

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е. Н. МЕШАЛКИНА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Кливер Владислав Евгеньевич

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО
СЕРДЦА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СРОКАХ ХОЛОДОВОЙ ИШЕМИИ**

3.3.2. Патологическая анатомия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Надеев Александр Петрович

Новосибирск – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	12
1.1 Морфофункциональная характеристика миокарда.	12
1.2 Патоморфологические и патофизиологические особенности миокарда донорского и трансплантированного сердца.	18
1.3 Виды отторжения трансплантированного сердца.	21
1.3.1 Патогистологические признаки острого клеточного отторжения.	22
1.4 Метаболизм миокарда, патогенетические аспекты.	24
1.5 Длительность холодовой ишемии миокарда и её значение для трансплантации сердца.	28
1.6 Виды консервирующих растворов в трансплантации сердца.	30
1.6.1 Применение растворов консервации в экспериментальных исследованиях.	32
1.6.2 Применение растворов консервации в клинической практике.	34
1.6.3 Гиперполяризующие консервационные растворы.	35
1.6.4 Консервация донорского сердца: пути оптимизации.	37
1.7 Постоянная перфузия донорского сердца.	38
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	40
2.1 Дизайн исследования.	40
2.2 Методы патоморфологического исследования.	44
2.2.1 Световая и поляризационная микроскопия миокарда.	44
2.2.2 Иммуногистохимическое исследование миокарда.	45
2.2.3 Электронная микроскопия.	46
2.2.4 Тканевый и ультраструктурный стереологический анализ.	47
2.3 Статистический анализ.	48
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.	49
3.1 Оценка патоморфологических изменений миокарда, экспрессии актина, десмина и E-кадгерина.	49

3.2 Тканевый и ультраструктурный анализ биоптатов донорского сердца. . . .	60
3.3 Характеристика клинико-функциональных показателей реципиентов с холодовой ишемией миокарда до 240 минут и более 240 минут.	68
3.3.1 Характеристика основных исходных клинико-функциональных показателей на дооперационном этапе.	68
3.3.2 Характеристика основных клинико-функциональных показателей в интраоперационном и раннем послеоперационном этапах.	72
3.3.3 Характеристика основных клинико-функциональных показателей в отдаленные сроки наблюдения.	73
3.4 Оценка степени клеточного отторжения.	75
3.5 Обсуждение полученных результатов.	79
ВЫВОДЫ.	88
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	90
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	91
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	92
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.	118

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

На современном этапе развития медицины одной из основных проблем мирового здравоохранения является хроническая сердечная недостаточность (ХСН), одно из самых частых осложнений заболеваний сердечно-сосудистой системы [21, 80, 82, 90]. Количество больных, которые достигают терминальной стадии ХСН, постоянно растет [39, 54, 93, 139, 213].

Несмотря на достижения в области фармакотерапии сердечно-сосудистых заболеваний, ведущим методом её лечения остается трансплантация сердца (ТС), которая существенно улучшает прогноз и качество жизни пациентов [65, 71, 80, 81]. Ежегодно в мире выполняется более 5 500 трансплантаций сердца, подавляющее большинство вмешательств – в странах Европы и Северной Америки. В России на протяжении последних лет отмечается значительный рост числа трансплантации сердца [65].

Вопрос острого отсутствия донорских органов при повышении необходимости в ТС указывает на неизбежность расширения критериев выбора доноров, среди которых увеличение количества изъятий органов у доноров высокого риска станет вероятным решением проблемы нехватки донорских органов, без риска отрицательного влияния на последующие результаты ТС [46, 62, 119].

Одним из важнейших критериев является время ишемии донорского сердца. В настоящее время нет общей позиции по временным критериям холодовой ишемии донорского сердца. Длительная доставка и увеличение времени холодовой ишемии являются негативными факторами в поддержке жизнеспособности трансплантата на до-, и послеоперационном этапах и могут оказаться решающими в развитии его дисфункции [113, 121]. Повышение продолжительности данного показателя более 240 минут, по мнению некоторых авторов, увеличивает опасность развития нарушения деятельности трансплантата и может привести к летальному исходу [62, 133]. В то же время нормотермическое

ишемическое повреждение миокарда сопряжено с разрушающим влиянием гипоксии на структуры клеточных белков, составляющих клеточный каркас кардиомиоцитов. Вместе с тем, в части исследований отмечается, что продолжительный срок холодовой ишемии трансплантата не может быть фактором его дисфункции и не оказывает какого-либо влияния на результаты хирургического лечения, и таким образом, несомненно, заслуживает должного внимания и тщательного анализа [19, 28, 60, 202].

На основании вышеизложенного, несмотря на множество исследований, в настоящее время остается открытым вопрос о «безопасной» длительности холодовой ишемии, нет четкой границы допустимого времени консервации и соответствующих патоморфологических данных о состоянии миокарда донорского сердца при различных временных параметрах. Становление выводов при использовании различных методов сохранения донорского сердца усложнено также разнообразием клинических характеристик потенциальных реципиентов [198].

Степень разработанности темы диссертации

На сегодняшний день значительная часть научных исследований, посвященных изучению изменений в структуре кардиомиоцитов при различных интервалах холодовой ишемии миокарда, является недостаточной и основана преимущественно на экспериментальных данных [20, 22, 103]. Это свидетельствует о недостаточном пуле информации, необходимой для полного понимания основных механизмов патоморфологического ремоделирования сердца при продолжительной холодовой ишемии миокарда. Именно этот факт определил цель и задачи настоящего исследования.

Цель исследования

Изучить патоморфологические особенности донорского и трансплантированного сердца при различной длительности холодовой ишемии трансплантата.

Задачи исследования

1. Изучить характер патоморфологических изменений миокарда донорского сердца при холодовой ишемии миокарда до 240 минут и более 240 минут.
2. Провести сравнительную оценку экспрессии белков-маркеров – актина и десмина и белка семейства молекул клеточной адгезии E-кадгерина в миокарде донорского сердца после холодовой ишемии до 240 минут и более 240 минут.
3. Изучить на тканевом и ультраструктурном уровне особенности изменений кардиомиоцитов биоптатов донорского сердца в условиях холодовой ишемии до 240 минут и более 240 минут.
4. Оценить частоту и степени острого клеточного отторжения трансплантированного сердца у пациентов с продленной холодовой ишемией более 240 минут по сравнению с холодовой ишемией трансплантата до 240 минут в отдаленном 30-дневном послеоперационном периоде.

Научная новизна

Впервые определены особенности патоморфологических изменений миокарда донорского сердца при холодовой ишемии миокарда до 240 минут и более 240 минут, характеризующиеся стереотипными дистрофическими изменениями кардиомиоцитов на тканевом и ультраструктурном уровне.

Впервые показано, что при различных сроках холодовой ишемии экспрессия E-кадгерина в кардиомиоцитах остается на стабильно высоком уровне.

Впервые продемонстрировано, что длительная холодовая ишемия (более 240 минут) донорского сердца не оказывает отрицательного влияния на стабильность экспрессии актина, десмина в миокарде, что указывает на обратимость структурных изменений в виде развития контрактур не более I-II степени и позволяет судить о достаточно высокой степени сохранности их макромолекулярной структуры для восстановления адекватной сердечной деятельности после трансплантации сердца.

Впервые показано, что длительность холодовой ишемии донорского сердца не оказывает влияния на степень острого клеточного отторжения трансплантированного сердца.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты проведенного исследования расширяют современные представления об особенностях морфологии донорского и трансплантированного сердца при длительной холодовой ишемии.

Установлено, что выполнение трансплантации сердца с продолжительностью холодовой ишемии как до 240 минут, так и более 240 минут не оказывает необратимого влияния на структурную целостность трансплантата и не приводит к увеличению частоты развития его первичной дисфункции и смертности реципиентов в отдаленный период после операции.

Полученные данные об изменениях кардиомиоцитов на тканевом и ультраструктурном уровне позволяют судить о достаточно высокой степени сохранности их структуры для восстановления адекватной сердечной деятельности после трансплантации сердца.

Результаты представленного комплексного морфологического подхода к оценке изменений миокарда при длительной холодовой ишемии донорского сердца могут быть использованы для дальнейших разработок методов его защиты на этапе транспортировки.

Методология и методы диссертационного исследования

Методология исследования основана на применении современных принципов системного комплексного анализа данных, включавших сведения медицинских историй болезни стационарных больных, результаты световой, поляризационной микроскопии, иммуногистохимического и ультраструктурного исследования кардиомиоцитов полученных у реципиентов с разной продолжительностью ишемии сердечного трансплантата. Полученные результаты исследования были проанализированы и обработаны корректными

статистическими методами. Дизайн работы согласуется с принципами проведения современных научных исследований с полным соблюдением правил биоэтики.

Положения, выносимые на защиту

1. Выполнение трансплантации сердца с продолжительностью холодовой ишемии как до 240 минут, так и более 240 минут не оказывает необратимого влияния на структурную целостность донорского сердца и позволяет судить о достаточно высоком уровне его структурной сохранности для восстановления адекватной сердечной деятельности в посттрансплантационном периоде.

2. Холодовая ишемия донорского сердца раствором Bretschneider как до 240 мин, так и более 240 мин не влияет в послеоперационном периоде на степень острого клеточного отторжения трансплантированного сердца.

Степень достоверности

Все использованные методические приемы и способы статистической обработки соответствуют поставленным цели и задачам, позволяют получить достоверные и доступные анализу результаты. Диссертация выполнена на достаточном клинико-морфологическом материале с использованием сертифицированного оборудования, современных высокоинформативных методов морфологического исследования (световая и поляризационная микроскопия, морфометрия, иммуногистохимическое и электронно-микроскопическое исследование) и анализа полученных результатов. Сформулированные научные положения и выводы основаны на результатах собственных исследований и не носят характера умозрительных заключений.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на: Российских (итоговых) научно-практических конкурс-конференциях с международным участием студентов и молодых ученых «Авиценна» (Новосибирск, 2022, 2023,

2024); 6-м Съезде Российского общества патологоанатомов (Новосибирск, 2022); международных морфологических научно-практических конкурс-конференциях студентов и молодых ученых «Морфологические науки – фундаментальная основа медицины» (Новосибирск 2021; 2022; 2023); 11-м Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 2022); 4-м Дальневосточном международном медицинском конгрессе в конференции-конкурсе научных работ «Аспирантские чтения 2023», (Хабаровск, 2023); 8-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологоанатомической практики (Челябинск, 2024).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Морфологические основы компенсаторно-приспособительных реакций» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2024).

Диссертация выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме «Изучение закономерностей развития нормальных и патологических процессов в организме при действии факторов экзо- и эндогенной природы: межклеточные и межсистемные взаимодействия при остром и хроническом воспалении, репаративной регенерации, онкогенезе, фиброзировании, дисплазии соединительной ткани; возможности диагностики, профилактики, лечения», номер государственной регистрации 121061500014-3.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены для практического применения в патологоанатомическом отделении ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е. Н. Мешалкина» Минздрава России, а также используются для проведения учебного процесса на кафедре патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России и в Институте высшего и

дополнительного профессионального образования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е. Н. Мешалкина» Минздрава России.

Публикации

По результатам диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе: 6 статей в научных журналах и изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, из них 3 статьи в журналах категории К1, 1 статья в журнале категории К2, входящих в список изданий, распределённых по категориям К1, К2, К3, в том числе 3 статьи в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования Scopus и Web of Science.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 121 странице машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 218 источниками, из которых 139 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 9 таблиц и 21 рисунка, 5 из которых многокомпонентные комбинированные.

Личный вклад автора

Все исследования проводились при непосредственном участии автора: анализ данных отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационного исследования; сбор материала; морфометрия и анализ статистической обработки материала; подготовка научных докладов и диссертации. Работа с историями болезни стационарных больных, изготовление и оценка гистологических, иммуногистохимических препаратов, проводилась на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени

академика Е. Н. Мешалкина» Минздрава России; описание электронограмм на базе кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. Электронная микроскопия проводилась на базе лаборатории клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Автор приносит благодарность доктору биологических наук, профессору, заведующему лабораторией клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России Айдагуловой Светлане Владимировне; доктору медицинских наук, врачу патологоанатому патологоанатомического отделения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е. Н. Мешалкина» Минздрава России, Волкову Александру Михайловичу за бесценный опыт совместной работы.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Морфофункциональные особенности миокарда

Сердце – основной фиброзно-мышечный полый орган человека, осуществляющий движение крови по сердечно-сосудистой системе. Основными образующими элементами миокарда служат кардиомиоциты и внеклеточный матрикс. Первые элементы составляют до 75 % общего объема миокарда, второй около 25 %. Кроме этого, внеклеточный матрикс представляет собой многоструктурную систему, состоящую из пучков коллагеновых волокон и связывающую остальные структуры миокарда: кардиомиоциты, фибробласты, нервы и сосуды [184].

Фибробласты являются самым большим по количеству типом клеток в сердце и подразделяются на функциональные клетки и клетки, формирующие сосудистую сеть. Нормальные сердечные фибробласты имеют плоскую веретенообразную форму с несколькими отростками, образующими ячеистую структуру внутри сердца [12, 38]. Недавние исследования показывают, что эти клетки выполняют не только функцию синтеза матрикса для репарации тканей, но также играют важную роль в воспалительных, иммунных, ангиогенетических и неопластических процессах. Кроме того, они контролируют механическую и электрофизиологическую активность кардиомиоцитов, что является ключевым моментом для развития и восстановления сердечной ткани [38]. Фибробласты также отвечают за отложение и поддержание внеклеточного матрикса сердца, играя основополагающую роль в его структуре и функционировании [38, 187].

Внеклеточный матрикс является структурным фундаментом сердца, обеспечивающим механическую поддержку и координирующим передачу сигналов. Он служит важнейшим индикатором динамических изменений в миокарде под воздействием различных факторов [129]. До недавнего времени внеклеточный матрикс считался промежуточной средой, которая просто проходит между цитоплазмой кардиомиоцитов и кровью, но последние исследования

показали, что он выполняет динамическую роль в метаболических процессах и является не только жизнеобеспечивающей средой, но и ключевым регулятором клеточной пролиферации, дифференцировки, апоптоза, биологически активным, одним из основных компонентов резервуара биологически активных факторов роста [12].

Коллагеновые пучки, создающие каркас вокруг кардиомиоцитов играют роль скелета и поддерживает форму сердца, предотвращая истончение стенок и последующий их разрыв. Большая часть коллагеновых волокон в сердце состоит из коллагена первого и третьего типов, в то время как стенка сосудов содержит коллаген четвертого типа. Коллаген шестого типа присутствует только в миокарде новорожденных. Коллаген первого типа отвечает за упругость миокарда, а коллаген третьего типа – за его растяжимость. Исследование Майнера и его коллег (2006) выявило, что 85 % всех коллагеновых волокон во внеклеточном матриксе миокарда состоят из коллагена первого типа, а 11 % – из коллагена третьего типа [156]. Фибробласты, миофибробласты и эндотелиальные клетки активируются синтезом коллагена первого и третьего типов, в то время как сосудистые перициты коллагеном четвертого типа.

