

УДК 615.361.014.41.07

Э. Ф. Баринов

ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ДОНОРСКОГО СЕРДЦА В ПРЕДТРАНСПЛАНТАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

В последнее время на страницах отечественных и зарубежных журналов появляется все больше работ, свидетельствующих о том, что на результат операции по пересадке органа не меньшее влияние, чем иммунологический конфликт, оказывает степень его жизнеспособности [1, 7, 10, 14, 16]. В этом аспекте разработка методов определения жизнеспособности трансплантатов имеет ведущее значение. Можно указать на два основных направления в изучении пригодности органа для трансплантации: по состоянию обменных процессов и функциональной активности [4, 5, 9, 17]; по изменению его морфологической характеристики [6, 11, 15]. Морфологические методы определения жизнеспособности (световая и электронная микроскопия, автордиография, гистохимические исследования) дают достаточно объективную оценку состояния органа, однако, в связи с необходимостью нарушения целостности органа и получением результатов по истечении определенного времени они не нашли широкого клинического применения.

При исследовании функциональной полноценности органа особый интерес вызывают не только нарушения кардиодинамики, возникающие к концу «защиты» донорского трансплантата от повреждающего действия аноксии, но и развивающиеся в процессе консервации. Это связано, прежде всего, с тем, что знание нарушений гемодинамики и возможность своевременного их выявления с помощью современных методов исследования позволяют наиболее рано распознавать и предупреждать начинающиеся осложнения, а, следовательно, активно вмешиваться и контролировать процесс перфузии, что особенно важно при начинающейся неадекватной консервации, когда небольшие функциональные нарушения могут привести в дальнейшем к необратимым изменениям жизнеспособности трансплантата.

Поскольку необходимым условием нормального функционирования пересаженного сердца является поддержание его основных метаболических процессов на достаточно высоком уровне, решение этой задачи во многом зависит и от знания особенностей различных аспектов обмена в миокарде в предтрансплантационном периоде. Без этого нельзя понять причин, снижающих эффективность перфузии и приводящих к нарушению жизнеспособности трансплантата, а также наметить пути его рациональной коррекции. Для каждого органа, подвергающегося консервации, существует некоторый критический уровень обмена, при котором невозможно полноценное функционирование трансплантата после завершения его подшивания к сосудам реципиента. Попытки выявления такого критического уровня обмена уже предпринимались отдельными исследователями в отношении почек, тонкой кишки, семенников [8, 13, 19]. Совершенно очевидно, что достоверное определение критического уровня обменных процессов ор-

гана должно основываться на проведенных сопоставлениях результатов анализа обмена и его функции.

Изучение функции трансплантата, впрочем как и многих других аспектов консервации, требует проведения многочисленной серии экспериментов по пересадке органа. Ввиду технической сложности ее выполнения, трансплантация не может быть использована во всех случаях для оценки того или иного способа консервации. Именно поэтому изучение сохранения жизнеспособности органов в условиях функционирующих моделей приобретает особое значение. Нами принята первая попытка оценить критический уровень обмена донорского сердца в процессе консервации на модели функционирующего сердечно-легочного препарата.

Методика исследований

Изолированный сердечно-легочный препарат (ИСЛП) выделяли по наиболее распространенной в различных лабораториях методике Робицека [18]. Для изучения потенциальных возможностей данной модели биохимическую коррекцию не осуществляли, т. е. препарат был поставлен в условия «переживания». Функционирующий сердечно-легочный комплекс выделяли из организма и помещали в термостатический контейнер, в котором поддерживали на заданном уровне температуру и влажность. В зависимости от функциональной активности и продолжительности аутоперфузии все эксперименты были разбиты на две группы: неадекватная консервация (10 экспериментов), при которой донорское сердце сокращалось на протяжении 3—4 ч и вторая (20 экспериментов) — адекватная, при которой максимальная длительность аутоперфузии была в пределах 7—8 ч.

