

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КЕМЕРОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Сохарев Анатолий Сергеевич

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
КОМБИНИРОВАННОГО РАСТВОРА ПРИ КОНСЕРВАЦИИ
ПЕЧЕНОЧНОГО ЭКСПЛАНТАТА**

14.01.17 – хирургия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
кандидат медицинских наук, доцент
Краснов Константин Аркадьевич

Кемерово – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	4
ГЛАВА 1 ПАТОГЕНЕЗ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ, КОНСЕРВАЦИЯ ОРГАНА И СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ ЭКСПЛАНТАТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).	11
1.1 История трансплантации печени.	11
1.2 Консервирующие растворы: история, состав.	14
1.3 Патогенез ишемического повреждения органа, образование активных форм кислорода.	19
1.4 Гипотермия. Защитные и побочные эффекты.	22
1.5 Гепатоцеллюлярные и холангиоцеллюлярные изменения при ишемическом повреждении.	24
1.6 Эндогенные антиоксидантные системы.	25
1.7 Фармакотерапия, антиоксидантная терапия.	27
1.8 Применение эмульсии перфторорганических соединений.	30
1.9 Заключение.	31
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	33
2.1 Общая характеристика материала.	33
2.2 Подготовка животных к эксперименту.	34
2.3 Экспериментальное исследование.	35
2.3.1 Техника эксплантации печени.	36
2.3.2 Техника консервации органа.	41
2.3.3 Техника реперфузии органа.	41
2.4 Методы исследования.	44
2.4.1 Лабораторная диагностика.	44
2.4.2 Гистологическое исследование.	45
2.4.3 Морфометрия.	47
2.5 Статистические методы оценки результатов.	49

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.	50
3.1 Статистическая обработка данных до консервации печеночного эксплантата.	50
3.2 Статистическая обработка данных после консервации печеночного эксплантата.	57
3.3 Оценка морфометрических показателей после консервации эксплантата печени.	64
3.4 Дисперсионный анализ полученных данных.	69
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.	75
ВЫВОДЫ.	83
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	84
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	85
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	86
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.	106

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

Трансплантация печени в настоящее время является «золотым стандартом» при лечении терминальных стадий заболеваний печени независимо от этиологии. [6; 24; 93]. Количество «удачных» трансплантаций печени связано как с количеством потенциальных доноров, так и с качеством и функциональностью трансплантата (орган, изъятый у донора и подвергающийся трансплантации (пересадке) реципиенту) [9; 16; 142]. Существуют причины, по которым даже безупречно проведенная пересадка печени, приводит к гибели пациента, ввиду первичного нефункционирующего трансплантата (ПНФТ). Основной причиной ПНФТ является ишемическое повреждение (ИП) [18; 26; 39; 120].

Ишемическое повреждение неизбежно при трансплантации печени (первичная тепловая ишемия, холодовая ишемия, вторичная тепловая ишемия) [19; 20; 88; 104]. Существуют обстоятельства, увеличивающие сроки холодовой и тепловой ишемии и, вследствие этого, усугубляющие ИП в органах и тканях. Наиболее распространенными причинами являются: 1) транспортировка донорского органа, 2) отсрочка операции в связи с подбором наиболее совместимого реципиента, 3) затянувшийся этап гепатэктомии у реципиента, ввиду спаечного процесса или анатомических особенностей и др. [1; 7; 105; 196].

Ишемическое повреждение печени представляет собой мультифакторный патологический процесс, включающий повреждения синусоидальных эндотелиальных клеток, активация клеток Купфера, нарушение микроциркуляции, окислительный стресс, активация факторов комплемента, накопление лейкоцитов, апоптоз и некроз [35; 116; 117; 125].

Наиболее важную роль в патогенезе ИП играет оксидативный стресс, обусловленный дисбалансом продукции и инактивацией активных форм кислорода (АФК) [113; 121; 123; 154].

Для профилактики ИП органа при консервации перспективной методикой является медикаментозная терапия, интервенция которой должна быть направлена

против механизма образования АФК [75; 110; 161; 198]. Сроки вмешательства имеют решающее значение, т. к. АФК обладают чрезвычайно коротким периодом полураспада. Поэтому оценка медикаментозного воздействия препаратов требует лабораторных испытаний, в которых эффекты от лечения могут быть тщательно изучены, а только затем рекомендованы для клинического применения [2; 55; 64; 204].

Учитывая то обстоятельство, что проблема противоишемической защиты донорского органа (печень) далека от совершенства, представляется достаточно актуальным разработка современных методов воздействия, позволяющих эффективно бороться с этими расстройствами [23; 118; 166; 200].

Актуальным, в связи с глобальным дефицитом донорских органов, является определение эффективных фармакологических препаратов, позволяющих дополнить и расширить использование трансплантатов печени от доноров с расширенными критериями (ДРК), при трансплантации. Органы от ДРК наиболее уязвимы к ИП при консервации [37; 78; 187; 205].

Появление в клинической практике эмульсии перфторорганических соединений (ЭПФОС) и активное изучение механизмов ее действия позволили установить, что, помимо газотранспортных свойств, определяющих их применение в качестве кровезаменителей, ЭПФОС обладает и противоишемическими свойствами [8; 12; 15].

Учитывая то обстоятельство, что проблема противоишемической защиты донорского органа далека от своего окончательного решения, представляется высоко актуальным разработка современных методов медикаментозного воздействия, позволяющего эффективно нивелировать фатальное воздействие АФК на донорский орган [91; 109; 167; 168].

Степень разработанности темы диссертации

Существенный вклад в изучение проблемы ишемического повреждения печеночного трансплантата внесли С. В. Готье, Я. Г. Мойсюк, О. М. Цирульников, Л. В. Шкалова, М. Bilzer, L. H. Toledo-Pereyra, C. Fondevila и

др. [6; 9; 10; 17; 35; 96; 118; 141; 147; 154; 191; 197; 210].

Авторами изучен патогенез ишемического повреждения печеночного трансплантата при пересадке, определены критерии оценки тяжести, разработан протокол патоморфологической оценки. В настоящее время, по данным литературы, отсутствует экспериментальная модель, адаптированная к клиническим условиям, для оценки тяжести ишемического повреждения. Большинство противоишемических препаратов в клинических исследованиях не применялись, находятся в стадии разработки или не имеют доказательной базы. Отечественная и зарубежная литература не содержит информации о применении неоксигенированной эмульсии перфторорганических соединений для профилактики ИП при консервации печеночного трансплантата.

С учетом вышеизложенного, разработка экспериментальной модели для оценки ишемического повреждения печеночного трансплантата и применение фармакологического прекондиционирования является актуальной и перспективной задачей исследования.

Цель исследования

Снизить ишемическое повреждение печеночного эксплантата после длительной консервации в условиях хирургического эксперимента.

Задачи исследования

1. Разработать модель хирургического эксперимента для оценки ишемического повреждения при консервации печеночного эксплантата.
2. Провести экспериментальное исследование и оценить характер ишемического повреждения печеночного эксплантата при консервации в неоксигенированной эмульсии перфторорганических соединений.
3. Провести экспериментальное исследование и оценить характер ишемического повреждения печеночного эксплантата при консервации в комбинированном консервирующем растворе.
4. Оценить и сравнить полученные данные при различных способах консервации.

Научная новизна

1. Впервые разработана модель эксперимента для оценки ишемического повреждения эксплантата.
2. Разработан собственный комбинированный консервирующий раствор (НТК и неоксигенированная ЭПФОС в соотношении 4 : 1), патент на изобретение № 2482674.
3. Установлено, что применение неоксигенированной ЭПФОС в условиях ишемии позволяет, в виду высокой тропности к кислороду, акцептировать и нейтрализовать АФК, что позволяет снизить ишемическое повреждение в органах и тканях.
4. Впервые доказано, что применение комбинированного консервирующего раствора позволяет уменьшить ишемическое повреждение, улучшить качество и функциональность эксплантата (трансплантата).

Теоретическая и практическая значимость работы

Применение комбинированного консервирующего раствора позволяет профилактировать ИП в печеночном эксплантате путем поглощения АФК молекулами ЭПФОС и, тем самым, предотвращая повреждение органа и тканей. Патогенетически обоснован выбор комбинированного консервирующего раствора для улучшения качества и снижения риска развития первичной дисфункции органа для применения в клинической трансплантологии.

Методология и методы диссертационного исследования

Исследование носит экспериментальный характер. Объект исследования – печеночный эксплантат, не подвергающийся трансплантации. Предмет исследования – экспериментальная оценка эффективности противоишемической защиты печеночного эксплантата во время эксплантации и консервации с применением различных консервирующих растворов. Для решения поставленных задач использовали объективное наблюдение за изъятим органом, биохимические, гистологические и патоморфологические методы оценки ИП в печеночном

эксплантате. Достоверность полученных данных подтверждена методами математической статистики.

Положения, выносимые на защиту

1. Неоксигенированная эмульсия перфторорганических соединений при добавлении в стандартный консервирующий раствор в эксперименте обладает высокой противоишемической активностью.

2. Комбинированный консервирующий раствор (НТК и неоксигенированная эмульсия перфторорганических соединений в соотношении 4 : 1) в эксперименте, по сравнению с другими исследуемыми консервирующими растворами, статистически значимо уменьшает биохимические и патоморфологические изменения в печеночном эксплантате после 8 часовой консервации.

Степень достоверности

Все научные положения и выводы обоснованы применением системного анализа, современных методов исследования, достоверным объемом фактического материала ($n = 60$), который подвергнут статистическому анализу. Результаты исследования можно считать достоверными, с учетом достаточной выборки обследованных (3 группы исследуемых животных по 20 особей в каждой) и использованием корректных методов статистической обработки полученных данных.

Апробация работы

Основные результаты исследования и основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Проблемы медицины и биологии», посвященной 70-летию Кемеровской области (Кемерово, 2013); 11-ой городской научно-практической конференции «Актуальные вопросы муниципального

здравоохранения», посвященной 100-летию здравоохранения города Кемерово (Кемерово, 2013); межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 55-летию кафедры и клиники госпитальной хирургии КемГМА, базирующейся в МБУЗ «ГКБ № 3 им. М. А. Подгорбунского» и 60-летию Кемеровской государственной медицинской академии (Кемерово, 2015); 23-ем международном конгрессе ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ «Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии» (Минск, 2016).

Диссертационная работа апробирована на заседании кафедры госпитальной хирургии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России (Кемерово, 2017).

Диссертация выполнена в соответствии с темой научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, номер государственной регистрации 01200506553.

Внедрение результатов исследования

Основные результаты исследования используются в научном и учебном процессах в ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России на кафедре госпитальной хирургии. Основные положения и разработки планируется внедрить в работу хирургического отделения № 2 (Кузбасский областной гепатологический центр) ГАУЗ КО ОКБСМП им. М. А. Подгорбунского, г. Кемерово.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе 1 патент на изобретение и 3 статьи в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 108 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 210 источниками, из которых 188 – в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 16 таблиц и 16 рисунков.

Личный вклад автора

Проведение экспериментальной модели и дизайна исследования, анализ и обобщение данных литературы по теме диссертации, сбор, регистрация и систематизация, а также статистическая обработка полученных результатов, оформление и публикация статей по тематике исследования, написание диссертационной работы выполнены лично автором. Экспериментальная часть работы выполнена в лаборатории кафедры госпитальной хирургии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Благодарность

Автор благодарен д. м. н. В. Н. Дроботову за идею экспериментального исследования. Хочется особо поблагодарить научного руководителя к. м. н., доцента К. А. Краснова и д. м. н., профессора А. В. Будаева за поддержку и неоценимую помощь при проведении экспериментальных исследований и обсуждение полученных результатов. Автор благодарен д. м. н., профессору В. И. Подолужному за помощь на начальном этапе работы. Автор искренне признателен к. м. н. А. А. Шрайберу, О. А. Калишу, А. В. Иванову за помощь при обработке и оценке патоморфологического материала, а также О. Г. Буниной, А. С. Салаховой за помощь при проведении лабораторных исследований. Искренняя благодарность к. т. н. Е. С. Каган за неоценимую помощь при обработке статистических данных исследования.

ГЛАВА 1 ПАТОГЕНЕЗ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ, КОНСЕРВАЦИЯ ОРГАНА И СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ ЭКСПЛАНТАТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 История трансплантации печени

С момента первой пересадки печени 1 марта 1963 г. Starzl T. E. в городе Денвер (США) и до сих пор, трансплантация печени является основным радикальным способом лечения больных с терминальной стадией заболеваний печени [142; 196]. Первая успешная трансплантация печени в мире выполнена в 1967 г. Starzl T. E. В Европе первая успешная трансплантация печени была выполнена в 1968 г. профессором R. Y. Calne в Кембриджском университете, Великобритания. В России первая трансплантация печени была выполнена 14 февраля 1990 г. в Российском научном центре хирургии РАМН коллективом врачей под руководством профессора А. К. Ерамишанцева [9; 16; 19]. В США количество выполняемых в год трансплантаций печени составляет 19,8 на 1 млн населения, в Европе данный показатель варьирует от 15 до 24, составляя в среднем 17, а в России данные показатели низкие: 10,1 на 1 млн населения. В США (2015 г.) функционирует 137 центров по пересадке печени, в России 17 центров. Низкие показатели связаны с незначительным числом центров, выполняющих трансплантации и с дефицитом донорских органов [5; 166].

На данный момент в мире было выполнено более 350 тысяч операций трансплантации печени [93]. В настоящее время показаниями для трансплантации печени являются следующие группы заболеваний: терминальные стадии холестатических и нехолестатических заболеваний печени, фульминантная печеночная недостаточность, метаболические заболевания печени, а также онкопатология. У детей преимущественно врожденная патология печени и желчевыводящих путей. Показания к ОТП при опухолевых поражениях печени дискуссионны, но в настоящее время они постепенно расширяются. [6; 105]

Существенно улучшились непосредственные результаты операций, и снизилась летальность в течение первых трех месяцев после операции – с 50 % в 1984 г. до 13 % в 2016 г. [45; 209]. Ввиду динамического развития трансплантологии как науки, оптимизации хирургической техники и применения современных иммунодепрессантов позволило увеличить выживаемость пациентов до 85 % – 90 % в течение 1 года и 75 % – 85 % в течение 5 лет [33; 112; 153]. Расширение критериев к трансплантации печени, увеличение числа больных, включенных в лист ожидания, обуславливает многократно возросшие потребности в донорских органах [37; 56; 185].

Ортотопическая трансплантация печени – многоэтапное хирургическое вмешательство, которое является наиболее сложным в абдоминальной хирургии. Ортотопическая трансплантация печени состоит из трёх основных этапов: гепатэктомия (удаление собственной печени реципиента); имплантация донорской печени (реваскуляризация трансплантата в следующей последовательности – кавальная, портальная, артериальная реконструкция); реконструкция желчеотведения (билиодигестивный или гепатико-холедохо анастомоз). В настоящее время существуют различные методики ортотопической трансплантации печени: 1 – классическая методика предусматривает выполнение гепатэктомии у реципиента с удалением позадипеченочного отдела нижней полой вены с использованием вено-венозного обхода (или без него), методика предложена Т. Е. Starzl; 2 – методика «piggyback» представляет собой наложение одного анастомоза надпеченочного отдела нижней полой вены донорской печени с двумя или тремя печеночными венами реципиента, объединенными в один ствол, методика предложена R. Y. Calne в 1968г; 3 – наложение каво-кавального анастомоза «бок в бок» с частичной продольной окклюзией нижней полой вены реципиента, методика предложена J. Belghiti в 1992 г. [209].

Основные факторы, обеспечивающие успешную трансплантацию печени:

1) качество трансплантата: обусловлено исходным состоянием органа (фиброз печени; стеатоз печени, оцениваемый визуально в баллах и с помощью полуколичественного вычисления площади жировых вакуолей на срезе материала

пункционной биопсии; возраст донора; отсутствие эпизодов гипотонии и асистолии; содержание натрия в сыворотке крови менее 160 ммоль/л);

2) качество проведения этапа эксплантации и консервации органа (длительность первичной тепловой ишемии, длительность холодовой ишемии органа, состав консервирующего раствора);

3) качества проведения этапа имплантации (длительность вторичной тепловой ишемии органа, профилактика и защита от ИП) [210].

Несмотря на постоянное усовершенствование методики эксплантации, консервации и хирургической техники, исход трансплантации печени напрямую зависит от ИП, присутствующего при любой трансплантации органов и являющегося основной причиной:

1) изначально плохой функции трансплантата, отсроченной функции трансплантата;

2) первично нефункционирующего трансплантата (primarily non-functional);

3) острой реакции отторжения;

4) хронической реакции отторжения;

5) билиарных осложнений (несостоятельность билиарного анастомоза, стриктура билиарного анастомоза, синдром исчезающих желчных протоков);

6) тромбоза сосудов после имплантации донорского органа: печеночной артерии, воротной вены, каво-кавального анастомоза. [126].

До 30 % реципиентов после трансплантации печени имеют первично нефункционирующий трансплантат, либо другое серьезное осложнение. Частота билиарных неанастомотических стриктур коррелирует со временем консервации органа. Ишемические стриктуры желчных протоков проявляются в течение первых трех месяцев после трансплантации и консервативная терапия в большинстве случаев не эффективна. В тяжелых случаях, ретрансплантация печени это единственный способ для терапии. ИП является основной причиной осложнений после трансплантации печени и в 81 % требует ретрансплантации [51; 60; 70; 133; 179].

Рост числа пациентов, нуждающихся в трансплантации печени, а также

недостаточное количество доноров, приводит к тому, что в центрах трансплантологии расширяются критерии для «маргинальных» доноров, обладающих низкой толерантностью к ИП. Расширены критерии и для возрастных доноров, доноров с небьющимся сердцем, доноров с малым размером трансплантата и стеатозом печени. И, несмотря на активную работу по эффективному использованию потенциальных доноров, во всем мире сохраняется постоянная нехватка донорских органов, в связи с чем встает вопрос не только о расширении критериев для доноров, но и о рациональном использовании доступных донорских органов, медикаментозном воздействии для кондиционирования донорских органов. [37; 150; 177; 187; 205].

Таким образом, прогресс в сохранении жизнеспособного органа может быть достигнут с пониманием механизмов ИП, а минимизация негативных последствий данного процесса позволяет увеличить количество донорских органов, а также снизить количество ретрансплантаций и осложнений после пересадки печени.

1.2 Консервирующие растворы: история, состав

Сохранение органа при трансплантации напрямую зависит от консервирующего раствора. Основной проблемой консервации органов является прекращение работы (в связи с ишемией и гипотермией) натриевого насоса, что приводит к постепенным потерям калия и магния, а также поступлению натрия и воды в клетки. Эффективность консервирующих растворов, различных по составу, обусловлена плохой диффузией ионов и растворенных веществ в клетку (профилактика отека клетки) [44; 184; 191].

В мире используется 5 основных консервирующих растворов, представленных в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристики и состав консервирующих растворов

Состав раствора	Коллинз (Collins)	Евро-Коллинз (Euro-Collins)	UW, Viaspan	HTK (Кустодиол, Custodiol)	Цельсиор (Celsior)
Калий (ммоль/л)	115	115	120	10	15
Натрий (ммоль/л)	10	10	30	15	100
Магний (ммоль/л)	30	0	5	4	13
Кальций (ммоль/л)	0	0	0	0,015	0,25
Фосфат (ммоль/л)	100	100	25	0	0
Хлорид (ммоль/л)	15	15	0	50	0
Карбонат (ммоль/л)	10	10	0	0	0
Лактобионат (ммоль/л)	0	0	100	0	80
Глюкоза (ммоль/л)	126	198	0	0	0
Раффиноза (ммоль/л)	0	0	30	0	0
Гидроксиэтил (г/л)	0	0	50	0	0
Глутатион (ммоль/л)	0	0	2	0	3
Аденозин (ммоль/л)	0	0	5	0	0
Аллопуринол (ммоль/л)	0	0	1	0	0
Инсулин (МЕ)	0	0	40	0	0
Дексаметазон (г/л)	0	0	16	0	0
Пенициллин (МЕ)	0	0	200 000	0	0
Гистидин (ммоль/л)	0	0	0	180	30
Триптофан (ммоль/л)	0	0	0	2	0
Кетоглурат (ммоль/л)	0	0	0	1	0
Маннитол (%)	0	0	0	30	60
Глутамат (ммоль/л)	0	0	0	0	20
РН (при 25 °С)	7,0–7,3	7,0–7,3	7,4	7,2	7,3
Осмолярность (мОсм/кг)	320	406	320	310	360

Учитывая внутриклеточный ионный состав, для холодовой консервации созданы растворы с высоким содержанием калия, такие, как HTK (Custodiol, Кустодиол), коллинз (Collins), евро-коллинз (Euro-Collins), цельсиор (Celsior) и раствор Висконсинского университета (UW, Viaspan). Высокое содержание калия приводит к вазоспазму и остановке сердечной деятельности, поэтому при

разработке новых консервирующих растворов необходимо снижение концентрации ионов калия в перфузате. Обязательным компонентом консервирующих растворов являются коллоиды, которые препятствуют утечке жидкости в интерстиций и предотвращают индуцированный гипотермией отек клетки. Для профилактики внутриклеточного ацидоза во всех известных консервирующих растворах применяют буферные системы: фосфатный буфер в Euro-Collins, UW и гистидиновый буфер в Кустодиоле. Для обеспечения энергетических потребностей в состав консервирующего раствора также входят предшественники АТФ (аденозин) [136; 138; 174; 186].

Раствор Collins описан впервые в 1969 г. и модифицирован в 1976 г. в раствор Euro-Collins в США. Основной состав раствора Euro-Collins приближается по электролитам к внутриклеточной среде, т. е. высокая концентрация калия и низкая концентрации натрия, фосфатный буфер. В растворе применяется глюкоза для ингибирования отека клетки, что делает его простым и наиболее дешевым. Его высокое осмотическое давление поддерживается только глюкозой. По этой причине раствор Euro-Collins достаточно хорошо работает только для сохранения почки [139; 191].

Раствор Висконсинского университета (UW или Viaspan) разработан в США в конце 1980-х годов F. Belzer и D. Southard в связи с необходимостью создания консервирующего раствора с более длительным сроком хранения органа. В растворе заменен глюконат натрия лактобионовой кислотой. Раствор UW имеет высокую концентрацию калия и низкое содержание натрия, фосфатный буфер. Входящая в состав рафиноза, лактобионат и коллоид позволяют уменьшить отек клетки. Раствор UW имеет видимые преимущества по сравнению с другими растворами, особенно для сохранения печени и поджелудочной железы. Однако включение некоторых компонентов в UW подлежат дискуссии. Например, аденозин был добавлен в раствор UW в качестве субстрата для регенерации адениннуклеотидов. Упрощенные варианты UW раствора, в которых аденозина не было, показали аналогичные или даже выше защитный потенциал при холодовой консервации печени. Гидроксиэтил предотвращает интерстициальный отек, но

ускоряет агрегацию эритроцитов, что может привести к застою крови и неполному отмыванию донорских органов перед трансплантацией. Другое ограничение UW раствора в том, что его составляющие, такие как аллопуринол и лактобионат, ввиду низкой концентрации и невозможности достичь точки приложения, не выполняют возложенную на них протективную функцию. Также исследования на людях показали, что аллопуринол в растворе UW не может предотвратить образование АФК в гепатоцитах при реперфузии [34; 43; 178].

Celsior раствор, разработанный во Франции в 2000-х годах, представляет собой смесь компонентов раствора UW раствора и буферной системы из раствора Кустодиол. Celsior имеет внеклеточный состав с высокой концентрацией натрия и более низкой калия, что успешно используется для консервации сердца и легких. Перспективные многоцентровые рандомизированные исследования доказали эффективность раствора Celsior в консервации почек, поджелудочной железы и печени. Авторы пришли к выводу, что раствор Celsior обладает аналогичными свойствами UW раствора для мультиорганной консервации органов [139; 191].

В Российской Федерации единственным консервирующим раствором является НТК (Custodiol, Кустодиол), раствор для кардиopleгии, разработанный в Германии, лицензия П №014656/01, 21.07.2008 г. Он имеет сильную буферную систему и низкую вязкость. Маннит, триптофан, гистидин и α -кетоглутарат обладают большой молекулярной массой, не проникают в клетку и, следовательно, препятствуют отеку клетки. Гистидин является одновременно буферной системой, а также антиоксидантом. Раствор успешно применяется для консервации сердца [43].

Клинические исследования свидетельствуют, что консервация печени Кустодиолом в течение 8 часов и более связана с высоким риском развития ПНФТ и его отсроченной функциональной несостоятельностью. Это связано с тем, что органосохраняющие эффекты Кустодиола обусловлены, прежде всего, его осмолярностью, которая в условиях циркуляторной гипоксии профилактирует развитие внутриклеточного отека, а, следовательно, и механизма осмотического повреждения гепатоцита. Считается, что уменьшенная вязкость Кустодиола, по

сравнению с UW, защищает от развития желчных осложнений [43; 191; 202].

Однако, реализующиеся в условиях ишемии и гипотермии механизмы ферментативного и свободно-радикального повреждения гепатоцитов, Кустодиол не устраняет. Идеальный консервирующий раствор должен минимизировать индуцируемый циркуляторной гипоксией отек клетки и тканей, предотвращать внутриклеточный ацидоз и уменьшать последствия ферментативного и свободно-радикального повреждения органа [1; 131; 137].

В связи с этим, в настоящее время для пролонгирования консервации и улучшения качества эксплантата, наряду с гипотермией и Кустодиолом, используются и фармакологические препараты. Их позитивные эффекты обусловлены ингибированием различных патогенетических факторов, составляющих механизмы ишемического (первичного) ферментативного и свободно-радикального повреждения гепатоцитов. Однако, инициированные гипоксией повреждающие факторы продолжают реализоваться и во время имплантации, после реконструкции сосудов и системы желчеотведения. Повреждающие факторы реперфузии усугубляют тяжесть первичных ишемических нарушений и вызывают вторичные, более серьезные и значительные изменения в органе, увеличивая тем самым вероятность развития ПНФТ [43; 138; 174; 202].