В общепринятой точке зрения, соотношение коллагена первого и третьего типов во внеклеточном матриксе является одной из основных характеристик и остается стабильным при отсутствии патологических изменений. Тем не менее, патологические процессы могут привести к нарушению этого соотношения. В том случае, когда патологические процессы касаются коллагена первого и второго типа и их количество становится меньшим по отношению третьему типу и баланс нарушается, тогда растяжимость внеклеточного матрикса увеличивается, что в финале ведет к дилатации желудочков сердца. Повышенная жесткость и эластичность миокарда обусловлена преобладанием коллагена первого типа во внеклеточном матриксе сердечной мышцы. Прогрессирование формирования фиброзной ткани в миокарде приводит к накоплению коллагена первого типа [175].

Помимо ранее упомянутых видов коллагена, также необходимо отметить роль коллагена V типа. При его недостатке происходит изменение сигнализации интегринов, активизация дифференцировки миофибробластов и интенсивное образование внеклеточного матрикса.

Исходя из вышеизложенного, следует заключение, что состав коллагена внеклеточного матрикса влияет на степень пролиферации фибробластов, активацию фибропластических и воспалительных процессов, а также на предполагаемую дифференцировку фибробластов в зависимости от окружающего микроокружения посредством пока не изученных механических сигналов [131].

Развитие кардиомиоцитов, специализирующихся на функции сокращения происходит по единой схеме и включает гипертрофию мышечных волокон и изменения в актин-миозиновой системе [64, 138].

В состав структуры миокарда входит пять уникальных типов клеток, каждый из которых выполняет свою специфическую функцию: сократительных, секреторных, пейсмекерных, переходных и проводящих кардиомиоцитов [17, 50, 64].

Сократительные кардиомиоциты являются основными сократительными элементами желудочков сердца. Их структура включает миофиламенты, в составе которых выделяют сократительный аппарат и депо кальция. Величина сократительных кардиомиоцитов варьируют в пределах от 120 до 150 мкм в длину и не более 15–20 мкм в ширину. Присутствие большого количества митохондрий, располагающихся близко друг к другу между миофибриллами, является одной из особенностей сократительных кардиомиоцитов. Одновременно можно заметить слабое развитие каналов саркоплазмической сети и T-системы внутри митохондрий. T-каналы кардиомиоцитов желудочков представляют собой глубокие поперечные складки, проходящие на уровне Z линий, их анастомозирующих ветвей, расположенных в продольном и поперечном направлениях на уровне A дисков.

Совокупность T-системы в желудочковых кардиомиоцитах составляет от 27 % до 36 % от общего объема плазмы клетки. Каналы этой системы не только

передают импульсы, но также позволяют метаболитам проникать внутрь клеток [50, 146].

Проводящие мышечные клетки сердца, находящиеся под эндокардом, связаны друг с другом концами, составляющими цепочки, таким образом формируя единый эффективный энергетический комплекс. Множество контактов объединяют митохондрии в маленькие группы, называемые кластерами, которые могут соединяться друг с другом. Количество этих контактов увеличивается при повышенной нагрузке на орган и сокращается при ограничении подвижности человеческого организма [75, 106, 158].

Сигнал от пейсмекерных клеток сначала передается первому кардиомиоциту и затем, через конечную мышечную клетку поступает к сократительным кардиомиоцитам. В проводящих кардиомиоцитах наблюдается недостаточное развитие миофибриллярного аппарата, а Z-линии имеют неровную форму. Между актиновыми филаментами и Z-нитями расположены осевые нити, содержащие тропомиозин. Кроме этого, в Z-полосках выявлены α -актинин, десмин, виментин, филамин и лептомерные структуры, располагающиеся с внутренней стороны сарколеммы перпендикулярно к миофибриллам. В совокупности с T-каналами цистерны саркоплазматического ретикулула образуют в основном диады. Мембраны ретикулула включают в себя активируемую кальцием транспортную АТФазу, которая помогает накапливать ионы кальция внутри цистерн саркоплазматического ретикулула. При расслаблении миофиламентов ионы кальция попадают в ретикулум, а после через его каналы в терминальные цистерны [7, 11, 146].

В структуре кардиомиоцитов можно выделить специализированные элементы, такие как «вставочные диски». Они являются сложными комплексами, состоящими из промежуточных соединений, нексусов и десмосом, расположены на уровне Z линий и имеют в своем составе плотный материал, в котором присутствует большое количество липидов и несколько различных белков, включая α -актинин, виментин, винкулин, десмин, спектрин и коннектин [152, 191, 201]. Десмосомы и промежуточные контакты являются соединениями,

связывающими кардиомиоциты между собой [72, 207]. Кроме того, десмосомы выполняют функцию механического захвата и предотвращают расхождение клеток. Они обеспечивают прочное соединение между клетками, поддерживая их структурную целостность. Промежуточные контакты, активно участвуют в прикреплении актиновых нитей соседних саркомеров к сарколемме сердечной мышечной клетки. Это взаимодействие обеспечивает согласованную работу и позволяет сердечной мышце эффективно сокращаться и обеспечивать нормальную функцию [72, 173].

Имеющиеся на сегодняшний день данные о белках цитоскелета кардиомиоцитов открывают новые возможности для понимания механизмов повреждения их структуры при ишемическом и реперфузионном повреждении. Так, некоторые исследователи предлагают оценивать уровень экспрессии кадгеринов – особых белков, обеспечивающих межклеточные контакты, в частности, как между кардиомиоцитами, так и между эндотелиальными клетками [13, 192, 216].

Среди представителей суперсемейства кадгеринов, которые играют важную роль в поддержании цитоскелета, следует отметить E-кадгерин, который относится к группе кадгеринов I типа, активно участвует в поддержании стабильной клеточной адгезии в эпителиальных тканях и обнаруживается в месте промежуточного контакта. Экспрессия E-кадгерина строго регулируется как в физиологических, так и в патологических процессах, таких как онкогенез и эмбриональный морфогенез. Главная функция E-кадгерина заключается в формировании адгезивного соединения клеток, которое необходимо для создания высокоорганизованных тканей. Адгезивные контакты между клетками способствуют эффективной внутриклеточной коммуникации, что значительно упрощает взаимодействие молекул клеточной мембраны с внутриклеточными путями. Также E-кадгерин играет важную роль в поддержании компактности тканей на протяжении их развития, регулируя эпителиально-мезенхимальный переход [204], осуществляет поддержку гомеостаза и целостности взрослой эпителиальной ткани. Есть несколько свидетельств того, что кадгерины не только

являются целью для сигнальных путей, контролирующих адгезию, но и сами могут действовать как сигнальный центр, регулирующий клеточные процессы, такие как пролиферация, апоптоз и дифференцировка клеток [214].

В кардиомиоцитах отмечается наличие трех различных подпопуляций митохондрий: субсарколеммальные, межфибрилярные и околоядерные. Каждая из этих них обладает своей уникальностью, хранит особую морфологическую информацию, а также вариативный набор ферментных систем [61, 117, 177, 194, 212]. Сокращение мышечных клеток сердца осуществляется с участием специализированных белковых молекул – актина, миозина и регуляторных белков тропонина и тропомиозина [146]. Миозин и актин образуют толстые и тонкие филаменты, прикрепляющиеся соответственно к М-линии и Z-линии.

Миозиновые нити состоят из пептидных цепочек, включающих длинную палочковидную часть, называемую «стержень», и двойную шаровидную часть, называемую «головка». Стержень миозина прочно вмурован в толстом миофиламенте, а головка выступает наружу и вступает в контакт с актиновыми нитями во время сокращения благодаря актин-связывающему сегменту. Тонкие актиновые филаменты связаны с глобулярным белком тропонином и фибриллярным белком тропомиозином, которые регулируют контакты между актином и миозином и процессы сокращения и расслабления мышечных клеток сердца [120, 167].

Неоднородность состава миофибрилл обуславливает преломление поляризованного света. Микроскопическое изучение миофибрилл в поляризованном свете позволяет обнаружить характерную поперечную исчерченность, обусловленную чередованием анизотропных (А) и изотропных (I) дисков. Диски А обладают ярко выраженным положительным двулучепреломлением, благодаря чему они являются светлыми в поляризованном свете (в обычном свете – темными). В то же время, диски I практически не обладают способностью к двулучепреломлению, и поэтому они выглядят темными в поляризованном свете (в обычном свете – светлыми) [26, 73, 167, 189].

1.2 Патоморфологические и патофизиологические особенности миокарда донорского и трансплантированного сердца

Патоморфологические изменения кардиомиоцитов донорского органа могут быть разнообразными и зависят от нескольких факторов, включая причину трансплантации, характер пересадки, длительность холодовой ишемии и реперфузии и т. д. Выделяют три основных группы патоморфологических процессов: реактивные изменения, ишемическое и реперфузионное повреждение, деструкция и трансформация фиброза.

В первые несколько дней после трансплантации сердца может наблюдаться реактивное воспаление вокруг анастомозов и сердечных сосудов. Это связано с иммунологическими реакциями, реакцией на ишемию и самой оперативной процедурой.

При холодовой ишемии, повреждение миокарда и последующая реперфузия генерируют дистрофические изменения, некроз и апоптоз клеток сердца и связаны с нарушением кровоснабжения и метаболическими изменениями в период трансплантации. Они отражают адаптацию кардиомиоцитов к недостатку кислорода и питательных веществ и связаны с повреждением. В ответ на ишемический стресс митохондрии в кардиомиоцитах могут сворачиваться и принимать более компактную форму. Это действие позволяет сохранить энергию и снизить потерю веществ. Длительная ишемия вызывает утолщение мембран митохондрий, что связано с активацией окислительного стресса. Утолщение мембран влияет на функцию митохондрий и воздействует на их обмен веществ. При продолжительной ишемии и реперфузии идет повреждение митохондрий и разрушение мембран, что приводит к утечке энзимов и свободных радикалов и усиливает окислительный стресс и повреждение кардиомиоцитов. Кроме этого, ишемия может вызывать набухание и расширение эндоплазматического ретикулума – важной структуры, связанной с синтезом и складированием белков. Внутри митохондрий появляются так называемые митохондриальные псевдоинклюзии – неправильно сформировавшиеся структуры, содержащие

электронноразнообразный материал. Наличие псевдоинклюзий может быть связано с нарушением митохондриальной функции и повреждением клетки. Несмотря на существенный прогресс в выживаемости больных с трансплантированным сердцем, в отдаленном периоде у реципиентов нередко развивается субклиническая сердечная недостаточность, основным компонентом которой является фиброз миокарда трансплантированного сердца. В развитии восстановительного фиброза выделяют следующие фазы деструктивных процессов во внеклеточном матриксе: максимального синтеза белков внеклеточного матрикса и затухания синтетических процессов [16].

Одна из главных характеристик процесса фиброзирования миокарда заключается в превращении фибробластов в миофибробласты под воздействием повышенного давления. В нормальных условиях миофибробласты не встречаются в сердце, за исключением створок клапанов. Однако в случае постинфарктных рубцов они сохраняются без четкого понимания причин [38; 153]. Миофибробласты обладают большой активностью, а их высокая чувствительность к провоцирующим воспалению и способствующим образованию фиброза факторам, а также стойкая реактивность являются отличительной чертой их природы [66]. Кроме того, они играют важную роль в сократительной функции, окружающих миокард клеток. Во многих органах миофибробласты гибнут после завершения реконструктивных процессов путем апоптоза, однако, в сердце они по неизвестной причине сохраняются в постинфарктных рубцах. Одним из основных факторов, стимулирующих образование миофибробластов, является TGF- β 1, который способствует синтезу сократительных белков, включая α -гладкомышечный актин α -SMA, виментин, а также различные типы коллагена (I, III, IV и VIII) [141]. Фибробласты, экспрессирующие α -SMA, способствуют формированию фиброгенной среды.

Фибробласты способны превращаться в миофибробласты из-за влияния механического растяжения и ишемии-реперфузии. В ответ на эти стимулы они модифицируют свои свойства, изменяя пролиферацию, миграцию, синтез компонентов межклеточного матрикса и матриксных металлопротеиназ [108]. Эта

трансформация фибробластов в активированные миофибробласты, экспрессирующие α -SMA и производящие составляющие элементы межклеточного матрикса, представляет собой ключевое событие в развитии фиброза [100]. Поэтому патологически активированные миофибробласты являются важной целью в терапии для замедления прогрессирования сердечной недостаточности и сердечного фиброза [178]. В нормальных физиологических условиях существует некая соразмерность между синтезом и разрушением коллагена, предотвращающая избыточное накопление соединительной ткани в сердечной мышце. Однако любое изменение структурных компонентов межклеточного матрикса приводит к нарушению равновесия между процессами синтеза и разрушения [209].

Роль иммунной системы в контроле компонентов межклеточной матрицы в сердце при воспалении еще не до конца исследована. Предполагается, что провоспалительные цитокины воздействуют на клеточные элементы-продуценты компонентов межклеточной матрицы, вызывая изменения в ее обмене веществ, и способствуют прогрессии фиброза и ремоделированию левого желудочка [98, 175]. Учитывая установленную роль воспаления миокарда в развитии и прогрессировании ряда сердечно-сосудистых заболеваний, включая ишемическую кардиомиопатию. Изучение роли и уровня связи между иммунной системой, кардиомиоцитами и структурными компонентами межклеточного матрикса представляется актуальным направлением и требует дальнейшего исследования.

Таким образом важным элементом в развитии фиброза миокарда служит превращение фибробластов в миофибробласты, отличающееся удвоенной скоростью синтеза коллагена. В норме миофибробласты не присутствуют в ткани сердца, за исключением клапанного эндокарда. Они в большей степени чувствительны к провоспалительным и профибротическим стимулам и способны к синтезу различных цитокинов и хемокинов [66]. Также формирование миофибробластов ускоряет факторы роста, в том числе трансформирующий фактор роста- β (TGF- β) [38]. Восстановление кровоснабжения и развитие фиброза ткани в конечном итоге приводят к модификации.

1.3 Виды отторжения трансплантированного сердца

Несмотря на достигнутые на сегодняшний день успехи в методах комплексного лечения сердечно-сосудистых заболеваний, трансплантация сердца (ТС) остается для части пациентов с хронической сердечной недостаточностью единственным методом лечения, существенно влияющим на прогноз и качество жизни, которые можно значительно улучшить при условии соблюдения протокола иммуносупрессивной терапии [45, 149].

