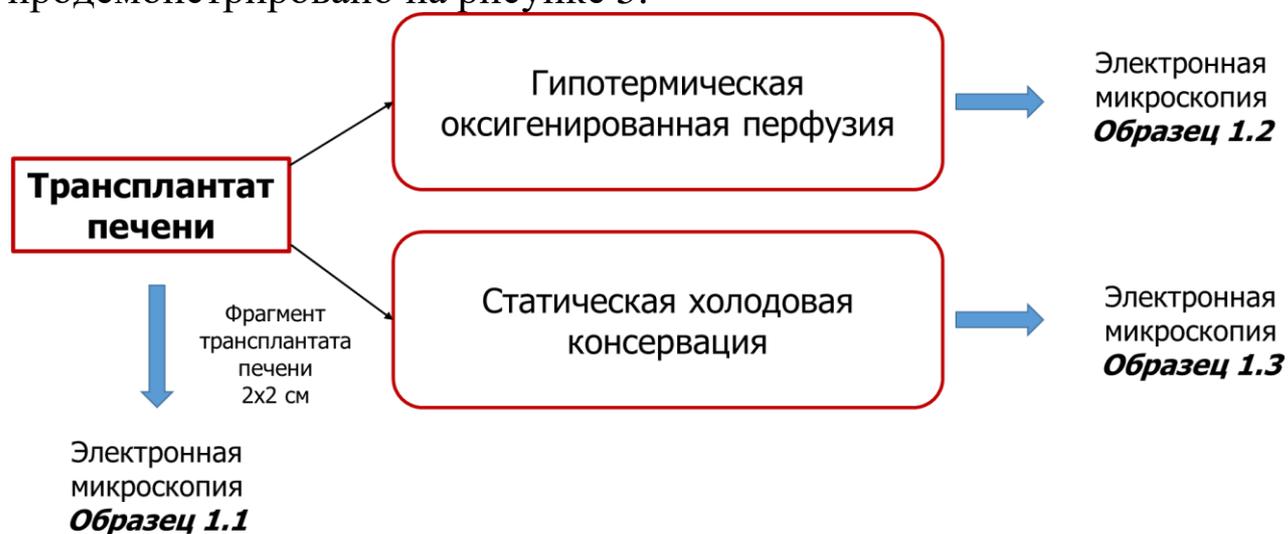
Показатель	Без РДТП n = 93	РДТП n = 49	Уровень значимости (p-value)
Длительность нахождения в ОРИТ, сут	2 (IQR: 1-3)	5 (IQR: 3-8)	<b>0,024</b>
Длительность госпитализации, сут	15 (IQR: 7-18)	22 (IQR: 12-35)	<b>0,002</b>
СКФ < 45 мл/мин/1,73 м <sup>2</sup> , n (%)	12 (12,9%)	21 (42,9%)	<b>&lt;0,001</b>
Неспецифические хирургические осложнения, n (%)	8 (8,6%)	11 (22,2%)	<b>0,036</b>
Повторные вмешательства, n (%)	3 (3,2%)	7 (14,3%)	<b>0,032</b>

Среди проанализированных параметров реципента только индекс MELD был статистически значимо выше у реципиентов с развитием РДТП ( $p < 0,001$ ). Аналогично шансы развития ранней дисфункции увеличивались в 4,6 (95% ДИ: 2,0-10,4) раз при использовании трансплантатов печени, полученных от доноров с расширенными критериями ( $p < 0,001$ ). Было также установлено, что реципиенты с развитием РДТП имели более массивную интраоперационную кровопотерю и объем реинфузии ( $p=0,003$  и  $p=0,028$ ). Объем интраоперационной трансфузии СЗП был статистически значимо выше в группе развития РДТП ( $p=0,008$ ).

Медиана наблюдения за 138 реципиентами группы I составила 45,6 (IQR: 25-68) месяцев. Среди специфических для ОТП осложнений наиболее распространенным в отсроченном посттрансплантационном периоде явились стриктуры билиарного анастомоза, развившиеся у 13/138 (9,4%) реципиентов. Медиана времени от момента операции до возникновения – 6,5 (IQR: 1,0-12,5) месяцев. Развитие стриктуры билиарного анастомоза не имело статистически значимой связи с РДТП в раннем послеоперационном периоде. При наличии ранней дисфункции трансплантата частота развития билиарных осложнений составила 4/45 (8,9%), у реципиентов с изначально удовлетворительной функцией – 9/93 (9,7%),  $p = 0,415$ . Возраст, пол, ИМТ и MELD реципиента не имели статистически значимой связи с развитием анастомотических билиарных стриктур ( $p > 0,05$ ). Среди параметров донора и периоперационных характеристик так же не было ни одного потенциального фактора риска, связанного с развитием стриктуры билиарного анастомоза ( $p > 0,05$ ).