Несмотря на достижения современной медицины, состав консервирующего раствора дискуссионен и поиск «идеального» раствора для консервации органов и тканей продолжается. Идеальный консервирующий раствор должен минимизировать индуцированный гипотермией отек клетки и тканей, предотвратить внутриклеточный ацидоз, обеспечить субстратом для регенерации АТФ при реперфузии и уменьшить последствия повреждения АФК, тем самым профилактируя ИП органа.

1.3 Патогенез ишемического повреждения органа, образование активных форм кислорода

При трансплантации печени ишемия органа неизбежна. Ишемическая фаза трансплантации условно делится на 2 периода: тепловая и холодовая ишемия. Тепловая ишемия реализуется в два этапа. Первый этап (первичная тепловая ишемия) начинается еще до забора органа у гемодинамически нестабильных доноров. Возобновление тепловой ишемии происходит при имплантации органа - второй этап (вторичная тепловая ишемия). Холодовая ишемия печени происходит во время ее консервации, до имплантации органа [30; 38; 57; 160].

Патогенез ишемии обусловлен нарушением перфузии печени и развитием гипоксии, которая и становится основным повреждающим фактором, вызывающим возникновение ряда изменений на клеточном и молекулярном уровнях. Ведущим среди них является нарушение процессов энергообеспечения гепатоцитов [96; 134; 170; 173; 185].

Ключевым механизмом изменения энергообеспечения гепатоцитов при гипоксии является нарушение ресинтеза аденозинтрифосфата (АТФ) и уменьшение его содержания в гепатоцитах. Первоначально это обусловлено снижением парциального давления кислорода в митохондриях, что приводит к нарушению аэробного ресинтеза АТФ. В дальнейшем снижение АТФ обусловлено подавлением гликолиза (анаэробного пути), который ингибируется избытком ионов водорода (ацидозом). Первый этап снижения АТФ сопровождается депрессией функционирования насосов и каналов клеточных мембран гепатоцитов, что сочетается с нарушением транспорта АТФ от места синтеза к эффекторным структурам клеток и нарушением утилизации АТФ. Второй этап сочетается с переходом обратимых повреждений гепатоцитов в необратимые [36; 131; 171; 199].

Таким образом, при дефиците АТФ и нарастающем ацидозе нарушается функционирование ионных насосов и открываются калиевые каналы, в норме закрытые молекулой АТФ. Вследствие этого происходит потеря калия и

накопление ионов натрия, кальция и хлора в гепатоцитах, что приводит к снижению трансмембранного потенциала и увеличению проницаемости мембран митохондрий и лизосом [25; 84; 119; 186; 193]. Высвобождение митохондриальных и лизосомальных ферментов запускает процесс аутолиза (ферментативного лизиса), который завершается клеточным некрозом. Причем, увеличение в гепатоцитах концентрации ионов натрия, кальция и хлора вносит свой вклад в развитие необратимых повреждений клеток печени. Это связано с повышением внутриклеточного осмотического давления, которое способствует возникновению целлюлярного отека с развитием осмотического лизиса [40; 46; 61; 79].

Кроме того, увеличение концентрации кальция в гепатоцитах вызывает также и образование активных форм кислорода (АФК) и активацию фосфолипаз, разрушающих фосфолипиды клеточных мембран и усугубляющих тем самым клеточный некроз [22; 54; 164; 180]. Перекисному разрушению мембранных фосфолипидов способствует и деградация избытка аденозиндифосфата (АДФ) до аденозина и гипоксантина под воздействием ксантиноксидазы с образованием АФК [29; 128; 154; 172].

Существует 2 пути образования АФК:

- 1) активацией ферментов, таких как ксантиноксидазы, митохондриальные оксидазы;
- 2) истощение эндогенных факторов, необходимых для утилизации кислородных радикалов, такие, как глутатион, витамин Е, НАДФ, супероксиддисмутаза, глутатион пероксидаза и каталаза [52; 84; 176; 201].

В эксперименте с ингибитором ксантиндегидрогеназы/ксантиноксидазы (XDH / XOD) – аллопуринолом доказано, что данная система является основным генератором АФК в гепатоцитах, но также нельзя полностью исключить и образование АФК в митохондриях [94; 159; 165; 197].

Основным источником АФК является ксантиноксидаза. При ишемии ксантиндегидрогеназа (энзим, который использует никотинамид-адениндинуклеотид (НАД) в качестве акцептора электронов и не образует АФК)

переходит в ксантиноксидазу, которая использует кислород в качестве акцептора электронов и генерирует супероксид-анион. Процесс перехода дегидрогеназы в оксидазу напрямую зависит от активации ионами кальция протеаз. Субстрат для ксантиноксидазы генерируется при ишемии трансформацией аденина в гипоксантин [53; 63; 114; 189].

Активные формы кислорода можно разделить на радикальную и не радикальную группы. Биологически наиболее важным являются: супероксидный анион-радикал кислорода ($\bullet\text{O}^{2-}$), гидроксильный радикал ($\bullet\text{OH}^-$). Радикалы имеют неспаренный электрон, что наделяет их высокой реакционной способностью. Перекись водорода (H_2O_2) не является радикалом, но легко реагируют с образованием радикалов [62; 90; 94; 99].

Инициированные АФК повреждают клеточные и внеклеточные структуры печени, активируют каскады других клеточных медиаторов воспаления, что приводит к микрососудистым изменениям, активации процессов некроза и апоптоза клетки [28; 67; 82; 101]. Начальное повреждение печени иницируется АФК, которые вызывают прямое цитотоксическое действие, а также активируют каскад медиаторов, что приводит к микрососудистым изменениям, активации апоптоза и острых воспалительных изменений с некрозом клетки [35; 48; 72; 152; 194].

Таким образом, патогенез ишемического повреждения гепатоцитов является сложным и многофакторным процессом. Ключевым звеном ишемического механизма повреждения гепатоцитов является гипоксия, вследствие которой возникает дефицит АТФ, ацидоз, ферментативный и осмотический лизис, инициация свободно-радикального процесса. Именно они и определяют в конечном итоге пригодность донорского органа для последующей имплантации реципиенту. Следовательно, основная задача консервации печени, заключающаяся в сохранении ее функциональной активности до момента трансплантации, может быть решена с помощью снижения потребности органа в кислороде. Подобный эффект достигается с помощью гипотермии. Образование АФК (супероксид анион, гидроксил радикал и перекись водорода) является

основным повреждающим фактором при ИП. Использование препаратов, влияющих на патогенез образования АФК, позволяет минимизировать цитотоксическое действие и профилактировать ИП.

1.4 Гипотермия. Защитные и побочные эффекты

Основной задачей консервации органов является сохранность функций до момента трансплантации. Гипотермия является одним из важнейших компонентов для сохранения органа. В экспериментах Belzer F. O., Calne R. Y. доказано, что достигаемая путем охлаждения тающим льдом гипотермия в 4–5 °С, является достаточной для сохранения донорского органа в функционально активном состоянии до момента его имплантации реципиенту [21; 80; 107; 203]. Защитный эффект гипотермии заключается в повышении устойчивости изолированных органов к гипоксии. Это проявляется торможением обменных процессов (до 10 % от активности при $t = 37^{\circ}\text{C}$) и снижением, как потребления, так и потребность тканей в кислороде на 80–90 % [27; 83; 114; 183].

Механизм защитного действия гипотермии заключается в повышении термодинамической стабильности молекул. Ключевым фактором данного механизма являются уменьшение теплового возбуждения молекул и повышение противодействующих ему Ван-дер-Ваальсовых и водородных сил сцепления. Это вызывает снижение ферментативной активности всех окислительно-восстановительных процессов, в результате чего затормаживается образование и накопление повреждающих факторов ишемии, возникновение которых обусловлено гипоксией [85; 182; 207].

Однако гипотермия обладает и побочным, негативным действием, что вынуждает лимитировать ее по времени. Обусловлено это продолжающимся, хотя и замедленным, накоплением метаболитов, образование которых запущено гипоксией и, которые, в свою очередь, при достаточной концентрации запускают механизмы повреждения гепатоцитов [80; 114].

Кроме того, и в состоянии холодовой гибернации гепатоциты нуждаются в

определенном количестве энергии необходимой им для поддержания трансмембранных концентрационных градиентов между внутри- и внеклеточной средой. Поэтому, при длительно сохраняющейся гипотермии происходит постепенное уменьшение вне- и внутриклеточных концентрационных градиентов, что и становится причиной необратимых изменений и гибели клеток [21; 66; 157].

При более низких температурах (0–3 °C) происходят конформационные изменения в третичной структуре ряда ферментов (пируваткиназы, глутаматдегидрогеназы, аргининсукциназы), то есть происходит их инактивация. Ряд ключевых гликолитических ферментов, содержащих сульфгидрильные группы, (глицеральдегиддегидрогеназа, лактатдегидрогеназа, лактаза) могут образовывать дисульфидные связи, что приводит к необратимой дезактивации [27; 80; 133].

Быстрое охлаждение печени приводит к потерям гликолитических ферментов, что можно предотвратить путем постепенного снижения температуры. Дополнительным механизмом повреждения органа при гипотермии является холод-индуцированная вазоконстрикция [85; 202].

При более высоких температурах (6 и более °C) стимулируется гликолиз и гликогенолиз и, таким образом, увеличивается продукция молочной кислоты и продуктов метаболизма. Данные изменения приводят к ацидозу, активации предикторов апоптоза и некроза, значительно уменьшают время консервации органа [166; 191].

Таким образом, гипотермия приводит к снижению функциональной активности, метаболизма и потребность в кислороде органа на клеточном уровне. Однако, гипотермия лимитирована по времени, что связано с метаболическими изменениями, вызванными ферментативным дисбалансом. Перевод органа из нормотермии в гипотермическое состояние и оптимальная скорость охлаждения является предметом дискуссий. Поэтому, одновременно с гипотермией для пролонгирования консервации и улучшения качества трансплантата, целесообразно использовать консервирующие растворы и фармакологические препараты, ингибирующие действие факторов ишемического повреждения

гепатоцитов.

1.5 Гепатоцеллюлярные и холангиоцеллюлярные изменения при ишемическом повреждении

Синдром цитолиза и холестаза неизменно возникают у пациентов, которые перенесли ОТП. Степень ИП печени определяется повышением уровня сывороточных ферментов, преимущественно аспартатаминотрансфераза (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлаТ), а также изменениями при гистологической картине. Образование АФК, изменения рН ткани, воспалительные реакции и изменения микроциркуляции способствуют возникновению некроза гепатоцитов. Синусоидо-эндотелиальные клетки округляются при холодовой ишемии и отделяются в синусоидальный просвет при рециркуляции. Количество измененных (поврежденных) эндотелиальных клеток увеличивается с продолжительностью холодовой ишемии. Морфологические изменения в эндотелиальных клетках при холодовой ишемии протекают с изменением цитоскелета и внеклеточного матрикса и, вероятнее всего, опосредованы протеазами [41; 50; 156; 169; 177].

Холодовая ишемия приводит к отеку гепатоцитов, который обусловлен угнетением Na^+/K^+ – АТФазных насосов и нарушением обмена ионов натрия и водорода. При электронной микроскопии отмечается потеря микроворсинок на канальцевой мембране гепатоцитов. Количество структур желчных протоков, эпителиальных клеток в собранной желчи человека в послеоперационном периоде были выше с увеличением длительности холодовой ишемии донорской печени. Отмечается повышение уровня γ -глутамилтрансферазы (ГГТ) в прямой зависимости от длительности холодовой ишемии. Также при гистологической картине отмечается, что полиморфноядерные лейкоциты проникают в желчные протоки базальной мембраны и способствуют повреждению желчных протоков [59; 74; 81; 156; 177].

Доказано, что при холодовой ишемии органа менее 5 часов развитие

билиарных стриктур у пациентов составляет около 7 %. Длительность холодовой консервации органа от 5 до 7 часов обуславливает развитие билиарных стриктур у 30 % пациентов. Когда время холодовой консервации органа было увеличено до 8 часов, неанастомотические желчные стриктуры наблюдались выше, чем 52 % реципиентов [71; 98; 114].

Гепатоциты и синусоидальные эндотелиальные клеток являются двумя основными типами клеток, которые повреждаются при ишемии. Гепатоциты более чувствительны к тепловой ишемии, в то время, как синусоидальные эпителиальные клетки печени являются наиболее чувствительными к холодовой ишемии [31; 92; 140; 208].

Существуют доказательства того, что эпителий желчных путей требует гораздо больше времени, чтобы восстанавливаться после ИП, чем гепатоциты и синусоидальные эндотелиальные клетки [51].

В то же время биохимические маркеры гепатоцеллюлярной травмы, такие как АсАТ и АлАТ, как правило, уменьшаются после трансплантации, а уровень сывороточной γ -глутамилтрансферазы и щелочной фосфатазы обычно продолжают расти, достигая пиковых значений на второй или третьей послеоперационной неделе. ИП вызывают непосредственное повреждение желчного эпителия, но не объясняет продолжающийся рост уровня ГГТ и ЩФ в течение нескольких недель после ОТП [95; 100; 108; 143].

Таким образом, профилактика ИП, уменьшение сроков консервации позволяет минимизировать гепатоцеллюлярные и холангиоцеллюлярные изменения, тем самым уменьшить частоту послеоперационных осложнений.

1.6 Эндогенные антиоксидантные системы

Эндогенная антиоксидантная система является важной составляющей организма, позволяющая использовать кислород для энергетических нужд, не подвергаясь вредному воздействию АФК. Антиоксидантом является любое вещество, которое при низкой концентрации приводит к задержке или

предотвращению окисления субстрата. Эндогенными антиоксидантами являются низкомолекулярные вещества, способные предотвратить начало окислительного повреждения или ограничить его распространение, а также ферменты, преобразующие и устраняющие токсическое действие АФК [29; 86; 115; 155].

Внутриклеточные окислительно-восстановительные реакции в нормальных условиях находятся под жестким контролем. Однако, при образовании АФК на уровне превышающем возможности антиоксидантной системы происходит дисбаланс, называемый окислительным стрессом. Данный дисбаланс приводит к повреждению липидов, протеинов и нуклеиновых кислот. Гепатоциты наиболее устойчивы к окислительному стрессу, ввиду большого содержания в них глутатиона, супероксиддисмутазы, каталазы и жирорастворимых антиоксидантов [28; 135; 180; 191].

Эндогенная антиоксидантная система вариабельна и имеет существенные различия в органах, тканях и даже в разных клетках одной ткани. По этой причине органы отличаются резистентностью к ИП. Также существуют доказательства, что антиоксиданты работают как сбалансированная и скоординированная система, и каждый элемент этой системы зависит от других. Основные внутриклеточные антиоксидантные системы: супероксиддисмутаза, каталазы, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза и другие [132; 137; 195; 206].

Глутатион – эндогенный антиоксидант, трипептид, присутствующий в миллимолярных концентрациях практически во всех клетках и является важным компонентом эндогенной антиоксидантной системы. Глутатион играет основную роль в антиоксидантной терапии для уменьшения ИП печени, а так же участвует в других метаболических процессах, таких, как предотвращения окисления белка сульфгидрильных групп и комплексообразования ионов меди. При консервации печени происходят потери глутатиона на 50 %, что делает гепатоциты более уязвимыми к АФК [35; 148; 180].

При консервации органа происходит истощение эндогенных антиоксидантных систем и увеличение продукции окислителей, что приводит к

дисбалансу между производством и удалением АФК [42; 145; 162; 163].

Таким образом, эндогенной антиоксидантной системы недостаточно для профилактики ИП, а добавление экзогенных антиоксидантов является перспективным терапевтическим направлением.

1.7 Фармакотерапия, антиоксидантная терапия

Сохранить функцию органа удастся не всегда, несмотря на применение современных технологий консервации и применения современных консервирующих растворов. Новым направлением в трансплантологии является фармакотерапия, то есть добавление препаратов, способных влиять на звенья патогенеза ИП. Трудность фармакологического воздействия обусловлена большим количеством медиаторов и типов клеток, участвующих в патогенезе ИП [89; 127; 144; 147].

Добавление химических или ферментативных антиоксидантов при трансплантации было в центре внимания многих исследований за последние несколько десятилетий [76; 79; 151; 175].

Применение экзогенных антиоксидантов, таких, как глутатион, который является основным внутриклеточным (эндогенным) антиоксидантом, позволяет увеличить его концентрацию в клетках и уменьшить ИП. Однако, глутатион сам по себе не может пересекать мембрану клетки, но добавление глутамата (одной из основных аминокислот глутатиона) опосредованно увеличивает его внутриклеточную концентрацию и уменьшает АФК опосредованную травму [35; 69; 180; 191].

Токоферол является наиболее важным ингибитором свободно радикальных цепных реакции перекисного окисления липидов. Он выступает в качестве прямого ингибитора свободных радикалов, повышает уровень глутатиона, а так же обладает и другими не антиоксидантными свойствами, такими, как ингибирование протеинкиназы С (регуляция клеточного роста). Предварительная обработка высокими и очень высокими дозами токоферола повышает уровень

АТФ, предотвращает увеличение продуктов перекисного окисления липидов, уменьшает потери гепатоцитом глутатиона при ишемии. Высокие дозы токоферола, улучшают толерантность к ишемии и увеличивали выживание крыс с стеатозом печени [35; 103; 150; 180].

Аскорбиновая кислота в низких дозах (≥ 100 мг/кг) также показала защитный эффект при консервации печени в экспериментальном исследовании. Однако, высокие дозы аскорбиновой кислоты (1000 мг/кг) усугубляют ИРП, посредством увеличения концентрации ионов железа, участвующих в реакциях образования АФК [49; 154; 168; 180].

Предварительная обработка кофермент Q уменьшает ишемические потери гепатоцитами токоферола и глутатиона, а также ослабляет перекисное окисление липидов у крыс [87; 122; 129; 168].

Ряд экспериментальных исследований с использованием триметазидина показали положительный эффект после тепловой ишемии печени свиньи. Исследования, проведенные по изучению основных защитных механизмов триметазидина предполагают, что влияние на энергетический обмен митохондрий, окислительный стресс и микроциркуляцию являются основными цитопротекторными эффектами [32; 141; 180; 191].

Проводившиеся исследования применения N-ацетилцистеина предполагали опосредованное увеличение концентрации глутатиона в гепатоцитах, но, к сожалению, клинических преимуществ не было продемонстрировано [2; 97; 124].

Многочисленные экспериментальные исследования были сосредоточены на уменьшение вредного воздействия ИП и ассоциированной воспалительной реакции. В этом отношении препараты, такие, как хлорохин и хлорпромазин вводили в целях предотвращения митохондриальной дисфункции и потерь фосфолипидов гепатоцитами во время ишемии. Терапия с допамином или АТФ-MgCl₂ применялась для уменьшения расстройств микроциркуляции. Препараты, такие, как аденозин, нитраты (доноры окиси азота NO), L-аргинин, анти-ICAM-1 и анти-P-селектин антитела применялись для ингибирования аккумуляции нейтрофилов. Тем не менее, ни одному из этих препаратов не

удалось предотвратить ИП. Возможные побочные эффекты некоторых лекарств может ограничивать их использование в клинической практике. Например, идиосинкразическое повреждение печени, подтвержденное документально у людей, вызывает хлорпромазин; пагубные системные эффекты были описаны для доноров оксида азота; терапия аллопурином может приводить к гематологическим изменениям, а применение гадолиния хлорида может вызвать нарушения свертывания крови [106; 130; 146; 158; 191].

Развитие фармакотерапии, использующей защитный эффект индукции гемоксигеназы-1 (маркер оксидативного стресса), затрудняется тем, что большинство фармакологических индукторов этого фермента нарушают функцию органа сами по себе, а применение генной терапии для повышения регуляции гемоксигеназы-1 имеет потенциально отрицательные побочные эффекты, которые в настоящее время препятствуют его клиническому применению [90; 130; 158; 197].

Большинство исследований проводятся в здоровой печени, а модуляция ИП в стеатозной печени представляет большую проблему. До сих пор данные об эффективности введения антиоксидантов на пагубные последствия АФК в стеатозной печени подлежат дискуссии. Различие в механизмах действия означает, что терапия, которая эффективна в здоровой печени, может оказаться бесполезной в присутствии стеатоза, также может различаться эффективная доза препарата. Данные различия должны быть приняты во внимание при применении фармакологических препаратов [58; 65; 149; 190].

Достижения в области молекулярной биологии дают новые возможности для уменьшения ИП печени с использованием генной терапии. Например, для подавления снижения образования АФК, ген, отвечающий за выработку супероксиддисмутазы и каталазы, может транспортироваться в клетку либо аденовирусом, либо липосомами. Для ингибирования апоптоза, выполняется избыточная экспрессия гена Bag-1 и гена Bcl-2, в основном, с помощью аденовируса. Однако, существует ряд проблем, присущих генной терапии, например, структурная токсичность доставляемого материала, трудности в

повышении эффективности экспрессии белка в соответствующее время и место, а также проблема получения адекватных мутантных форм. Кроме того, трансплантация печени является экстренной операцией и в большинстве случаев остается очень мало времени для предварительной обработки доноров с генетическим подходом [25; 73; 181; 188; 192].

Таким образом, фармакотерапия позволяет влиять на основные, повреждающие орган звенья патогенеза ИП. В связи с чем, в последние годы разрабатываются новые направления и препараты для консервации органов. Большинство исследований по применению антиоксидантов проведено на лабораторных животных (некоторые препараты не подлежат испытанию на человеке, ввиду токсичности) и клинических испытаний не проводилось. Многие исследования находятся в стадии разработки и не имеют доказательной базы. Поиск антиоксидантных препаратов, применение которых возможно в клинических условиях продолжается.

1.8 Применение эмульсии перфторорганических соединений

Эмульсия перфторорганических соединений представлена в РФ единственным препаратом «Перфторан» (регистрационный номер PN001962/01-2002, 07.08.2008, срок действия регистрационного удостоверения не ограничен), первоначально созданная как кровезамещающий препарат с газотранспортной функцией [4]. Состоит из смеси перфтордекалина, перфторметилциклогексилпиперидина в соотношении 2 : 1 и проксанола. Уникальная способность перфторуглеродов растворять в 20 раз больше кислорода, чем плазма крови, послужила основанием для применения перфторана при трансплантации печени с целью уменьшения разрушающего действия АФК в ишемизированном органе при консервации [11]. Применение ЭПФОС модифицирует как окружение, так и мембраны гепатоцитов, из-за воздействия поверхностно-активного вещества проксанола, стабилизатора эмульсии. В результате растворения в липидах мембран молекул перфторорганических

соединений, в первую очередь более липофильного перфтордекалина. [3; 11; 15] Так же препарат устраняет спазм периферических сосудов, восстанавливает микроциркуляцию, уменьшает отек эндотелия сосудов – тем самым профилактирует no-reflow феномен [3; 12]. ЭПФОС растворяется в липидах клеточных мембран и, учитывая большую тропность к кислороду, акцептируют АФК, образующиеся в результате ишемии. Таким образом, основной повреждающий фактор в патогенезе ИП дезактивируется.

В литературе нет данных о применении неоксигенированной ЭПФОС при консервации печеночного эксплантата. Учитывая интактность препарата к органам и тканям (препарат не метаболизируется и выводится в неизменном виде), микроскопическую структуру молекулы (высокая способность проникать во все отделы ишемизированного органа) и возможность применения в клинической практике на пациентах – позволяет использовать препарат для профилактики ИП.

1.9 Заключение

1) Трансплантация органов в РФ, в отличие от США и стран Европы, по темпам развития остается на одном из последних мест. Главной проблемой является дефицит донорских органов, а количество «удачных» трансплантаций печени связано с качеством трансплантата и его функциональностью. Основная причина осложнений и ретрансплантация обусловлена ИП органа.

2) В РФ зарегистрирован только единственный консервирующий раствор (НТК, «Кустодиол»), обладающий рядом побочных эффектов и не влияющий на патогенез ИП.

3) Эндогенные антиоксидантные системы не совершенны и для профилактики ИП их недостаточно.

4) Проведенный анализ состояния проблемы фармакотерапии в профилактике ИП показал, что в клинической практике используются единичные препараты, ввиду недостаточного исследования на органах человека, токсичности

и неопределённой дозировки препаратов.

5) В литературе не изучено влияние неоксигенированной ЭПФОС на патогенез и профилактику ИП. Учитывая низкую себестоимость, отсутствие метаболических изменений препарата и возможность использования в клинических условиях, применение ЭПФОС для профилактики ИП при трансплантации печени является актуальным. Наше экспериментальное исследование посвящено изучению комбинированного способа консервации: НТК и неоксигенированная ЭПФОС в соотношении 4 : 1.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика материала

Исследования проведены на 60 кроликах самцах породы Шиншилла в возрасте 6 – 7 месяцев, массой $(2\,000 \pm 150)$ г. Дополнительно для отработки методик эксплантации, консервации и реперфузии использовано 8 кроликов (самцы и самки) в возрасте 6 месяцев. Для опыта использовались животные, содержащиеся в условиях вивария. Уход и содержание экспериментальных животных были стандартными, в соответствии с требованиями приказов Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) (утв. Главным государственным санитарным врачом СССР 06.04.1973 № 1045-73), а также приказ Минздрава СССР от 10.10.1983 № 1179 «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения»; приказ Минздрава России от 19.06.2003 № 267 «Об утверждении Правил лабораторной практики». Кролики выращивались в условиях вивария ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России при 12-часовом периоде освещения, комнатной температуре $(20 \pm 2)^{\circ}\text{C}$, влажности 50–70 %. Кормление животных осуществлялось согласно установленного рациона с применением комбикорма для кроликов «ПроКорм» производства ЗАО «БиоПро» (заводской артикул Р-22; ГОСТ Р 50258-92, Россия).

Кролики разделены на 3 группы по 20 животных.

В первой группе консервация печени проводилась раствором НТК фирмы Dr. F. Kohler Chemie, GmbH (Германия), оригинальное название «Кустодиол».

Во второй группе применялся комбинированный способ: раствором НТК фирмы Dr. F. Kohler Chemie, GmbH (Германия), оригинальное название «Кустодиол» и неоксигенированная ЭПФОС фирмы ОАО НПФ Перфторан, (Россия), оригинальное название «Перфторан». Соотношение НТК и неоксигенированной ЭПФОС = 4 : 1. Данный расчет произведен из рекомендаций

производителя: максимальная суточная доза перфторорганической эмульсии составляет 75 мл на кг массы тела, а расход раствора НТК должен составлять 300 мл на 1 кг массы тела донора на 1 пересадку.