Основной причиной потери донорского органа на различных сроках послеоперационного периода является отторжение трансплантата (клеточное и гуморальное), а также ассоциированная с ними васкулопатия. Для диагностики данного процесса используется эндомиокардиальная биопсия миокарда (ЭМБ) [95]. Классификация отторжения трансплантата включает в себя следующие виды: 1) сверхострое (проявляющееся в течение 24 часов после трансплантации); 2) острое (возникающее в первый месяц после трансплантации); 3) хроническое (развивающееся в период от месяца до нескольких лет после трансплантации).

Сверхострое отторжение обусловлено присутствием у реципиента ранее имевшихся специфических антител к антигенам трансплантата [150]. Данные антитела после проведенной трансплантации посредством контакта с антигенами сосудов трансплантата образуют комплекс антиген-антитело. Дальнейшее инициирование комплемента ведет к развитию иммунного воспаления на эндотелии сосудов мелкого и среднего калибра, сопровождающимся отеком стромы миокарда и дисконкомплексацией пучков кардиомиоцитов [27]. В ответ на эти изменения активируются механизмы гемокоагуляции, последствием которых является тромбообразование, ухудшение кровотока в сосудах трансплантированного органа ускоряющее его дисфункцию. Предшествующая беременность, переливания крови, гемодиализ могут служить факторами возникновения у реципиентов специфических анти-HLA-антител.

Острое отторжение трансплантированного органа, главным образом, происходит из активности механизмов клеточного иммунитета и представляет

собой проявление физиологической функции иммунной системы в форме и клеточного, и гуморального ответа. Согласно литературным данным острое отторжение встречается более чем у 60 % реципиентов сердца [15, 92].

Хроническое отторжение трансплантата привлекает включение не только гуморальных, но и клеточных иммунных реакций. В данном типе отторжения антитела играют важную роль. Наблюдается развитие иммуновоспалительной реакции, вызванной иммунными комплексами, прогрессирующее дегенеративно-дистрофических процессов в трансплантированном сердце, замещение его паренхимы фиброзной тканью с поражением сосудов эндотелия вплоть до полного перекрытия их просвета. Классическим проявлением этого вида отторжения трансплантированного сердца является болезнь коронарных сосудов трансплантата, которая развивается у большинства реципиентов. Продуктивный коронарит, ведущий к ишемическому повреждению миокарда и развитию мелкоочагового кардиосклероза является главной патоморфологической основой данного заболевания [132].

В клинической практике главенствующую роль играет острое отторжение трансплантата, которое является ключевым фактором нарастания сердечной недостаточности, вследствие дисфункции в работе сердца и может даже привести к гибели донорского органа в первые месяцы после трансплантации [79].

1.3.1 Патогистологические признаки острого клеточного отторжения

Клеточное отторжение трансплантата является ответной реакцией иммунной системы на трансплантацию. Данный процесс впервые был описан К. Н. Барнардом в 1967 году у одного из оперированных им пациентов. Ему характерны два важнейших патоморфологических свойства: 1) клеточная воспалительная инфильтрация; 2) повреждение кардиомиоцитов [144]. Состав клеточного инфильтрата представлен большей частью Т-лимфоцитами и макрофагами, а в некоторых случаях эозинофилами. В тяжелых ситуациях, при

клеточном отторжении в этот инфильтрат могут входить нейтрофильные гранулоциты [154].

Повреждение кардиомиоцитов, представлено некрозом отдельных мышечных клеток сердца. В ранних стадиях процесса может быть обратимым и представлено лизисом отдельных кардиомиоцитов без некроза сократительных элементов [101]. Просветление саркоплазмы и ядер с расширением последних и появлением в них ядрышек указывают на гибель клетки. Мышечные клетки сердца в следствие присутствия периферической лимфоцитарной инфильтрации обретают «зубчатые края».

В раннем послеоперационном периоде отторжение трансплантата протекает без клинических проявлений у наибольшей доли пациентов, что указывает на важность проведения регулярных плановых эндомикардиальных биопсий с целью раннего выявления признаков отторжения с последующей коррекцией иммуносупрессивной терапии.

Оценку степени клеточного отторжения проводят по критериям Международного общества трансплантации сердца и легких [190, 202]:

- степень G0R (признаки острого клеточного отторжения отсутствуют) (клеточная инфильтрация отсутствует или представлена единичными элементами, признаков повреждения кардиомиоцитов нет);

- степень G1R (слабое клеточное отторжение). (единичные локусы повреждения кардиомиоцитов, связанные с одним очагом лимфомacroфагальной инфильтрации). Различается два подтипа данного процесса. Первый подтип характеризуется появлением отдельных лимфоцитов и макрофагов в строме и периваскулярном пространстве. Несколько реже можно наблюдать эозинофилы. Их присутствие не влияет на контуры кардиомиоцитов, не нарушает их целостности и не вызывает повреждения миокарда в целом. Второй подтип отличается наличием одного очага лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации, что приводит к повреждению кардиомиоцитов;

- степень G2R (умеренно выраженное клеточное отторжение) (множественные локусы эндомикардиального повреждения в ассоциации с

очагами лимфомacroфагальной инфильтрации). При данном виде поражения миокарда наблюдается наличие нескольких очагов воспаления, содержащих лимфоциты и макрофаги, каждый из которых связан с повреждением кардиомиоцитов. Возможно присутствие гранулоцитов в биоптате. Данные изменения имеют локальный характер и разделены участками интактного миокарда;

- степень G3R (тяжелое клеточное отторжение). (диффузная инфильтрация лимфоцитами и макрофагами, присутствие нейтрофильных гранулоцитов, очаги кровоизлияний). На фоне диффузных воспалительных изменений со смешаноклеточной инфильтрацией отмечаются очаги миоцитолита, дисконфлексии кардиомиоцитов с обширным отёком интерстиция. Поражение сосудов представлено диапедезными геморрагиями и деструктивным капилляритом [142].

1.4 Метаболизм миокарда, патогенетические аспекты

На сегодняшний день ведущими звеньями в патогенезе ишемии миокарда являются синдромы ишемического и реперфузионного повреждения. Они влекут за собой ряд метаболических реакций, нарушающих целостность миокарда [3, 96].

Метаболические расстройства, возникающие при ишемии, представляют собой увеличение ионов водорода и фосфата и выход аденозина и ионов калия из клетки [40, 48]. Данные последствия ишемии направлены на защиту клеточного метаболизма и сохранение ресурсов клеток от слишком быстрого истощения. При продолжительной ишемии клетки переходят в состояние гибернации, целью которой является сохранение жизнеспособности клеток в режиме ожидания возможного восстановления кровотока. В 1984 году S. Rahimtoola назвал этот феномен «гибернацией миокарда», адаптирующей функциональную активность миокарда к условиям кровоснабжения и являющийся защитной реакцией больного сердца [53]. Реперфузия способна нивелировать метаболический защитный механизм и восстановить сократительную функцию миокарда [32].

Если кровоток восстанавливается после продолжительного периода ишемии, то сократительная функция миокарда способна восстановиться даже при малом энергетическом запасе клеток. Данное состояние описано в литературе как «оглушенный» или «реперфузионный» миокард [48, 53] и сопровождается дальнейшим повреждением внутриклеточных структур, которое в значительной степени обусловлено действием свободных радикалов кислорода, образующихся в больших количествах при реперфузии поврежденной части миокарда [9, 33, 34]. Длительное снижение сократительной функции миокарда объясняется реперфузионным повреждением [9, 49]. Реперфузия даже после кратковременной и обратимой ишемии, проявляет продолжительное подавление контрактильной функции, что связано с нарушениями ультраструктуры, метаболизма, электрофизиологии и другими факторами [9, 33, 34].

Реперфузионное повреждение может являться фактором длительного снижения сократимости миокарда [9, 49]. Миокард после кратковременной и обратимой ишемии, проявляет длительное подавление сократительной функции, что связано с ультраструктурными, метаболическими, сосудистыми, электрофизиологическими и другими нарушениями [9, 33].

Понятия «спящий» или «гибернирующий» миокард и «оглушенный» или «реперфузионный» миокард различаются в литературе. «Спящий» миокард проявляется при длительной ишемии, когда кровоток органа снижен. В таком состоянии сердечная мышца находится в «спящем» режиме, что означает, что ее функции снижены. «Оглушенный» миокард возникает после непостоянной ишемии. В этом случае кровоток остается нормальным или почти нормальным, что позволяет сердечной мышце сохранить свои основные функции [5].

Главное отличие заключается в том, что при «спящем» миокарде функция левого желудочка соответствует изменению кровотока, тогда как при «оглушенном» миокарде такое соответствие отсутствует. При «оглушенном» миокарде наблюдается нарушение функции левого желудочка и сократимости, развивается ишемическая дисфункция, но при этом кровоток остается нормальным или почти нормальным [51, 56]. В то время как у «спящего»

миокарда глубокое подавление функции продолжается длительное время, а восстановление функции сердечной мышцы происходит лишь при нормализации кровотока [5]. Ишемия приводит к серьезным нарушениям процессов энергообразования и повреждению клеточных структур миокарда, главным образом после восстановления поставки кислорода. Поэтому переход на анаэробные метаболические пути вызывает снижение запасов АТФ, что приводит к замедлению или прекращению большинства энергозависимых процессов, неспособности поддерживать ионное равновесие и, в конечном счете, к гибели клетки.

Важное значение имеют ионные взаимодействия, энергобаланс клеток миокарда. В условиях ишемического повреждения происходит нарушение этого взаимодействия, что приводит к повреждению кардиомиоцитов и дисфункции сердечной мышцы. Возникающие нарушения внутриклеточной концентрации ионов кальция, в период ишемии, стимулируют повреждение сократительной способности миокарда [4, 23, 58, 69, 70, 217].

Происходящие метаболические изменения ведут к падению концентрации клеточного аденозинтрифосфата, переходу от аэробного к анаэробному гликолизу, что, в конечном счете, ведет к нарастанию концентрации анаэробных продуктов обмена [32, 78]. На основании этого митохондрии лишаются возможности к адекватной работе. Снижение АТФ и увеличение количества лактата ведут к уменьшению уровня рН и увеличению внутриклеточного содержания натрия и кальция и соответственно больше расходует ресурсы АТФ [10, 196].

Повышение уровня внутриклеточного кальция влечет за собой повреждение мембраны митохондрий и переход макрофагов и нейтрофилов в зону ишемии, что также играет негативную роль в условиях реперфузии, то есть при восстановлении кровообращения в ишемизированных участках миокарда. Реперфузионное повреждение ведет к развитию оксидантного стресса, сосудистых, клеточных и неклеточных воспалительных иммунных реакций [123, 200].

В ситуации ишемии и реперфузии, выработанные митохондриями миокарда активные формы кислорода участвуют в повреждении мышечных клеток сердца посредством включения ряда клеточных реакций и изменений параметров гомеостаза. Избыток кальция в клеточном матриксе наравне с подключением реакций оксидантного стресса приводит к повреждению митохондрий и как следствие этого к гибели мышечных клеток сердца [14, 196]. Кроме того, не исключается, что и сам оксидантный стресс является основой для повреждения обмена кальция и избытка его в кардиомиоцитах, а активные формы кислорода негативно воздействуют на насосную функцию миокарда, поддерживая запускаемую после включения сердца в кровоток воспалительную реакцию, которая оказывает существенное значение на восстановительные процессы в миокарде в послеоперационном периоде [78, 196].

Значимой проблемой в кардиохирургии и в настоящее время остается воспаление и поэтому оно всегда остается в эпицентре внимания научного сообщества. Воспаление в сердце имеет обширный диапазон клинических симптомов и является сравнительно частым обстоятельством внезапной сердечной смерти [161].

Инициаторами запуска воспалительной реакции могут быть не только реперфузия миокарда, хирургическая травма, но и другие причины, включая анестезиологическое пособие, температуру, генетическую склонность. Реперфузионное повреждение миокарда служит добавочным фактором для выработки медиаторов воспаления, а оксидантный стресс играет значимую роль в развитии осложнений после операции [89, 110, 182].

Основой образования активных форм кислорода при операциях в условиях искусственного кровообращения считаются нейтрофилы и высвобождающиеся протеолитические ферменты.

Нейтрофилы в большом количестве депонируются в ишемизированных клетках сердечной мышцы. Кроме этого, миокард самостоятельно вырабатывает медиаторы воспаления и оксидантного стресса как во время ишемии, так и реперфузии, стимулируя апоптоз кардиомиоцитов, клиническим выражением

которого является снижением насосной функции сердца. При холодовой кристаллоидной кардиоплегии кардиомиоциты продуцируют интерлейкины, которые также стимулируют активацию молекул адгезии разных видов клеток.

Таким образом, бесспорно, что миокард в дополнение к патологическим изменениям, возникающим при ишемическом и реперфузионном повреждении сам, вырабатывает цитокины и биологические активные вещества, таким образом усиливая воспаление и свое поражение [2, 4, 35, 215].

По данным [39] в течение первого месяца после операции отмечаются патоморфологические признаки ишемического и реперфузионного повреждения трансплантированного сердца. Они являются результатом многоэтапного развития ишемического процесса. Первый этап отмечается еще при жизни донора, при нестабильной гемодинамике в реанимационной палате. В дальнейшем повреждение усиливается на первом этапе тепловой ишемии, продолжающегося до отмывки донорского сердца охлажденным консервирующим раствором. После этого наступает этап холодовой консервации. Период после извлечения донорского сердца из охлажденного консервирующего раствора и до включения органа в кровоток реципиента представляет собой вторичную тепловую ишемию. Чем сильнее было ишемическое повреждение донорского сердца, тем тяжелее будет реперфузионное повреждение ТС.

1.5 Длительность холодовой ишемии миокарда и её значимость для трансплантации сердца

Длительность холодовой ишемии, является одним из критериев расширенного донорства [171] и включает в себя использование различных методов и стратегий для минимизации негативных её эффектов и оптимизации краткосрочных и долгосрочных результатов трансплантации сердца.

Консервация донорского сердца с использованием холодовой перфузии и специальных растворов – это эффективный метод, который защищает миокард от гипоксического повреждения как во время его транспортировки в операционную,

помогает предотвратить необратимые повреждения сердечной мышцы, так и позволяет минимизировать возможные реперфузионные поражения. В настоящее время основным методом, используемым для консервации сердца, является холодовая перфузия с использованием консервационных растворов [133].

Однако на сегодняшний день нет общей позиции по временным критериям холодовой ишемии донорского сердца. Большинство исследователей длительность холодовой ишемии, не превышающая 240 минут, считается оптимальной для донорского сердца и его трансплантации [1, 28]. По мнению [27, 133] консервационные растворы, стандартно используемые для холодовой ишемии, такие как раствор Bretschneider, внутриклеточный раствор University of Wisconsin, растворы St Thomas, Celsior, обеспечивают адекватную консервацию в течение 240 минут. Другие методы консервации, такие как нормотермическая перфузия сердца вне организма, не имеют достаточной доказательной базы и в то же время малодоступны.