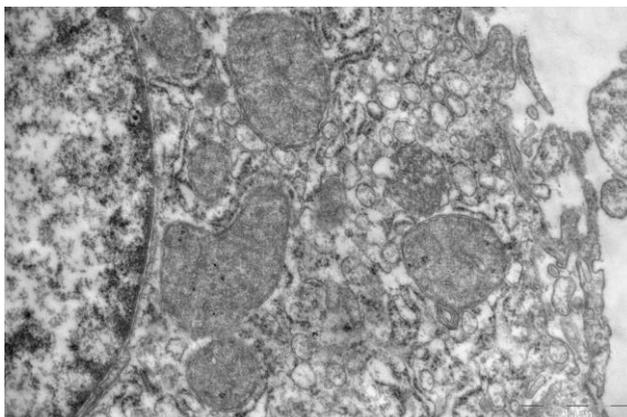
### Результаты морфологического исследования безопасности и эффективности гипотермической оксигенированной перфузии

На этапе разработки и внедрения технологии гипотермической оксигенированной перфузии печени ex situ мы выполнили исследование, направленное на изучение морфологических изменений, возникающих в клетках трансплантата в ходе холодной консервации. Взятие образцов для электронной микроскопии осуществлялось из одних и тех же трансплантатов, как это продемонстрировано на рисунке 5.



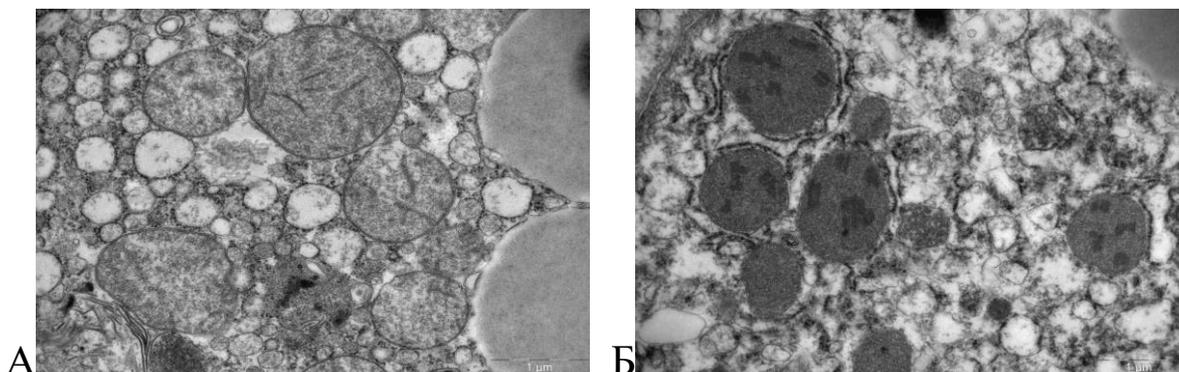
**Рисунок 5.** Протокол взятия образцов для выполнения электронной микроскопии трансплантата печени.

На рисунке 6 представлен снимок фрагмента гепатоцита в момент начала консервации. Хроматин в ядре имеет типичную организацию. Цитоплазма заполнена везикулами и митохондриями. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума не расширены. Матрикс митохондрий электронно плотный, кристы немногочисленные.



**Рисунок 6.** Образец 1.1 – фрагмент гепатоцита в начале консервации (электронная микроскопия)

Проведение гипотермической оксигенированной перфузии трансплантата печени позволяла лучше сохранить морфологию гепатоцитов. Ультраструктура клеток несколько менялась: отмечалось просветление цитозоля, набухание цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, однако данные изменения были незначительны и обратимы (рис. 7а). Ультраструктура митохондрий практически не отличалась от таковой в исходных образцах. В случае статической консервации в большей части клеток происходила существенная реорганизация структуры митохондрий, в них появлялись стопки мембран, что соответствовало выраженному ишемическому повреждению (рис. 7б).