В третьей группе консервация печени проводилась в неоксигенированной ЭПФОС фирмы ОАО НПФ Перфторан (Россия), оригинальное название «Перфторан».

Раствор НТК при консервации охлажден до 4–5 °С. Неоксигенированная ЭПФОС хранилась в холодильнике при температуре –8 °С, размораживалась при комнатной температуре до 4–5 °С.

Работа с кровью животного выполнялась соответственно с приказом Минздрава России от 25.11.2002 № 363 «Об утверждении инструкции по применению компонентов крови», «Инструкцией по заготовке и консервированию донорской крови», утверждённой Минздравом РФ 29.05.1995, ФЗ РФ от 09.06.2003 № 5142-1 «О донорстве крови и ее компонентов». Консервация артериальной крови кролика выполнялась препаратом Глюгицир (Декстроза + Натрия цитрат) регистрационный номер: Р N002511/01-251109. Раствор Глюгицир применялся к крови кролика в соотношении: 1 объем раствора к 4 объемам крови. Консервированная кровь хранилась в холодильнике в течение 8 часов при температуре 4 °С.

Реперфузия проводилась при комнатной температуре в течение 60 минут подогретой на водяной бане до 37 °С кровью соответствующего кролика в воротную вену.

2.2 Подготовка животных к эксперименту

Подготовка животных к операции начиналась с помещения их в изолятор, где они в течение 14 дней проходили карантин (санитарные правила по обустройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев), утвержденных МЗ СССР (1977) и МЗ РСФСР (1977)).

Животных кормили 2 раза в день (кормление лабораторных животных

осуществляется в соответствии с нормами, утвержденными приказом Министерства здравоохранения СССР от 10.03.1966 № 163 «О нормах кормления лабораторных животных и продуцентов», приказ Минздрава СССР от 10.10.1983 № 1179 «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения»; приказ Минздрава России от 19.06.2003 № 267 «Об утверждении Правил лабораторной практики».

При отборе животных к операции учитывали поведение экспериментальных животных, наличие аномалий, признаков ранее перенесенной травмы и общее состояние к началу эксперимента.

Кролики содержались в отдельных клетках вивария (1 кролик в каждой клетке) и находились на стандартном рационе питания.

В день эксперимента 3 кролика проходили предоперационную подготовку: процесс осмотра, взвешивания. В день эксперимента кроликов не кормили и не поили. Оперативное вмешательство проводили в условиях асептической операционной, стерильным инструментарием с соблюдением всех правил асептики и антисептики. Премедикацию проводили внутримышечным введением рометара в дозе 2 мг/кг массы животного. Анестезию проводили путем внутривенного введения золетила в дозе 7,5 мг/кг массы животного за 5 минут до операции. Адекватность анестезии осуществлялась посредством подсчета ЧСС и оценки микроциркуляции на основании цвета, влажности и температуры языка кролика. Хирургические манипуляции проводились с соблюдением асептики и антисептики.

2.3 Экспериментальное исследование

Эксперименты проводились с 8 часов до 20 часов в условиях лаборатории при комнатной температуре 26–28 °С. Работа с кроликами проводилась согласно рекомендациям: «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», «Правила по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных», утвержденных приказом Минздрава СССР от 12.08.1977 № 755 «О мерах по дальнейшему совершенствованию

организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» и утв. Министерством здравоохранения РСФСР. (1977 г.), принципами Европейской конвенции (Страсбург, 1986) и Хельсинской декларации всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996). Эксплантация печени, консервация и реперфузия выполнялась по разработанной методике.

2.3.1 Техника эксплантации печени

После введения препарата для внутривенного наркоза золетила в краевую ушную вену, кролик фиксировался на операционном столе в положении на спине. Операционное поле – грудь и живот кролика тщательно выбривалось. Операционное поле дважды обрабатывалось 70 % раствором спирта. Выполнялась тотальная лапаротомия, с расширением вправо и влево, лоскуты брюшной стенки фиксировались, операционное поле изолировалось салфетками. Во время операции использовались оптические увеличительные линзы. Выполнялась ревизия брюшной полости для исключения внутрибрюшной патологии. Во всех случаях выполнялась биопсия печени для проведения гистологических и морфометрических исследований.

Выделялся брюшной отдел аорты (abdominal aorta), под аорту проводились лигатуры (рисунок 1).

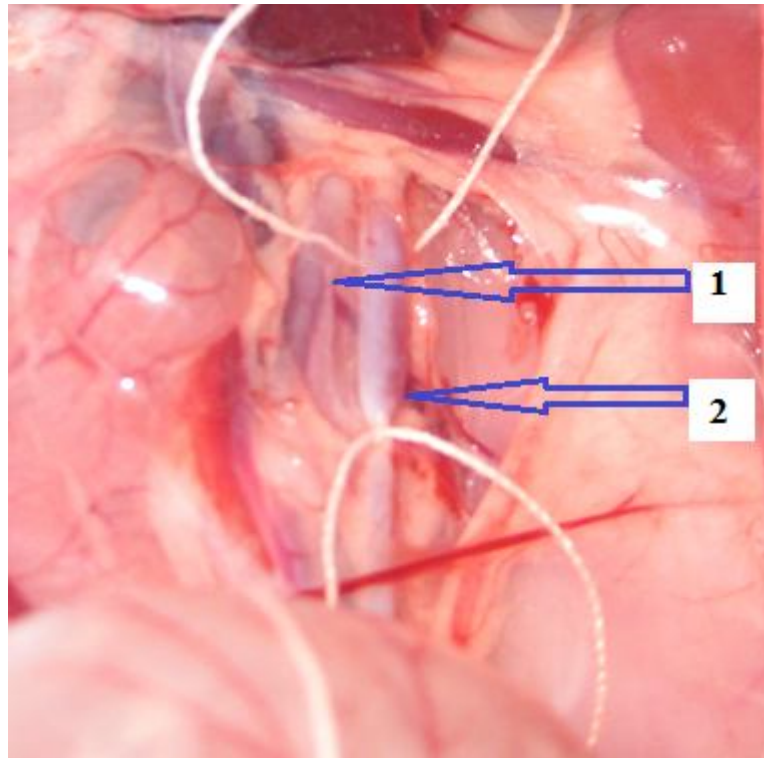


Рисунок 1 – Выделена аорта, лигатуры на аорте (1 – Нижняя полая вена; 2 – Аорта)

Выделялся подпеченочный и надпеченочный отделы нижней полой вены (*vena cava inferior*), под сосуды проводились лигатуры. Выполнялась мобилизация печени путем пересечения связочного аппарата: круглой, треугольной, серповидной и венечной связок (*ligamentum teres, triangular, falciforme, coronarium*). Далее препарировалась печеночно-двенадцатиперстная связка (*ligamentum hepatoduodenale*). Выделены общая печеночная артерия (*arteria hepatica communis*), общий желчный проток (*ductus choledochus*), а также область слияния верхней брыжеечной вены (*vena mesenterica superior*) и селезеночной вены (*vena lienalis*) с формированием воротной вены (*vena portae*) (рисунок 2).

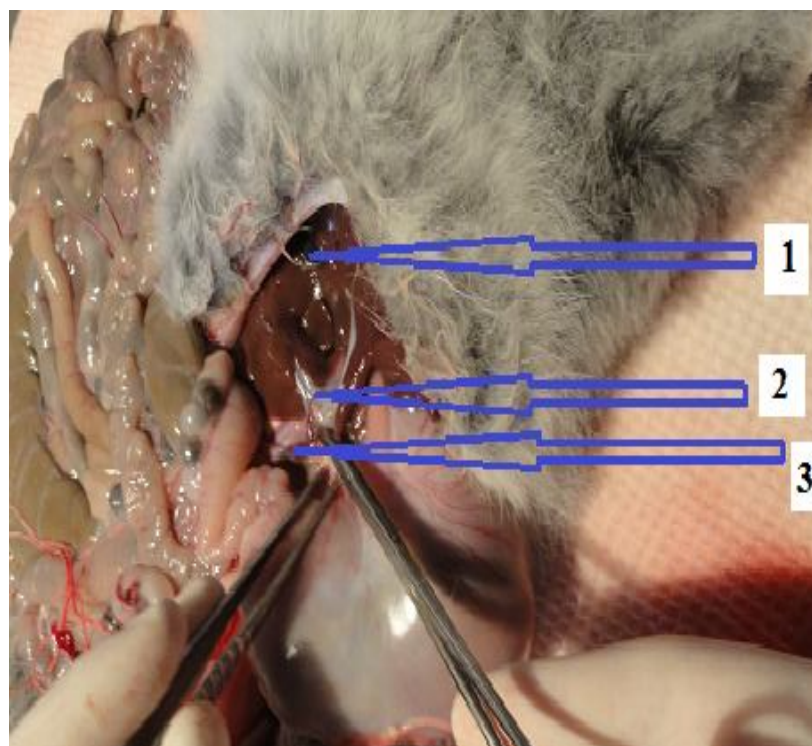


Рисунок 2 – Выделена воротная вена (1 – Желчный пузырь; 2 – Воротная вена, 3 – Подпеченочный отдел нижней полой вены)

Элементы связки взяты на держалки. В брюшную полость заложена ледяная стружка (замороженный при температуре -4°C официальный 0,9 % водный раствор хлорида натрия (NaCl), растолченный молотком).

Канюляция аорты для сбора и консервации крови по описанной выше методике (рисунок 3).

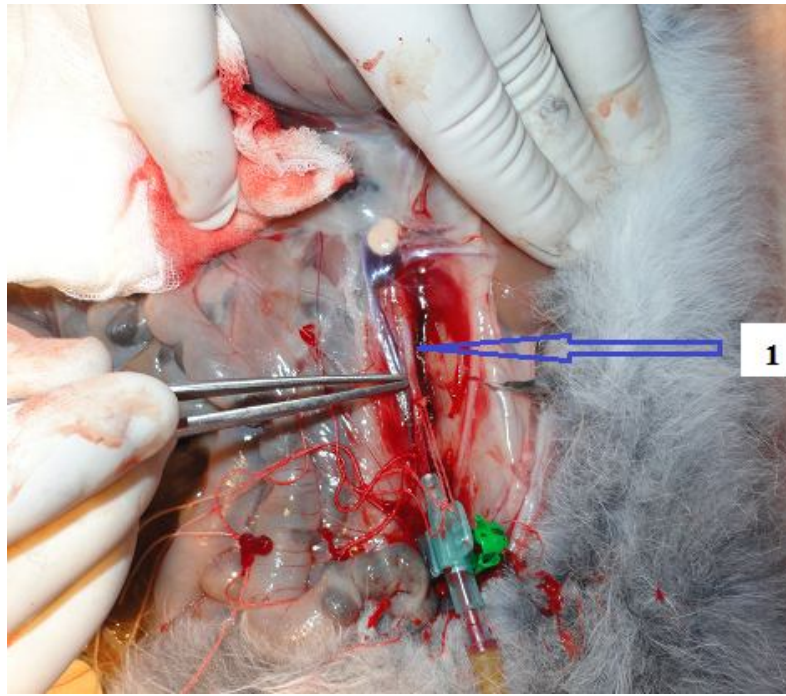


Рисунок 3 – Канюляция аорты (1 – Аорта)

Произведена канюляция воротной вены, канюля фиксирована узловыми швами, дистальный отдел после лигирования пересечен (рисунок 4).

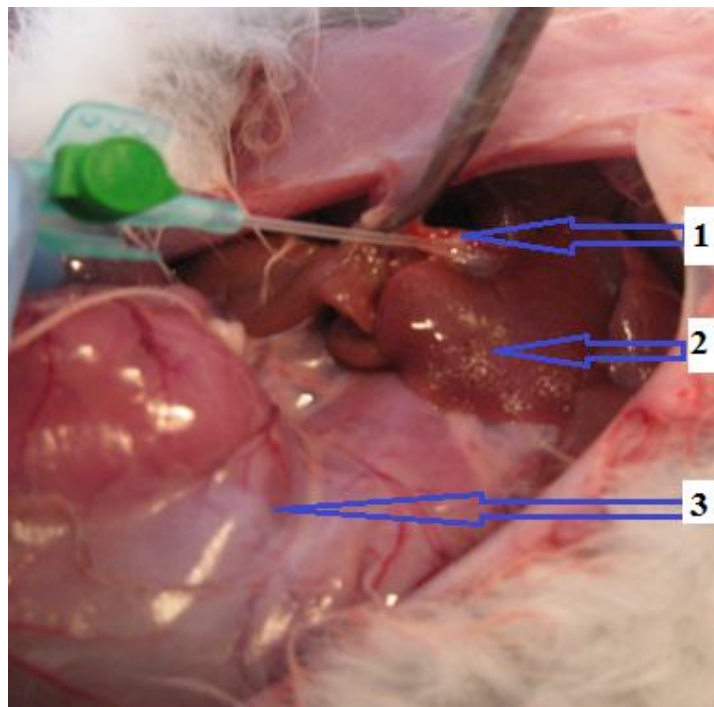


Рисунок 4 – Канюляция воротной вены (1 – Воротная вена, 2 – Печень, 3 – Желудок)

Начато введение соответствующего консервирующего раствора (в первой группе консервация печени проводилась раствором НТК, во второй группе применялся комбинированный способ: раствором НТК и неоксигенированная ЭПФОС в соотношении = 4 : 1, в третьей группе консервация печени проводилась неоксигенированная ЭПФОС).

Дважды лигирован и пересечен между швами надпеченочный отдел нижней полой вены. Для оттока перфузата, канюлирован подпеченочный отдел нижней полой вены, канюля фиксирована узловыми швами, надпеченочный отдел нижней полой вены лигирован.

После перевязки пересечены общая печеночная артерия и общий желчный проток. Далее выполнялась эксплантация печени и помещение эксплантата в лоток со льдом (рисунок 5).

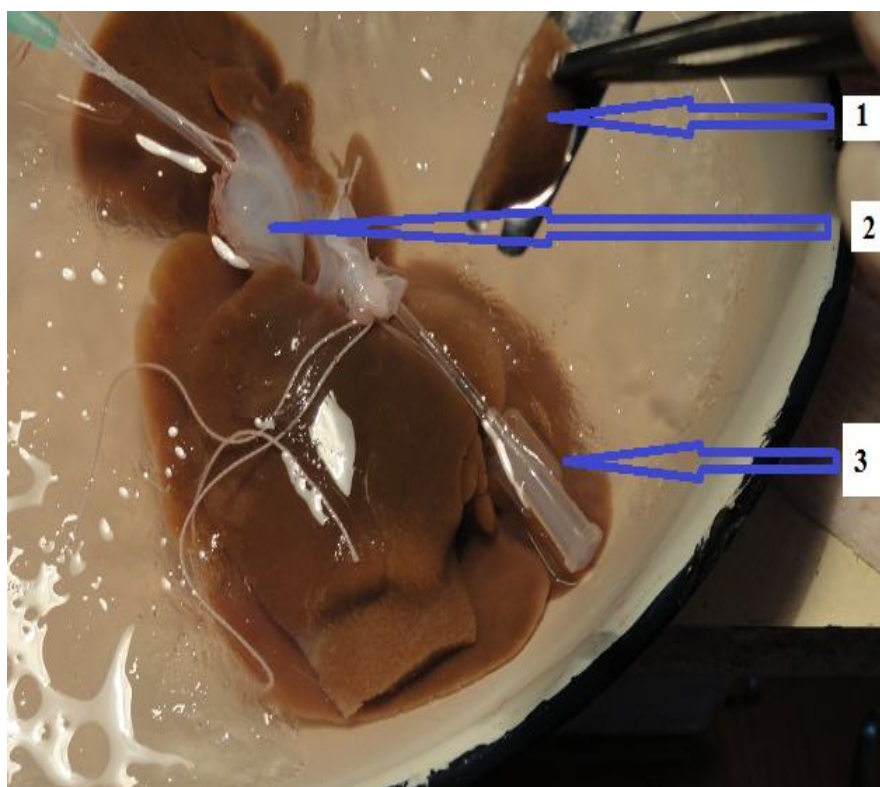


Рисунок 5 – Отмывание эксплантата печени консервирующим раствором от форменных элементов (комбинированный консервант) (1 – Биопсия печени, 2 – Воротная вена с канюлей для отмывания органа, 3 – Канюля в подпеченочном отделе нижней полой вены для оттока перфузата)

Отмывание эксплантата печени консервирующим раствором от форменных элементов. Качество отмывания печени оценивалось объективно по равномерной бледной окраске органа, консистенции и целостности органа.

2.3.2 Техника консервации органа

После отмывания от элементов крови, эксплантат печени переносили в стерильные пакеты с соответствующим консервирующим раствором (в первой группе раствором НТК, во второй группе раствором НТК и неоксигенированная ЭПФОС в соотношении = 4 : 1, в третьей группе неоксигенированная ЭПФОС). Пакет с органом и консервантом помещались в холодильник с контролем температуры. Консервация печени проводилась бесперфузионным методом в течение 8 часов, при температуре 4–5 °С.

2.3.3 Техника реперфузии органа

Перед реперфузией, через 8 часов консервации, эксплантат печени изымали из пакетов и помещали в лоток, отмывали через катетер воротной вены от консервантов и продуктов аутолиза 0,9 % водным раствором хлорида натрия (NaCl), подогретым до 37 °С (рисунок 6).

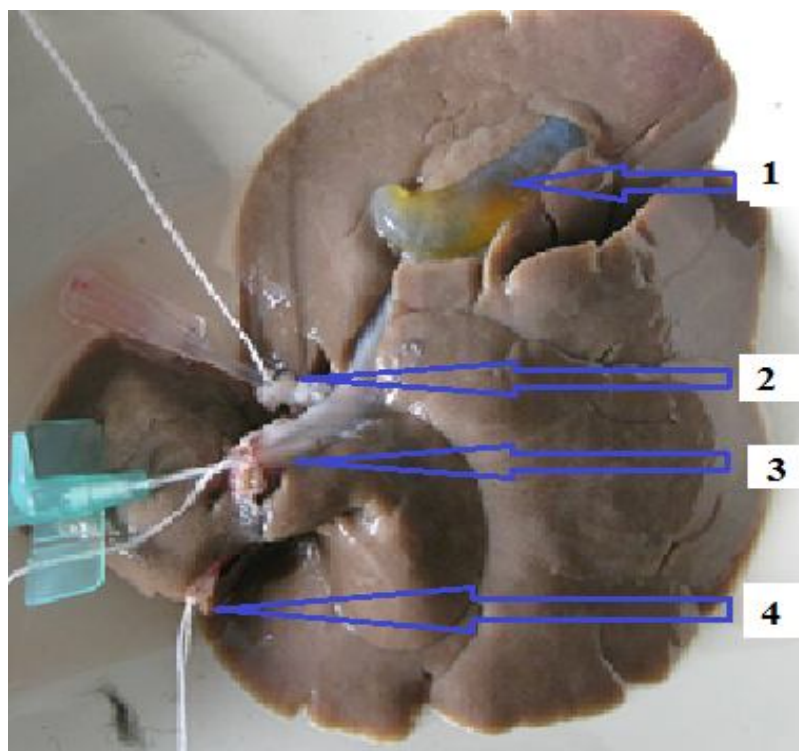


Рисунок 6 – Эксплантат печени после 8 часовой консервации (комбинированный способ) (1 – Желчный пузырь, 2 – Канюля в подпеченочном отделе нижней полой вены для оттока перфузата, 3 – Воротная вена с канюлей для отмывания органа и реперфузии, 4 – лигированный надпеченочный отдел нижней полой вены)

Реперфузия проводилась перфузионным насосом (дозатор) в течение 1 часа артериальной кровью соответствующего кролика. Кровь животного постоянно подогревалась на водяной бане до 37°C (рисунок 7).

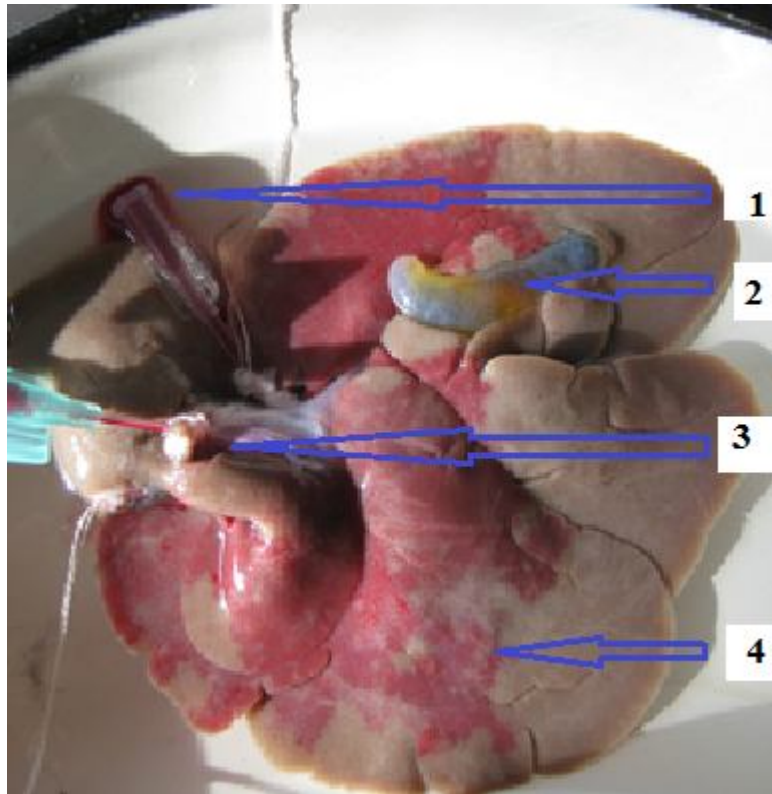


Рисунок 7 – Реперфузия печени (1 – Канюля в подпеченочном отделе нижней полой вены для оттока реперфузионной крови, 2 – Желчный пузырь, 3 – Воротная вена с канюлей, проводится реперфузия, 4 – Пуск кровотока)

После 60 минут реперфузии для гистологического исследования и морфометрии выполнялась биопсия эксплантата печени, для лабораторной диагностики бралась кровь из катетера подпеченочного отдела нижней полой вены (рисунок 8).

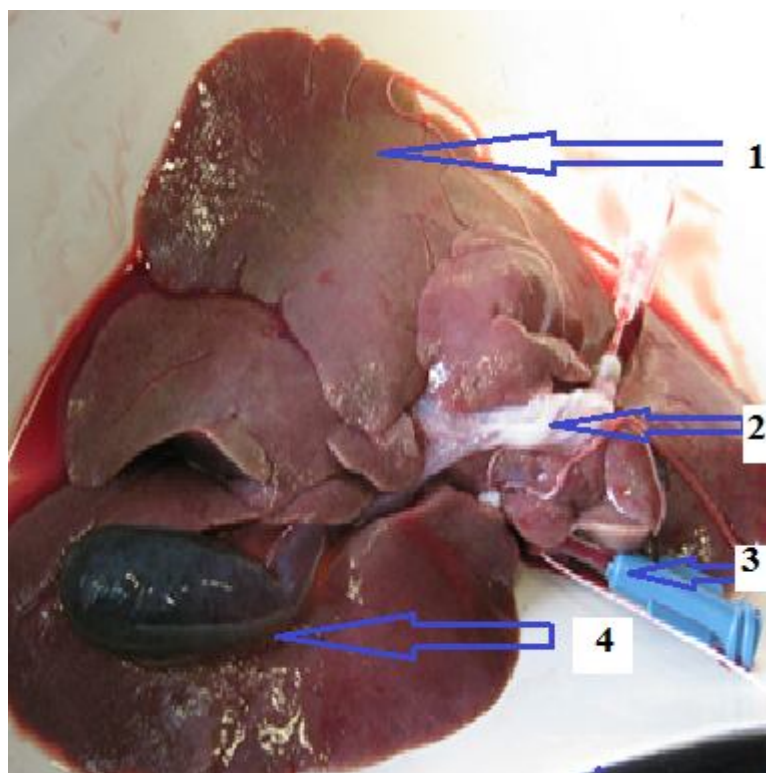


Рисунок 8 – Эксплантат печени после 60 минут реперфузии (1 – Ткань печени после часовой реперфузии, 2 – Воротная вена с канюлей, 3 – Канюля в подпеченочном отделе нижней поллой вены, 4 – Желчный пузырь)

2.4 Методы исследования

2.4.1 Лабораторная диагностика

С целью изучения биохимических показателей, системы гемостаза и общего анализа крови при эксплантации и после реперфузии бралась кровь из нижней поллой вены в вакуумные пробирки для забора венозной крови Vacutaine.

Для определения общего анализа крови применялся анализатор SRFI Countender 80+ (Франция) с использованием реагентов SRFI (Франция): Sheath, Diluton, Dilullair. Аппарат использует импедансный метод определения количества и размеров для подсчета лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов и проточную лазерную цитометрию для определения лейкоформулы.

Для определения биохимических показателей применялся автоматический

биохимический анализатор AMS Sat 450 (Италия) с использованием реагентов Biolab (Франция).

Билирубин общий (прямой (связанный, конъюгированный), непрямой (свободный, неконъюгированный) определялся по методике Malloy-Eveline модификация Walters, единица измерения мкмоль/л.

Гамма-глутамилтранспептидаза (GGT, Гамма-глутамилтрансфераза) определялась по методике Szasz, Rosalki и Tarlow, единица измерения МЕ/л.

Щелочная фосфатаза (ЩФ, Alkaline phosphatase, ALP) методика определения «оптимизированный стандартный метод», рекомендованный Немецкой клинической химической ассоциацией (Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie), единица измерения Ед/л.

Аланинаминотрансфераза (АлАТ, АЛТ, GPT) определялась по методике Wroblewski и LaDue, оптимизированная Henry и Bergmeyer, единица измерения Ед/л.

Аспартатаминотрансфераза (АсАТ, АСТ, GOT) определялась по методике Karmen, оптимизированная Henry, единица измерения Ед/л.