Увеличение ишемического времени более 240 мин, по мнению некоторых авторов, отрицательно влияет на жизнеспособность трансплантата и является негативными факторами в поддержке жизнеспособности трансплантата на до-, и послеоперационном этапах [63, 202, 218].

Вместе с тем, анализ результатов ряда последних исследований указывает на то, что длительность холодовой ишемии не оказывает существенного воздействия на итог ТС [171, 202].

Кроме того, в литературе описаны многоцентровые исследования, которые показали, что холодовая ишемия миокарда более 300 минут практически не влияет на ранние и долгосрочные результаты трансплантации сердца [160, 171, 195].

Также выглядят уникальными данные, в которых результаты трансплантации после холодовой ишемии донорского сердца от 600 до 780 минут оказались сопоставимы с результатами операций после консервации менее 240 минут [148]. Заслуживают внимания научные работы о корреляции возраста донора и срока холодовой ишемии миокарда. По их результатам возрастным донорам не показана консервация органа более 300–350 минут [199, 203].

И конечно, немало важны исследования о разработке перспективных консервационных растворов, находящиеся только на стадии экспериментальных исследований, которые предполагают консервацию органа на время, значительно превышающее 300 минут, и даже 1 000 минут [151, 193].

1.6 Виды консервирующих растворов в трансплантации сердца

Качество состояния трансплантированного сердца в большинстве своём обусловлено применяемым для холодовой ишемии консервирующим раствором [105].

В силу своей важности, вопрос создания универсального консервирующего раствора давно интересовал исследователей всего мира, но бурное развитие эта тема получила в 60-х годах прошлого столетия, когда в кардиологических центрах возобновились исследования по проблеме кардиоплегической защиты миокарда [30, 40, 41, 74, 102, 137, 140, 145]. Столкнувшись с проблемой послеоперационной сердечной недостаточности, которая, как известно в наше время, не только возникает после хирургических вмешательств на сердце, но и зависит от уровня обеспечения его сохранности на дооперационном этапе [41], мировому научному сообществу потребовалось более двух десятилетий, чтобы фармакохолодовой кардиopleгии завоевать ведущие позиции в области кардиохирургии.

В середине 1990-х годов в США для сохранения донорского сердца использовалось больше 160 различных типов консервирующих растворов [169]. На сегодняшний день в клинической практике используются такие растворы, как Кустодиол, Celsior, Висконсинского университета и Euro-Collins [36]. Кустодиол был разработан в 1970-х годах Бретшнайдером [163] и использовался только как кардиоплегический раствор. Однако позже его стали применять для консервации различных донорских органов [128]. Раствор Bretschneider стал неотъемлемой частью кардиохирургической практики, поскольку его введение в коронарное русло сердца обеспечивает оптимальную защиту от ишемии в течение 2 часов и более [6, 163]. Раствор содержит низкую концентрацию ионов натрия

(15 ммоль/л) и кальция (0,015 ммоль/л) и относится к внутриклеточным растворам. Он также обладает мощной буферной системой, включающей в себя высокую концентрацию аминокислоты гистидина.

Раствор Euro-Collins является внутриклеточным раствором с высокой концентрацией глюкозы и ионов калия, а также фосфатной и бикарбонатной буферными системами.

Использование высокой концентрации глюкозы в консервирующих и кардиоплегических растворах сопровождается как положительными, так и отрицательными последствиями. С одной стороны, глюкоза является основным источником энергии для клетки в условиях гипоксии. Однако, другая сторона медали заключается в том, что метаболизм глюкозы без участия кислорода приводит к накоплению лактата, что в конечном итоге может нанести вред клеткам. Результаты проведенных экспериментов на изолированных сердцах крыс показали негативные последствия внутриклеточного кардиоплегического раствора с высокой концентрацией глюкозы (247 ммоль/л) по сравнению с растворами с более низкой концентрацией глюкозы [22, 36].

Раствор предложенный Ф. Бельцером (раствор Висконсинского университета) является внутриклеточным. Концентрация ионов натрия в нём составляет 30 ммоль/л. Он также содержит гидроксиэтилкрахмал в качестве коллоидного компонента, предотвращающего внутриклеточный отек, и низкомолекулярные антиоксиданты, такие как лактобионат, аллопуринол и глутатион. Буферная система состоит только из дигидроортофосфата с концентрацией 25 ммоль/л. Раствор Висконсинского университета, так же, как и раствор Euro-Collins, содержит высокую концентрацию калия (соответственно 125 и 115 ммоль/л), что может отрицательно сказываться на состоянии сердечной мышцы. Высокие концентрации калия влияют на миокард и могут привести к развитию некрозов [8, 37].

Внеклеточные растворы, такие как раствор Celsior, содержащий 100 ммоль/л натрия, составляют конкуренцию внутриклеточным растворам. Исследования подтверждают, что в период реперфузии внеклеточные растворы

способствуют более быстрому восстановлению насосной функции сердца. Экспериментальные данные, представленные в работе Минасян С. М. (2010), подтверждают этот факт [36].

Добавление дополнительных веществ, благоприятно влияющих на кардиопротекцию, в раствор Celsior ограничено из-за высокого содержания в нем натрия и хлора, приводящего к увеличению его осмолярности, а ее точные пределы для кардиopleгии и консервации органов до сих пор остаются неопределенными. Это объясняет относительно низкую концентрацию гистидина в растворе Celsior по сравнению с внутриклеточным раствором Bretschneider (30 и 180 ммоль/л соответственно).

Преимущество раствора Celsior заключается в наличии в его составе антиоксидантов – лактобионата и глутатиона, которые предотвращают оксидативное повреждение клеток вовремя реперфузии [162]. В отличие от других рассмотренных растворов, Celsior содержит глутамат в концентрации 20 ммоль/л, что доказано имеет кардиопротективный эффект при ишемии-реперфузии сердца [47]. Также в состав растворов Celsior, Bretschneider и Стэнфорда входит маннитол – компонент, который является противоотечным и антиоксидантом, нейтрализующим активные формы кислорода [147]. Однако результаты исследований [36] показывают, что использование маннитола в концентрации 108 ммоль/л при экспериментах на крысах увеличивает размер инфаркта, вероятно, связано с его проникновением в цитоплазму при повреждениях клеточной мембраны и увеличением давления внутри клеток.

1.6.1 Применение растворов консервации в экспериментальных исследованиях

Исследования на животных, проведенные до настоящего времени, позволяют сравнить эффективность различных методик исследования сердца. Для этих целей используются разные подходы, включая изоляцию сердца по методу ретроградной перфузии с последующим восстановлением его работы и

консервация донорского сердца с его орто- или гетеротопической пересадкой в условиях эксперимента [83, 115, 130].

Для оценки эффективности проводимых экспериментальных моделей в настоящее время возможно использовать различные виды функциональных, биохимических, генетических и гистологических показателей. Так для оценки функции левого желудочка оцениваются такие параметры, как сердечный выброс, коронарный кровоток и частота сердечных сокращений. Для оценки функции левого желудочка после трансплантации донорского сердца применяются эхокардиография и катетеризация камер сердца. Эффективность различных методов исследования контролируется изучением биохимических маркеров некроза миокарда: сердечного тропонина, креатинфосфокиназы и лактатдегидрогеназы [86, 87, 124, 166].

Определение содержания аденозинтрифосфата (АТФ) в тканях является важным показателем компенсации нарушений энергетического обмена в миокарде [86]. Степень отека миокарда может быть простым и надежным критерием для оценки состояния трансплантата [181]. В качестве молекулярных мишеней, активация которых связана с функциональным состоянием миокарда, рассматриваются риск-киназы, амф-активируемая протеинкиназа и другие [88]. Также широко используются морфологические критерии, которые включают оценку степени инфильтрации трансплантата полиморфноядерными лейкоцитами и общую сохранность структуры кардиомиоцитов, для оценки эффективности методик [166]. Большинство исследований позволяют получить ценную информацию о состоянии сердца при анализе ультраструктуры миокарда с помощью электронной микроскопии [86, 181]. Некоторые исследования проводят оценку эндотелиальной функции путем измерения коронарного кровотока после добавления в реперфузат вазодилататоров после периода холодовой консервации на изолированном сердце [143]. В течение последних 15 лет проводились исследования по сравнению эффективности различных методов, которые привели к разным результатам. Например, при сравнении девяти различных методов на модели перфузии изолированного сердца крысы после 8-часовой холодовой

консервации было выявлено преимущество использования внеклеточных растворов перед внутриклеточными, где раствор КПП госпиталя св. Томаса № 2 оказался наиболее эффективным [84].

В ходе следующего эксперимента было проведено сравнение эффективности раствора Bretschneider и раствора Celsior при гетеротопической трансплантации сердца крысам после 6-часовой консервации. Для его проведения в качестве донорского материала была использована часть сердец старых крыс. Результаты исследования показали, что применение раствора Bretschneider сопровождалось более низкими уровнями тропонина и креатинфосфокиназы в крови, а также снижением инфильтрации трансплантата и уровней экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов в сердце [135].

В проведенном сравнении растворов Висконсинского университета и Celsior на модели изолированного сердца кролика с реперфузией кровью от животного-донора после 24-часовой консервации, раствор Висконсинского университета оказался эффективнее Celsior. Его использование приводило к более быстрой нормализации функции левого желудочка, более низкому уровню креатинфосфокиназы в рециркулирующей крови и лучшей сохранности эндотелиальной функции [143].

Таким образом, результаты экспериментальных исследований на различных моделях показали разноречивые данные относительно эффективности различных консервирующих растворов, что указывает на отсутствие значимого преимущества одного консервирующего раствора перед другим.

1.6.2 Применение растворов консервации в клинической практике

В клинической практике трансплантация сердца редко осуществляется из-за нескольких причин, ключевыми из которых являются низкое количество донорских сердец и строгий отбор потенциальных реципиентов, что усложняет проведение масштабных клинических исследований по данной теме. В связи с этим в научной литературе имеется ограниченное количество данных о

сравнительной эффективности различных методов сохранения донорского органа в клинической практике. В одном из первых рандомизированных исследований были сравнены два состава для сохранения – раствор Висконсинского Университета и раствор Стэнфорда. По изучению ключевых показателей: содержание АТФ, необходимость в дефибриляции и электростимуляции, потребность в инотропных препаратах, раствор Висконсинского Университета проявил более высокие функциональные свойства [107]. Ретроспективное сравнение двух самых часто используемых в США кардиоплегических растворов – Висконсинского Университета и Celsior – показало, что сохранение с помощью раствора Висконсинского Университета сопровождается более высокой выживаемостью в течение 30 дней и 1 года [170].

В ходе проведенного многообразного исследования, взаимообъективные сопоставления процесса сохранения донорских сердец с применением трех различных составов (растворы Celsior, Bretschneider, госпиталя святого Томаса) не выявили существенных различий в отношении частоты возникновения сердечной недостаточности и смертности между рассматриваемыми группами [118]. В следующем исследовании была осуществлена попытка комбинированного использования внутриклеточных и внеклеточных соединений с тем, чтобы добиться более оперативной остановки сердца и наименьшего повреждения сердечной мышцы. Вначале был введен 1 литр охлажденного раствора госпиталя святого Томаса прямо в коронарные артерии, а затем, под давлением, еще 2 литра раствора Bretschneider. В результате такой стратегии, исследователями был сделан вывод о безопасности такого метода, так как его результаты сравнимы с результатами, полученными при использовании обычных методов сохранения консервации [111].

1.6.3 Гиперполяризирующие консервационные растворы

Гиперполяризирующие консервационные растворы представляют собой отдельное направление исследований. Традиционные гиперкалиевые

консервирующие растворы инициируют выравнивание потенциала клеток и выключение потенциалзависимых натриевых и кальциевых каналов, что способствует нарушению его выработки. Некоторые исследования показали, что содержащие низкую концентрацию натрия внутриклеточные консервационные растворы вызывают гиперполяризацию клеток, блокируя генерацию потенциала действия, что делает их невозбудимыми [169].

Однако такие методы требуют дальнейших исследований для выяснения механизма гиперполяризации. Одним из способов обеспечения гиперполяризации является использование различных веществ, в частности ацетилхолина, аденозина, а также блокаторов быстрых натриевых каналов [108]. Вопреки тому, что исследования гиперполяризующих консервационных растворов привели к положительным результатам, их применение в клинической практике остается невысоким. В литературе можно найти результаты отдельных экспериментов с такими растворами. Особенно интересные данные были получены на модели сердца кролика, когда добавление пинацидила, открывателя калиевых каналов во внутриклеточный консервирующий раствор с включенным в него ранее гистидином и лактобионатом. Восстановление функции левого желудочка сердца было лучше, чем при использовании раствора, разработанного Висконсинским университетом [136]. Хорошие показатели также наблюдались при применении поляризующего нормокалиемического раствора аденокаина, содержащего аденозин и лидокаин, в сравнении с растворами Bretschneider и Celsior в эксперименте на сокращающемся сердце крысы [186].

Таким образом, в последние годы было предложено несколько подходов для повышения качества и продолжительности консервации донорских сердец. Модифицированные консервационные растворы, коллоидная составляющая и гиперполяризующие консервирующие растворы представляют собой перспективные направления для дальнейших исследований и возможные методы улучшения консервации сердца в практике ТС.

1.6.4 Консервация донорского сердца: пути оптимизации

В прошлом времени были проведены экспериментальные исследования с целью улучшения сохранности донорского сердца и поддержания его функции в течение более длительного времени. В данных работах было предложено несколько решений по оптимизации состава консервационных растворов их микроэлементных характеристик и температурных режимов консервации. Один из предложенных подходов включал добавление в стандартные консервационные растворы разных физиологически активных веществ, способных снизить выработку свободных радикалов в миокарде во время консервации и последующей трансплантации. Однако несмотря на обнадеживающие результаты, ни один из модифицированных растворов, описанных в научной литературе, не применяется в клинической практике.

Существуют дополнительные пути для совершенствования состава консервационных растворов, включая увеличение их буферной емкости и изучение возможности добавления коллоидных компонентов. В этом направлении применяются гистидиновый, бикарбонатный и фосфатный буферы. Значение буферной способности консервационных растворов необходимо учитывать, так как предотвращение окисления во внеклеточной среде содействует сохранению анаэробной реакции во время гликолиза.

Еще одним направлением исследований является разработка консервационных растворов на основе коллоидов. Использование коллоидной основы, в частности гидроксиэтилкрахмала, в составе раствора университета Висконсина, а также желатина или декстрозы, позволяет снизить степень внутриклеточного отека, улучшить состояние эндотелия, немного поднять осмотическое давление консервационного раствора и улучшить его кардиопротективный эффект [22]. Также интересным направлением исследований в данной области является использование коллоидной составляющей в виде человеческого альбумина или плазмы крови. Эти компоненты могут также

предоставить буферную функцию. Однако, несмотря на положительные результаты, они практически не используются в клинической работе.