**Рисунок 7.** А – фрагмент гепатоцита после гипотермической оксигенированной перфузии. Мембраны митохондрий сохранены,

матрикс просветлен, кристы немногочисленные. Б - фрагмент гепатоцита после статической холодной консервации. Морфологически измененные митохондрии, внутри которых выявляются стопки мембран, не похожие на кристы этого типа митохондрий. Ядро выглядит просветленным, везикулы набухшими.

**Сравнительный анализ результатов применения статической и гипотермической оксигенированной перфузионной консервации при трансплантации печени от доноров с расширенными критериями.**

В основу данного исследования включены результаты трансплантации печени от доноров с расширенными критериями реципиентам, составившим ретроспективную подгруппу I.I с применением статической холодной консервации и проспективную подгруппу II.I, где наряду со статической консервацией применялась гипотермическая оксигенированная перфузия трансплантата печени. При сравнении исходных характеристик реципиентов статистически значимых различий получено не было ( $p > 0,05$ ). Так же не было получено статистически значимых различий по основным характеристикам доноров и ряду периоперационных параметров ( $p > 0,05$ ). При использовании статической консервации риск развития ранней дисфункции трансплантата составил 61,8%, что было статистически значимо выше, чем в подгруппе использования гипотермической оксигенированной перфузии - 28,3% ( $p = 0,004$ ). Шансы развития РДТП при статической консервации повышались в 4 (95% ДИ: 1,6-9,9) раз. Риск развития нарушения почечной функции в подгруппе I.I была статистически значимо выше: 38,2% против 13,2% ( $p = 0,009$ ), как и риск развития неспецифических хирургических осложнений: 32,4% против 9,4% ( $p = 0,01$ ). Результаты сравнительного анализа представлены в таблице 3.

Таблица 3

**Сравнительный анализ результатов трансплантации печени в зависимости от метода консервации**

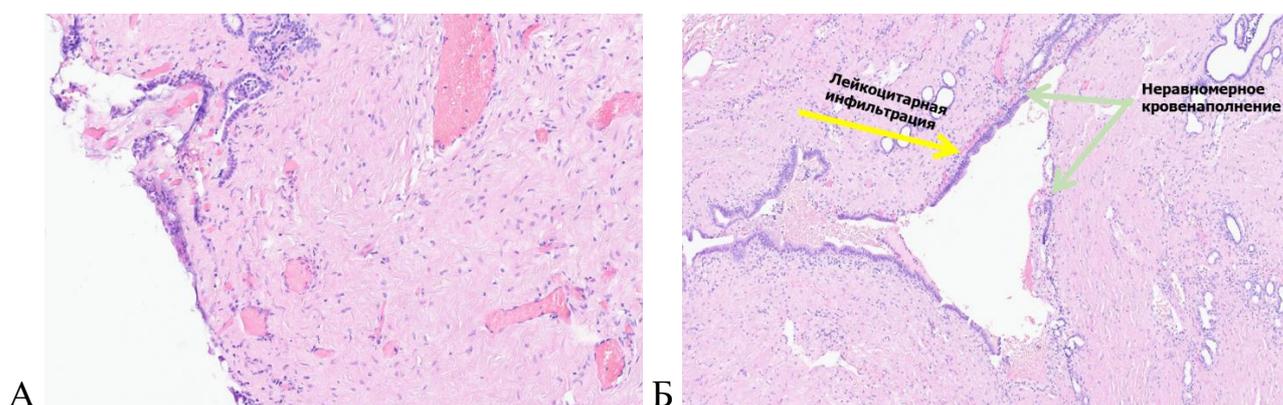
Показатель	Подгруппа II.I (SCS) n = 34	Подгруппа II.II (HOPE) n = 53	Уровень значимости (p-value)
Длительность нахождения в ОРИТ, сут	5 (IQR: 3-9)	3 (IQR: 2-4)	<b>0,036</b>

Продолжение таблицы 3

Длительность госпитализации, сут	21 (IQR: 17-35)	16 (IQR: 14-26)	<b>0,012</b>
РДТП, n (%)	21 (61,8%)	15 (28,3%)	<b>0,004</b>
Снижение < 45 мл/мин/1,73 м <sup>2</sup> , n (%)	13 (38,2%)	7 (13,2%)	<b>0,009</b>
Общехирургические осложнения, n (%)	11 (32,3%)	5 (9,4%)	<b>0,01</b>
CCI	27,6 (IQR: 0-100)	0 (IQR: 0-22,6)	<b>&lt;0,001</b>