Для определения системы гемостаза применялся автоматический коагулометр Sysmex CA-500 (Япония) с использованием реагентов Siemens (Германия).

Протромбиновый индекс (ПТИ, PT) определялся по формуле: $\text{ПТИ} = (\text{Протромбиновое время контрольной нормальной плазмы} / \text{Протромбиновое время больного}) \times 100 \%$, единица измерения %. Протромбиновое время определялось по Квику (A. Quik).

Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ, АРТТ) определялось по клоттинговой методике, единица измерения сек.

Фибриноген (Fibrinogen, Factor I) определялся по методике Клауса, единица измерения г/л.

2.4.2 Гистологическое исследование

Для гистологического исследования и морфометрии была выполнена биопсия печени 60 кроликов до консервации и после 8 часов консервации в различных

консервирующих растворах. Произведено более 240 гистологических и морфометрических исследований. Для приготовления препаратов ткань печени фиксировалась в 10 % нейтральном формалине. Для исследования готовились парафиновые срезы 5–7 микрометров.

Методы окраски гистологических препаратов.

Метод окраски гематоксилином и эозином:

- 1) срезы депарафинируют и доводят до воды;
- 2) на срез наливают несколько капель профильтрованного раствора гематоксилина. Продолжительность окраски 0,5–5 минут в зависимости от качества и зрелости гематоксилина. Целлоидиновые и замороженные срезы помещают в чашечку с раствором красителя;
- 3) смыв красителя в склянку, препарат помещают в большую чашку с водопроводной водой на 3–10 минут (до посинения среза). Целлоидиновые и замороженные срезы переносят иголочкой или лопаточкой в сосуд с водопроводной водой;
- 4) срезы докрашивают эозином. Для этого на срез наливают несколько капель красителя на 0,2–3 минуты. Замороженные и целлоидиновые срезы переносят в раствор эозина;
- 5) обезвоживают в спиртах восходящей крепости, начиная с 70 %, просветляют в карбол-ксилоле, ксилоле и заключают в бальзам.

Результат: ядра клеток окрашиваются в сине-фиолетовый цвет, цитоплазма – в розовый.

Метод окраски по Ван Гизону:

- 1) перекрасить срезы в свежеприготовленном гематоксилине Вейгерта (2–3 минуты).
- 2) хорошо сполоснуть в двух порциях воды;
- 3) окрасить в пиррофуксине в течение 2–3 минут;
- 4) быстро сполоснуть в воде (5–15 секунд);
- 5) провести срезы через 96 % спирт, повторно наливая его и выдерживая в нем от 1 до 3 минут;

б) просветлить срезы в карбол-ксилоле, обработать ксилолом и заключить в бальзам.

Качество окраски препаратов необходимо контролировать под микроскопом, для чего срез повторно извлекают из пирюфуксина и быстро прополаскивают в воде. При сильном переокрашивании срезов железным гематоксилином их дифференцируют 1 % солянокислым спиртом в течение 30–60 секунд.

Результат: ядра окрашиваются в черный цвет, соединительная ткань (коллаген) – в ярко-красный, мышечный и эластичные волокна – в желтый, нервная ткань – в желто-серый.

При гистологической картине биопсии печени до консервации и после реперфузии учитывались следующие критерии: 1 – сохранность дольчатой структуры печени, 2 – равномерность паренхиматозного рисунка, 3 – отек, холестаз и инфильтрация портальных трактов гепатоцитов, 4 – полнокровие сосудистого русла, 5 – дистрофия и изменения ядер гепатоцитов [47; 77; 111].

При изучении гистологических препаратов использовался лабораторный микроскоп Leica DME с фотокамерой, предназначенный для наблюдения тонкопленочных препаратов при большом увеличении в проходящем свете и обладающий высоким качеством оптической системы и прецизионным взаимодействием механических элементов.

2.4.3 Морфометрия

Протокол патоморфологической оценки биоптатов печени основан на патогистологических критериях, выраженных в баллах [4; 10]. Учитывая изоморфизм, морфологические и функциональные отличия лабораторных животных – критерии патоморфологической оценки скорректированы и адаптированы.

1) Жировая дистрофия гепатоцитов (0 б. – отсутствует, 1 б. – 1 степень (до 33 %); 2 б. – 2 степень (до 66 %), 3 б. – 3 степень (более 66 %).

2) Белковая дистрофия гепатоцитов (0 б. – отсутствует, 1 б. – лёгкой

степени (очаговая), 2 б. – умеренной степени (очагово-диффузная), 3 б. – тяжёлой степени (диффузная гидропическая).

3) Некроз гепатоцитов (0 б. – отсутствует, 1 б. – единичные клетки, 2 б. – очаговый, 3 б. – обширный центролобулярный).

4) Деструктивные изменения центральных вен (0 б. – отсутствуют, 1 б. – лёгкая степень (отек и деструкция до 25 % периметра поперечного сечения вены), 2 б. – средняя степень (отек и деструкция более 25 % периметра поперечного сечения вены), 3 б. – тяжелая степень (некроз всей стенки центральной вены).

5) Деструктивные изменения межклеточного матрикса (0 б. – отсутствуют, 1 б. – лёгкая степень (отек и деструкция до 25 % межклеточного матрикса), 2 б. – средняя степень (отек и деструкция более 25 % межклеточного матрикса), 3 б. – тяжелая степень (некроз всего межклеточного матрикса).

6) Отек портальных трактов (0 б. – отсутствует, 1 б. – лёгкой степени (преимущественно в меньшей части триад), 2 б. – умеренной степени (в большей части триад), 3 б. – тяжёлой степени (в большей части триад, с вовлечением перипортальных зон).

7) Деструктивные изменения артерий (0 б. – отсутствуют, 1 б. – лёгкая степень (отек и деструкция до 25 % периметра поперечного сечения артерии), 2 б. – средняя степень (отек и деструкция более 25 % периметра поперечного сечения артерии), 3 б. – тяжелая степень (некроз всей стенки печёочной артерии).

8) Деструктивные изменения портальных трактов (0 б. – отсутствуют, 1 б. – лёгкая степень (отек и деструкция до 25 % периметра поперечного сечения вены), 2 б. – средняя степень (отек и деструкция более 25 % периметра поперечного сечения вены), 3 б. – тяжелая степень (некроз всей стенки печёочной вены).

При комплексном суммировании баллов определяются патоморфологические изменения эксплантата печени: сумма баллов от 0 до 10 – патология лёгкой степени, от 11 до 15 – средней степени и от 16 до 24 – тяжёлой степени

2.5 Статистические методы оценки результатов

Обработка данных проводилась в программе STATISTICA 6.0 сетевая версия (правообладатель лицензии – ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» Минздрава России, номер лицензии – AXXR009E747530FAN25), для описательных статистик были рассчитаны средние значения, стандартное отклонение, ошибка среднего. Проверка нормальности распределения полученных данных проводилась визуальной оценкой графиков-гистограмм в модуле описательной статистики и с помощью критерия Шапиро-Уилка W. Полученные данные имеют ненормальное распределение. Для выявления различий в средних значениях признаков выполнялось попарное сравнение групп с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни. Сравнение процентов осуществлялось с помощью углового преобразования Фишера, для выявления взаимосвязей строились таблицы сопряженности и применялся критерий Пирсона. Для оценки влияния консервирующего раствора на исследуемые показатели применялся однофазный дисперсионный анализ с повторными измерениями. В случаях множественного сравнения применена поправка Бонферрони. Статистически значимыми различия считались при $p < 0,05$. При множественных сравнениях с учетом поправки Бонферрони различия считались статистически значимыми при $p < 0,017$ [13; 14].

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Статистическая обработка данных до консервации печеночного эксплантата

Для описательной статистики данных до консервации эксплантатов печени кроликов были рассчитаны в группах средние значения, стандартное отклонение, стандартная ошибка. В Таблице 2 представлены клинико-биохимические показатели в первой группе лабораторных животных.

Таблица 2 – Описательные статистики показателей в первой группе эксплантатов печени кроликов до консервации

Параметры	N наблюдения	Среднее значение	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
Билирубин общий, мкмоль/л	20	3,32	1,2	6,4	1,38	0,31
Билирубин связанный, мкмоль/л	20	0,89	0,1	2,2	0,56	0,12
Билирубин свободный, мкмоль/л	20	2,43	0,6	4,7	1,19	0,27
Аспартатаминотрансфераза, U/L	20	52,09	29,4	74,9	16,18	3,62
Аланинаминотрансфераза, U/L	20	59,6	36	80,5	13,15	2,94
Щелочная фосфатаза, U/L	20	110,15	37	217	67,34	15,06
Гаммаглутамилтрансфераза, U/L	20	10,69	0	34,1	8,98	2,01
Протромбиновый индекс, %	20	88,25	69	100	11,03	2,47
АЧТВ, секунда	20	36,25	24	42	4,28	0,96
Фибриноген, г/л	20	2,95	2,1	3,8	0,49	0,11
Эритроциты, $10^{12}/л$	20	3,12	2,5	3,9	0,47	0,11
Гемоглобин, г/л	20	98,85	82	116	10,98	2,46
Тромбоциты, $10^9/л$	20	201,3	180	230	13,15	2,94
Лейкоциты, $10^9/л$	20	4	1,5	5,5	1	0,22
Палочкоядерные нейтрофилы %	20	0,65	0	3	0,93	0,21
Сегментоядерные нейтрофилы, %	20	20,2	10	28	3,91	0,88
Эозинофилы, %	20	3,55	1	6	1,28	0,29

Продолжение таблицы 2

Параметры	N наблюдения	Среднее значение	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
Базофилы, %	20	0,7	0	2	0,8	0,18
Лимфоциты, %	20	70	60	79	4,69	1,05
Моноциты, %	20	4,8	0	12	2,48	0,56

В Таблице 3 представлены клинико-биохимические показатели во второй группе лабораторных животных.

Таблица 3 – Описательные статистики показателей во второй группе эксплантатов печени кроликов до консервации

Параметры	N наблюдения	Среднее значение	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
Билирубин общий, мкмоль/л	20	3,22	1,6	4,9	1,06	0,24
Билирубин связанный, мкмоль/л	20	0,85	0,2	2,2	0,56	0,12
Билирубин свободный, мкмоль/л	20	2,37	1,3	3,7	0,73	0,16
Аспартатаминотрансфераза, U/L	20	51,84	36,1	77,8	10,67	2,38
Аланинаминотрансфераза, U/L	20	58,48	40,1	88,9	13,51	3,02
Щелочная фосфатаза, U/L	20	95,35	40	187	37,94	8,48
Гаммаглутамилтрансфераза, U/L	20	8,08	4,1	14	2,8	0,62
Протромбиновый индекс, %	20	91,25	67	100	9,87	2,21
АЧТВ, секунда	20	35,6	31	40	2,37	0,53
Фибриноген, г/л	20	3	2	3,8	0,5	0,11
Эритроциты, $10^{12}/л$	20	3,25	2,1	3,9	0,55	0,12
Гемоглобин, г/л	20	100,45	86	118	9,2	2,06
Тромбоциты, $10^9/л$	20	217,55	176	290	32,39	7,24
Лейкоциты, $10^9/л$	20	4,02	3,2	4,7	0,41	0,09
Палочкоядерные нейтрофилы %	20	1,1	0	2	0,85	0,19
Сегментоядерные нейтрофилы, %	20	20,85	15	27	3,86	0,86

Продолжение таблицы 3

Параметры	N наблюдения	Среднее значение	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
Эозинофилы, %	20	2,95	1	5	1,15	0,26
Базофилы, %	20	1	0	2	0,79	0,18
Лимфоциты, %	20	67,7	40	76	8,21	1,83
Моноциты, %	20	5,4	1	12	2,6	0,58

В Таблице 4 представлены клинико-биохимические показатели в третьей группе лабораторных животных.

Таблица 4 – Описательные статистики показателей в третьей группе эксплантатов печени кроликов до консервации

Параметры	N наблюдения	Среднее значение	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
Билирубин общий, мкмоль/л	20	2,73	2,1	3,5	0,42	0,09
Билирубин связанный, мкмоль/л	20	0,75	0,2	1,2	0,34	0,08
Билирубин свободный, мкмоль/л	20	1,93	1,1	3	0,53	0,12
Аспартатаминотрансфераза, U/L	20	55,48	16,9	81,2	15,14	3,39
Аланинаминотрансфераза, U/L	20	58,62	34,9	87	13,74	3,07
Щелочная фосфатаза, U/L	20	81,65	14	129	37,89	8,47
Гаммаглутамилтрансфераза, U/L	20	8,6	5	13,8	2,43	0,54
Протромбиновый индекс, %	20	87,9	67	100	11,92	2,67
АЧТВ, секунда	20	36,4	28	41	3,65	0,82
Фибриноген, г/л	20	3	2,2	3,8	0,48	0,11
Эритроциты, $10^{12}/л$	20	3,29	2,1	3,9	0,51	0,11
Гемоглобин, г/л	20	95,55	83	113	8,48	1,9
Тромбоциты, $10^9/л$	20	208	190	238	13,81	3,09
Лейкоциты, $10^9/л$	20	4	3,5	4,9	0,43	0,1
Палочкоядерные нейтрофилы %	20	0,9	0	2	0,79	0,18

Продолжение таблицы 4

Параметры	N наблюдения	Среднее значение	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
Сегментоядерные нейтрофилы, %	20	21	15	28	4,29	0,96
Эозинофилы, %	20	2,96	1	6	1,61	0,36
Базофилы, %	20	0,8	0	2	0,62	0,14
Лимфоциты, %	20	68,95	60	78	5,27	1,18
Моноциты, %	20	5,25	3	10	1,86	0,42

С помощью критерия Манна – Уитни попарно сравнивались средние значения показателей в различных группах кроликов. Статистически значимыми считаются различия при $p < 0,05$. Однако данный критерий применяют три раза, поэтому необходимо изменить уровень значимости различий, путем введения поправки Бонферрони. При этом уровень значимости различий (p) будет равен $0,05 / 3 = 0,017$.

В Таблице 5 представлены результаты сравнения с помощью критерия Манна – Уитни средних значений клинико-биохимических показателей в первой и во второй группах лабораторных животных.

Таблица 5 – Результаты сравнения средних значений показателей в первой и во второй группах эксплантатов печени кроликов до консервации

Показатель	Среднее значение показателя в группе		Уровень значимости различий (p)
	1	2	
Билирубин общий, мкмоль/л	3,31	3,21	0,989209
Билирубин связанный, мкмоль/л	0,89	0,85	0,797198
Билирубин свободный, мкмоль/л	2,43	2,36	0,989209
Аспаратаминотрансфераза, U/L	52,09	51,84	0,797197
Аланинаминотрансфераза, U/L	59,6	58,48	0,675014
Щелочная фосфатаза, U/L	110,15	95,35	0,956855

Продолжение таблицы 5

Показатель	Среднее значение показателя в группе		Уровень значимости различий (p)
	1	2	
Гаммаглутамилтрансфераза, U/L	10,69	8,08	0,735268
Протромбиновый индекс, %	88,25	91,25	0,417078
АЧТВ, секунда	36,25	35,6	0,279252
Фибриноген, г/л	2,95	3	0,786775
Эритроциты, $10^{12}/л$	3,12	3,24	0,323482
Гемоглобин, г/л	98,85	100,45	0,524987
Тромбоциты, $10^9/л$	201,3	217,55	0,151672
Лейкоциты, $10^9/л$	3,99	4,02	0,440750
Палочкоядерные нейтрофилы, %	0,65	1,1	0,104589
Сегментоядерные нейтрофилы, %	20,2	20,85	0,807656
Эозинофилы, %	3,55	2,95	0,163597
Базофилы, %	0,7	1	0,255914
Лимфоциты, %	70	67,7	0,551775
Моноциты, %	4,8	5,4	0,083265

Критерий Манна – Уитни показал, что по всем показателям статистически значимых различий в средних значениях показателей в сравниваемых первой и во второй группах эксплантатов печени кроликов до консервации не выявлено.

В Таблице 6 представлены результаты сравнения с помощью критерия Манна – Уитни средних значений клинико-биохимических в первой и третьей группах эксплантатов печени кроликов до консервации.

Таблица 6 – Результаты сравнения средних значений показателей в первой и в третьей группах эксплантатов печени кроликов до консервации

Показатель	Среднее значение показателя в группе		Уровень значимости различий (p)
	1	3	
Билирубин общий, мкмоль/л	3,31	2,73	0,239323
Билирубин связанный, мкмоль/л	0,89	0,75	0,512848
Билирубин свободный, мкмоль/л	2,43	1,93	0,279250
Аспаратаминотрансфераза, U/L	52,08	55,48	0,481827
Аланинаминотрансфераза, U/L	59,6	58,62	0,635866
Щелочная фосфатаза, U/L	110,15	81,65	0,244458
Гаммаглутамилтрансфераза, U/L	10,68	8,59	0,956835
Протромбиновый индекс, %	88,25	87,9	0,978362
АЧТВ, секунда	36,25	36,4	0,913317
Фибриноген, г/л	2,95	2,99	0,755086
Эритроциты, $10^{12}/л$	3,11	3,29	0,188380
Гемоглобин, г/л	98,85	95,55	0,342949
Тромбоциты, $10^9/л$	201,3	208	0,194148
Лейкоциты, $10^9/л$	3,995	4,01	0,295927
Палочкоядерные нейтрофилы, %	0,65	0,9	0,225639
Сегментоядерные нейтрофилы, %	20,2	21	0,733591
Эозинофилы, %	3,55	2,96	0,194148
Базофилы, %	0,7	0,8	0,516644
Лимфоциты, %	70	68,95	0,704909
Моноциты, %	4,8	5,25	0,645622

Критерий Манна – Уитни показал, что по всем показателям статистически значимых различий в средних значениях показателей в сравниваемых первой и в третьей группах эксплантатов печени кроликов до консервации не выявлено.

В Таблице 7 представлены результаты сравнения с помощью критерия Манна – Уитни средних значений клинико-биохимических во второй и третьей группах эксплантатов печени кроликов до консервации.

Таблица 7 – Результаты сравнения средних значений показателей во второй и в третьей группах эксплантатов печени кроликов до консервации

Показатель	Среднее значение показателя в группе		Уровень значимости различий (p)
	2	3	
Билирубин общий, мкмоль/л	3,21	2,73	0,159544
Билирубин связанный, мкмоль/л	0,85	0,75	0,725100
Билирубин свободный, мкмоль/л	2,36	1,93	0,081031
Аспаратаминотрансфераза, U/L	51,84	55,48	0,180577
Аланинаминотрансфераза, U/L	58,47	58,62	0,818150
Щелочная фосфатаза, U/L	95,35	81,65	0,766046
Гаммаглутамилтрансфераза, U/L	8,08	8,59	0,560852
Протромбиновый индекс, %	91,25	87,9	0,473481
АЧТВ, секунда	35,6	36,4	0,350703
Фибриноген, г/л	3	2,99	0,755743
Эритроциты, $10^{12}/л$	3,24	3,29	0,745483
Гемоглобин, г/л	100,45	95,55	0,151672
Тромбоциты, $10^9/л$	217,55	208	0,645622
Лейкоциты, $10^9/л$	4,02	4,01	0,694891
Палочкоядерные нейтрофилы, %	1,1	0,9	0,465175
Сегментоядерные нейтрофилы, %	20,85	21	0,881731
Эозинофилы, %	2,95	2,96	0,860430
Базофилы, %	1	0,8	0,448809
Лимфоциты, %	67,7	68,95	0,839232
Моноциты, %	5,4	5,25	0,967634

Критерий Манна – Уитни показал, что по всем показателям статистически значимых различий в средних значениях показателей в сравниваемых второй и в третьей группах эксплантатов печени кроликов до консервации не выявлено.

Некроза гепатоцитов, деструктивных изменений центральных вен, деструктивных изменений межклеточного матрикса, отека и деструктивных изменений портальных трактов, деструктивных изменений артерий в биоптате эксплантатов печени кроликов из всех 3 групп не наблюдались.

3.2 Статистическая обработка данных после консервации печеночного эксплантата

Для описательной статистики данных после консервации эксплантатов печени кроликов, были рассчитаны в группах средние значения, стандартное отклонение, стандартная ошибка. В таблице 8 представлены клинико-биохимические показатели в первой группе лабораторных животных после 8 часовой консервации эксплантатов печени кроликов в НТК растворе.

Таблица 8 – Описательные статистики показателей в первой группе эксплантатов печени кроликов после консервации

Параметры	N наблюдения	Среднее значение	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
Билирубин общий, мкмоль/л	20	5,81	5,2	6,5	0,42	0,09
Билирубин связанный, мкмоль/л	20	1,33	1	1,6	0,18	0,04
Билирубин свободный, мкмоль/л	20	4,48	3,9	5,5	0,45	0,10
Аспартатаминотрансфераза, U/L	20	606,73	454	743	76,07	17,01
Аланинаминотрансфераза, U/L	20	614,17	347	776	103,45	23,13
Щелочная фосфатаза, U/L	20	193,4	111	429	86,98	19,45
Гаммаглутамилтрансфераза, U/L	20	40,85	32	56	6,96	1,56
Протромбиновый индекс, %	20	62,8	54	70	5,22	1,17
АЧТВ, секунда	20	53,6	46	61	4,98	1,11
Фибриноген, г/л	20	1,66	1,4	2,1	0,18	0,04
Эритроциты, $10^{12}/л$	20	2,65	1,2	3,7	0,65	0,15
Гемоглобин, г/л	20	64,5	31	88	15,31	3,42
Тромбоциты, $10^9/л$	20	270,8	213	322	31,88	7,13
Лейкоциты, $10^9/л$	20	5,29	2,6	7,4	1,41	0,32
Палочкоядерные нейтрофилы %	20	7,1	5	10	1,74	0,39
Сегментоядерные нейтрофилы, %	20	34,4	19	45	7,67	1,72
Эозинофилы, %	20	2,05	1	5	1	0,22

Продолжение таблицы 8

Параметры	N наблюдения	Среднее значение	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
Базофилы, %	20	0,85	0	2	0,88	0,2
Лимфоциты, %	20	53,6	43	68	7,07	1,58
Моноциты, %	20	2	1	4	0,73	0,16

В таблице 9 представлены клинико-биохимические показатели во второй группе лабораторных животных после 8 часовой консервации эксплантатов печени кроликов в комбинированном растворе (НТК: неоксигенированная ЭПФОС = 4 : 1).

Таблица 9 – Описательные статистики показателей во второй группе эксплантатов печени кроликов после консервации

Параметры	N наблюдения	Среднее значение	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
Билирубин общий, мкмоль/л	20	5,44	5	5,8	0,27	0,06
Билирубин связанный, мкмоль/л	20	1,28	1	1,6	0,16	0,04
Билирубин свободный, мкмоль/л	20	4,16	3,8	4,6	0,25	0,06
Аспартатаминотрансфераза, U/L	20	322,82	198, 8	522, 1	95,13	21,27
Аланинаминотрансфераза, U/L	20	277,6	230	467	59,92	13,4
Щелочная фосфатаза, U/L	20	90,8	72	105	10,05	2,25
Гаммаглутамилтрансфераза, U/L	20	25,8	21	34	3,62	0,81
Протромбиновый индекс, %	20	74,7	65	81	4,62	1,03
АЧТВ, секунда	20	45,35	41	52	2,68	0,6
Фибриноген, г/л	20	2,33	2	2,9	0,23	0,05
Эритроциты, $10^{12}/л$	20	2,68	1,8	3,5	0,54	0,12
Гемоглобин, г/л	20	65,7	38	98	16,99	3,8
Тромбоциты, $10^9/л$	20	258,4	201	298	30,1	6,73

Продолжение таблицы 9

Параметры	N наблюдения	Среднее значение	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	20	5	1,4	7,9	1,92	0,43
Палочкоядерные нейтрофилы %	20	5,05	2	8	1,96	0,44
Сегментоядерные нейтрофилы, %	20	31,25	22	40	5,37	1,2
Эозинофилы, %	20	2,3	1	5	1,08	0,24
Базофилы, %	20	0,7	0	2	0,66	0,15
Лимфоциты, %	20	59,05	49	67	5,62	1,26
Моноциты, %	20	1,85	1	3	0,59	0,13

В таблице 10 представлены клинико-биохимические показатели в третьей группе лабораторных животных после 8 часовой консервации эксплантатов печени кроликов в неоксигенированной ЭПФОС.

Таблица 10 – Описательные статистики показателей в третьей группе эксплантатов печени кроликов после консервации

Параметры	N наблюдения	Среднее значение	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
Билирубин общий, мкмоль/л	20	6,31	5,6	7,7	0,53	0,12
Билирубин связанный, мкмоль/л	20	1,5	1,1	2,6	0,37	0,08
Билирубин свободный, мкмоль/л	20	4,76	4	5,6	0,49	0,11
Аспартатаминотрансфераза, U/L	20	1040,1 5	878	1225	106,21	23,75
Аланинаминотрансфераза, U/L	20	978,1	768	1254	105	23,5
Щелочная фосфатаза, U/L	20	337,9	215	422	61,67	13,79
Гаммаглутамилтрансфераза, U/L	20	63,9	52	77	7,09	1,58
Протромбиновый индекс, %	20	39,6	27	48	5,99	1,34
АЧТВ, секунда	20	56,55	50	66	3,98	0,89
Фибриноген, г/л	20	1,39	0,8	1,8	0,25	0,05

Продолжение таблицы 10

Параметры	N наблюдения	Среднее значение	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
Эритроциты, $10^{12}/л$	20	2,57	1,6	3,5	0,48	0,11
Гемоглобин, г/л	20	58,65	32	89	15,12	3,38
Тромбоциты, $10^9/л$	20	239,5	204	301	26	5,81
Лейкоциты, $10^9/л$	20	5,63	2,3	7,9	1,92	0,43
Палочкоядерные нейтрофилы %	20	8,35	6	11	1,57	0,35
Сегментоядерные нейтрофилы, %	20	38	21	47	7,89	1,76
Эозинофилы, %	20	1,95	1	3	0,76	0,17
Базофилы, %	20	1	0	2	0,86	0,19
Лимфоциты, %	20	48,3	36	65	8,05	1,8
Моноциты, %	20	2,4	1	4	0,94	0,21

В таблице 11 представлены результаты сравнения с помощью критерия Манна – Уитни средних значений клинико-биохимических показателей в первой и во второй группах после 8 часовой консервации эксплантатов печени кроликов.