1.7 Постоянная перфузия донорского сердца

В начале исторического пути ТС стабильной работы донорского сердца *ex vivo* исследователи пытались добиться путем проведения перфузии его кровью и кристаллоидными растворами. После внедрения метода холодной консервации сердца использование таких перфузионных систем практически исчезло, чему способствовали технические сложности и высокая стоимость такого подхода.

Однако за последнее время наблюдается некоторое обновление взглядов в применении перфузии донорских сердец. Предложено использовать два метода. Первый метод – непрерывная перфузия остановленного сердца с помощью оксигенированного охлажденного кардиopleгического раствора. Второй режим, который считается наиболее физиологичным и оптимальным для сердец, изъятых после асистолии, предполагает перфузию бьющегося сердца кровью при нормальной температуре [18, 55, 59].

В естественных условиях субстратом-транспортером кислорода является гемоглобин крови, именно поэтому наиболее физиологичным способом доставки кислорода кардиомиоцитам трансплантата является непрерывная аппаратная перфузия трансплантата донорской кровью или макроэргическим субстратом. Система TransMedics (Massachusetts, USA) является первым коммерчески доступным устройством для транспортировки донорского сердца в нормотермическом перфузионном состоянии. Перфузат представляет собой запатентованный раствор для заливки с добавлением инсулина, антибиотика, метилпреднизолона, бикарбоната натрия, поливитаминов и свежей донорской крови [155]. Однако подобные методы являются дорогостоящими и требуют постоянного мониторинга, усложняя этап транспортировки органа [94, 126, 179, 185].

Таким образом, анализ данных литературы позволяет заключить, что на современном этапе недостаток донорских сердец является главной проблемой, ограничивающей выполнение сердечных трансплантаций у пациентов с сердечной недостаточностью. В научном сообществе отмечается дефицит работ, касающихся изучения морфологии миокарда при различных сроках длительности холодовой ишемии, оценки качества сохранения донорских сердец и обеспечения оптимального времени их сохранности. Как следствие этого отсутствуют современные данные об изменениях структуры миокарда, фундаментальных механизмах снижения сократительной способности сердечной мышцы в различные сроки, как перед трансплантацией сердца, так и после ее выполнения. Все перечисленные нами факторы указывают на необходимость дальнейших исследований, что определило актуальность выполнения настоящего исследования.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на кафедре патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика. Е. Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации и выполнено в соответствии с Федеральным законом «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21.11.2011 № 323-ФЗ, Федеральным законом «О персональных данных» от 27.07.2006 № 152-ФЗ (ред. от 21.07.2014, с изм. и доп., вступ. в силу с 01.09.2015) и Хельсинкской декларацией, разработанной Всемирной медицинской ассоциацией «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (1964 г., с 9 пересмотрами, последний из которых имел место в 2013 г.). Работу проводили с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности, от всех пациентов (реципиентов) до включения в исследование было получено письменное информированное согласие. Протокол исследования одобрен Комитетом по этике ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России от 25.11.2021, протокол № 139.

2.1 Дизайн исследования

Исследование проводилось в два этапа: I этап – морфологический, включал в себя изучение миокарда левого предсердия (ЛП) донорских сердец. В условиях операционного блока во время проведения основного этапа операции забирались образцы миокарда ЛП после холодовой ишемии раствором Bretschneider (Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, (Custodiol®, НТК, Германия): первая группа – 10 случаев с холодовой ишемией трансплантата до 240 минут – 140 [140; 150] минут и вторая

группа – 7 случаев с холодовой ишемией трансплантата более 240 минут – 375 [245; 375] минут. В обеих группах отмечено преобладание пациентов мужского пола: 1-я группа 8 (80 %) и 2-я группа – 6 (85,7 %) человек.

В клинико-морфологический – II этап исследования, вошли 54 пациента с хронической сердечной недостаточностью, которым в 2011–2023 годах в ФГБУ «НМИЦ им. академика Е. Н. Мешалкина» Минздрава России выполнена ТС. Данная операция осуществлялась по классической бикавальной технологии. Изъятие сердца выполнялось стандартным методом, с консервацией холодным кардиоплегическим раствором Bretschneider. В ряде случаев использовались донорские сердца из отдаленных регионов: Алтайский край, Кемеровская область, Красноярский край.

Пациенты, в зависимости от длительности холодовой ишемии донорского сердца, были разделены на 2 группы: 1-я группа (менее 240 минут) – 27 человек (26 мужчин и 1 женщина), возраст 47 [38; 51] лет, длительность холодовой ишемии трансплантата 167 [157–184] минут; 2-я группа (более 240 минут) – 27 человек (20 мужчин и 7 женщин), возраст 42 [32; 51] года, длительность холодовой ишемии трансплантата 349 [285; 395] минут.

В анализ были включены антропометрические, демографические параметры, функциональный класс (ФК) стенокардии по классификации NYHA, наличие в анамнезе перенесенных инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения, предшествующих кардиохирургических операций, показатели сократительной способности миокарда, наличие сопутствующей патологии. Интраоперационные характеристики включали длительность искусственного кровообращения, окклюзии аорты, общую длительность хирургического вмешательства, длительность холодовой ишемии трансплантата, параметры систолического давления в легочной артерии. В раннем послеоперационном периоде анализировались длительность нахождения в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), необходимость и длительность инотропной поддержки, продленной искусственной вентиляции легких, необходимость механической поддержки кровообращения, сократительная способность миокарда, неблагоприятные исходы, включая дисфункцию

трансплантата и госпитальную летальность. В отдаленном периоде наблюдения оценивали функциональный класс стенокардии по классификации NYHA, сократительную способность миокарда, параметры систолического давления в легочной артерии и госпитальную летальность (Рисунок 1).

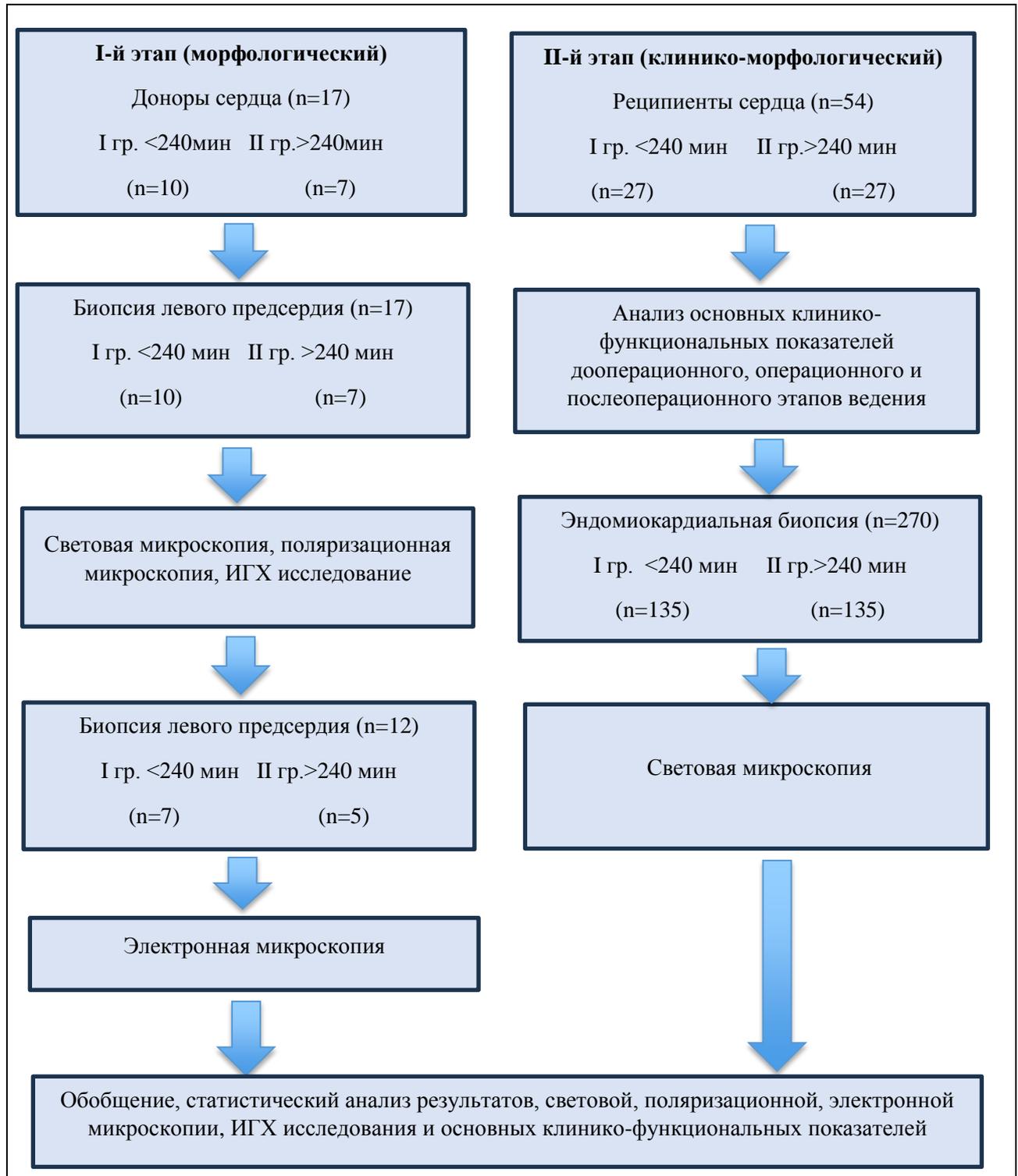


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Критерии соответствия (реципиенты)

Критерии включения: перенесенная ТС.

Критерии исключения: отказ от участия в исследовании, возраст младше 18 лет.

Критерии соответствия (доноры)

Критерии включения

Сердца от доноров возрастом до 60 лет. Отсутствие травмы грудной клетки, длительных гипотензии и гипоксемии, стабильная гемодинамика, среднее артериальное давление (САД) > 60 мм рт. ст., центральное венозное давление (ЦВД) от 8 до 12 мм рт. ст., инотропная поддержка менее 10 мг/кг/мин (допамин), электрокардиография (ЭКГ) и эхокардиография (Эхо-КГ) без патологических изменений.

Критерии исключения

Возраст доноров младше 18 лет. Сложные нарушения ритма сердца, необходимость в чрезмерной инотропной поддержке (допамин в дозе 20 мкг/кг/мин или аналогичных дозах другими адренергическими препаратами несмотря на агрессивную оптимизацию пред- и постнагрузки), нарушения сократимости по данным эхокардиографии или фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) < 40 %, несмотря на оптимизацию гемодинамики инотропными препаратами. Прижизненный отказ пациента от изъятия внутренних органов.

Описание критериев соответствия (диагностические критерии)

Отбор доноров для участия в исследовании включал установление смерти головного мозга на основании клинической картины, результатов лабораторных и инструментальных исследований, которые проводились коллегиально в соответствии с Национальными рекомендациями и принятыми клиническими протоколами (Министерство здравоохранения Российской Федерации приказ от 25 декабря 2014 г. № 908н «О порядке установления диагноза смерти мозга человека»).

2.2 Методы патоморфологического исследования

2.2.1 Световая и поляризационная микроскопия миокарда

Забор образцов миокарда для морфологического исследования производился сердечно-сосудистыми хирургами: 1) в условиях операционного блока во время проведения основного этапа операции забирались образцы миокарда левого предсердия донорского сердца после холодовой ишемии раствором Bretschneider. Всего было взято 17 образцов миокарда ЛП: 10 пациентов первой группы и 7 пациентов 2 группы; 2) еженедельно в течение первого месяца выполнялась эндомикардиальная биопсия после операции ТС. Забор эндомикардиальных биоптатов из межжелудочковой перегородки со стороны полости правого желудочка проводился в отделении рентгенфункциональных методов диагностики. За одну процедуру брали 5 образцов. За 30-дневный период наблюдения было взято 270 биоптатов (по 135 в каждой группе).

Фиксацию в 10 % забуференном формалине, проводку и окрашивание парафиновых срезов гематоксилином и эозином проводили согласно имеющимся рекомендациям. Изучение изготовленных микропрепаратов выполняли на универсальном микроскопе Axio Scope.A1 («Zeiss», Германия), оснащенном анализатором и поляризатором, с фотокамерой AxioCam MRc5 («Zeiss», Германия) и программным обеспечением ZEN blue («Zeiss», Германия).

В оценке степени острого клеточного отторжения были использованы критерии указанные в классификации Международного общества трансплантации сердца и легких (The International Society for Heart and Lung Transplantation) ISHLT-2004 [202]: G0R (клеточная инфильтрация отсутствует или представлена единичными элементами, признаков повреждения кардиомиоцитов нет); легкая – G1R (единичные локусы повреждения мышечных клеток, связанные с одним очагом лимфомакрофагальной инфильтрации); умеренная – G2R (множественные локусы эндомикардиального повреждения в ассоциации с очагами

лимфомакрофагальной инфильтрации); выраженная- G3R (диффузная инфильтрация лимфоцитами и макрофагами, присутствие нейтрофильных гранулоцитов, очаги кровоизлияний).

2.2.2 Иммуногистохимическое исследование миокарда

Окрашивание срезов миокарда для проведения иммуногистохимического анализа осуществляли согласно имеющимся предложениям фирмы производителя антител и эталонам, изложенным в руководствах по иммуногистохимическим исследованиям [104].

Для изучения экспрессии белков F-актина (актина) и десмина на парафиновых срезах использовали мышинные моноклональные антитела (Cell Margue™) (клоны HNF35 и D33 соответственно) в разведении 1 : 50; экспрессии E-Кадгерина (EP 700Y) кроличьи моноклональные антитела (Cell Margue™), в качестве вторичных антител использовали полимерную систему детекции с диаминобензидином (DAB) (EnVision FLEX, DAKO).

Морфометрия осуществлялась с применением программы ImageJ 1,7 (США). При анализе содержания актина, десмина площадь DAB(3,3'-diaminobenzidine)-позитивных продуктов иммуногистохимической реакции оценивали, как процент площади изображения. Определение объемной плотности миофибрилл при оценке экспрессии актина и десмина проводили методом подсчета числа попаданий точек (пересечений тестовых линий) тестовой решетки на профили исследуемых структур в гистологическом срезе. Каждый параметр просчитывали по 20 изображениям с увеличением 40×10 .

Для изучения интенсивности степени иммунной реакции использовали полуколичественный метод: (+/+++), с подсчетом числа клеток в случайно выбранных 25 полях зрения (100 %); (-) отсутствие окрашивания; (+) слабая – при окрашивании только цитоплазмы клеток; (++) умеренная – при окрашивании цитоплазмы клеток и очаговом окрашивании внеклеточных компонентов (< 50 %); (+++) выраженная экспрессия – (при окрашивании как цитоплазмы клеток, так и

большей части внеклеточных компонентов > 50 %) Ю. В. Лискова (2018). Типы контрактурных повреждений миокарда оценивали согласно рекомендациям [25, 73].