**Результаты морфологического исследования чувствительности и специфичности ICG-флуоресцентной визуализации кровоснабжения гепатикохоледоха в отношении ишемии**

Резецированные участки общих желчных протоков трансплантатов печени во всех наблюдениях отправлялись на гистологическое исследование, где определялась выраженность ишемических изменений их дистальных и проксимальных частей. ICG-флуоресцентная визуализация на этапе билиарной реконструкции выполнялась у всех реципиентов, составивших проспективную группу II (n=150). Положительный результат исследования был зафиксирован в 42 наблюдениях (28%), в остальных случаях перфузия холедоха была признана удовлетворительной на всем протяжении. По результатам гистологического исследования более выраженные ишемические изменения в дистальной части холедоха по сравнению с проксимальной имели место в 39 случаях (26%). Препараты проксимального и дистального участков желчного протока трансплантата представлен на рисунке 8.



**Рисунок 8.** Морфологическое исследование выраженности ишемических изменений холедоха трансплантата печени.

А) В проксимальной (левая стрелка) части отмечается нормальный эпителий с незначительным отеком слизистой оболочки.

Б) В дистальной части (правая стрелка) отмечается отделение эпителия от субэпителиальной соединительной ткани, что отражает выраженные ишемические изменения.

При этом связь между положительными результатами исследования флуоресцентной визуализации и гистологического исследования была статистически значимой (ОШ: 392,2 (IQR: 73,0-2108,6),  $p < 0,001$ ). Чувствительность метода в отношении ишемии, подтвержденной гистологическим исследованием, составила 94,9%, специфичность - 95,4%.

#### **Сравнительный анализ результатов лечения реципиентов печени в зависимости от применения ICG-флуоресцентной визуализации кровоснабжения гепатикохоледоха.**

При сравнении исходных характеристик реципиентов статистически значимых различий получено не было ( $p > 0,05$ ). Так же не было получено статистически значимых различий по основным характеристикам доноров и ряду периоперационных параметров ( $p > 0,05$ ). В отдаленном периоде медиана динамического наблюдения за реципиентами группы I была статистически значимо выше: 45,6 (IQR: 25-68) мес против 8,2 (IQR: 6,5-13,6) мес ( $p < 0,001$ ). В то же время медиана времени до возникновения стриктуры билиарного анастомоза для группы I составила 6,5 (IQR: 1,0-12,5) мес, в связи с чем, полученные различия по времени наблюдения реципиентов не имеют клинической значимости. Частота развития стриктуры билиарного анастомоза была статистически значимо ниже в группе II применения ICG-флуоресцентной визуализации кровоснабжения гепатикохоледоха трансплантата печени: 3,2% против 9,4% ( $p = 0,02$ ). Шансы развития данного осложнения в контрольной группе I были в

4,3 (95% ДИ: 1,2-15,3) раз выше, чем в основной. Результаты сравнительного анализа представлены в таблице 4.

Таблица 4

**Сравнительный анализ результатов трансплантации в зависимости от применения ICG-флуоресцентной визуализации кровоснабжения гепатикохоледоха**

Показатель	Подгруппа III.I n = 138	Подгруппа III.II n = 126	Уровень значимости
Длительность госпитализации, сут	18 (IQR: 15-34)	14 (IQR: 12-25)	<b>0,032</b>
Медиана наблюдения за реципиентами, мес	45,6 (IQR: 25-68)	8,2 (IQR: 6,5-13,6)	<b>&lt;0,001</b>
Стриктура билиарного анастомоза, n (%)	13 (9,4%)	3 (3,2%)	<b>0,02</b>

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трансплантация печени является единственным радикальным лечением ее заболеваний в терминальной стадии. Нами были определены наиболее распространенные хирургические осложнения, характерные как для раннего, так и для отдаленного посттрансплантационного периода. Ранняя дисфункция, являющаяся прямым следствием выраженного ишемически-реперфузионного повреждения субоптимального графта, имела место в 35% наблюдений и ассоциировалась с повышенным риском развития общехирургических осложнений, а также увеличением длительности госпитализации. Стриктура билиарного анастомоза явилась основным осложнением отдаленного посттрансплантационного периода и, развившись у 13% пациентов, привела к необходимости инвазивного лечения и повторных госпитализаций.