Таблица 11 – Результаты сравнения средних значений показателей в первой и во второй группах эксплантатов печени кроликов после 8 часовой консервации

Показатель	Среднее значение показателя в группе		Уровень значимости различий (p)
	1	2	
Билирубин общий, мкмоль/л	5,81	5,44	0,002086
Билирубин связанный, мкмоль/л	1,33	1,28	0,4101610
Билирубин свободный, мкмоль/л	4,48	4,16	0,007515
Аспаратаминотрансфераза, U/L	606,73	322,82	0,000000
Аланинаминотрансфераза, U/L	614,17	277,6	0,000000
Щелочная фосфатаза, U/L	193,4	90,8	0,000006
Гаммаглутамилтрансфераза, U/L	40,85	25,8	0,000000
Протромбиновый индекс, %	62,8	74,7	0,000000

Продолжение таблицы 11

Показатель	Среднее значение показателя в группе		Уровень значимости различий (p)
	1	2	
АЧТВ, секунда	53,6	45,35	0,000000
Фибриноген, г/л	1,66	2,32	0,000000
Эритроциты, $10^{12}/л$	2,65	2,68	0,874759
Гемоглобин, г/л	64,5	65,7	0,815732
Тромбоциты, $10^9/л$	270,8	258,4	0,213679
Лейкоциты, $10^9/л$	5,29	5	0,588980
Палочкоядерные нейтрофилы, %	7,1	5,05	0,001223
Сегментоядерные нейтрофилы, %	34,4	31,25	0,140808
Эозинофилы, %	2,05	2,3	0,452117
Базофилы, %	0,85	0,7	0,543499
Лимфоциты, %	53,6	59,05	0,010328
Моноциты, %	2	1,85	0,476685

Анализ результатов, представленных в таблице 11, позволяет сделать вывод о том, что в первой группе после 8 часовой консервации эксплантатов печени кролика, по сравнению со второй группой, статистически значимо выше уровень общего и свободного билирубина, АСТ, АЛТ, ГГТ, ЩФ, АЧТВ, % палочкоядерных нейтрофилов и статистически значимо ниже уровень % лимфоцитов, фибриногена и ПТИ.

В Таблице 12 представлены результаты сравнения с помощью критерия Манна – Уитни средних значений клинико-биохимических показателей в первой и в третьей группах после 8 часовой консервации эксплантатов печени кроликов.

Таблица 12 – Результаты сравнения средних значений показателей в первой и в третьей группах эксплантатов печени кроликов после 8 часовой консервации

Показатель	Среднее значение показателя в группе		Уровень значимости различий (p)
	1	3	
Билирубин общий, мкмоль/л	5,81	6,31	0,002100
Билирубин связанный, мкмоль/л	1,33	1,55	0,002244
Билирубин свободный, мкмоль/л	4,48	4,76	0,067196
Аспаратаминотрансфераза, U/L	606,73	1040,15	0,000000
Аланинаминотрансфераза, U/L	614,17	978,1	0,000000
Щелочная фосфатаза, U/L	193,4	337,9	0,000000
Гаммаглутамилтрансфераза, U/L	40,85	63,9	0,000000
Протромбиновый индекс, %	62,8	39,6	0,000000
АЧТВ, секунда	53,6	56,55	0,004530
Фибриноген, г/л	1,66	1,39	0,000245
Эритроциты, $10^{12}/л$	2,65	2,57	0,659501
Гемоглобин, г/л	64,5	58,65	0,231555
Тромбоциты, $10^9/л$	270,8	239,5	0,001586
Лейкоциты, $10^9/л$	5,29	5,63	0,521706
Палочкоядерные нейтрофилы, %	7,1	8,35	0,022153
Сегментоядерные нейтрофилы, %	34,4	38	0,151681
Эозинофилы, %	2,05	1,95	0,723440
Базофилы, %	0,85	1	0,587412
Лимфоциты, %	53,6	48,3	0,032956
Моноциты, %	2	2,4	0,140283

Анализ результатов, представленных в таблице 12, позволяет сделать вывод о том, что в первой группе эксплантатов печени кроликов после 8 часовой консервации, по сравнению с третьей группой, статистически значимо выше уровень фибриногена, ПТИ, тромбоцитов и статистически значимо ниже уровень общего и свободного билирубина, АСТ, АЛТ, ГГТ, ЩФ, АЧТВ.

В таблице 13 представлены результаты сравнения с помощью критерия Манна – Уитни средних значений клинико-биохимических показателей во второй

и в третьей группах после 8 часовой консервации эксплантатов печени кроликов.

Таблица 13 – Результаты сравнения средних значений показателей во второй и в третьей группах эксплантатов печени кроликов после 8 часовой консервации

Показатель	Среднее значение показателя в группе		Уровень значимости различий (p)
	2	3	
Билирубин общий, мкмоль/л	5,44	6,31	0,000000
Билирубин связанный, мкмоль/л	1,28	1,55	0,006086
Билирубин свободный, мкмоль/л	4,16	4,76	0,000015
Аспартатаминотрансфераза, U/L	322,82	1040,15	0,000000
Аланинаминотрансфераза, U/L	277,6	978,1	0,000000
Щелочная фосфатаза, U/L	90,8	337,9	0,000000
Гаммаглутамилтрансфераза, U/L	25,8	63,9	0,000000
Протромбиновый индекс, %	74,7	39,6	0,000000
АЧТВ, секунда	45,35	56,55	0,000000
Фибриноген, г/л	2,32	1,39	0,000000
Эритроциты, $10^{12}/л$	2,68	2,57	0,499558
Гемоглобин, г/л	65,7	58,65	0,173846
Тромбоциты, $10^9/л$	258,4	239,5	0,040154
Лейкоциты, $10^9/л$	5	5,63	0,302374
Палочкоядерные нейтрофилы, %	5,05	8,35	0,000001
Сегментоядерные нейтрофилы, %	31,25	38	0,003061
Эозинофилы, %	2,3	1,95	0,243376
Базофилы, %	0,7	1	0,222145
Лимфоциты, %	59,05	48,3	0,000018
Моноциты, %	1,85	2,4	0,032551

Анализ результатов, представленных в таблице 13, позволяет сделать вывод о том, что во второй группе эксплантатов печени кроликов после 8 часовой консервации, по сравнению с третьей группой, статистически значимо выше уровень фибриногена, лимфоцитов, ПТИ и статистически значимо ниже уровень общего, свободного и связанного билирубина, АСТ, АЛТ, ГГТ, ЩФ, АЧТВ,

% палочкоядерных и % сегментоядерных нейтрофилов.

3.3 Оценка морфометрических показателей после консервации эксплантата печени

После 8 часовой консервации с помощью корреляционного анализа оценивалось влияние различных типов применяемых препаратов (НТК, НТК + неоксигенированная ЭПФОС, неоксигенированная ЭПФОС) на показатели морфометрии печеночных эксплантатов (биоптатов) кроликов, данные представлены в таблице 14. Сравнение процентов в группах осуществлялось с помощью углового преобразования Фишера (с учетом множественных сравнений введена поправка Бонферрони $p = 0,017$), для выявления взаимосвязей строились таблицы сопряженности, и применялся критерий Пирсона ($p < 0,05$).

Таблица 14 – Сопряженность, отражающая влияние применяемых консервантов в различных группах на патоморфологические критерии в баллах

Патогистологические критерии	Баллы	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Уровень значимости различий (p)
Жировая дистрофия гепатоцитов $\chi^2 = 5,2$ ($p = 0,07$)	0	12 (60 %)	16 (80 %)	9 (45 %)	2-3 ($p = 0,01$)
	1	8 (40 %)	4 (20 %)	11 (55 %)	—
Белковая дистрофия гепатоцитов $\chi^2 = 37,9$ ($p = 0,000001$)	1	0 (0 %)	12 (60 %)	0 (0 %)	1-2 ($p = 0,0001$); 2-3 ($p = 0,0001$)
	2	16 (80 %)	8 (40 %)	10 (50 %)	1-2 ($p = 0,007$)
	3	4 (20 %)	0 (0 %)	10 (50 %)	—
Некроз гепатоцитов $\chi^2 = 40,6$ ($p = 0,000001$)	1	1 (5 %)	17 (85 %)	1 (5 %)	1-2 ($p = 0,000001$); 2-3 ($p = 0,000001$)
	2	14 (70 %)	3 (15 %)	8 (40 %)	1-2 ($p = 0,0006$);
	3	5 (25 %)	0 (0 %)	11 (55 %)	—

Продолжение таблицы 14

Патогистологические критерии	Баллы	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Уровень значимости различий (p)
Деструктивные изменения центральных вен $\chi^2 = 38,4$ (p = 0,000001)	0	0 (0 %)	6 (30 %)	0 (0 %)	1-2 (p = 0,006); 2-3 (p = 0,006)
	1	7 (35 %)	12 (60 %)	0 (0 %)	2-3 (p = 0,0001); 1-3 (p = 0,003)
	2	11 (55 %)	2 (10 %)	15 (75 %)	1-2 (p = 0,002); 2-3 (p = 0,0001)
	3	2 (10 %)	0 (0 %)	5 (25 %)	2-3 (p = 0,01)
Деструктивные изменения межклеточного матрикса $\chi^2 = 11,3$ (p = 0,02)	0	1 (5 %)	8 (40 %)	5 (25 %)	1-2 (p = 0,006)
	1	13 (65 %)	12 (60 %)	10 (50 %)	—
	2	6 (30 %)	0 (0 %)	5 (25 %)	1-2 (p = 0,006); 2-3 (p = 0,01)
Отек портальных трактов $\chi^2 = 30,7$ (p = 0,000001)	1	10 (50 %)	17 (85 %)	1 (5 %)	1-2 (p = 0,01); 1-3 (p = 0,001); 2-3 (p = 0,00001)
	2	10 (50 %)	3 (15 %)	14 (70 %)	1-2 (p = 0,01); 2-3 (p = 0,0006)
	3	0 (0 %)	0 (0 %)	5 (25 %)	1-3 (p = 0,01); 2-3 (p = 0,01)
Деструктивные изменения артерий $\chi^2 = 44,4$ (p = 0,000001)	0	0 (0 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	—
	1	10 (50 %)	18 (90 %)	0 (0 %)	1-2 (p = 0,004); 1-3 (p = 0,0004); 2-3 (p = 0)
	2	10 (50 %)	1 (5 %)	12 (60 %)	1-2 (p = 0,001); 2-3 (p = 0,0003)
	3	0 (0 %)	0 (0 %)	8 (40 %)	1-3 (p = 0,001); 2-3 (p = 0,001)

Окончание таблицы 14

Патогистологические критерии	Баллы	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Уровень значимости различий (p)
Деструктивные изменения портальных трактов 2 = 43,56 (p = 0,000001)	0	0 (0 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	—
	1	9 (45 %)	14 (70 %)	0 (0 %)	1-3 (p = 0,0008); 2-3 (p = 0)

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

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

Влияние препаратов на некроз гепатоцитов является статистически значимым ($p = 0,000001$). Так во второй группе, по сравнению с первой и третьей, статистически значимо выше процент эксплантатов печени кроликов с минимальной степенью некроза гепатоцитов (1-2 ($p = 0,000001$); 2-3 ($p = 0,000001$) и отсутствует процент эксплантатов печени кроликов с тяжелой степенью некроза гепатоцитов.

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

процент эксплантатов печени кроликов имеет среднюю степень ($p = 0,002$ и $p = 0,0001$).

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

Влияние препаратов на развитие отека портальных трактов является значимым ($p = 0,000001$). Во второй, группе по сравнению с первой и третьей, больший процент эксплантатов печени кроликов имеют легкую (1-2 ($p = 0,01$); 1-3 ($p = 0,001$); 2-3 ($p = 0,00001$)) и среднюю (1-2 ($p = 0,01$); 2-3 ($p = 0,0006$)) степень отека портальных трактов. В то время как в третьей группе, процент эксплантатов печени кроликов с отеком портальных трактов тяжелой степени статистически значимо выше, чем в остальных группах ($p = 0,01$).

Влияние препаратов на развитие деструктивных изменений артерий является значимым ($p = 0,000001$). Во второй группе по сравнению с первой и третьей у большего процента эксплантатов печени кроликов деструктивных изменений артерий выявлены изменения легкой степени (1-2 ($p = 0,004$); 1-3 ($p = 0,0004$); 2-3 ($p = 0$)). При сравнении результатов в первой и третьей группах было получено, что в третьей группе 40 % эксплантатов печени кроликов имеют тяжелую степень деструктивных изменений (1-3 ($p = 0,001$); 2-3 ($p = 0,001$)), в то время как в первой и второй группах не было эксплантатов, имеющих данную степень деструкции.

Влияние препаратов на развитие деструктивных изменений портальных трактов является значимым ($p = 0,000001$). Во второй группе по сравнению с первой и третьей группой наблюдались деструктивные изменения легкой степени (1-3 ($p = 0,0008$); 2-3 ($p = 0$)). При сравнении результатов в первой и третьей группах было получено, что в третьей группе 65 % эксплантатов печени кроликов

имеют тяжелую степень деструктивных изменений, в то время как в первой и второй группах не было эксплантатов, имеющих данную степень деструкции (1-3 ($p = 0$); 2-3 ($p = 0$)).

Описательные статистики (среднее, стандартное отклонение, стандартная ошибка) патоморфологической оценки эксплантата печени до и после консервации в различных группах представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Результаты сравнения средних значений показателей в группах до и после 8 часовой консервации эксплантатов печени кроликов

Описательные статистики морфометрической оценки печеночного эксплантата						
Группа	до консервации			после консервации		
	среднее значение	стандартное отклонение	стандартная ошибка	среднее значение	стандартное отклонение	стандартная ошибка
1	0,15	0,37	0,082	12,35	0,88	0,196
2	0,2	0,41	0,092	7,5	1,36	0,303
3	0,15	0,37	0,082	16,05	1,15	0,256

Распределение по уровням степени тяжести патоморфологических изменений эксплантата печени кроликов (сумма баллов от 0 до 10 – патоморфологические изменения лёгкой степени, от 11 до 15 – патоморфологические изменения средней степени и от 16 до 19 – патоморфологические изменения тяжёлой степени) в трех группах представлено в таблице 16.

Таблица 16 – Распределение по уровню патоморфологических изменений печеночного эксплантата по группам

Уровень морфометрической оценки печеночного эксплантата	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Уровень значимости различий (p)
Патоморфологические изменения лёгкой степени	1 (5%)	20 (100%)	0 (0%)	1-2 ($p=0,0000001$); 2-3 ($p=0,0000001$)

Продолжение таблицы 16

Уровень морфометрической оценки печеночного эксплантата	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Уровень значимости различий (p)
Патоморфологические изменения средней степени	19 (95%)	0 (0%)	8 (40%)	1-3 (p=0,0003)
Патоморфологические изменения тяжёлой степени	0 (0%)	0 (0%)	12 (60%)	—

Анализ результатов, представленных в таблице 16, позволяет сделать следующие выводы: все эксплантаты печени кроликов из второй группы имеют патоморфологические изменения в печени легкой степени тяжести. Статистически значимо больший процент эксплантатов печени кроликов из первой группы, по сравнению с третьей группой ($p = 0,0003$), имеют патоморфологические изменения в печени средней степени тяжести. В то время как 60 % эксплантатов печени кроликов из третьей группы имеют тяжелую степень патоморфологических изменений в печени.

3.4 Дисперсионный анализ полученных данных

С помощью дисперсионного анализа с повторными измерениями сравнивались средние значения показателей в разных группах и разных замерах. Данный вид статистического анализа данных позволяет отвечать на следующие вопросы: 1) влияет ли группа на исследуемый показатель (существуют ли значимые различия в среднем значении показателя в зависимости от группы); 2) влияет ли консервация органа на исследуемый показатель (произошли ли статистически значимые изменения в средних значениях показателя); 3) влияет ли на исследуемый показатель взаимосвязь факторов: группы и консервация (с учетом множественных сравнений введена поправка Бонферрони $p = 0,017$).

Основные результаты дисперсионного анализа при оценке среднего значения общего билирубина представлены на рисунке 9.

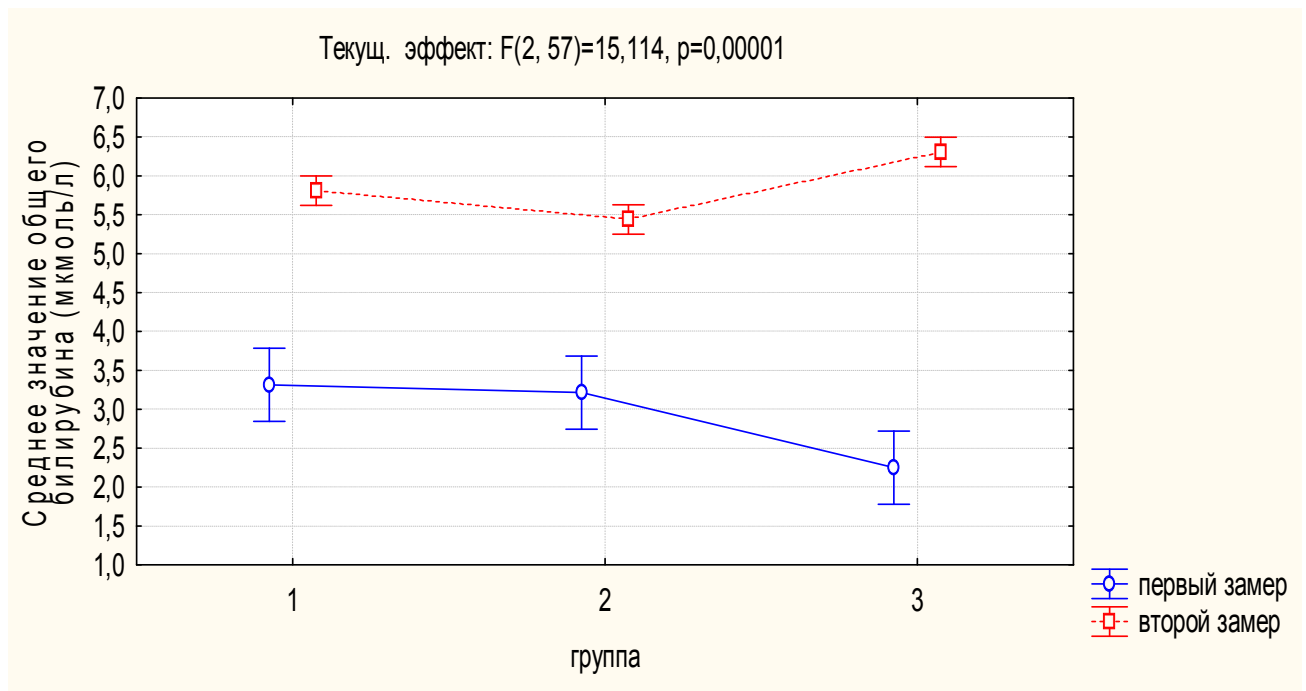


Рисунок 9 – График средних значений общего билирубина (мкмоль/л) в трех группах до и после консервации

Дисперсионный анализ показал, что произошли статистически значимые изменения в среднем значении показателей в различных группах до и после консервации эксплантатов печени кроликов ($p = 0,00001$). Причем, если до консервации эксплантатов в третьей группе наблюдался самый низкий уровень билирубина, то после 8 часовой консервации эксплантатов печени кроликов, наиболее низкий уровень наблюдается во второй группе, в то время, как самый высокий уровень билирубина у эксплантатов печени кроликов третьей группы.

Основные результаты дисперсионного анализа при оценке среднего значения аспартатаминотрансферазы (АсАТ) до и после 8 часовой консервации представлены на рисунке 10.

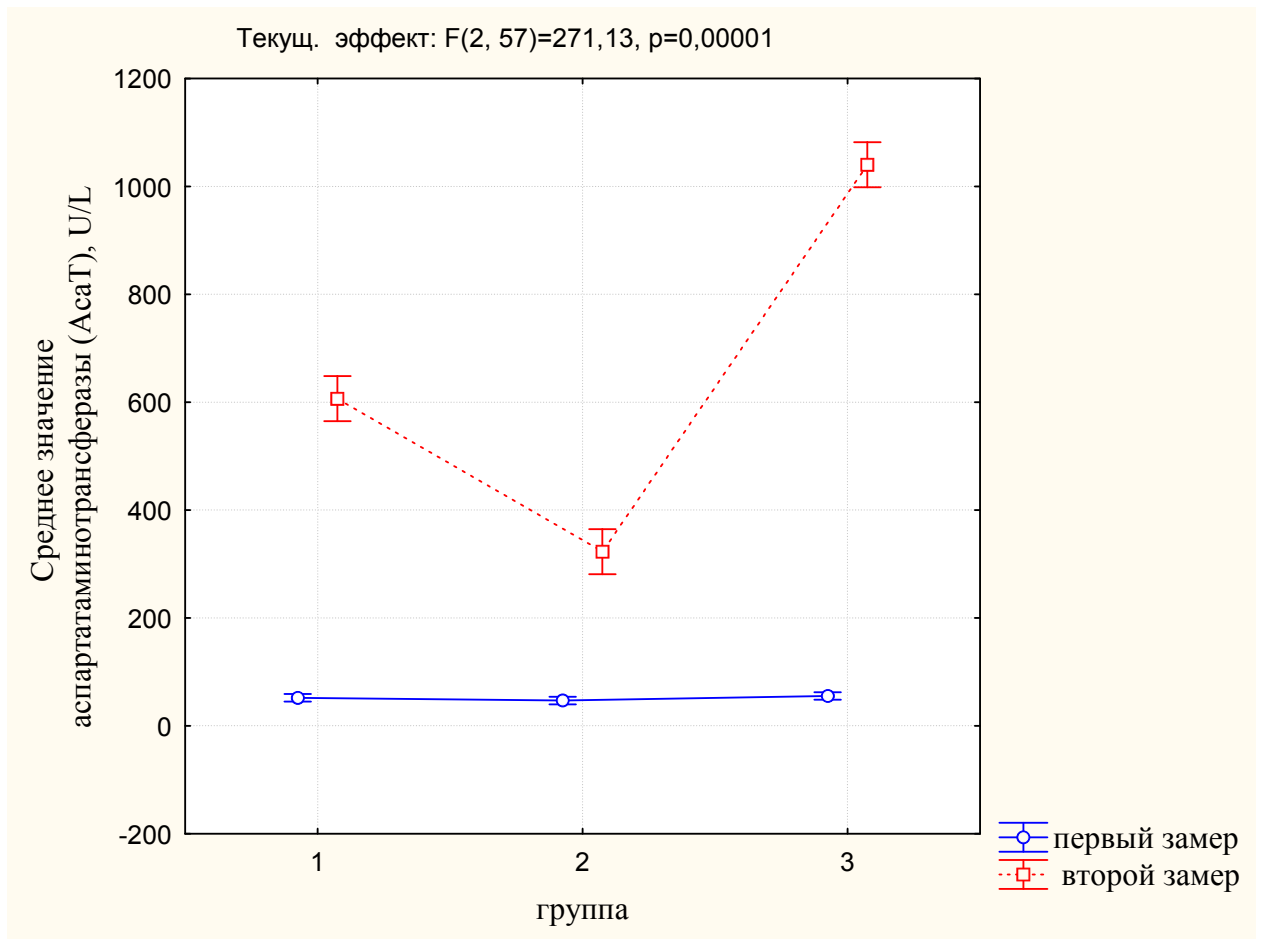


Рисунок 10 – График средних значений аспартатаминотрансферазы (АсаТ), U/L в трех группах до и после 8 часовой консервации

Дисперсионный анализ показал, что на исследуемый показатель влияет взаимосвязь факторов ($p = 0,00001$): имеются статистически значимые различия в средних значениях показателя до и после 8 часовой консервации эксплантатов печени кроликов в зависимости от группы. Так, если до консервации средние значения АсаТ в трех группах различались незначимо, то после консервации имеют место статистически значимые различия: наиболее низкий уровень АсаТ наблюдается во второй группе, в то время, как в первой и третьей группах, уровень АсаТ был статистически значимо выше.

Основные результаты дисперсионного анализа при оценке среднего значения аланинаминотрансферазы (АлаТ) в группах до и после 8 часовой консервации представлены на рисунке 11.