2.2.3 Электронная микроскопия

Для электронно-микроскопического анализа ультраструктуры кардиомиоцитов забирались образцы миокарда левого предсердия донорского сердца после холодовой ишемии раствором Bretschneider, которые были получены в условиях операционного блока во время проведения основного этапа операции: от 7 доноров первой группы (холодовая ишемия миокарда менее 240 минут) и 5 доноров второй группы (холодовая ишемия миокарда более 240 минут).

Биоптаты фиксировали в охлажденном 4 % параформальдегиде, приготовленном на фосфатном буфере Миллонига (рН 7,4). Перед проводкой ткань дофиксировали в 1 % растворе OsO₄, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне и заливали в смесь эпоксидных смол; блоки полимеризовали в термостате 60 °С в течение 24 ч.

Полутонкие (1 мкм) и ультратонкие (300–500 нм) срезы получали на ультрамикротоме LKB III (Швеция). Полутонкие срезы монтировали на обезжиренные предметные стекла и окрашивали на гистологическом столике (37 °С) в капле 1 % раствора толуидинового синего, затем изучали с помощью микроскопа Axio Scope.A1 (C. Zeiss, Германия) при увеличении 630.

Ультратонкие срезы контрастировали насыщенным спиртовым раствором уранилацетата и цитратом свинца в парах щелочи натрия по Рейнольдсу и исследовали в электронном микроскопе JEM 1400 (Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВт и увеличении от 2 до 20 тысяч раз.

Электронная микроскопия проводилась при консультировании заведующей лабораторией клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) ФГБОУ ВО

«Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России доктора биологических наук, профессора Айдагуловой Светланы Владимировны на базе Центра коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН (<http://www.bionet.nsc.ru/microscopy/>).

2.2.4. Тканевый и ультраструктурный стереологический анализ

Стереологический анализ проводили на продольных полутонких срезах миокарда и ультратонких срезах кардиомиоцитов (по 26 наложений тестовой решетки на группу) с помощью программы ImageJ 1.7. Метод основан на количестве точек тестовой системы, попавших на профиль исследуемой структуры.

При проведении тканевого стереологического исследования на продольных полутонких срезах миокарда оценивали объемную плотность (V_v) паренхимы (кардиомиоцитов) без признаков аутофагии, кардиомиоцитов с наличием аутофагосом в цитоплазме, а также объемную плотность (V_v) стромы (в т. ч. микроциркуляторное русло и межклеточный матрикс). Изучали не только первичные стереологические показатели, но и вторичные показатели, позволившие определить отношение паренхимы миокарда к строме (паренхиматозно-стромальные отношения), а также отношение фокусов аутофагии к сердечной паренхиме без аутофагии, что позволяет оценить степень деструктивных изменений паренхимы миокарда.

При проведении ультраструктурного стереологического исследования в качестве первичных стереологических параметров кардиомиоцитов при наложении тестовой решетки в двух группах выбирали цитоплазматический компартмент (исключали ядро) и сравнивали объемную плотность миофибрилл, митохондрий, элементов саркоплазматической сети, суммарно лизосом и аутофагосом, а также свободного цитозоля, которые затем проанализировали на предмет внутриклеточных объемно-объемных взаимоотношений, поскольку первичные стереологические показатели органелл не всегда позволяют оценить

степень ультраструктурных изменений. Для этого был введен показатель «насыщенности» миофибрилл митохондриями, вычисляемого как отношение объемной плотности митохондрий к объемной плотности миофибрилл, что иллюстрирует обеспечение сократительного аппарата кардиомиоцитов энергией АТФ, продуцируемой митохондриями [31].

2.3 Статистический анализ

Статистический анализ полученных результатов проведен с использованием пакета статистических программ Statistica 10,0 (StatSoft, США) и программного обеспечения MedCalc Statistical Software, version 18.9.1 (<http://www.medcalc.org>; 2018) и пакета RStudio (<http://www.rstudio.com/>). Проверку нормальности распределения полученных данных в группах осуществляли с помощью критерия Шапиро – Уилка. При отсутствии нормального распределения применяли для сравнения методы непараметрической статистики: межгрупповые сравнения данных проводили с помощью критерия Манна – Уитни или с помощью точного критерия Фишера. Количественные переменные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me [Q1–Q3], а также минимального (Min) и максимального (Max) показателей в выборке. Качественные переменные – в виде частоты встречаемости и/или процентного отношения. Для оценки выживаемости применили метод Каплана – Мейера, сравнение выживаемости производили с помощью лог-рангового (log-rank) критерия. Значение $p < 0,05$ считали статистически значимым для всех видов анализа.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Оценка патоморфологических изменений миокарда, экспрессии актина, десмина и E-кадгерина

В условиях операционного блока во время проведения основного этапа операции забирались образцы миокарда левого предсердия (ЛП) донорского сердца, после холодной ишемии раствором Bretschneider (Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Германия).

Для проведения исследования были сформированы две группы: первая группа – 10 случаев с холодной ишемией трансплантата менее 240 минут – 140 [140; 150] минут, и вторая группа – 7 случаев с холодной ишемией трансплантата более 240 минут – 375 [245; 375] минут ($p \leq 0,05$).

Пациенты, включенные в первую и вторую группы, были сопоставимы по среднему возрасту и антропометрическим показателям. Средний возраст в 1-й группе составил 50 [44; 59] лет, во 2-й группе – 50 [49; 50] лет, $p = 0,193$. Средний индекс массы тела (ИМТ) в 1-й группе был 25 [22; 27] и во 2-й группе 25 [21; 31], $p = 0,288$. В обеих группах отмечено преобладание пациентов мужского пола: 1-я группа 8 (80 %) и 2-я группа – 6 (85,7 %) человек, $p = 0,256$.

В исследовании материала, взятого у пациентов первой группы, в препаратах миокарда ЛП, в строении определялись характерные черты фрагментации отдельных мышечных волокон и признаки неравномерного полнокровия сосудов с умеренно выраженным межмышечным отеком, зонами эритроцитарных сладжей в сосудах микроциркуляторного русла. Отмечался спазм мелких артерий с расширением и полнокровием вен. В части сосудов встречали палочковидное удлинение эндотелиоцитов. В целом бóльшая часть кардиомиоцитов сохраняла правильное строение со слабо выраженным признаком неравномерного оксифильного окрашивания, характерного для клеток с контрактурой миофибрилл (Рисунок 2).

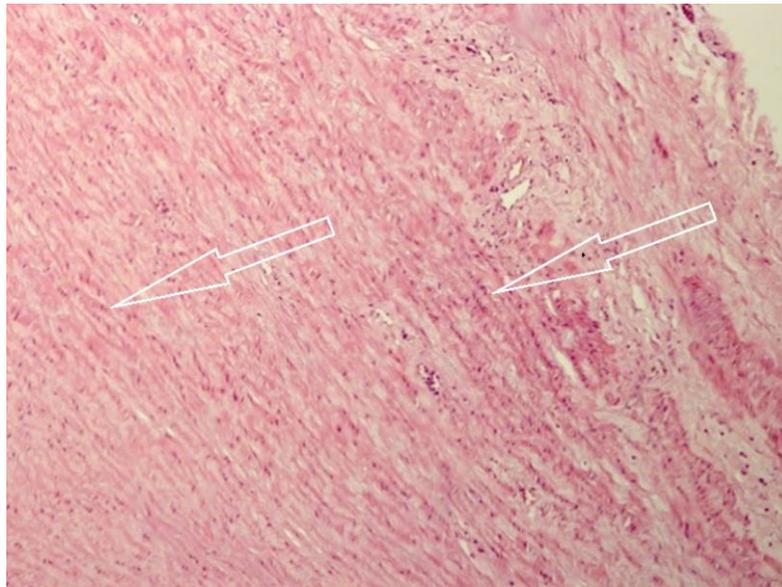


Рисунок 2 – Пациенты 1-й группы: холоддовая ишемия трансплантата менее 240 минут. Неравномерность оксифильной окраски миокарда левого предсердия (отмечено стрелками). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

При проведении окраски методом ГОФП определялись небольшие очаги раннего ишемического повреждения (Рисунок 3).

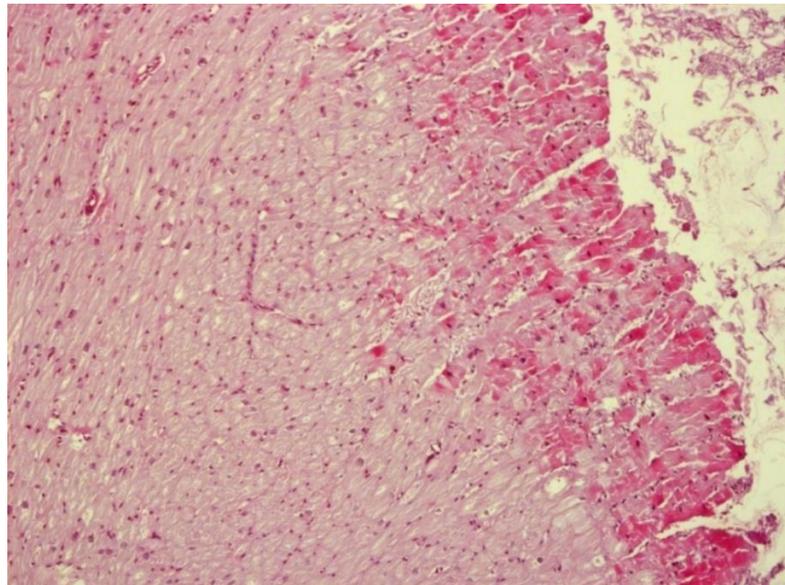


Рисунок 3 – Пациенты 1-й группы: холоддовая ишемия трансплантата менее 240 минут. Ранние ишемические повреждения миокарда левого предсердия. ГОФП окраска. Увеличение $\times 200$

Использование метода поляризационно-микроскопического исследования показало наличие контрактурных изменений в мышечных клетках ЛП как 1-й, так и 2-й группы. В основном такие изменения не превышали уровня субсегментарных (сокращения отдельных групп саркомеров миофибрилл кардиомиоцитов) и сегментарных контрактур I-II степени (которая захватывают всю мышечную клетку) и характеризовались усилением анизотропии диска А, саркомеров с укорочением различной степени изотропных I дисков (Рисунок 4). Кардиомиоциты со слившимися между собой дисками А в виде гомогенной анизотропии (контрактура III степени) были единичны в обеих группах.

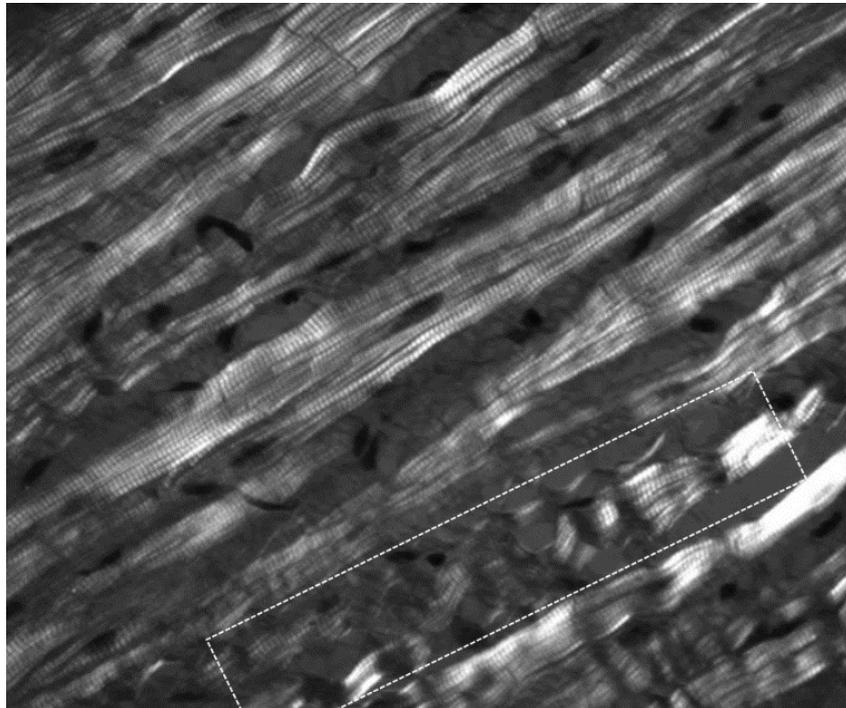


Рисунок 4 – Пациенты 1-й группы: холодовая ишемия трансплантата менее 240 минут. Контрактуры миофибрилл I-II степени (выделено фигурой).

Поляризационная микроскопия. Увеличение $\times 630$

При исследовании экспрессии актина и десмина было выявлено, что бóльшая часть мышечных клеток разделена между собой вставочными дисками с четкими очертаниями и сохранением интенсивной околодисковой ее активности в виде проявившегося в ходе проведения иммуногистохимической реакции темно-

коричневого окрашивания. В целом цитоплазма была однородного светло-коричневого цвета с усилением интенсивности реакции в области Z-полос (Рисунок 5). Сохранение равномерного окрашивания актина и десмина в КМЦ как в самой цитоплазме, так и в области вставочных дисков, характеризующих как цитоскелет саркомера, так и внесаркомерный цитоскелет, ассоциированный с сарколеммой, свидетельствует о достаточной защищенности миокарда при длительной его ишемии. При незащищенном миокарде длительная ишемия приводит к диссоциации актинового цитоскелета от мембраны кардиомиоцита, после чего наступает дегенерация и апоптоз клеток, которого в нашем исследовании не наблюдалось.

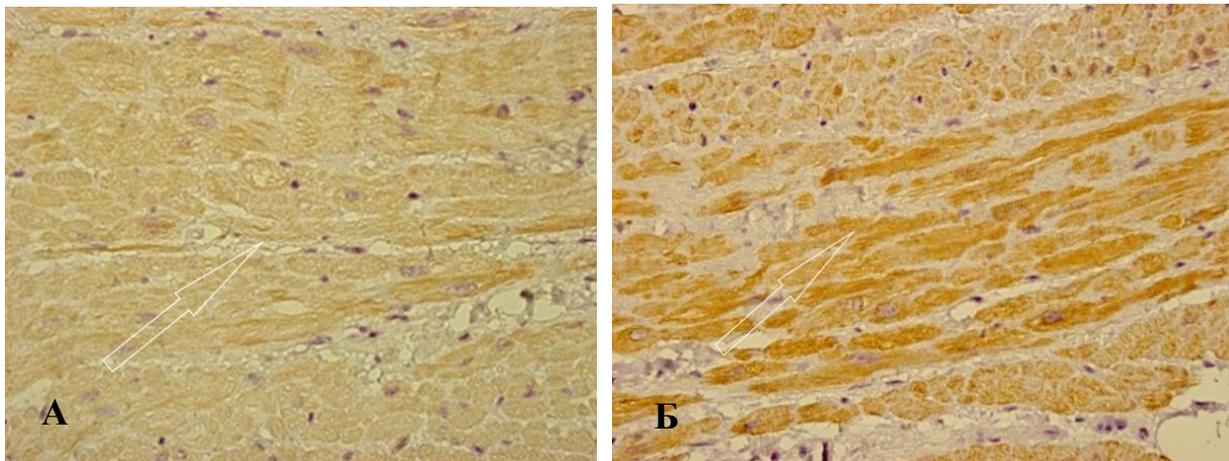


Рисунок 5 – Пациенты 1-й группы: холодовая ишемия трансплантата менее 240 минут. Равномерное иммуногистохимическое окрашивание актина (А) (отмечено стрелкой) и десмина (Б) (отмечено стрелкой) в кардиомиоцитах.