На основании ретроспективного анализа результатов трансплантации печени нами были разработаны, научно обоснованы и внедрены в клиническую практику две технологии: аппаратная гипотермическая оксигенированная перфузия и флуоресцентная ангиография гепатикохоледоха.

Гипотермическая оксигенированная перфузия позволила улучшить условия консервации для трансплантатов печени от доноров с расширенными критериями. Это отразилось на снижении тяжести их ишемически-реперфузионного повреждения, что в первую очередь было доказано в морфологическом исследовании, и далее в клиническом: перфузионная консервация позволила статистически значимо снизить риск развития ранней дисфункции трансплантата, ассоциированных с ней хирургических осложнений, острого почечного повреждения и продолжительности госпитализации. Значительное улучшение результатов дало возможность безопасного для реципиентов увеличения доступности трансплантации печени за счет субоптимальных доноров более чем на 15%.

Флуоресцентная ангиография, выполняемая интраоперационно на этапе билиарной реконструкции, позволила с высокой чувствительностью и специфичностью определить адекватность кровоснабжения дистальной части гепатикохоледаха печеночного трансплантата и формировать анастомоз в пределах удовлетворительно кровоснабжаемой зоны. Внедрение данной технологии позволило трехкратно снизить риск развития хирургических билиарных осложнений трансплантации печени.

Таким образом, разработанные в ММНКЦ им. С.П. Боткина и исследованные в данной работе технологии доказали свою эффективность в профилактике хирургических осложнений, характерных как для раннего, так и отдаленного послеоперационного периода, чем значительно улучшили результаты трансплантации печени.

## **ВЫВОДЫ**

1. Ранняя дисфункция трансплантата печени явилась наиболее распространенным осложнением трансплантации печени в раннем послеоперационном периоде (34,5%). Основными статистически значимыми факторами риска ее развития были тяжесть состояния реципиента, определяемое индексом MELD ( $p < 0,001$ ), использование трансплантатов от субоптимальных доноров ( $p < 0,001$ ) и объем интраоперационной кровопотери ( $p = 0,003$ ). Частота развития стриктур билиарного анастомоза составила 9,4%, и по результатам ретроспективного анализа ее развитие не имело статистически значимых связей с характеристиками донора, реципиента и периоперационными параметрами ( $p > 0,05$ ).

2. Разработанная методика гипотермической оксигенированной перфузии трансплантата печени *ex situ* позволяет значительно снизить интенсивность его повреждения в ходе холодной консервации, что подтверждается результатами электронного микроскопического исследования, а также дать дополнительную оценку пригодности органа к трансплантации посредством анализа лабораторных параметров перфузата.

3. Применение гипотермической оксигенированной перфузии, в сравнении со стандартной методикой статической холодной консервации, при трансплантации печени от доноров с расширенными критериями привело к статистически значимому снижению частоты развития ранней дисфункции трансплантата печени ( $p=0,004$ ) и ассоциированных с ней осложнений ( $p<0,05$ ).

4. Разработанная методика ICG-флуоресцентной визуализации позволяет определять зону удовлетворительного кровоснабжения гепатикохоледаха трансплантата с высокими показателями чувствительности (94,9%) и специфичности (95,4%), что подтверждается результатами гистологического исследования.

5. Использование ICG-флуоресцентной визуализации кровоснабжения гепатикохоледаха при трансплантации печени приводит к статистически значимому снижению частоты развития стриктур билиарного анастомоза ( $p=0,02$ )

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

При трансплантации печени, полученной от посмертного донора с констатированной смертью головного мозга с расширенными критериями, необходимо проведение гипотермической оксигенированной перфузии *ex situ*. В ходе проведения гипотермической оксигенированной перфузии температуру перфузата необходимо поддерживать в пределах 10°C, давление в портальной системе – 5 мм рт. ст., давление в артериальной системе – 25 мм рт. ст. и  $PaO_2$  перфузата - на уровне 400-600 мм рт. ст.