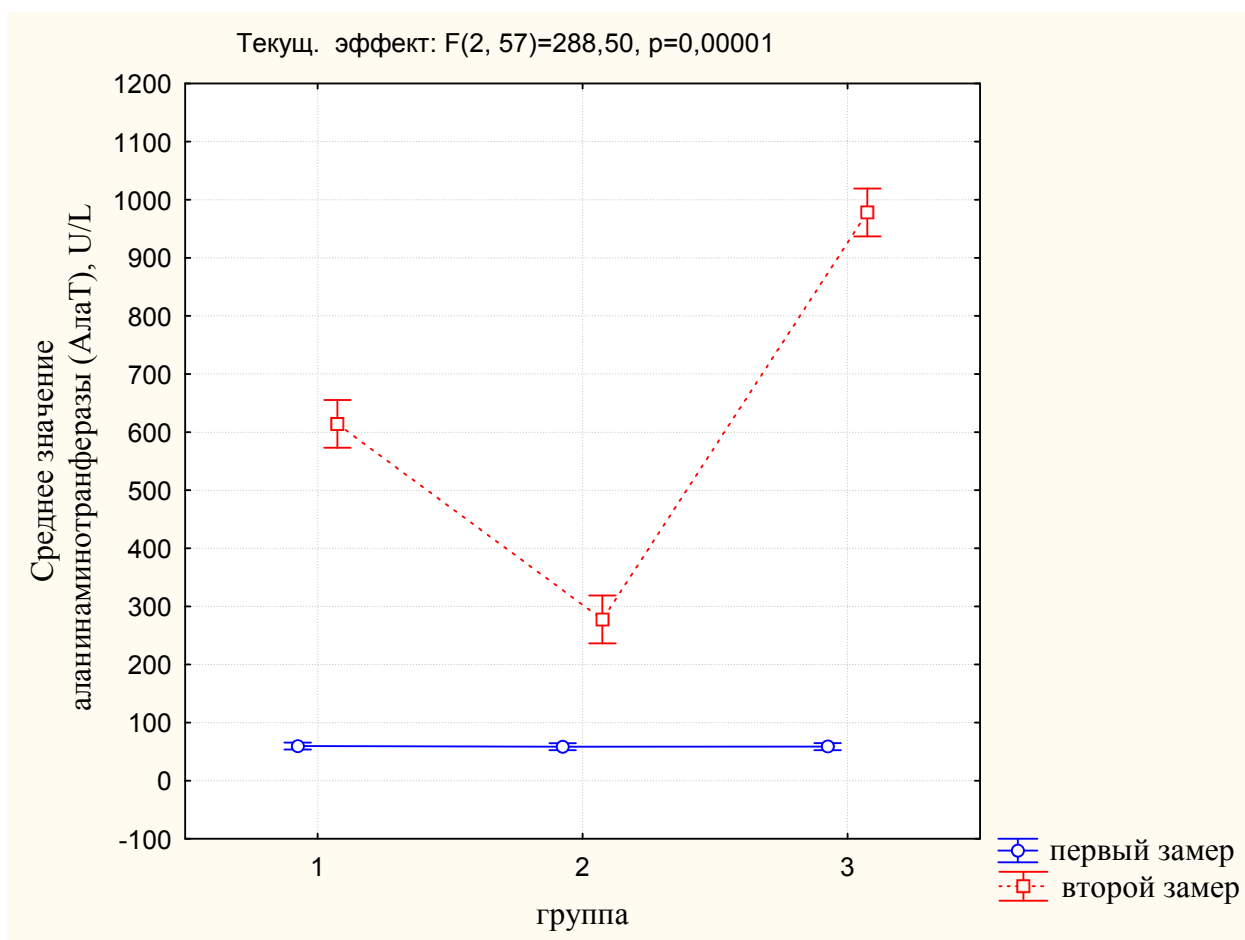


Рисунок 11 – График средних значений аланинаминотрансферазы (АлаТ) в трех группах до и после 8 часовой консервации

Дисперсионный анализ показал, что выявлены статистически значимые изменения в средних значениях показателя, произошедшие до и после 8 часовой консервации в разных группах ($p = 0,00001$). Причем, если до консервации эксплантатов печени кроликов средние значения АлаТ в трех группах различались незначимо, то после 8 часовой консервации эксплантатов наиболее низкий уровень наблюдается во второй группе, а самый высокий – в третьей группе.

На рисунке 12 представлен график средних значений морфометрических показателей печеночного эксплантата до и после 8 часовой консервации.

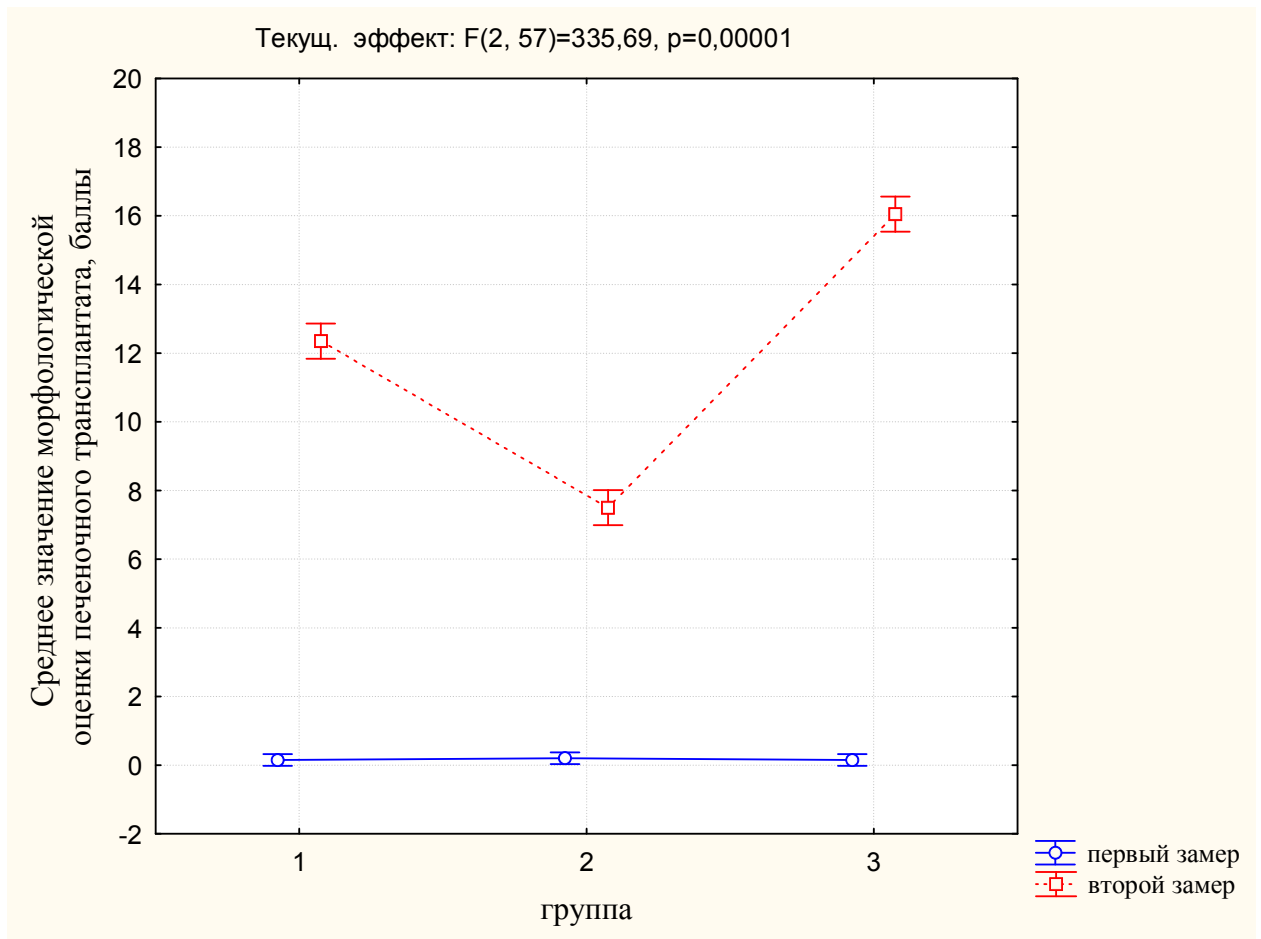


Рисунок 12 – Среднее значение морфометрической оценки эксплантата печени кроликов в различных группах до и после 8 часовой консервации

Дисперсионный анализ показал, что выявлены статистически значимые изменения в средних значениях показателя, произошедшие до и после 8 часовой консервации в разных группах ($p = 0,00001$). Причем, если до консервации средние значения морфометрической оценки эксплантатов в трех группах различались незначимо, то после 8 часовой консервации патоморфологические изменения лёгкой степени наблюдаются во второй группе, а патоморфологические изменения тяжёлой степени в третьей группе.

Таким образом, по всем показателям (клиническим, биохимическим и патоморфологическим) статистически значимых различий в группах до консервации эксплантатов печени кроликов не было. После 8 часовой консервации печеночных эксплантатов кроликов отмечены статистически

значимые различия клинических и биохимических показателей в группах. Патоморфологические изменения в эксплантатах после 8 часовой консервации также имеют статистически значимые различия. Также выявлено статистически значимое влияние консервирующего раствора в группах на патоморфологические изменения в эксплантате печени кролика.

ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Трансплантация печени является стандартом лечения больных с терминальной стадией заболевания печени и с нерезектабельными опухолями печени. Количество пациентов, ожидающих трансплантации печени постоянно растет. Эта ситуация привела к принятию расширения критериев к донорам печени. Использование трансплантатов от «маргинальных» доноров привело к росту билиарных стриктур, острому и сверхострому отторжению органов и ПНФТ, а, соответственно, и росту ретрансплантаций.

Ишемическое повреждение трансплантата является основным фактором повреждения тканей при трансплантации, а, следовательно, является основной причиной ПНФТ. Оксидативный стресс, обусловленный дисбалансом производством и инактивацией АФК, играет важную роль в ИРП, в значительной степени из-за окислительной деструкции липидов, белков и нуклеиновых кислот в пораженной ткани.

Медикаментозная терапия является перспективной методикой для профилактики ИП при трансплантации органов. Тем не менее, важные параметры должны быть приняты во внимание, прежде чем проводить медикаментозную интервенцию: механизм образования свободных радикалов очень сложен и требует углубленного понимания патогенеза ИП. АФК обладают чрезвычайно коротким периодом полураспада. Сроки вмешательства имеют решающее значение. Некоторые медикаментозные препараты могут оказывать про-окислительные эффекты при определенных обстоятельствах.

Различия между дозой медикаментозного препарата, временем и способом введения могут привести к непредвиденным результатам. Оценка медикаментозного воздействия препаратов требует лабораторных испытаний, в которых эффекты от лечения могут быть тщательно изучены, а только затем рекомендованы для клинического применения.

В нашей работе мы рассмотрели применение неоксигенированной ЭПФОС для профилактики ИП при длительной консервации эксплантатов печени у

лабораторных животных.

Исследования проведены на 60 кроликах, разделенных на 3 группы по 20 животных. Животные были одного пола, возраста и массы. До эксперимента кровь животных бралась на исследования (биохимические показатели, система гемостаза и общий анализ крови). Для гистологического исследования выполнялась биопсия печени до эксплантации. Проведена статистическая обработка данных: критерий Манна – Уитни показал, что по всем показателям статистически значимых различий в средних значениях показателей в сравниваемых группах до консервации не выявлено. Проведенная патоморфологическая оценка показала также отсутствие значимых различий в значениях показателей в сравниваемых группах эксплантатов печени кроликов до консервации. Гистологическая картина печеночного эксплантата до консервации представлена на рисунке 13.

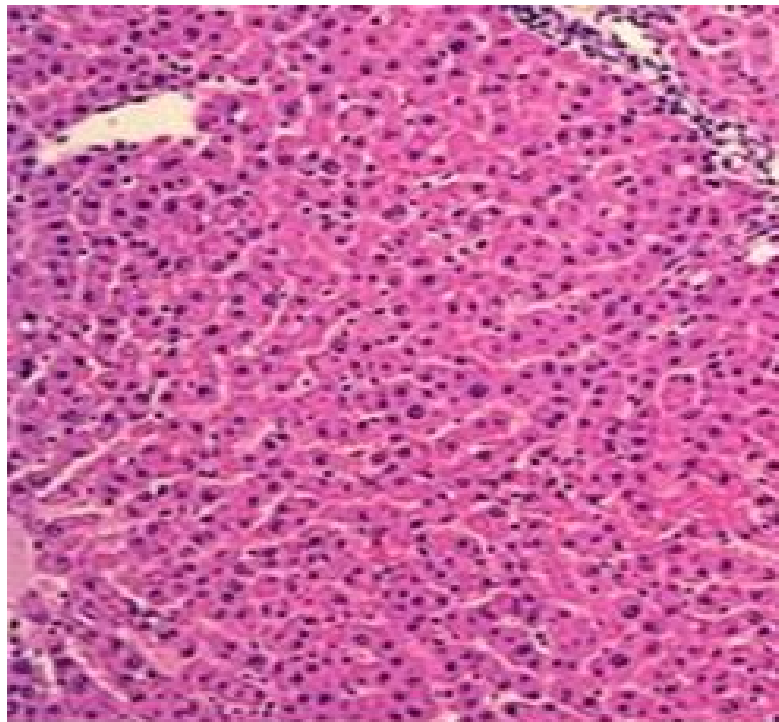


Рисунок 13 – Окраска гематоксилин-эозин. Ткань печени кролика до консервации

Таким образом, при сравнении статистически значимых различий в

сравниваемых группах не выявлено.

После консервации эксплантатов печени кроликов отмечаются статистически значимые различия в группах в зависимости от консервирующего раствора.

При сравнении с помощью критерия Манна – Уитни в группе с комбинированным консервантом после 8 часовой консервации эксплантатов печени кролика по сравнению с первой и третьей группами статистически значимо ниже уровень общего билирубина ($p_{1-2} = 0,002086$, $p_{2-3} = 0,000000$), а наиболее высокий уровень билирубина отмечается в третьей группе.

При сравнении с помощью критерия Манна – Уитни во второй группе (комбинированный консервант) после 8 часовой консервации эксплантатов печени кролика, по сравнению с первой и третьей группами, статистически значимо ниже уровень АсаТ и АлаТ – синдром цитолиза: (АсаТ $p_{1-2} = 0,000000$, $p_{2-3} = 0,000000$; АлаТ $p_{1-2} = 0,000000$, $p_{2-3} = 0,000000$), а наиболее высокий уровень АсаТ и АлаТ отмечается в третьей группе.

При сравнении с помощью критерия Манна – Уитни во второй группе после 8 часовой консервации эксплантатов печени кролика по сравнению с первой и третьей группами статистически значимо ниже уровень ЩФ и ГГТ: (ЩФ $p_{1-2} = 0,000006$, $p_{2-3} = 0,000000$; ГГТ $p_{1-2} = 0,000000$, $p_{2-3} = 0,000000$), а наиболее высокий уровень ЩФ и ГГТ отмечается в третьей группе.

При сравнении с помощью критерия Манна – Уитни во второй группе после 8 часовой консервации эксплантатов печени кролика, по сравнению с первой и третьей группами, статистически значимо выше уровень гемостаза (фибриноген, ПТИ, АЧТВ), то есть показатели наиболее приближены к норме: (фибриноген $p_{1-2} = 0,000006$, $p_{2-3} = 0,000000$; ПТИ $p_{1-2} = 0,000000$, $p_{2-3} = 0,000000$, АЧТВ $p_{1-2} = 0,000000$, $p_{2-3} = 0,000000$), а проявления наиболее тяжелой гипокоагуляции отмечаются в третьей группе.

При сравнении с помощью критерия Манна – Уитни во второй группе после 8 часовой консервации эксплантатов печени кролика, по сравнению с первой и третьей группами, статистически значимо ниже уровень % палочкоядерных

нейтрофилов ($p_{1-2} = 0,001223$, $p_{2-3} = 0,000001$), а наиболее выраженный палочкоядерный сдвиг лейкоцитарной формулы отмечаются в третьей группе. При сравнении с помощью критерия Манна – Уитни после 8 часовой консервации эксплантатов печени кролика статистически значимых различий в группах по остальным клиническим показателям не выявлено.

В эксплантатах печени кролика в 1 группе после 8 часовой консервации в НТК имеются преимущественно (95 %) патоморфологические изменения средней степени, а 5 % – изменения легкой степени и имеются статистически значимые различия по средней степени изменений ($1-2 \quad p = 0,0000001$, $1-3 \quad p = 0,0003$). Гистологическая картина печеночного эксплантата кролика в 1 группе после 8 часовой консервации представлена на рисунке 14.

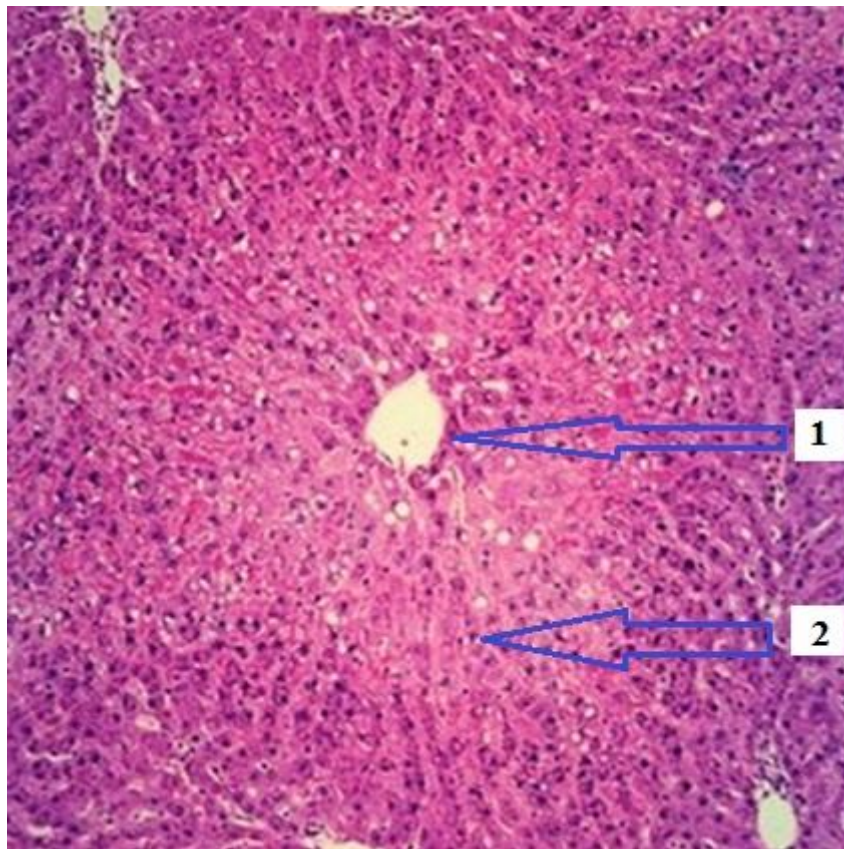


Рисунок 14 – Окраска гематоксилин-эозин. Ткань печени кролика в 1 группе после 8 часовой консервации (1 – Центральная вена, 2 – Ишемический мелкоочаговый некроз гепатоцитов)

При дисперсионном анализе после 8 часовой консервации комбинированным способом в эксплантатах печени кролика отмечено, что патоморфологические изменения имеют легкую степень тяжести и статистически значимые различия по легкой степени изменений ($p = 0,0000001$). Гистологическая картина печеночного эксплантата печени кролика в 2 группе после 8 часовой консервации представлена на рисунке 15.

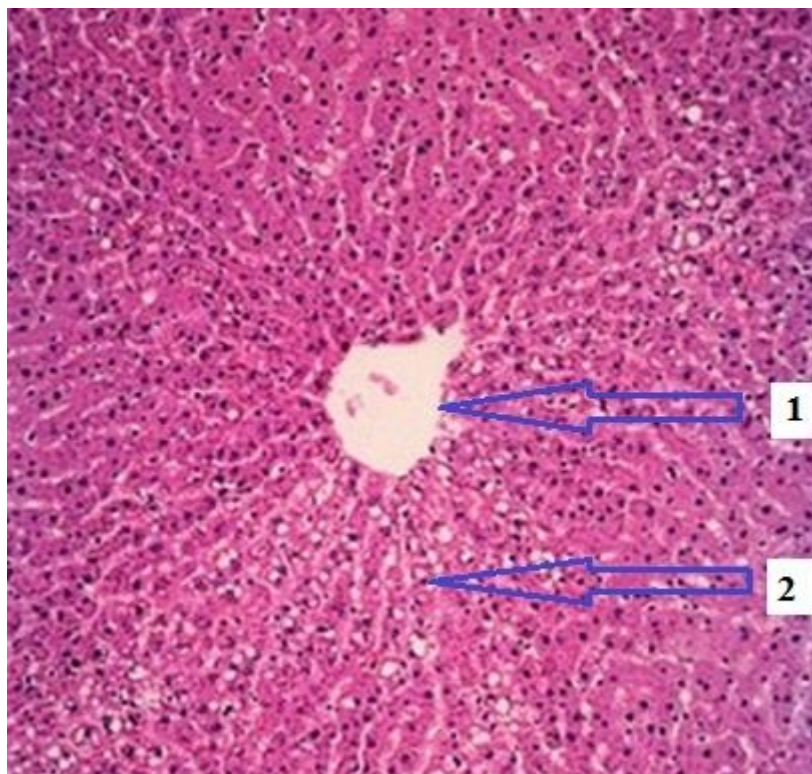


Рисунок 15 – Окраска гематоксилин-эозин. Ткань печени кролика после 8 часовой консервации 2 группа (1 – Центральная вена, 2 – Отсутствие очагового некроза)

При дисперсионном анализе после 8 часовой консервации в неоксигенированной ЭПФОС в эксплантатах печени кролика в 3 группе отмечена у 60 % биоптатов тяжелая степень патоморфологических изменений, а у 40 % – средняя степень тяжести и статистически значимые различия по тяжелой степени изменений ($p = 0,0000001$). Гистологическая картина печеночного эксплантата печени кролика в 3 группе после 8 часовой консервации представлена на рисунке 16.

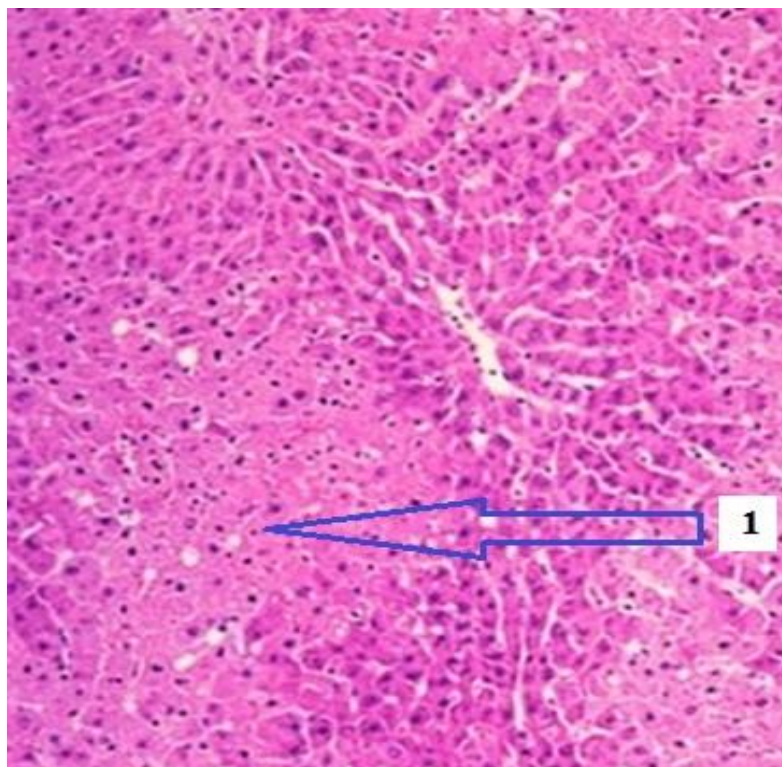


Рисунок 16 – Окраска гематоксилин-эозин. Ткань печени кролика после 8 часовой консервации 3 группа (1 – центролобулярный некроз гепатоцитов, некроза межклеточного матрикса и сосудистых структур)

Критерий Пирсона показал, что влияние консервирующего раствора на развитие на белковой дистрофии гепатоцитов, некроза гепатоцитов, деструктивных изменений центральных вен, деструктивных изменений межклеточного матрикса, отека и деструктивных изменений портальных трактов, деструктивных изменений артерий является значимым. Критерий Пирсона показал, что влияние препаратов на развитие жировой дистрофии гепатоцитов является не значимым.

По результатам исследования каждый из используемых в указанной комбинации препаратов обладает противоишемическим эффектом. Однако, в комбинации эти препараты минимизируют ишемическое повреждение эксплантат печени в еще более значительной степени.

ЭПФОС, как консервант, не предотвращает отек клетки (Осмолярность – 280–310 мОсм/л; pH – 7,2–7,8); не влияет на калий-натриевый насос, ввиду

концентрации ионов натрия и калия, приближенных к плазме крови; невозможность поддержания гомеостаза и pH клетки, ввиду отсутствия в составе буферной системы. ЭПФОС не влияет на внутриклеточный метаболизм и, тем самым, не поддерживает внутриклеточный гомеостаз во время холодовой ишемии. Применение ЭПФОС заключается в акцепции активных форм кислорода и отсутствие влияния на клеточный метаболизм в условиях ишемии [3; 11].

Входящие в состав НТК компоненты (маннит, триптофан, гистидин, α -кетоглутарат), имея большую молекулярную массу, не проникают в клетку, а следовательно, препятствуют отеку гепатоцита. Гистидин является одновременно составляющей буферной системы и обладает антиоксидантными свойствами, что способствует стабилизации клеточных мембран. Органосохраняющие эффекты НТК обусловлены, прежде всего, его осмолярностью, которая в условиях гипоксии профилактирует развитие внутриклеточного отека, а, следовательно, и механизма осмотического повреждения гепатоцита. Однако, реализующиеся в условиях ишемии механизмы ферментативного и свободно-радикального повреждения гепатоцитов, НТК не устраняет. Поэтому, для устранения свободно-радикального повреждения в данных экспериментах, была использована неоксигенированная ЭПФОС. Его способность растворять в 20 раз больше кислорода, чем плазма крови и послужила основанием для применения при консервации печеночного трансплантата с целью уменьшения ишемического повреждения в печеночном эксплантате. При этом ЭПФОС, растворяясь в липидах клеточных мембран, акцептирует образующиеся АФК. При этом, еще один повреждающий фактор в патогенезе ишемического повреждения нивелируется.

Таким образом, более выраженные органосохраняющие эффекты комбинированного консервирующего раствора на основе НТК и неоксигенированной ЭПФОС обусловлены его осмолярностью и антиоксидантной активностью, препятствующей в условиях ишемии развитию внутриклеточного отека, осмотического и свободно-радикального лизиса, а, следовательно, профилактирующего и ферментативный цитолиз гепатоцитов.

Добавление неоксигенированной ЭПФОС в НТК раствор в соотношении 1 : 4 и консервации при +4 °С в течение 8 часов повышает качество и надежность противоишемической защиты эксплантата в этом растворе: уменьшаются площади дистрофических и нежизнеспособных участков печени, снижается количество патологических ядер в гепатоцитах. Основным преимуществом неоксигенированной ЭПФОС является его интактность к тканям и органам, то есть препарат не метаболизируется в клетках (гепатоцитах) в отличие от других антиоксидантов. Применение комбинированного консерванта позволяет профилактировать ИП в печеночном эксплантате путем поглощения АФК молекулами ЭПФОС и, тем самым, предотвращая повреждение органов и тканей.