Иммуногистохимическое исследование. Увеличение $\times 400$

При гистологическом исследовании в материале, взятом у пациентов 2-й группы при холодной ишемии миокарда более 240 минут, наблюдалось некоторое расширение околососудистых пространств с отеком стенок интрамуральных артерий с сохранением в части из них паретических изменений с полнокровием и расширением просвета венозного русла. В части артерий отмечались спастические изменения с сужением их просвета, эндотелиальная

выстилка сохраняла свою целостность. В сосудах микроциркуляторного русла местами отмечались эритроцитарные сгустки. Мышечные волокна в основном были однородны по диаметру со слабовыраженным неравномерным оксифильным окрашиванием КМЦ, только местами появлялись отдельные волокна с их истончением и волнообразностью контура. В кардиомиоцитах встречался цитоплазматический отек, который сопровождался неравномерной ее окрашенностью (Рисунок 6).

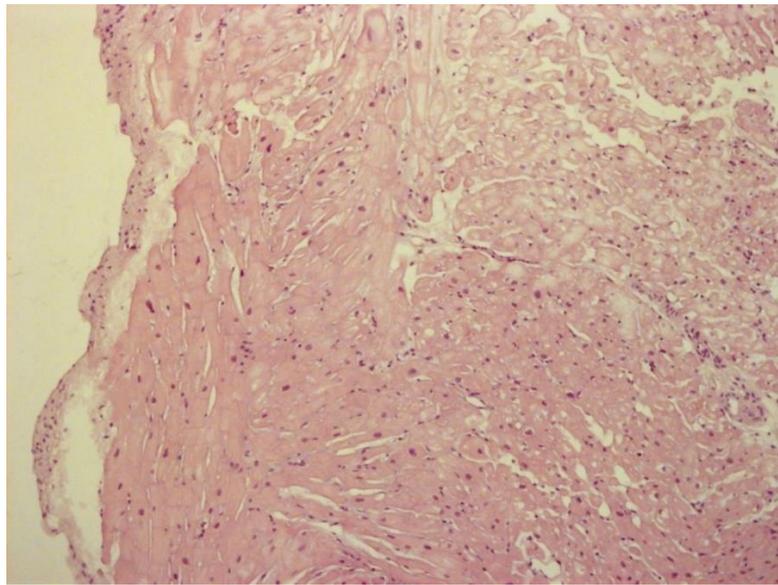


Рисунок 6 – Пациенты 2-й группы: холодовая ишемия трансплантата более 240 минут. Неравномерность оксифильной окраски, цитоплазматический отек КМЦ. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

При проведении окраски методом ГОФП также определялись очаги раннего ишемического повреждения (Рисунок 7).

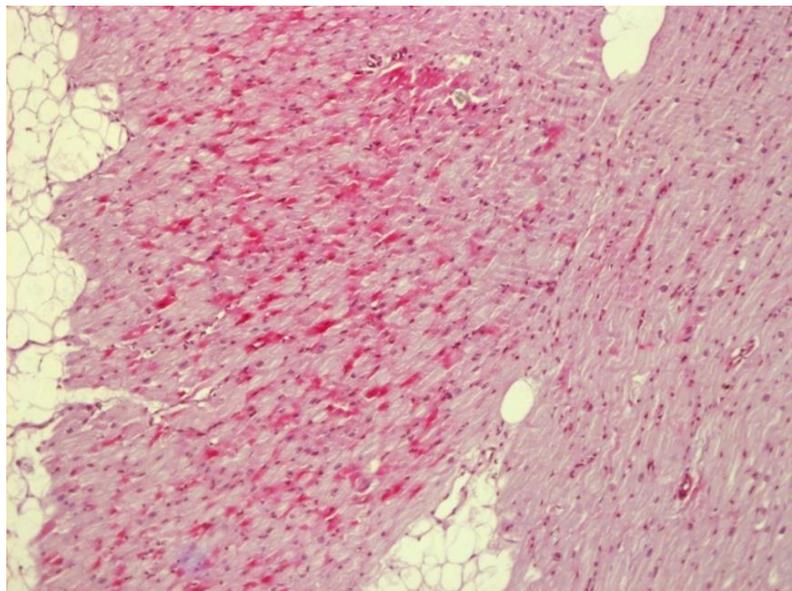


Рисунок 7 – Пациенты 2-й группы: холодовая ишемия трансплантата до 240 минут. Ранние ишемические повреждения миокарда левого предсердия.

ГОФП окраска. Увеличение $\times 200$

Наряду с контрактурными изменениями мышечных клеток в поляризованном свете, которые не превышали уровня субсегментарных и сегментарных контрактур I-II степени, фиксировался другой вид изменений кардиомиоцитов – внутриклеточный миоцитоллизис. Он характеризовался ослаблением анизотропии дисков А или отсутствием анизотропных структур в пределах отдельных мышечных клеток за счет исчезновения той или иной части миофибрилл. Сохранившиеся миофибриллы выступали в виде слабых анизотропных включений (Рисунок 8).

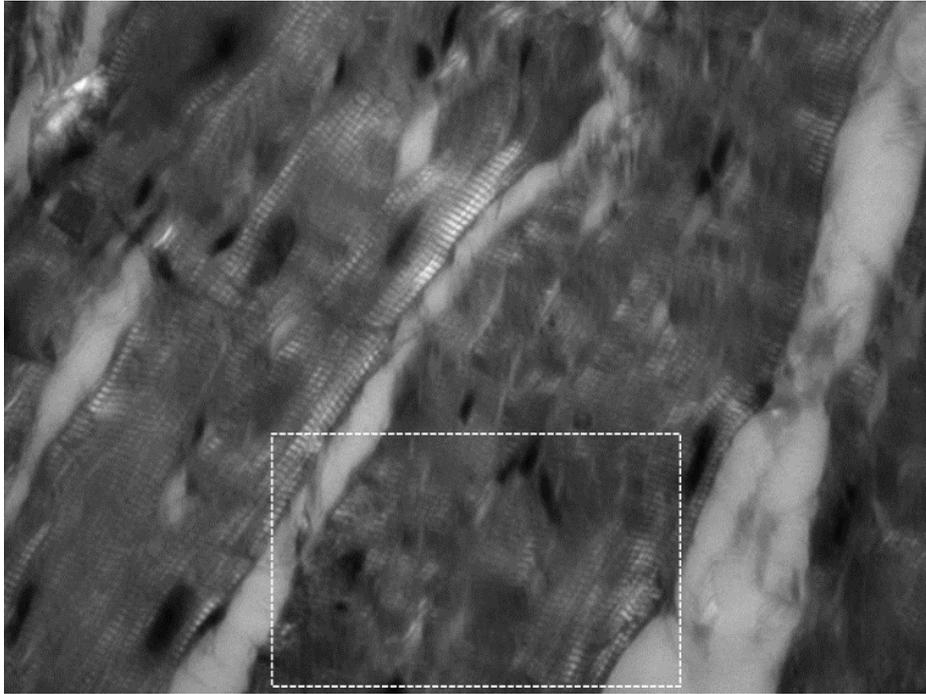


Рисунок 8 – Пациенты 2-й группы: холодовая ишемия трансплантата более 240 минут. Очаги миоцитолизиса (обозначено фигурой). Поляризационная микроскопия. Увеличение $\times 630$

При иммуногистохимическом исследовании экспрессия актина и десмина в виде реакции светло-коричневого окрашивания цитоплазмы кардиомиоцитов в целом не изменилась, а в части участков несколько увеличилась. В некоторых полях зрения было зарегистрировано уменьшение вставочных дисков с появлением в некоторых из них деформаций в виде «ломаной полосы», местами отмечалось легкая размытость поперечной исчерченности и умеренные изменения структуры цитоплазмы мышечных клеток (Рисунок 9).

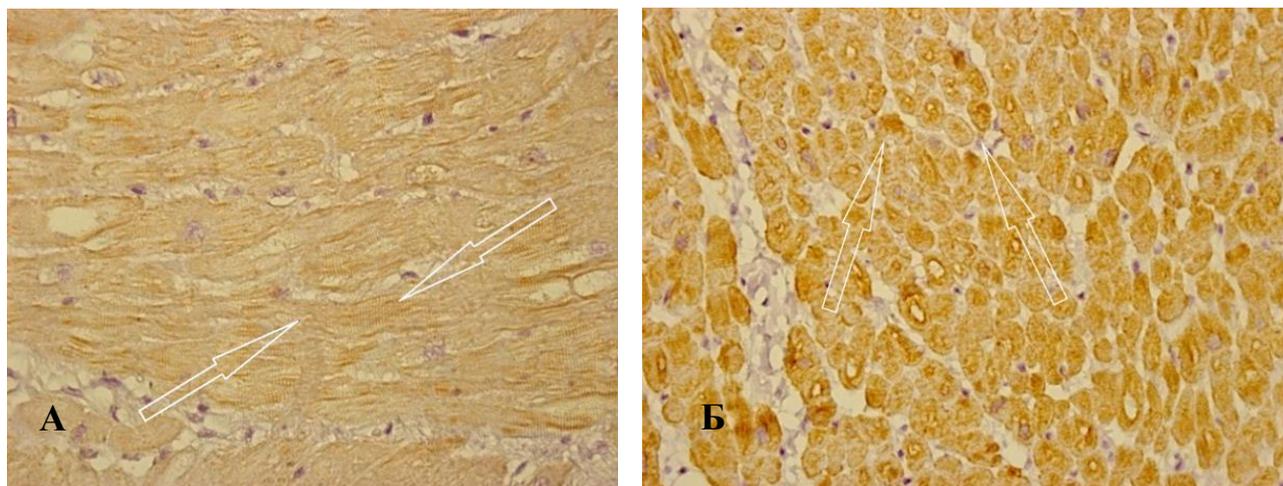


Рисунок 9 – Пациенты 2-й группы: холодная ишемия трансплантата более 240 минут. Неравномерное иммуногистохимическое окрашивание актина (А) (обозначено стрелками) и десмина (Б) (обозначено стрелками) в кардиомиоцитах.

Иммуногистохимическое исследование. Увеличение $\times 400$

В первой группе интенсивная околodисковая активность Е-кадгерина была выявлена в виде темно-коричневой окраски в ходе иммуногистохимической реакции. Отмечалась равномерная интенсивность экспрессии Е-кадгерина как в области вставочных дисков, характеризующих цитоскелет саркомера, так и вне саркомерного цитоскелета, связанного с сарколеммой (Рисунок 10).

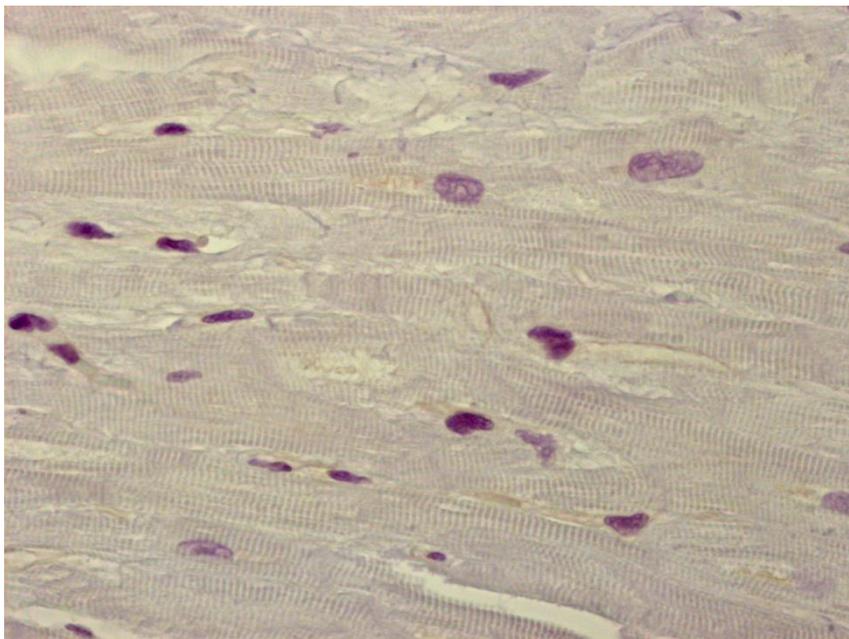


Рисунок 10 – Позитивная равномерная экспрессия E-кадгерина в донорском сердце у пациентов менее 240 минут. Иммуногистохимическое исследование.

Докраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 630$

Во второй группе в результате иммуногистохимического исследования было обнаружено снижение экспрессии E-кадгерина в некоторых полях зрения, обусловленное уменьшением вставочных дисков. В некоторых из них обнаружены деформации, напоминающие ломаную полосу. Кроме того, наблюдалась некоторая размытость поперечной исчерченности и умеренные изменения в структуре цитоплазмы кардиомиоцитов (Рисунок 11).

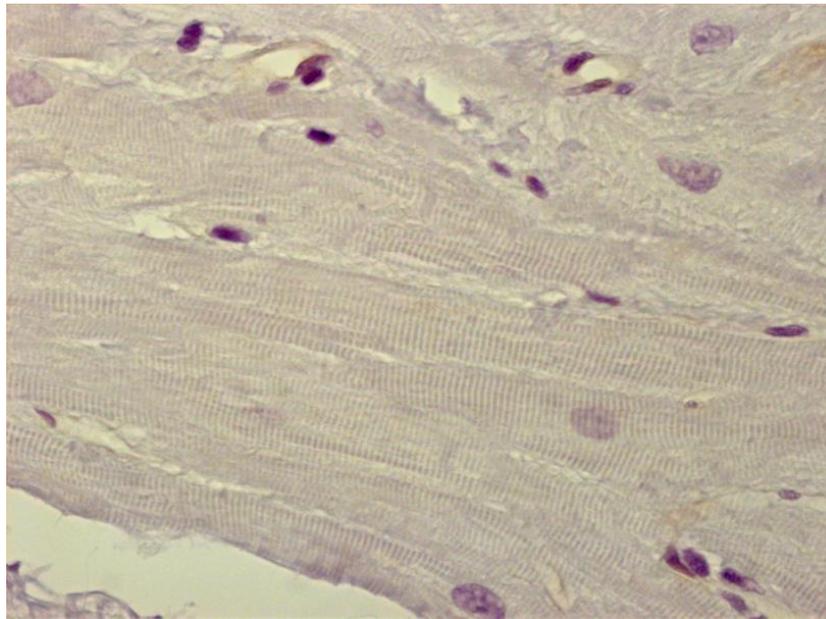


Рисунок 11 – Позитивная неравномерная экспрессия E-кадгерина, размытость поперечной исчерченности кардиомиоцитов у пациентов более 240 минут. Иммуногистохимическое исследование. Докраска гематоксилином и эозином.