На этапе билиарной реконструкции при трансплантации печени с целью профилактики развития анастомотических стриктур необходимо использовать технологию флуоресцентной ангиографии гепатикохоледаха с индоцианином зеленым и формировать билиарный анастомоз в пределах удовлетворительно кровоснабжаемых тканей. При выполнении флуоресцентной ангиографии гепатикохоледаха в ходе трансплантации печени после

выполнения артериальной реконструкции и холецистэктомии необходимо ввести внутривенно 5 мл раствора индоцианина зеленого 2,5 мг/мл, после чего в режиме наложения ближнего инфракрасного света на белый свет осуществить визуализацию флуоресценции препарата в ткани холедоха.

После выполнения флуоресцентной ангиографии необходимо иссечь избыток его длины в пределах удовлетворительно кровоснабжаемой зоны и при недостатке длины протока для формирования билиобилиарного анастомоза выполнить мобилизацию гепатикохоледоха реципиента за счет маневра Кохера либо выполнить билиодигестивную реконструкцию на отключенной по Ру петле тонкой кишки.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Разработка и внедрение технологий, направленных на профилактику хирургических осложнений трансплантации печени является перспективным направлением в хирургии и клинической трансплантологии. Дальнейший набор пациентов и анализ результатов, расширение пула донорских органов за счет субоптимальных, улучшения результатов лечения за счет внедрения перфузионных технологий консервации, разработки алгоритма их использования являются перспективами дальнейшей разработки темы диссертации.

#### **Список опубликованных работ по теме диссертации**

- 1. Астапович, С.А. Первый опыт применения покрытых саморасширяющихся нитиноловых стентов для лечения анастомотических стриктур желчных протоков после ортотопической трансплантации печени / Шабунин А.В., Коржева И.Ю., Чеченин Г.М., Лебедев С.С., Журавель О.С.// Альманах клинической медицины (ИФ-0,384), [К1] – 2020, Т. 48, № 3, С. 171-176**
- 2. Астапович, С.А. Первый опыт применения машинной холодной оксигенированной перфузии почечного трансплантата от доноров с расширенными критериями / Шабунин А.В., Минина М.Г., Нестеренко И.В., Макеев Д.А., Журавель О.С., Карапетян Л.Р. // Вестник трансплантологии и искусственных органов, (ИФ-0,31), [К1] – 2022, Т. 24, № 1, С. 143-150**

3. Астапович С.А. Гипотермическая оксигенированная перфузионная консервация при трансплантации печени от доноров с расширенными критериями / Шабунин А.В., Лоран О.Б., Пушкарь Д.Ю., Велиев Е.И., Минина М.Г., Дроздов П.А., Лиджиева Э.А. // Вестник трансплантологии и искусственных органов, (ИФ-0,31), [К1] - 2024; Т. 26, № 2, С. 63-72

4. Астапович С.А. Первый опыт применения машинной оксигенированной холодной перфузии печеночного трансплантата, полученного от доноров с расширенными критериями / Шабунин А.В., Минина М.Г., Нестеренко И.В., Макеев Д.А., Лиджиева Э.А. // Вестник трансплантологии и искусственных органов, 2023. Т. 25. № 5, С. 94

5. Астапович, С. А. Гипотермическая оксигенированная перфузионная консервация при трансплантации печени от посмертных доноров с расширенными критериями / А. В. Шабунин // Диагностическая и интервенционная радиология. – 2024. – Т. 18, № S1.1. – С. 35.

6. Астапович С.А., Способ гипотермической оксигенированной двойной машинной перфузии трансплантата печени от посмертного донора / Шабунин А.В., Минина М.Г., Дроздов П.А., Лиджиева Э.А. // Патент на изобретение № 2830104, 13.11.2024. Заявка №2023133825 от 19.12.2023

#### **Список сокращений**

АИК – аппарат искусственного кровообращения

АС – анастомотическая стриктура

АТФ – аденозинтрифосфат

ЗПТ – заместительная почечная терапия

ИМТ – индекс массы тела

ИЦЗ (ICG) – индоцианин зеленый (indocyanine green)

ОТП – ортотопическая трансплантация печени

ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии

ПА – печеночная артерия

ПНФТ – первичное нефункционирование трансплантата

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

РДТП – ранняя дисфункция трансплантата

IQR – межквартильный размах (interquartile range)

НОРЕ – гипотермическая оксигенированная перфузия (hypothermic oxygenated perfusion)

MELD – модель терминальной стадии заболеваний печени (Model for end-stage liver disease)  
SCS – статическая холододовая консервация (static cold storage)  
CCI – комплексный индекс осложнений (comprehensive complication index)