Через определенные промежутки времени консервации детально изучали функциональное состояние донорского сердца, после чего из миокарда желудочков забирали кусочки для биохимического исследования. В ткани сердца определяли содержание АТФ методом электрофореза на бумаге по методу Н. П. Мешковой с соавт.; креатинфосфата (КФ) — калориметрическим методом по креатину с помощью цветной реакции с пикриновой кислотой по А. М. Алексеевой; неорганический фосфор (Ф_н) — методом Лоури и Лопез. Концентрацию гликогена определяли антроновым методом — Зейфтер с соавт.; а лактат — калориметрически — по методу Баркер и Саммерсон. Содержание электролитов изучали методом фотометрии по Голланд, катехоламины — по методу Э. Ш. Матлиной и Т. Б. Рахмановой. Активность аспартат-аминотрансферазы (АСТ) (2. 6. 1. 1) и аланин-аминотрансферазы — АЛТ (2. 6. 1. 2) определяли методом Умбрейт в модификации Т. С. Пасхиной, а лактатдегидрогеназы (ЛДГ об.) (1. 1. 1. 27) по методу Хилл и Леви.

Результаты исследований

Несоответствие коронарного кровотока потребности трансплантата в кислороде при неадекватной перфузии приводило к возникновению сложного комплекса биохимических, гемодинамических и структурных сдвигов. Через 2—3 ч наиболее низкие показатели *in vitro* фактора (ИВФ) были получены при изучении содержания в трансплантате гликогена, норадреналина, креатинфосфата, лактата и АТФ (табл. 1). Наибольший интерес для трансплантологов при биохимическом изучении представляет исследование процессов, сопряженных с выработкой и утилизацией энергии, т. к. они очень тесно связаны с сократительной особенностью миофибриллярного аппарата. ИВФ для гликогена, креатинфосфата и АТФ, являющихся основным донатором и резервом энергии в миокарде, снижался в правом желудочке — до 0,43; 0,56; 0,30 и в левом, соответственно до 0,74; 0,66; 0,45. Такой низкий уровень их содержания в первые часы неадекватной консервации свидетельствовал о том, что трансплантат поставлен в условия дефицита энергии. Причиной столь серьезных изменений общего аденилнуклеотидного пула является развитие дисбаланса между продукцией и утилизацией энергии. Так, нами установлено, что в процессе

Таблица 1
Величины ИВФ (*in vitro* фактора) и ИВИ (*in vitro* индекса) в желудочках трансплантата при биологическом варианте консервации сердца (неадекватная перфузия)

Время перфузии, ч	Желудочки сердца	ИВФ										ИВИ	
		АТФ	КФ	Ф _н	Гликоген	Лактат	НА	А	АСТ	АЛТ	ЛДГ	K ⁺	Na ⁺
2—3	Правый	0,30	0,56	0,87	0,43	0,32	0,42	0,69	0,84	0,87	0,74	0,89	0,93
3—4		0,19	0,45	0,83	0,32	0,34	0,16	0,51	0,47	0,16	0,13	0,78	0,86
2—3	Левый	0,45	0,66	0,96	0,74	0,36	0,68	0,67	0,75	0,14	0,91	0,95	0,88

Таблица 1
Величины ИВФ (*in vitro* фактора) и ИВИ (*in vitro* индекса) в желудочках трансплантата при биологическом варианте консервации сердца (неадекватная перфузия)

Время перфузии, ч	Желудочки сердца	ИВФ										ИВИ	
		АТФ	КФ	Фн	Гликоген	Лактат	НА	А	АСГ	АЛТ	ЛДГ	K ⁺	Na ⁺
2—3	Правый	0,30	0,56	0,87	0,43	0,32	0,42	0,69	0,84	0,87	0,74	0,89	0,93
3—4		0,19	0,45	0,83	0,32	0,34	0,16	0,51	0,47	0,16	0,13	0,78	0,86
2—3	Левый	0,45	0,66	0,96	0,74	0,36	0,68	0,67	0,75	0,14	0,91	0,95	0,88
3—4		0,37	0,56	0,89	0,54	0,21	0,56	0,57	0,73	0,33	0,22	0,89	0,86

Таблица 2
Величины ИВФ (*in vitro* фактора) и ИВИ (*in vitro* индекса) в желудочках трансплантата при биологическом варианте консервации сердца (адекватная перфузия)