В нашем исследовании мы показали, что комбинированный консервант статистически значимо уменьшает ИП печеночного эксплантата, со значительным снижением уровня АлаТ и АсаТ по сравнению с другими группами. Также отмечается при применении комбинированного консерванта статистически значимые отличия в патоморфологической картине в отличие от других групп. Таким образом, в группе с комбинированным консервантом отмечается статистически значимое снижение ИП после 8 часовой консервации эксплантата печени кролика.

Хотя наше понимание основной патофизиологии ИП эксплантата печени при консервации значительно продвинулись в последнее десятилетие, эти идеи, полученные экспериментально еще не полностью интегрированы в клиническую практику.

Таким образом, современное представление об уменьшении ИП печеночного эксплантата остается краеугольным камнем в клинической практике. Тем не менее, терапевтические подходы, такие, как фармакологическая интервенция, смогут способствовать предотвращению или ограничению ИП. Применение комбинированного консервирующего раствора – новой терапевтической концепции для профилактики ИП печеночного эксплантата, в дальнейшем, возможно, найдет применение и в клинической практике.

ВЫВОДЫ

1. Разработанная модель проведения хирургического эксперимента универсальна, клинически модифицирована и позволяет оценить ишемическое повреждение эксплантата печени при консервации в различных растворах.

2. В эксперименте после 8 часовой консервации печеночного эксплантата в неоксигенированной эмульсии перфторорганических соединений: у 60 % эксплантатов патоморфологические изменения тяжелой степени, статистически значимо высокий уровень гипербилирубинемии, цитолиза и коагулопатии.

3. В эксперименте после 8 часовой консервации печеночного эксплантата в комбинированном консервирующем растворе патоморфологические изменения носят легкую степень тяжести по сравнению с другими группами, статистически значимо меньше гипербилирубинемия, цитолиз и коагулопатия.

4. Комбинированный консервирующий раствор позволяет уменьшить ишемическое повреждение, повысить качество и функциональность эксплантата. При консервации в неоксигенированной эмульсии перфторорганических соединений 40 % печеночных эксплантатов имеют патоморфологические изменения средней степени, а потому данный консервант в критических условиях имеет право на существование.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Модель хирургического эксперимента на лабораторных животных позволяет проводить работы по созданию, оценке противоишемических препаратов, антиоксидантов и консервирующих растворов.

С целью снижения ишемического повреждения донорского органа, применение комбинированного консервирующего раствора при эксплантации и консервации, может быть рассмотрено в клинической практике.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АДФ	аденозиндифосфат
АлаТ	аланинаминотрансферазы
АМФ	аденозинмонофосфат
АсаТ	аспартатаминотрансфераза
АТФ	аденозинтрифосфат
АФК	активные формы кислорода
АЧТВ	активированное частичное тромбопластиновое время
ГГТ γ	глутамилтрансферазы
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДРК	донор с расширенными критериями
ИЛ	интерлейкин
ИП	ишемическое повреждение
НАД	никотинамидадениндинуклеотид
НАДФ	никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НТК	консервирующий раствор «гистидин-триптофан-кетоглутарат»
ОТП	ортотопическая трансплантация печени
ПНФТ	первично нефункционирующий трансплантат
ПТИ	протромбиновый индекс
РНК	рибонуклеиновая кислота
ФНО	фактор некроза опухоли
ЩФ	щелочная фосфатаза
ЭПФОС	эмульсия перфторорганических соединений
UW	консервирующий раствор Висконсинского университета

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Багненко, С. Ф. Реабилитация донорских органов. Направление в консервации или новая парадигма трансплантологии? / С. Ф. Багненко, Я. Г. Мойсюк, А. Е. Скворцов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2009. – Т. 11, № 3. – С. 17–29.
2. Влияние севофлюрана и ацетилцистеина на ишемически – реперфузионное повреждение печени донора со смертью мозга / А. Е. Щерба [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2013. – Том 15, № 2. – С. 39–44.
3. Воробьев С. И. Перфторан G плазмозаменитель с газотранспортной функцией / С. И. Воробьев/ – ОНТИ ПНЦ РАН, Пущино, 1996. – 48 с.
4. Галанкина И. Патологоанатомические аспекты аллотрансплантированных органов / И. Галанкина, Л. Зиминая // В кн.: Трансплантация органов и тканей в многопрофильном научном центре. / под ред. М. Ш. Хубутия. – М : АирАрт; 2011. – С. 347–378.
5. Готье, С. В. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2015 году (VIII регистра Российского трансплантологического общества) / С. В. Готье, С. М. Хомяков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2016. – Том 18, № 2. – С. 6–26.
6. Готье, С. В. Трансплантация печени : руководство для врачей / С. В. Готье, Б. А. Константинов, О. М. Цирульников. – М. : Медицинское информационное агентство, 2008. – 248 с.
7. Ишемически – реперфузионное повреждение печени / А. Е. Щерба [и др.] // Медицинский журнал. Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет». – 2013. – Том 43, № 1. – С. 27–31.
8. Краткий обзор клинического применения перфторана / Л. А. Богданова [и др.] // Биомедицинский журнал. – 2001. – Том 2. – С. 30–36.
9. Мойсюк, Я. Г. Мультиорганное донорство в клинической трансплантации (организация, методология, тактика, результаты и перспективы) :

автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.41 / Мойсюк Ян Геннадьевич ; Рос. АМН НИИ трансплантологии и искусствен. органов. – М., 1992. – 48 С.

10. Патоморфологические критерии оценки состояния печени у потенциальных мультиорганных доноров со смертью мозга / Л. В. Шкалова [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2011. – № 4. – С. 7–13.

11. Перфторан – перфторуглеродный кровезаменитель с газотранспортной функцией : пособие для врачей / В. П. Сухоруков [и др.]. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва, 2008. – 79 с.

12. Перфторуглероды в биологии и медицине. Перфторуглеродные эмульсии (ПФУЭ) в хирургии / Л. В. Усенко [и др.] // Провизор. – 2000. – № 14. – С. 23–26.

13. Петри, А. Наглядная медицинская статистика : учебное пособие / А. Петри, К. Сэбин. – 3-е изд., перераб. и доп. – Москва, 2015. – 216 с.

14. Трухачева, Н. В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica / Н. В. Трухачева. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 384 с.

15. Фармакоэкономическая оценка применения лекарственного средства перфторан в клинической практике / С. Ф. Багненко [и др.] // Вестник службы крови России. – 2005. – № 2. – С. 46–51.

16. Филин, А. В. Родственная трансплантация пересадка печени в хирургическом лечении заболеваний печени : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.27, 14.00.41 / Филин Андрей Валерьевич ; ГУ РНЦХ им. акад. Б. В. Петровского РАМН. – М., 2008. – 45 с.

17. Цирульникова, О. М. Принципы обследования, отбора и предоперационной подготовки больных для трансплантации печени : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.41 / Цирульникова Ольга Мартеновна ; Науч. центр хир. РАМН. – М., 1994. – 30 с.

18. Цой, Д. Л. Профилактика и лечение ишемически-реперфузионных повреждений при трансплантации печени – возможный путь к расширению донорского пула / Д. Л. Цой, Я. Г. Мойсюк // Вестник трансплантологии и

искусственных органов. – 2013. – Том 15, № 3. – С. 102–114.

19. Шумаков, В. И. Трансплантология / под ред. В. И. Шумакова. – М. : Медицинское информационное агентство, 2006. – 544 с.

20. Ярошенко, И. Ф. Патогенез ишемии-реперфузии печени / И. Ф. Ярошенко, Т. Ю. Каланчина // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН. – 2006. – № 1. – С. 29–34.

21. Warm ischemic injury is reflected in the release of injury markers during cold preservation of the human liver / B. G. Bruinsma [et al.] // PLoS ONE. – 2015. – № 10 (3). – p. 9.

22. A novel form of the human manganese superoxide dismutase protects rat and human livers undergoing ischemia and reperfusion injuries / D. Hide [et al.] // Clin. Sci. (Lond). – 2014. – V. 127. – P. 527–537.

23. A systematic review of pharmacological treatment options used to reduce ischemia reperfusion injury in rat liver transplantation / K. Yamanaka [et al.] // PLoS ONE. – 2015. – V. 10 (4). – P. 176–93.

24. Abdeldayem, Edited by H. Frontiers in Transplantology / Edited by H. Abdeldayem, A. F. El-Kased, A. El-Shaarawy // Publisher: InTech, 2016. – 308 pages.

25. Absence of toll-like receptor 4 (TLR4) signaling in the donor organ reduces ischemia and reperfusion injury in a murine liver transplantation model / X. D. Shen [et al.] // Liver Transpl. – 2007. – № 13. – P. 1435–1443.

26. Adam, A. N. I. Some mechanisms of the protective effect of ischemic preconditioning on rat liver ischemia-reperfusion injury / A. N. I. Adam // International journal of general medicine. – 2014. – № 7. – P. 483–489.

27. Addition of simvastatin to cold storage solution prevents endothelial dysfunction in explanted rat livers. / L. Russo [et al.] // Hepatology. – 2012. – V. 55. – P. 921–930.

28. Anti-endotoxin monoclonal antibodies are protective against hepatic ischemia/reperfusion injury in steatotic mice / R. N. Fiorini [et al.] // Am J Transplant. – 2004. – № 4. – P. 1567–1573.

29. Application of hyperbaric oxygen in liver transplantation / H. Lv [et al.] //

Med Gas Res. – 2016. – V. 6 (4). – P. 212–218.

30. Arrenberg, P. Sulfatide-mediated activation of type II natural killer T cells prevents hepatic ischemic reperfusion injury in mice / P. Arrenberg, I. Maricic, V. Kumar // *Gastroenterology*. – 2011. – № 140. – P. 646–655.

31. Baicalein pretreatment reduces liver ischemia/reperfusion injury via induction of autophagy in rats. / A. Liu [et al.] // *Scientific Reports*. – 2016. – V 6. – P 12.

32. Beneficial effects of adenosine triphosphate-sensitive K⁺ channel opener on liver ischemia/reperfusion injury / M. A. Nogueira [et al.] // *World J Gastroenterol*. – 2014. – № 20 (41). – P. 15319–15326.

33. Berg, C. L. Liver Transplantation in 2016: An Update / C. L. Berg // *N C Med J*. – 2016. – V. 77 (3). – P. 194–197.

34. Beyond preconditioning: postconditioning as an alternative technique in the prevention of liver ischemia-reperfusion injury / K. Theodoraki [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2016. – Article ID 8235921. – P. 21.

35. Bilzer, M. Preservation injury of the liver: mechanisms and novel therapeutic strategies / M. Bilzer, A. L. Gerbes // *J. Hepatology*. – 2000. – № 32. – P. 508–515.

36. Biological implications of extracellular adenosine in hepatic ischemia and reperfusion injury / M. A. Zimmerman [et al.] // *Am J Transplant*. – 2013. – № 13 (10). – P. 2524–2529.

37. Brain death and marginal grafts in liver transplantation. / M. B. Jiménez-Castro [et al.] // *Cell Death and Disease*. – 2015. – V. 6. – e1777 – P. 8.

38. Caldwell, C. C. Lymphocyte function during hepatic ischemia/reperfusion injury / C. C. Caldwell, J. Tschoep, A. B. Lentsch // *J. Leukoc. Biol*. – 2007. – № 82. – P. 457–464.

39. Chen, X. B. Primary graft dysfunction after liver transplantation / X. B. Chen, M. Q. Xu // *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. – 2014. – № 13 (2). – P. 125–137.

40. Coelho Duarte, S. M. Matrix-leukocyte interactions in liver ischemia

reperfusion injury / S. M. Coelho Duarte. – Porto, Portugal, 2012. – 162 p.

41. Coito, A. J. Leukocyte transmigration across endothelial and extracellular matrix protein barriers in liver ischemia/reperfusion injury / A. J. Coito // *Curr Opin Organ Transplant*. – 2011. – № 16 (1). – P. 34–40.

42. Combined preconditioning and postconditioning provides synergistic protection against liver ischemic reperfusion injury / X. Song [et al.] // *Int. J. Med. Sci.* – 2012. – Vol. 8, № 5. – P. 707–718.

43. Comparable outcome of liver transplantation with Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate vs. University of Wisconsin preservation solution: a retrospective observational double-center trial / A. Kaltenborn [et al.] // *BMC Gastroenterology*. – 2014. – V. 14. – № 169. – P. 9.

44. Compared efficacy of preservation solutions in liver transplantation: A long-term graft outcome study from the european liver transplant registry / R. Adam [et al.] // *American Journal of Transplantation*. – 2015. – V. 15. – P. 395–406.

45. Complications and mortality after adult to adult living donor liver transplantation: A retrospective cohort study / E. H. Gad [et al.] // *Annals of Medicine and Surgery*. – 2015. – V. 4. – P. 162–171.

46. Conventional DCs reduce liver ischemia/reperfusion injury in mice via IL-10 secretion / Z. M. Bamboat [et al.] // *J Clin Invest*. – 2010. – № 120. – P. 559–569.

47. Correlation of histopathologic findings of non-graft threatening preservation/reperfusion injury in time-zero liver needle biopsies with short-term post-transplantation laboratory alterations / N. Shahbazi [et al.] // *Hepat Mon*. – 2015. – № 15 (6). – P. 300–08.

48. Critical role of interferon regulatory factor-1 in murine liver transplant ischemia reperfusion injury / S. Ueki [et al.] // *Hepatology*. – 2010. – № 51. – P. 1692–1701.

49. Cryptotanshinone ameliorates hepatic normothermic ischemia and reperfusion injury in rats by anti-mitochondrial apoptosis / P. Sun [et al.] // *Biol Pharm Bull*. – 2014. – Vol. 37, № 11. – P. 1758–1765.

50. Cursio, R. Autophagy and liver ischemia-reperfusion injury / R. Cursio,

P. Colosetti, J. Gugenheim / BioMed Research International. –2015. – Article ID 417590. – P. 16.

51. Cursio, R. J. Gugenheim Ischemia-reperfusion injury and ischemic-type biliary lesions following liver transplantation / R. J. Cursio // Transplantation. – 2012. – Article ID 16432. – 17 p.

52. Cutting edge: TLR4 activation mediates liver ischemia/reperfusion inflammatory response via IFN regulatory factor 3-dependent MyD88-independent pathway / Y. Zhai [et al.] // J Immunol. – 2004. – № 173. – P. – 7115–7119.

53. Deletion of CD39 on natural killer cells attenuates hepatic ischemia/reperfusion injury in mice / G. Beldi [et al.] // Hepatology. – 2010. – № 51. – P. 1702–1711.

54. Disruption of type-I IFN pathway ameliorates preservation damage in mouse orthotopic liver transplantation via HO-1 dependent mechanism / X. D. Shen [et al.] // Am J Transplant. – 2012. – № 12. – P. 1730–1739.

55. Duenschede F. Protection from hepatic ischemia-reperfusion injury and improvement of liver regeneration by lipoic acid / F. Duenschede, K Erbes, A. Kircher // Shock. – 2007. – Vol. 27, № 6. – P. 644–651.

56. EASL Clinical Practice Guidelines: Liver transplantation / A. Burroughsy [et al.] // Journal of Hepatology. – 2016. – Vol. 64. – P. 433–485.

57. Effect of IL-18 binding protein on hepatic ischemia-reperfusion injury induced by infrarenal aortic occlusion / M. Ozsoy [et al.] // Ann Surg Treat Res. – 2015. – № 88 (2). – P. 92–99.

58. Effect of intraportal infusion of tacrolimus on ischaemic reperfusion injury in orthotopic liver transplantation: a randomized controlled trial / I. Kristo [et al.] // Transpl Int. – 2011. – № 24. – P. 912–919.

59. Effects of warm ischemia and reperfusion on the liver microcirculatory phenotype of rats: underlying mechanisms and pharmacological therapy. / D. Hide [et al.] // Scientific Reports. – 2016. – V 6. – P 12.

60. Efficacy of sirolimus on ischemic-type biliary lesions after liver transplantation. / L. Wang [et al.] // Int J Clin Exp Med. – 2017. – № 10 (1). –

P. 1151–1155.

61. Elias-Miró, M. Ischemia-reperfusion Injury associated with liver transplantation in 2011: past and future / M. Elias-Miró, M. B. Jiménez-Castro, C. Peralta // *Liver Transplantation – Basic Issues* / H. Abdeldayem, N. Allam. – Rijeka, Croatia, 2012. – P. 21–56.

62. Eltzschig, H. K. Ischemia and reperfusion - from mechanism to translation / H. K. Eltzschig, T. Eckle // *Nature medicine*. – 2011. – № 17. – P. 1391–1401.

63. Eltzschig, H. K. Vascular ischaemia and reperfusion injury / H. K. Eltzschig, C. D. Collard // *Brit Med Bull*. – 2004. – № 70. – P. 71–86.

64. Emerging concepts in liver graft preservation. / M. Bejaoui [et al.] // *World J Gastroenterol*. – 2015. – V. 21 (2). – P. 396–407.

65. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia–reperfusion injury / E. E. Montalvo-Jave [et al.] // *J. Surg. Res*. – 2008. – № 147 – P. 153–159.

66. Flow cessation triggers endothelial dysfunction during organ cold storage conditions: strategies for pharmacologic intervention / Gracia-Sancho [et al.] // *Transplantation*. – 2010. – V. 90. – P. 142–149.

67. Global consequences of liver ischemia/reperfusion injury / C. Nastos, [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2014. – Article ID 906965. – P. 13.

68. Glutathione Treatment Protects the Rat Liver against Injury after Warm Ischemia and Kupffer Cell Activation / M. Bilzera [et al.] // *Digestion, International Journal of Gastroenterology*. – 2002. – № 66. – P. 49–57.

69. Glycine, a simple physiological compound protecting by yet puzzling mechanism(s) against ischaemia–reperfusion injury: current knowledge / F. Petrat [et al.] // *Br J Pharmacol*. – 2012. – № 165 (7). – P. 2059–2072.

70. Grape seed protects cholestatic rats liver from ischemia/reperfusion injury / T. ÇakırI [et al.] // *Acta Cirúrgica Brasileira*. – 2016. – V. 31 (3). – P. 183–189.

71. Hashimoto, N. Protective effect of ischemic preconditioning on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats / N. Hashimoto // *OA Lib J*. – 2015. – V. 2. – P. 2110–2313.

72. Hepatic ischemia and reperfusion injury and trauma: current concepts /

D. Papadopoulos [et al.] // Arch Trauma Res. – 2013. – № 2 (2). – P. 63–70.

73. Hepatic ischemia/reperfusion injury involves functional TLR4 signaling in nonparenchymal cells / A. Tsung [et al.] // J Immunol. – 2005. – № 175. – P. 7661–7668.

74. Hepatic microcirculatory failure. / F. S. Ramalho [et al.] // Acta Cirúrgica Brasileira. – Vol 21 (1). – 2006. – P.48–53.

75. Hepatocellular protection by nitric oxide or nitrite in ischemia and reperfusion injury / Y. Abe [et al.] // Arch Biochem Biophys. – 2009. – № 484 (2). – P. 232–237.

76. Hepatocellular protein profiles after hepatic ischemia/reperfusion injury with or without octreotide preconditioning in a rabbit model / J. Yang [et al.] // Transplant Proc. – 2014. – № 46 (10). – P. 3282–3288.

77. Histopathology of post-transplant liver biopsies, the first report from Iran / B. Geramizadeh [et al.] // Hepat Mon. – 2013. – V. 13 (6). – P. 6.

78. Host factors are dominant in the development of post-liver transplant non-alcoholic steatohepatitis / S. Boga [et al.] / World J Hepatol. – 2016. – V. 8 (15). – P. 659–664.

79. Huang, Y. Ischemia-reperfusion and immediate T cell responses / Y. Huang, H. Rabb, K. L. Womer // Cell Immunol. – 2007. – № 248 (1). – P. 4–11.

80. Hypothermic machine preservation in human liver transplantation: the first clinical series / J. V. Guarrera [et al.] // Am J Transplant. – 2010. – № 10. – P. 372–381.

81. Ilmakunnas, M. Ischemia – reperfusion injury in human liver transplantation. Mechanisms and effects on graft function / M. Ilmakunnas. – Helsinki, Finland, 2008. – 80 p.

82. Immune mechanisms of ischemia-reperfusion injury in transplantation / S. Khalifian [et al.] // Open J Immunol. – 2013. – V. 3, № 3. – P. 158–164.

83. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury / A. B. Lentsch [et al.] // Hepatology. – 2000. – № 32. – P. 169–173.

84. Inflammatory mediators of liver ischemia–reperfusion injury / K. B. Walsh

[et al.] // *Exp Clin Transplant.* – 2009. – № 7 (2). – P. 78–93.

85. Inflammatory responses in a new mouse model of prolonged hepatic cold ischemia followed by arterialized orthotopic liver transplantation / X. D. Shen [et al.] // *Liver Transpl.* – 2005. – № 11. – P. 1273–1281.

86. Inhibition of glycogen synthase kinase 3 beta ameliorates liver ischemia reperfusion injury by way of an interleukin-10-mediated immune regulatory mechanism / F. Ren [et al.] // *Hepatology.* – 2011. – № 54. – P. 687–696.

87. Inhibition of histone deacetylase by butyrate protects rat liver from ischemic reperfusion injury / J. Sun [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2014. – № 15 (11). – P. 21069–21079.

88. Injury mechanism in liver transplantation and its protective measures / N. Peng [et al.] // *JSM Biotechnol Bioeng.* – 2016. – V. 3 (2). – P. 1054–1057.

89. Interleukin-22: implications for liver ischemia-reperfusion injury / P. J. Chestovich [et al.] // *Transplantation.* – 2012. – № 93. – P. 485–492.

90. Intestinal ischemic preconditioning ameliorates hepatic ischemia/reperfusion Injury in Rats: role of heme oxygenase 1 in the second window of protection / S. Kageyama [et al.] // *Liver Transplantation.* – 2015. – № 21. – P. 112–122.

91. Ischaemia-reperfusion injury in liver transplantation – from bench to bedside / Y. Zhai [et al.] // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2013. – № 2. – P. 79–89.

92. Ischemia/reperfusion injury in liver surgery and transplantation: pathophysiology / K. Weigand [et al.] // *HPB Surgery.* – 2012. – Article ID 176723. – 8 p.

93. Jadlowiec, C. C. Liver transplantation: Current status and challenges / C. C. Jadlowiec, T. Taner // *World J Hepatol.* – 2016. – V. 22 (18). – P. 4438–4445.

94. Jaeschke, H. Current strategies to minimize hepatic ischemia–reperfusion injury by targeting reactive oxygen species / H. Jaeschke, B. L. Woolbright // *Transplantation Reviews.* – 2012. – V. 26. – P. 103–114.

95. Jaeschke, H. Mechanisms of Liver Injury. II. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions / H. Jaeschke // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2006. – № 290 (6). – P. 1083–1088.

96. Jaeschke, H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning / H. Jaeschke // *Am. J. Physiol-Gastr. L.* – 2003. – Vol. 284, № 1. – P. 15–26.
97. Jegatheeswaran, S. Experimental and clinical evidence for modification of hepatic ischaemia-reperfusion injury by N-acetylcysteine during major liver surgery / S. Jegatheeswaran, A. K. Siriwardena // *HPB (Oxford)*. – 2011. – № 13 (2). – P. 71–78.
98. Jia, J. J. Liver protection strategies in liver transplantation / J. J. Jia, J. H. Li, L. Jiang // *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* – 2015. – V. 14 (1). – P. 34–42.
99. Kukan, M. Emerging roles of proteasomes in ischemia-reperfusion injury of organs / M. Kukan // *J Physiol Pharmacol.* – 2004. – № 55. – P. 3–15.
100. Lee D.D., Croome K.P., Shalev J. A. et al. Early allograft dysfunction after liver transplantation: an intermediate outcome measure for targeted improvements. / *Annals of Hepatology* 2016; V.15 (1): P. 53–60.
101. Lentsch A.B. Regulatory mechanisms of injury and repair after hepatic ischemia/reperfusion / A.B. Lentsch. // *Scientifica (Cairo)*. – 2012, – Article ID 513192, – 14 p.
102. Linfert, D. Lymphocytes and ischemia-reperfusion injury / D. Linfert, T. Chowdhry, H. Rabb // *Transplant Rev (Orlando)*. – 2009. – № 23 (1). – P. 1–10.
103. Liver defatting: an alternative approach to enable steatotic liver transplantation / N. I. Nativ [et al.] // *Am J Transplant.* – 2012, – № 12 (12). – P. 3176–3183.
104. Liver ischemia/reperfusion injury: Processes in inflammatory networks – a review / M. Abu-Amara [et al.] // *Liver. Transpl.* – 2010. – № 16. – P. 1016–1032.
105. Long-term management of the successful adult liver transplant: 2012 practice guideline by the American association for the study of liver diseases and the American society of transplantation / M. R. Lucey [et al.] // *Liver Transplantation.* – 2013. – № 19. – P. 3–26.
106. Lutz, J. Review anti-inflammatory treatment strategies for ischemia/reperfusion injury in transplantation / J. Lutz, K. Thurm, U. Heemann // *Journal of inflammation.* – 2010. – Vol. 7, № 27. – P. 2–8.

107. Machine Perfusion of Donor Livers for Transplantation: A Proposal for Standardized Nomenclature and Reporting Guidelines. / S. A. Karangwa [et al.] // American Journal of Transplantation. – 2016. – V. 16. – P. 2932–2942.
108. Malhi, H. Cellular and molecular mechanisms of liver injury / H. Malhi, G. J. Gores. // Gastroenterology. – 2008. – № 134 (6). – P. 1641–1654.
109. MCI-186 (edaravone), a free radical scavenger, attenuates hepatic warm ischemia–reperfusion injury in rats // F. Suzuki [et al.] // Transplant International. – 2005. – V. 18. – P. 844–853.
110. Mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and protective effects of nitric oxide / L. Y. Guan [et al.] // World J Gastrointest Surg. – 2014. – № 6 (7). – P. 122–128.
111. Melin, C. Approach to intraoperative consultation for donor liver biopsies / C. Melin, R. Miick, N. A. Young // Arch Pathol Lab Med. – 2013. – V. 137. – P. 270–274.
112. Mendizabal M. Liver transplantation in acute liver failure: A challenging scenario / M. Mendizabal, M. O. Silva // World J Gastroenterol. – 2016. – V. 22 (4). – P. 1523–1531.
113. Michel, S. G. Current perspectives in transplant medicine: hypothermic oxygenated perfusion / S. G. Michel, J. C. Madsen / Trans Res Risk Manag. – 2016. – V. 8. – P. 25–30.
114. Minimising cold ischaemic time is essential in cardiac death donor-associated liver transplantation / S. J. Karp [et al.] // HPB (Oxford). – 2011. – № 13 (6). – P. 411–416.
115. Minocycline protects against hepatic ischemia/reperfusion injury in a rat model / Y. Li [et al.] // Biomed Rep. – 2015, – № 3 (1). – P. 19–24.
116. Mitochondrial damage associated molecular patterns (MTDs) are released during hepatic ischemia reperfusion and induce inflammatory responses / Q. Hu [et al.] // PLoS ONE. – 2015. – № 10(10). – P. 14–15.
117. Mitochondrial dysfunction and autophagy in hepatic ischemia/reperfusion injury / K. L. Go [et al.] // BioMed Research International. – 2015. – Article ID 183469.