Время перфузии, ч	Желудочки сердца	ИВФ										ИВИ	
		АТФ	КФ	Фн	Гликоген	Лактат	НА	А	АСГ	АЛТ	ЛДГ	K ⁺	Na ⁺
2—3		0,94	0,90	0,98	0,89	0,42	0,87	0,89	0,84	0,15	0,74	0,98	0,93
5—6	Правый	0,80	0,71	0,92	0,84	0,28	0,62	0,76	0,84	0,52	0,68	0,90	0,91
7—8		0,38	0,68	0,88	0,34	0,97	0,27	0,33	0,88	0,15	0,15	0,75	0,85
2—3		0,97	0,97	1,00	0,92	0,65	0,79	0,87	0,74	0,13	0,68	0,98	0,95
5—6	Левый	0,80	0,82	0,92	0,85	0,27	0,50	0,60	0,91	0,19	0,55	0,93	0,91
7—8		0,48	0,63	0,90	0,60	0,91	0,18	0,23	0,89	0,14	0,12	0,88	0,84

неадекватной перфузии в течение первых часов общее легочное сопротивление увеличивалось в среднем на 66%, а общее периферическое — всего на 15% по сравнению с контролем. Повышение нагрузки на желудочки трансплантата должно сопровождаться увеличением утилизации энергии, что требует соответствующего усиления энергопродукции. Однако, как показали наши гистохимические исследования, при неадекватной перфузии нарушалось тканевое дыхание (блокада на участке дыхательной цепи, связанной с СДГ при сохранении транспорта электронов через НАД-диафорузу) и отмечалась недостаточная активация гликогенолиза в ткани миокарда, что ведет к уменьшению образования высокоэнергетических фосфорных соединений. Вполне естественно, что энергообразование будет отставать от темпов ее потребления, что и приводило к истощению энергетических ресурсов.

Таким образом, несоответствие уровня энергопродукции и энергообеспечения во многих объясняет снижение сократительной способности трансплантата. Определенную роль в этом процессе играет и снижение концентрации катехоламинов. В правом желудочке ИВФ адреналина и норадреналина составлял 0,69 и 0,42; в левом 0,67 и 0,68. Показатель *in vitro* индекса (ИВИ), определяющий общий уровень обмена в желудочках трансплантата, составлял соответственно: в правом — 0,655 и в левом — 0,679.

При гемодинамическом исследовании трансплантата в этот период выявлялись признаки функциональной неполноценности его. Происходило снижение длительности изгнания крови из желудочка на 23,7%, начальной скорости повышения внутрижелудочкового давления — на 10,8%, индекса сократимости — на 35%, увеличение индекса напряжения на 73%, уменьшение сердечного выброса на 37,8%, ударного объема — на 40,7%, снижение эффективной работы желудочков сердца, соответственно — правого на 33%, левого на 54%. Отсюда вытекает, что уровень метаболизма миокарда, определяемый по ИВИ и находящийся в пределах 0,65—0,69, следует признать ниже критической величины.

При продолжающейся неадекватной консервации индекс продолжал снижаться и составлял к 3—4 ч для правого желудочка 0,433, для левого — 0,561, что свидетельствует о крайне низком уровне метаболических процессов, причем, в худшем положении оказывались правые отделы сердца. Следует особо отметить дальнейшую тенденцию к уменьшению содержания макроэргов, что было связано, по данным гистохимии с декомпенсацией внутриклеточных метаболических процессов как аэробного, так и анаэробного пути. Уменьшалась концентрация катехоламинов и электролитов. ИВФ для адреналина, норадреналина и калия составлял в правом желудочке 0,51; 0,16; 0,78, а в левом — 0,57; 0,56 и 0,89.

Одним из информативных показателей при оценке жизнеспособности сердца является содержание трансаминаз. Так, при неадекватной перфузии, как нами было установлено, наиболее резкие морфо-функциональные изменения были характерны для правого желудочка. Это находит свое подтверждение в низком содержании АСТ и АЛТ. К моменту остановки сердца ИВФ в правом желудочке составлял для АСТ 0,47, в левом — 0,73, а для АЛТ в правом — 0,16 и в левом желудочке — 0,33. Наблюдаемое нами прогрессивное снижение активности АСТ и АЛТ в большинстве случаев, по-видимому, зависит от развивающейся гипоксии и морфологических изменений, происходящих в мышечных волокнах, вследствие чего нарушалась мембранная проницае-

мость, и ферменты снижение активности лений способности кислоты и аланин в белков.

Следовательно, кающиеся в трансплан поддерживать целост результате чего наст ной консервации хар ности правого желу

При адекватной шинства показателей была в пределах дов для содержания АЛТ 0,42. В левом желу тов, находился в пр сердца метаболизм (0,794—0,804).

Определение фу ствовало о довольно го объема, средние $3,47 \pm 0,15$ мл/уд ($p < 0,05$). Аортальное ($p < 0,05$). Общее пе увеличивалось и сос ± 157 дин·с·см⁻⁵ (р ляла $24,6 \pm 0,67$ и 197

Анализ данных фузии, по сравнению неадекватной перфу трансплантата и да сроки его перфузии.

Все это позволяе 0,790 и более отража коррелирует с функ +0,78).

К концу 6 ч И левого всего — 0,688 неадекватной перфу уровня обмена в ле такой трансплантат ством этого может сердца: изометричес ность периода изгна внутрижелудочково лудочка уменьшала в процессе консерва кровообращения, вс зоконстрикции легки по сравнению с пре работа правого и ле 27,2% и 6,7%, т. е. нием, при этом зна повышенного сопрот

мость, и ферменты вымывались из клеток в кровь. В то же время снижение активности АСТ и АЛТ может свидетельствовать об ослаблении способности донорского сердца использовать аспарагиновую кислоту и аланин в качестве источника энергии и азота для ресинтеза белков.

Следовательно, по данным ИВИ, биохимические процессы, протекающие в трансплантате при неадекватной перфузии, не в состоянии поддерживать целостность миокардиальных клеток в течение 2 ч, в результате чего наступало их повреждение и гибель. Для неадекватной консервации характерно преимущественное снижение жизнеспособности правого желудочка.

При адекватной перфузии через 2—3 ч величина ИВФ для большинства показателей, определяемых в миокарде правого желудочка, была в пределах довольно высоких величин 0,74—0,98 (табл. 2). Лишь для содержания АЛТ и лактата ИВФ составлял соответственно 0,15 и 0,42. В левом желудочке ИВФ, при определении биохимических тестов, находился в пределах 0,65—1,00. Судя по ИВИ, в желудочках сердца метаболизм поддерживался на достаточно высоком уровне (0,794—0,804).

Определение функционального состояния трансплантата свидетельствовало о довольно высоких величинах сердечного выброса и ударного объема, средние значения которых составляли $0,204 \pm 0,040$ л/мин и $3,47 \pm 0,15$ мл/уд ($p < 0,1$, разница по сравнению с контролем недостоверна). Аортальное давление было в пределах $82,10 \pm 3,56$ мм рт. ст. ($p < 0,05$). Общее периферическое и легочное сопротивление несколько увеличивалось и составляло $30\,340 \pm 336$ дин·с·см⁻⁵ ($p < 0,1$) и 1635 ± 157 дин·с·см⁻⁵ ($p < 0,1$). Работа правого и левого желудочков составляла $24,6 \pm 0,67$ и $197,7 \pm 4,7$ г·м/мин.

Анализ данных гемодинамики через 2—3 ч после адекватной перфузии, по сравнению с аналогичными показателями в этот же период неадекватной перфузии, свидетельствует о хорошей жизнеспособности трансплантата и дает возможность прогнозировать более длительные сроки его перфузии.

Все это позволяет сделать вывод о том, что величина ИВИ порядка 0,790 и более отражает высокий уровень обменных процессов и хорошо коррелирует с функциональной полноценностью трансплантата ($r = +0,78$).