– P. 14.

118. Molecular characterization of rat leukocyte P-selectin glycoprotein ligand-1 and effect of its blockade: protection from ischemia-reperfusion injury in liver transplantation / S. Tsuchihashi [et al.] // *J Immunol.* – 2006, – № 176. – P. 616–624.

119. Molecular mechanisms of liver ischemia reperfusion injury: Insights from transgenic knockout models / G. Datta [et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2013 – Vol.19, № 11. – P. 1683–1698.

120. Molecular mechanisms of liver preconditioning / E. Alchera [et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2010. – № 16 (48). – P. 6058–6067.

121. Mouse model of liver ischemia and reperfusion injury: method to study reactive oxygen and nitrogen metabolites in vivo / Y. Abe [et al.] // *Free Radic Biol Med.* – 2009. – V. 46 (1). – P. 1–7.

122. Müller, C. α -Lipoic acid attenuates ischemia reperfusion injury of the rat liver: mechanisms of protection / C. Müller. – Ingolstadt, Deutschland, 2002. – 128 p.

123. Muralidharan, V. Hyperbaric oxygen therapy and liver transplantation / V. Muralidharan, C. Christophi // *HPB.* – 2007. – № 9. – P. 174–182.

124. N-acetylcysteine attenuates reactive-oxygen-species-mediated endoplasmic reticulum stress during liver ischemia-reperfusion injury / Y. Sun [et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2014. – № 20 (41). – P. 15289–15298.

125. Naini, B. V. Liver Transplant Pathology / B. V. Naini, W. D. Wallace // *Practical atlas of transplant pathology.* Springer International Publishing Switzerland, 2016. – P. 111–131

126. Neves, D. B. Primary graft dysfunction of the liver: definitions, diagnostic criteria and risk factors / D. B. Neves, M. B. Rusi, L. G. Guedes // *Diaz Einstein (Sao Paulo).* – 2016. – Vol. 14 (4). – P. 567–572.

127. New aspects on reperfusion injury to liver-impact of organ harvest / P. Schemmer [et al.] // *Nephrol Dial Transplant.* – 2004. – № 4. – P. 26–35.

128. Nitric oxide mechanism of protection in ischemia and reperfusion injury / L. Phillips [et al.] // *J Investig Surg.* – 2009. – № 22. – P. 46–55.

129. O'Neill, S. Advances in reducing liver allograft injury. / S. O'Neill,

E. M. Harrison // BEMS Reports. – 2015.– 1 (2). – P. 41–45.

130. Origassa, C. S. Cytoprotective role of heme oxygenase-1 and heme degradation derived end products in liver injury / C. S. Origassa, N. O. Câmara // World J Hepatol. – 2013. – № 5 (10). – P. 541–549.

131. Outcomes and mechanisms of ischemic preconditioning in liver transplantation / S. Yan [et al.] // Hepatobiliary Pancreat Dis Int. – 2010. – № 9 (4). – P. 346–354.

132. Pasupathy, S. Ischaemic preconditioning protects against ischaemia/reperfusion injury: emerging concepts / S. Pasupathy, S. Homer-Vanniasinkam. // Eur J Vasc Endovasc Surg. – 2005, – № 29 (2). – P. 106–115.

133. Pathological changes in primary cilia: A novel mechanism of graft cholangiopathy caused by prolonged cold preservation in a rat model of orthotopic liver transplantation / H. Lu [et al.] // BioScience Trends. – 2014. – V. 8 (4). – P. 206–211.

134. Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury / F. Chamoun [et al.] // Front Biosci. – 2000. – № 5. – P. 103–109.

135. Peralta, C. Hepatic ischemia and reperfusion injury: effects on the liver sinusoidal milieu / C. Peralta, M. B. Jimenez-Castro, J. Gracia-Sancho / J Hepatol. – 2013. – V. 59. – P. 1094–1106.

136. Polyethylene glycol rinse solution: An effective way to prevent ischemia-reperfusion injury / M. A. Zaouali [et al.] // World J Gastroenterol. – 2014. – № 20 (43) – P. 16203–16214.

137. Preconditioning, organ preservation, and postconditioning to prevent ischemia reperfusion injury to the liver / O. Rougemont [et al.] // Liver Transplantation. – 2009. – № 15. – P. 1172–1182.

138. Preservation Solutions in Liver Transplantation: What Are the Options? / B. Eghtesad [et al.] // Liver transplantation. – 2006. – V. 12. – P. 196–198.

139. Preservation solutions used during abdominal transplantation: Current status and outcomes. / N. Latchana, J. R. Peck, B. A. Whitson. // World J Transplant. – 2015. – V. 5(4). – P. 154–164.

140. Prevention of I/R injury in fatty livers by ischemic preconditioning is

associated with increased mitochondrial tolerance: the key role of ATPsynthase and mitochondrial permeability transition. / A. P. Rolo [et al.] // *Transplant International*. – 2009. – V. 22 (11). – P. 1081–1090.

141. Prevention of ischemia-reperfusion-induced oxidative injury in liver by Allopurinol and Pentoxifylline / M. Inal [et al.] // *Transplantationsmedizin*. – 2006. – № 18. – P. 29–32.

142. Progress in abdominal organ transplantation / M. Kosieradzki [et al.] // *Med Sci Monit*. – 2011. – № 17 (12). – P. 282–291.

143. Protection of the liver by ischemic preconditioning: a review of mechanisms and clinical applications / R. S. Koti [et al.] // *Dig Surg*. – 2003. – № 20. – P. 383–396.

144. Protective effect of N-acetylserotonin against acute hepatic ischemia-reperfusion injury in mice / S. Yu [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2013. – № 14. – P. 17680–17693.

145. Protective effect of remote limb ischemic preconditioning on the liver grafts of rats with a novel model / J. Jia [et al.] // *PLoS One*. – 2015. – № 10 (3). – Article ID 0121972. – 11 p.

146. Protective effects of branched-chain amino acids on hepatic ischemia-reperfusion-induced liver injury in rats: a direct attenuation of Kupffer cell activation / T. Kitagawa [et al.] // *Am. J. Physiol-Gastr. L*. – 2013. – V. 304. – P. 346–355.

147. Protective strategies against ischemic injury of the liver / N. Selzner [et al.] // *Gastroenterology*. – 2003. – № 125. – P. 917–936.

148. Protocol for a prospective randomized controlled trial of recipient remoteischemic preconditioning in orthotopic liver transplantation (RIPCOLT trial) / F. P. Robertson [et al.] // *Transplant Res*. – 2016. – V 5. – P. 6.

149. Protocol TOP–study (tacrolimus organ perfusion): a prospective randomized multicenter trial to reduce ischemia reperfusion injury in transplantation of marginal liver grafts with an ex vivo tacrolimus perfusion / S. Pratschke [et al.] // *Transplantation Research*. – 2013. – Vol. 2, № 3. – P. 2–7.

150. P-selectin glycoprotein ligand-1 (rPSGL-Ig)-mediated blockade of CD62

selectin molecules protects rat steatotic liver grafts from ischemia/reperfusion injury / F. Amersi [et al.] // *Am J Transplant.* – 2002. – № 2. – P. 600–608.

151. Quesnelle, K. M. Molecular responses to ischemia and reperfusion in the liver / K. M. Quesnelle, P. V. Bystrom, Toledo L. H. Pereyra // *Arch. Toxicol.* – 2015. – № 2. – P. 103–109.

152. Rao, J. T cells in Organ Ischemia Reperfusion Injury / J. Rao, L. Lu, Y. Zhai // *Curr Opin Organ Transplant.* – 2014. – № 19 (2). – P. 115–120.

153. Recipient age and mortality risk after liver transplantation: a population-based cohort study / H.-P. Chen1 [etal.] // *PLoS ONE.* – 2016. – № 11 (3). – P. 10.

154. Redox state and the potential role of antioxidant compounds in liver ischemia/reperfusion injury / M. I. Korontzi [et al.] // *Int.J. Med. Sci.* – 2010. – Vol. 2. – № 7. – P. 200–209.

155. Redox therapeutics in hepatic ischemia reperfusion injury / R. P. Patel [et al.] // *World J Hepatol.* – 2014. – № 6 (1). – P. 1–8.

156. Regulation of molecular pathways in ischemia-reperfusion injury after liver transplantation / R. C. Gehrau [et al.] // *Transplantation.* – 2013. – V. 96 (10). – P. 926–934.

157. Relevance of endoplasmic reticulum stress cell signaling in liver cold ischemia reperfusion injury / E. Folch-Puy [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2016. – V. 17. – P. 807–819.

158. Richards, J. A. Heme oxygenase system in hepatic ischemia–reperfusion injury / J. A. Richards, S. J. Wigmore, L. R. Devey // *World J Gastroenterol.* – 2010. – № 16. – P. 6068–6078.

159. Role of IL-17A in neutrophil recruitment and hepatic injury after warm ischemia-reperfusion mice / H. Kono [et al.] // *J Immunol.* – 2011. – № 187. – P. 4818–4825.

160. Role of ischemic preconditioning in liver regeneration following major liver resection and transplantation / D. Gomez [et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2007. – № 13 (5). – P. 657–670.

161. Role of the anion nitrite in ischemia-reperfusion cytoprotection and

- therapeutics / C. Dezfulian [et al.] // *Cardiovasc Res.* – 2007. – № 75 (2). – P. 327–338.
162. Saidi, R. Liver ischemia/reperfusion injury: an overview / R. Saidi, S. K. H. Kenari // *Journal of Investigative Surgery.* – 2014. – V. 27 (6). – P. 1–14.
163. Salutory effect of pre-treatment with an Nrf2 inducer on ischemia reperfusion injury in the rat liver / Y. Masuda [et al.] // *Gastroenterol Hepatol (Que).* – 2014. – № 1 (1). – P. 1–7.
164. Schawabe, R. F. Mechanisms of Liver Injury. I. TNF-alpha-induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways / R. F. Schwabe, D. A. Brenner // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2006. – № 290 (4). – P. 583–589.
165. Shah, V. Nitric oxide in liver transplantation: pathobiology and clinical implications / V. Shah, P. S. Kamath // *Liver Transpl.* – 2003. – № 9 (1). – P. 1–11.
166. Shaimardanova, C. Pathologic criteria to stimate the state of the liver in potential donors / C. Shaimardanova, G. Fedotovskikh, A. Savchuk // *Experimental and Clinical Transplantation.* – 2015. – V. 3. – P. 33–35.
167. Shapey, I. M. Regional perfusion by extracorporeal membrane oxygenation of abdominal organs from donors after circulatory death: a systematic review / I. M. Shapey, P. Muiesan // *Liver Transpl.* – 2013. – № 19 (12). – P. 1292–1303.
168. Shi, S. Current antioxidant treatments in organ transplantation / S. Shi, F. Xue // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2016. – V. 2016. – Article ID 8678510. – P. 9.
169. Short-term starvation attenuates liver ischemia-reperfusion injury (IRI) by sirt1-autophagy signaling in mice / J. Qin1 [et al.] // *Am J Transl Res.* – 2016. – V. 8 (8). – P. 3364–3375.
170. Sildenafil attenuates hepatocellular injury after liver ischemia reperfusion in rats: a preliminary study / S. Savvanis [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2014. – Article ID 161942. – 10 p.
171. Sinusoidal endothelial cell repopulation following ischemia/reperfusion injury in rat liver transplantation / D. B. Stolz [et al.] // *J Hepatol.* – 2007. – № 46. – P. 1464–1475.
172. Siriussawakul, A. Role of nitric oxide in hepatic ischemia-reperfusion

injury / A. Siriussawakul, A. Zaky, J. D. Lang // *World J Gastroenterol.* – 2010. – V. 16 (48). – P. 6079–6086.

173. Soluble thrombomodulin ameliorates ischemia-reperfusion injury of liver grafts by modulating the proinflammatory role of high-mobility group box / T. Kashiwadata [et al.] // *Tohoku J. Exp. Med.* – 2016. – V. 239. – P. 315–323.

174. Solutions to the discrepancies in the extent of liver damage following ischemia/reperfusion in standard mouse models / R. F. Golen [et al.] // *Journal of Hepatology.* – 2015. – № 14. – P. 88–90.

175. Spironolactone effect in hepatic ischemia/reperfusion injury in wistar rats / J. C. J. Pérez [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2016. – Article ID 3196431. – P. 9.

176. St Peter, S. D. Effects of tacrolimus on ischemia-reperfusion injury / S. D. St Peter, A. A. Moss, D. C. Mulligan // *Liver Transpl.* – 2003. – № 9 (2). – P. 105–116.

177. Steatotic livers are susceptible to normothermic ischemia-reperfusion injury from mitochondrial Complex-I dysfunction / M. J. J. Chu [et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2016. – V. 22 (19). – P. 4673–4684.

178. Stewart, Z. A. UW Solution: Still the “Gold Standard” for Liver Transplantation / Z. A. Stewart // *American Journal of Transplantation.* – 2015. – V. 15. – P. 295–296.

179. T-cell immunoglobulin mucin-3 determines severity of liver ischemia/reperfusion injury in mice in a TLR4-dependent manner / Y. Uchida [et al.] // *Gastroenterology.* – 2010. – № 139. – P. 2195–2206.

180. The contemporary role of antioxidant therapy in attenuating liver ischemia-reperfusion injury: a review / G. K. Glantzounis [et al.] // *Liver transplantation.* – 2005. – Vol. 11, № 9. – P. 1031–1047.

181. The current state of knowledge of hepatic ischemia-reperfusion injury based on its study in experimental models / M. Mendes-Braz [et al.] // *Journal of Biomedicine and Biotechnology.* – 2012. – Article ID 298657. – P. 20.

182. The effect of methylprednisolone on warm ischemia-reperfusion injury in

the liver. // R. F. Saidi [et al.] // The American Journal of Surgery. – 2007. – V. 193. – P. 345–348.

183. The effect of warm liver ischaemia-reperfusion injury on circulating plasma lipid levels and lipolytic enzyme activity in rat and the impact of ischemic preconditioning / S. Lanitis [et al.] // Indian J. Med. Res. – 2012. – № 136. P. 272–279.

184. The emerging role of T cell immunoglobulin mucin-1 in the mechanism of liver ischemia and reperfusion injury in the mouse / Y. Uchida [et al.] // Hepatology. – 2010. – № 51, – P. 1363–1372.

185. The impact of hepatic steatosis on hepatic ischemia-reperfusion injury in experimental studies: A systematic review / M. J. J. Chu [et al.] // BioMed Research International. – 2013. – Article ID 192029. – 12 p.

186. The impact of hypertonic and normal saline in gut reperfusion after ischemia in rats / W. K. Chimabucuro [et al.] // Rev Bras Ter Intensiva. – 2014. – № 26 (3). – P. 277–286.

187. The impact of ischemia/reperfusion injury on liver allografts from deceased after cardiac death versus deceased after brain death donors. / J. Xu [et al.] // PLoS ONE. – 2016. – V. 11 (2). – P. 14.

188. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion / A. Tsung [et al.] // J Exp Med. – 2005. – № 201. – P. 1135–1143.

189. The Role of miR-34a in the hepatoprotective effect of hydrogen sulfide on ischemia/reperfusion injury in young and old rats / X. Huang [et al.] // PLoS One. – 2014. – № 9 (11). – E. 113305.

190. The role of molecular chaperonins in warm ischemia and reperfusion injury in the steatotic liver: A proteomic study / V Tiriveedhi [et al.] // BMC Biochemistry. – 2012. – № 13 (17). – P. 8.

191. Toledo-Pereyra, L. H. Organ preservation for transplantation / L. H. Toledo-Pereyra. – Third edition. – Austin, Texas, USA, 2010. – 246 p.

192. Toll-like receptor 4 involvement in hepatic ischemia/reperfusion injury in mice / H. S. Wu [et al.] // Hepatobiliary Pancreat Dis Int. – 2004. – № 3. – P. 250–253

193. Toll-like receptor 9 inhibition confers protection from liver ischemia-

- reperfusion injury / Z. M. Bamboat [et al.] // *Hepatology*. – 2009. – № 51. – P. 621–632.
194. TRAF1 is a key mediator for hepatic ischemia/reperfusion injury / X. F. Zhang [et al.] // *Cell Death Dis.* – 2014. – № 5. – P. 1467.
195. Treprostinil, a prostacyclin analog, ameliorates ischemia-reperfusion injury in rat orthotopic liver transplantation / N. Ghonem [et al.] // *Am J Transplant.* – 2011. – № 11. – P. 2508–2516.
196. Trotter, J. F. / Current issues in liver transplantation / J. F. Trotter // *Gastroenterology & Hepatology*. – 2016. – V. 12 (4). – P 214–219.
197. Tsuchihashi, C. Heme oxygenase system in ischemia and reperfusion injury / S. Tsuchihashi, C. Fondevila, J. W. Kupiec-Weglinski // *Ann Transplant.* – 2004. – № 9 (1). – P. 84–87.
198. Urakami, H. Role of reactive metabolites of oxygen and nitrogen in partial liver transplantation: lessons learned from reduced-size liver ischemia and reperfusion injury / H. Urakami, Y. Abe, M. B. Grisham // *Clin Exp Pharmacol Physiol.* – 2007. – № 34. – P. 912–919.
199. Vardanian, A. J. Molecular mediators of liver ischemia and reperfusion injury: a brief review / A. J. Vardanian, R. W. Busuttil, J. W. Kupiec-Weglinski // *Mol Med.* – 2008. – № 14 (5-6). – P. 337–345.
200. Vollmar, B. The hepatic microcirculation: mechanistic contributions and therapeutic targets in liver injury and repair / B. Vollmar, M. D. Menger // *Physiol Rev.* – 2009. – Vol. 89, № 4. – P. 1269–1339.
201. Wang, C. F. Dual protective role of HO-1 in transplanted liver grafts: a review of experimental and clinical studies / C. F. Wang, Z. Y. Wang, J. Y. Li. // *World J Gastroenterol.* – 2011. – № 17 (26). – P. 3101–3108.
202. Warm HTK donor pretreatment reduces liver injury during static cold storage in experimental rat liver transplantation / W. Schoening [et al.] // *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* – 2015. – V. 14 (2). – P. 1–7.
203. Warm ischemia may damage peribiliary vascular plexus during DCD liver transplantation / Z. Du [et al.] // *Int J Clin Exp Med.* – 2015. – № 8 (1). – P. 758–763
204. Weeder, P. D. Machine perfusion in liver transplantation as a tool to

prevent non-anastomotic biliary strictures: Rationale, current evidence and future directions. / P. D. Weeder, R. van Rijn, R. J. Porte // *Journal of Hepatology*. – 2015. – V. 63. – P. 265–275.

205. Weiss, S. Brain death activates donor organs and is associated with a worse I/R injury after liver transplantation / S. Weiss, K. Kotsch, M. Francuski // *Am. J. Transplant.* – 2007. – № 7. – P. 1584–1593.

206. Winbladh, A. Microdialysis in liver ischemia and reperfusion injury / A. Winbladh. – Linköping, Sweden, 2011. – 86 p.

207. Xia, Y. Impact of Recombinant Globular Adiponectin on Early Warm Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Bile Duct after Liver Transplantation / Y. Xia, J. P. Gong // *Sci Rep.* – 2014, – № 4. – P. 9.

208. Zhai, Y. Liver ischemia and reperfusion injury: new insights into mechanisms of innate-adaptive immune-mediated tissue inflammation / Y. Zhai, R. W. Busuttil, J. W. Kupiec-Weglinski // *Am. J. Transplant.* – 2011. – № 11. – P. 1563–1569.

209. Корнилов, М. Н. Выбор методики кавальной реконструкции при ортотопической трансплантации печени : автореф. дис. ... канд. мед. наук. : 14.01.24 / Корнилов Максим Николаевич ; НИИ трансплантологии и искусственных органов – М., 2010. – 23 с.

210. Погребниченко, И. В. Эффективное использование печени мультиорганного донора для трансплантации : дис. ... канд. мед. наук. : 14.01.24 / Погребниченко Игорь Викторович ; Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов. – М., 2014. – 143 с.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Выделена аорта, лигатуры на аорте (1 – Нижняя полая вена; 2 – Аорта). С. 37
2. Рисунок 2 – Выделена воротная вена (1 – Желчный пузырь; 2 – Воротная вена, 3 – Подпеченочный отдел нижней полой вены). С. 38
3. Рисунок 3 – Канюляция аорты (1 – Аорта). С. 39
4. Рисунок 4 – Канюляция воротной вены (1 – Воротная вена, 2 – Печень, 3 – Желудок). С. 39
5. Рисунок 5 – Отмывание эксплантата печени консервирующим раствором от форменных элементов (комбинированный консервант) (1 – Биопсия печени, 2 – Воротная вена с канюлей для отмывания органа, 3 – Канюля в подпеченочном отделе нижней полой вены для оттока перфузата). С. 40
6. Рисунок 6 – Эксплантат печени после 8 часовой консервации (комбинированный способ) (1 – Желчный пузырь, 2 – Канюля в подпеченочном отделе нижней полой вены для оттока перфузата, 3 – Воротная вена с канюлей для отмывания органа и реперфузии, 4 – лигированный надпеченочный отдел нижней полой вены). С. 42
7. Рисунок 7 – Реперфузия печени (1 – Канюля в подпеченочном отделе нижней полой вены для оттока реперфузионной крови, 2 – Желчный пузырь, 3 – Воротная вена с канюлей, проводится реперфузия, 4 – Пуск кровотока). С. 43
8. Рисунок 8 – Эксплантат печени после 60 минут реперфузии (1 – Ткань печени после часовой реперфузии, 2 – Воротная вена с канюлей, 3 – Канюля в подпеченочном отделе нижней полой вены, 4 – Желчный пузырь). С. 44
9. Рисунок 9 – График средних значений общего билирубина (мкмоль/л) в трех группах до и после консервации. С. 70
10. Рисунок 10 – График средних значений аспартатаминотрансферазы

	(АсаТ), U/L в трех группах до и после 8 часовой консервации.	С. 71
11.	Рисунок 11 – График средних значений аланинаминотрансферазы (АлаТ) в трех группах до и после 8 часовой консервации.	С. 72
12.	Рисунок 12 – Среднее значение морфометрической оценки эксплантата печени кроликов в различных группах до и после 8 часовой консервации.	С. 73
13.	Рисунок 13 – Окраска гематоксилин-эозин. Ткань печени кролика до консервации.	С. 76
14.	Рисунок 14 – Окраска гематоксилин-эозин. Ткань печени кролика в 1 группе после 8 часовой консервации (1 – Центральная вена, 2 – Ишемический мелкоочаговый некроз гепатоцитов).	С. 78
15.	Рисунок 15 – Окраска гематоксилин-эозин. Ткань печени кролика после 8 часовой консервации 2 группа (1 – Центральная вена, 2 – Отсутствие очагового некроза).	С. 79
16.	Рисунок 16 – Окраска гематоксилин-эозин. Ткань печени кролика после 8 часовой консервации 3 группа (1 – центролобулярный некроз гепатоцитов, некроза межклеточного матрикса и сосудистых структур).	С. 80
17.	Таблица 1 – Характеристики и состав консервирующих растворов. .	С. 15
18.	Таблица 2 – Описательные статистики показателей в первой группе эксплантатов печени кроликов до консервации.	С. 50
19.	Таблица 3 – Описательные статистики показателей во второй группе эксплантатов печени кроликов до консервации.	С. 51
20.	Таблица 4 – Описательные статистики показателей в третьей группе эксплантатов печени кроликов до консервации.	С. 52
21.	Таблица 5 – Результаты сравнения средних значений показателей в первой и во второй группах эксплантатов печени кроликов до консервации.	С. 53
22.	Таблица 6 – Результаты сравнения средних значений показателей в первой и в третьей группах эксплантатов печени кроликов до	

	консервации.	С. 55
23.	Таблица 7 – Результаты сравнения средних значений показателей во второй и в третьей группах эксплантатов печени кроликов до консервации.	С. 56
24.	Таблица 8 – Описательные статистики показателей в первой группе эксплантатов печени кроликов после консервации.	С. 57
25.	Таблица 9 – Описательные статистики показателей во второй группе эксплантатов печени кроликов после консервации.	С. 58
26.	Таблица 10 – Описательные статистики показателей в третьей группе эксплантатов печени кроликов после консервации.	С. 59
27.	Таблица 11 – Результаты сравнения средних значений показателей в первой и во второй группах эксплантатов печени кроликов после 8 часовой консервации.	С. 60
28.	Таблица 12 – Результаты сравнения средних значений показателей в первой и в третьей группах эксплантатов печени кроликов после 8 часовой консервации.	С. 52
29.	Таблица 13 – Результаты сравнения средних значений показателей во второй и в третьей группах эксплантатов печени кроликов после 8 часовой консервации.	С. 63
30.	Таблица 14 – Сопряженность, отражающая влияние применяемых консервантов в различных группах на патоморфологические критерии в баллах.	С. 64
31.	Таблица 15 – Результаты сравнения средних значений показателей в группах до и после 8 часовой консервации эксплантатов печени кроликов.	С. 68
32.	Таблица 16 – Распределение по уровню патоморфологических изменений печеночного эксплантата по группам.	С. 68