К концу 6 ч ИВИ составлял для правого желудочка 0,732, для левого всего — 0,688. Последняя величина, как уже отмечалось при неадекватной перфузии, свидетельствует о наступлении критического уровня обмена в левом желудочке донорского сердца, вследствие чего такой трансплантат нельзя рекомендовать для пересадки. Доказательством этого может служить состояние функциональной активности сердца: изометрическое сокращение увеличивалось на 72,3%, длительность периода изгнания — на 11,3%, начальная скорость повышения внутрижелудочкового давления — на 19,1%, скорость опорожнения желудочка уменьшалась на 57,6%, что было связано с увеличивающимся в процессе консервации сопротивлением малого и «большого» круга кровообращения, вследствие нарастания периваскулярного отека и вазоконстрикции легких и миокарда. Хотя сердечный выброс снизился, по сравнению с предыдущим сроком наблюдения, на 11,3%, внешняя работа правого и левого желудочка увеличивалась, соответственно на 27,2% и 6,7%, т. е. работа осуществлялась с максимальным напряжением, при этом значительная ее часть расходовалась на преодоление повышенного сопротивления.

В течение последующих нескольких часов перфузии отмечалось дальнейшее прогрессирующее снижение ИВИ в правом желудочке до 0,552, а в левом до 0,567. Интересно отметить, что уровень метаболических процессов в этот период обеспечивает сердечные сокращения и поддержание на определенном уровне физиологических параметров, однако не дает возможности сохранять жизнеспособность трансплантата. Исходя из этого, время аутоперфузии как критерий вряд ли может служить достаточным основанием для решения вопроса о длительности эффективной консервации, обеспечивающей в будущем функциональную полноценность донорского сердца. Несостоятельность времени аутоперфузии как критерия подтверждается также разноречивостью литературных данных по вопросу о допустимых сроках перфузии [2, 3, 12].

Выводы

1. В условиях «переживающего» функционирующего ИСЛП критический уровень метаболизма, при котором невозможно полноценное функционирование трансплантата после пересадки, определялся величиной ИВИ порядка 0,65—0,69.
2. При аутоперфузии в условиях ИСЛП, по данным комплекса биохимических и функциональных исследований, донорское сердце сохраняло свою жизнеспособность от 2 до 5 ч.
3. Данный метод позволяет отдельно оценивать критический уровень метаболизма правого и левого желудочка, что дает возможность целенаправленно подходить к разработке оптимальной модели для перфузии.

Литература

1. Вишневский А. А., Портной В. Ф., Черкащенко Л. Н. Проблемы консервации сердца.—Вестн. Акад. мед. наук СССР, 1973, № 8, с. 16—22.
2. Гаджиев А. А. Кратковременное сохранение функции сердца аутоперфузией в условиях изолированного СЛП: Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 1973.—18 с.
3. Добкин В. Г. Изучение жизнеспособности сердечно-легочного препарата: Автореф. дис. канд. мед. наук, М., 1971.—16 с.
4. Истомин Н. П. Влияние различных методов консервации на функциональное состояние миокарда: Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 1974.—21 с.
5. Лопухин Ю. М., Коган Э. М. Критерии жизнеспособности органов и тканей перед трансплантацией. М., 1975.—278 с.
6. Митин К. С., Савельев Г. В., Лыскин Г. И., Клейменова Н. Н. Изменение ультраструктуры изолированного сердца при консервации с помощью гипербарической оксигенации и гипотермии.—Архив патологии, 1969, № 4, с. 22—27.
7. Нерсисян Р. К., Манукян Г. А., Потапова В. В. Оценка жизнеспособности консервированного сердца крысы при внутрибрюшной трансплантации.—Эксперим. хирургия и анестезиол., 1975, № 4, с. 9—11.
8. Сабурова А. М., Осипович И. Б., Селиванова Л. П., Чемоданов В. И. Оценка сохранности процессов жизнедеятельности в консервированном семеннике.—Эксперим. хирургия и анестезиол., 1975, № 2, с. 34—37.
9. Савельев В. С., Ступин И. В. Консервация сердца методом гипербарической оксигенации и гипотермической перфузии.—В кн.: Актуальные проблемы пересадки органов. М., 1974, с. 188—205.
10. Соколов С. С., Чилая С. М. Трансплантация сердца.—Кардиология, 1973, № 5, с. 142—155.
11. Тихомиров А. Н., Ступин И. В., Аксенова Т. И., Семенова Г. С. Состояние микроциркуляторного русла и функции сердца при применении бесперфузионных методов его консервации.—В кн.: Вопросы структурной организации и взаимодействия элементов в системе микроциркуляции. М., 1976, с. 84—88.
12. Чилая С. М., Дадияни А. Н. Показатели метаболизма миокарда и гемодинамики при различных режимах функционирования сердечно-легочного препарата.—Грудная хирургия, 1973, № 6, с. 39—43.

13. Шумаков В. И., Штенгольц 250 с.
14. Clarc D. A. e. a. The transp. p. 563—576.
15. Daniell F., Joel L. Ultraanoxic isolated rat heart. Cardiol., 1975, 7, N 5, p. 307.
16. Juan S., John W. E. A syn. J. Thorac. and Cardiol., 1974, 46, N 5, p. 591—598.
17. Olzewski W., Rowinski W. w wotrobie w czasie chlo. 1974, 46, N 5, p. 591—598.
18. Robicsek F., Lasage A., S. J. Cardiol., 1967, 20, N 6, p. 591—598.
19. Weinerth J. L., Abbot W. Ann. Surgery, 1974, 180, N 6, p. 591—598.

Донецкий медицинский институт

ESTIMATION OF METABOLIC ACTIVITY OF THE HEART

When conserving the heart (ant) the level of metabolism functional activity of the heart (perfusion (20 experiments). on the basis of the complex modified by the authors. Ur proceeding in the transplant cells for 2h, which resulted characterized by maintaining (the in vitro index=0.825-0.85) plant for implantation and trans

13. Шумаков В. И., Штенгольд Е. Ш., Онищенко Н. А. Консервация органов. М., 1975.— 250 с.
14. Clarc D. A. e. a. The transplantation heart of human.— Amer. J. Med., 1973, 54, N 5, p. 563—576.
15. Daniell F., Joel L. Ultrastructural modifications induced by reoxygenation in the anoxic isolated rat heart perfused without exogenous substrate.— J. Mol. and Cell. Cardiol., 1975, 7, N 5, p. 307—314.
16. Juan S., John W. E. A synchronized intrathoracic auxiliary heart transplant in parallel.— J. Thorac. and Cardiovasc. Surgery, 1973, 65, N 3, p. 415—424.
17. Olzewski W., Rowinski W., Olszewska K. Zmiany biochemiczne in ultrastrukturalne w watrobie w czasie chlodzenia i pobierania do przeszczepienia.— Pol. Przegl. chir., 1974, 46, N 5, p. 591—598.
18. Robicsek F., Lasage A., Sanger P. W. e. a. Transplantation of «live» hearts.— Amer. J. Cardiol., 1967, 20, N 6, p. 803—811.
19. Weinerth J. L., Abbot W. M. Analysis of injury in complex organ preservation.— Ann. Surgery, 1974, 180, N 6, p. 840—846.

Донецкий медицинский институт

Поступила в редакцию
22.VII 1977 г.

E. F. Barinov

ESTIMATION OF METABOLIC PROCESSES OF THE DONOR HEART IN PRETRANSPLANTATION PERIOD

Summary

When conserving the isolated cardiopulmonary preparation (the biological variant) the level of metabolism in the myocardium was studied simultaneously with the functional activity of the transplant at inadequate (10 experiments) and adequate perfusion (20 experiments). The critical level of the metabolic processes was estimated on the basis of the complex biochemical method suggested by Weinert and Abbot and modified by the authors. Under the inadequate conservation the biochemical processes proceeding in the transplant are unable of maintaining the vitality of the myocardial cells for 2h, which resulted in the cells lesion and death. The adequate conservation is characterized by maintaining metabolism in the myocardium at a sufficiently high level (the in vitro index=0.825-0.826) for 2-5h, which permits recommending such a transplant for implantation and transplantation to the recipient.