Увеличение $\times 630$

Таким образом, проведенный иммуногистохимический анализ, направленный на изучение экспрессии актина и десмина, показал, что в обеих исследуемых группах кардиомиоциты ЛП имеют однородную реакцию окрашивания светло-коричневого цвета с резкими ее перепадами до темно-коричневого цвета в местах вставочных дисков мышечных клеток и на протяжении всего мышечного волокна в области Z-полос. Экспрессия E-кадгерина при различной продолжительности холодовой ишемии миокарда, стабильно присутствует в местах вставочных дисков у пациентов обеих групп.

В разные временные промежутки холодовой ишемии (менее 240 минут и более 240 минут) в миокарде прослеживается достаточно стабильная морфологическая динамика уровня экспрессии актина и десмина по показателю объемной плотности. Проведенное определение данного показателя в срезах миокарда ЛП в сравнении 1-й и 2-й групп показало его небольшое, но статистически значимое увеличение во 2-й группе: десмина в 1,13 раза, актина в

1,07 раза (Таблица 1), которое может быть связано с продолжающимся набуханием мышечных клеток вследствие появления лизисных изменений миофибрилл, а также с отсутствием клеточно-интерстициального обмена при тотальной холодовой ишемии миокарда. При сравнении двух групп холодовой ишемии (менее 240 минут и более 240 минут) по уровню интенсивности экспрессии актина и десмина морфологическая динамика была противоположна. Если показатель иммуногистохимически выявляемого актина и десмина увеличивался одновременно, то значение показателя интенсивности экспрессии по ним носило разнонаправленный характер. Интенсивность экспрессии десмина уменьшалась в 1,6 раза за счет увеличения КМЦ со слабым уровнем интенсивности. Напротив, интенсивность экспрессии актина увеличивалась в 1,5 раза за счет увеличения КМЦ с умеренным и выраженным уровнем интенсивности иммуногистохимической реакции (Таблица 1).

Таблица 1 – Объемная плотность, интенсивность экспрессии кардиомиоцитами левого предсердия актина и десмина у пациентов с холодовой ишемией миокарда менее 240 минут (1-я группа) и более 240 минут (2-я группа)

Показатель	1 группа (n = 10)	2 группа (n = 7)
иммуногистохимические показатели миокарда ЛП		
Десмин, Vv, %	73 (69; 76)	83* (79; 86)
Десмин, интенсивность экспрессии (%)	+ / + / + / + / + 1/68/31	+ / + / + / + / + 39/58/3
Актин, Vv, %	78 (74; 81)	84* (69; 76)
Актин, интенсивность экспрессии (%)	+ / + / + / + / + 35/52/13	+ / + / + / + / + 4/78/18
Примечания: * – отличия от соответствующих значений между группами ($p < 0,05$); + / + / + / + / + – слабая/умеренная/выраженная интенсивность экспрессии; Vv – объемная плотность структур.		

Такое разнонаправленное изменение показателя интенсивности экспрессии изучаемых клеточных белков может быть связано для актина с сократительной структурой мышечной клетки – саркомером, являющимся основной структурной единицей сердечной мышцы и играющего важную роль в эффективной регуляции

сердечного ритма и поддержания гемодинамики, а для десмина с участием только компартментов вне саркомерного цитоскелета, обеспечивающих физическую поддержку и структурную целостность клеток сердца.

3.2 Тканевый и ультраструктурный анализ биоптатов донорского сердца

Биоптаты левого предсердия донорских сердец: 7 образцов после холодовой ишемии трансплантата в растворе Bretschneider (Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Германия) (менее 240 мин: 140 (140; 150) и 5 образцов после продленного периода (более 240 мин: 375 (245; 375) исследованы с помощью световой микроскопии полутонких срезов и трансмиссионной электронной микроскопии с последующим стереологическим и статистическим анализом.

В обеих группах при светооптическом исследовании полутонких срезов биоптатов левого предсердия выявлены в различной степени выраженные дистрофические изменения большинства кардиомиоцитов, сопровождающиеся отеком периваскулярных межклеточных пространств с выпотом белков крови, а также очаговой или диффузной конденсацией компонентов межклеточного матрикса (Рисунок 12 а, б, в, г, д, е). Следует отметить, что слабо и умеренно выраженные нарушения структурной организации кардиомиоцитов были заметными лишь при изучении продольных срезов (Рисунок 12 а, б, г, д), в отличие от поперечных срезов, на которых особенности сократительного аппарата сердечных мышечных клеток вообще не просматривались (Рисунок 12 в, е). На первый план выступали диффузные контрактурные изменения сердечных миоцитов, обусловленные зонами сокращения миофибрилл 1-2-й степени (обратимыми), но достигающими 3-й степени на единичных полях зрения в образцах 2-й группы, что визуализировалось по ретракции и интенсивной азурофилии цитоплазмы (Рисунок 12 г). Кроме того, на продольных срезах некоторых мышечных клеток в обеих группах обращали на себя внимание скопления гетерогенных плотных включений преимущественно в перинуклеарных

зонах (Рисунок 12 б, д, стрелки), которые при электронно-микроскопическом исследовании были расценены как эквиваленты массовой аутофагии по типу митофагии [210].

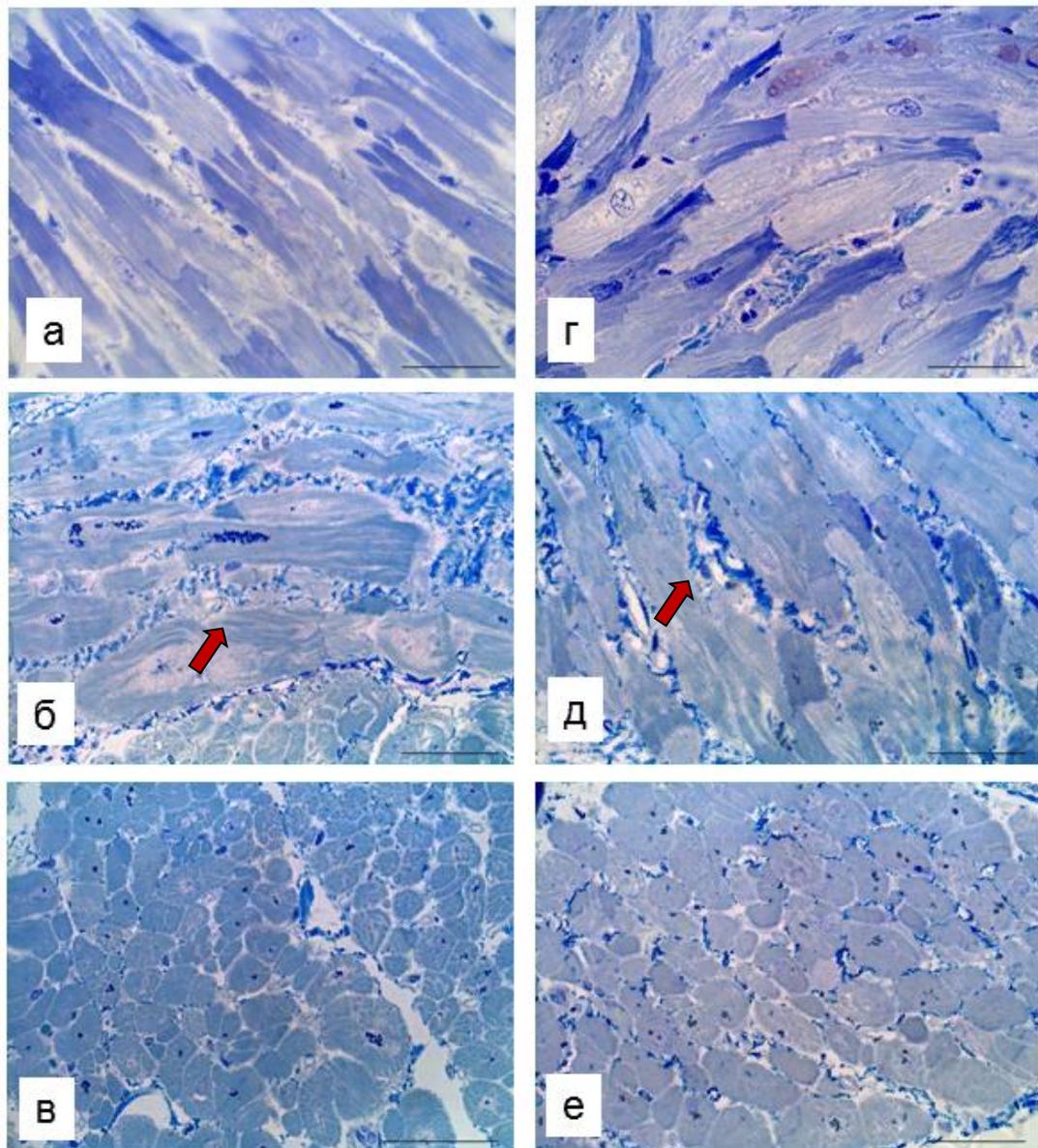


Рисунок 12 – Очаговые контрактурные (гиперхромные) и литические изменения миофибрилл в цитоплазме кардиомиоцитов биопсий левого предсердия донорских сердец в условиях холодовой ишемии менее 240 мин (а, б, в) и более 240 мин (г, д, е). Скопления аутофагосом в перинуклеарной зоне кардиомиоцитов (б, д, стрелки). Полутонкие срезы, окраска азуром II (а, г) и толуидиновым синим (б, в, д, е). Увеличение 630. Бар = 50 мкм.

При проведении тканевого стереологического исследования на продольных полутонких срезах миокарда оценивали объемную плотность (V_v) паренхимы (кардиомиоцитов) без признаков аутофагии, клеточных фокусов с наличием аутофагосом в цитоплазме, а также показатель стромы (в т. ч. микроциркуляторное русло и межклеточный матрикс) (Таблица 2).

Таблица 2 – Первичные стереологические показатели тканевой и внутриклеточной организации донорского миокарда в условиях холодовой ишемии менее 240 мин (1-я группа) и более 240 мин (2-я группа) (критерий Манна – Уитни)

Стереологические показатели, V_v	1-я группа Me (Q1; Q3) Min–Max	2-я группа Me (Q1; Q3) Min–Max
Тканевые		
Кардиомиоциты вне зон аутофагии	0,794 (0,775; 0,825) 0,713–0,888	0,800 (0,750; 0,825) 0,725–0,900
Фокусы аутофагии	0,0125 (0,013; 0,025) 0,00125–0,0250	0,0125 (0,0125; 0,0125) 0,00125–0,0250
Строма	0,181 (0,163; 0,213) 0,100–0,275	0,188 (0,163; 0,238) 0,088–0,263
Клеточные (ультраструктурные)		
Миофибриллы	0,444 (0,383; 0,475) 0,284–0,519	0,469 (0,309; 0,512) 0,259–0,543
Митохондрии*	0,117 (0,098; 0,160) 0,074–0,198	0,0988 (0,049; 0,117) 0,025–0,148
Лизосомы и аутофагосомы	0,037 (0,025; 0,086) 0,012–0,235	0,0494 (0,012; 0,074) 0,013–0,136
Саркоплазматическая сеть**	0,0123 (0,0123; 0,0123) 0,0123–0,0247	0,0123 (0,0123; 0,0247) 0,0123–0,0741
Цитозоль	0,370 (0,309; 0,420) 0,235–0,556	0,401 (0,333; 0,463) 0,272–0,568
Примечание. При сравнении 1-й и 2-й групп по критерию Манна – Уитни * – $p = 0,0196$; ** – $p = 0,0106$.		

При сравнении первичных стереологических данных, а также полученных на их основе вторичных стереологических показателей (отношения паренхимы к строме (Рисунок 13) и отношения фокусов аутофагии к сердечной паренхиме без аутофагии) (Рисунок 14) статистически значимые различия между двумя группами не выявлены, что свидетельствует об отсутствии негативного влияния на тканевую организацию миокарда и, следовательно, возможности безопасного продления периода консервации донорского органа.

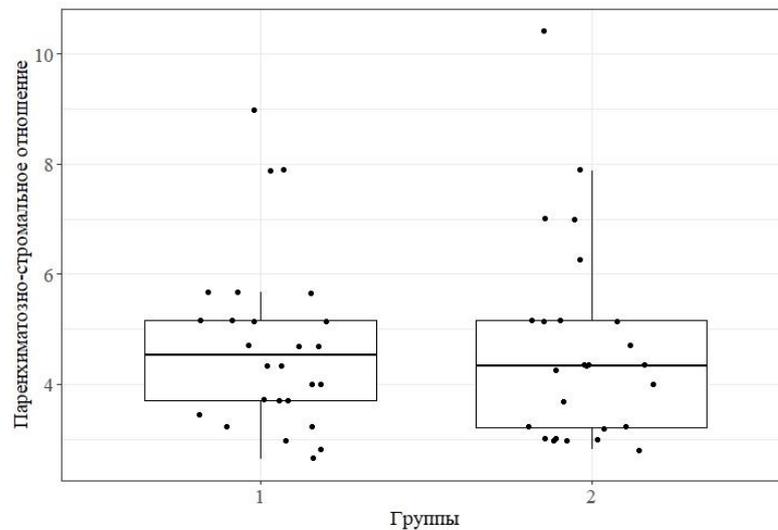


Рисунок 13 – Отсутствие статистически значимых различий при сравнении паренхиматозно-стромальных отношений в условиях холодовой ишемии донорского сердца менее 240 мин (1-я группа) и более 240 мин (2-я группа) (критерий Манна – Уитни)

содержали редуцированное по сравнению с физиологической нормой количество мелких полиморфных митохондрий с повышенной электронной плотностью матрикса и деструкцией наружной мембраны (Рисунок 15 б, д).

Почти для всех кардиомиоцитов обеих групп характерен в различной степени выраженный внутриклеточный отек, достигающий максимальных проявлений при сочетании с литическими изменениями миофибрилл (Рисунок 15 в, е). В свободном от миофибрилл и митохондрий электронно-прозрачном цитозоле отмечены одиночные короткие профили саркоплазматической сети, преимущественно свободные от рибосом. Зерна гликогена и липидные капли не выявлены; включения были сосредоточены преимущественно перинуклеарно и представлены крупными гетерогенными осмиофильными аутофагосомами, содержащими остатки митохондрий, что можно расценивать как митофагию, направленную на восполнение пластических ресурсов в условиях достаточно длительной для миокарда холодовой ишемии.

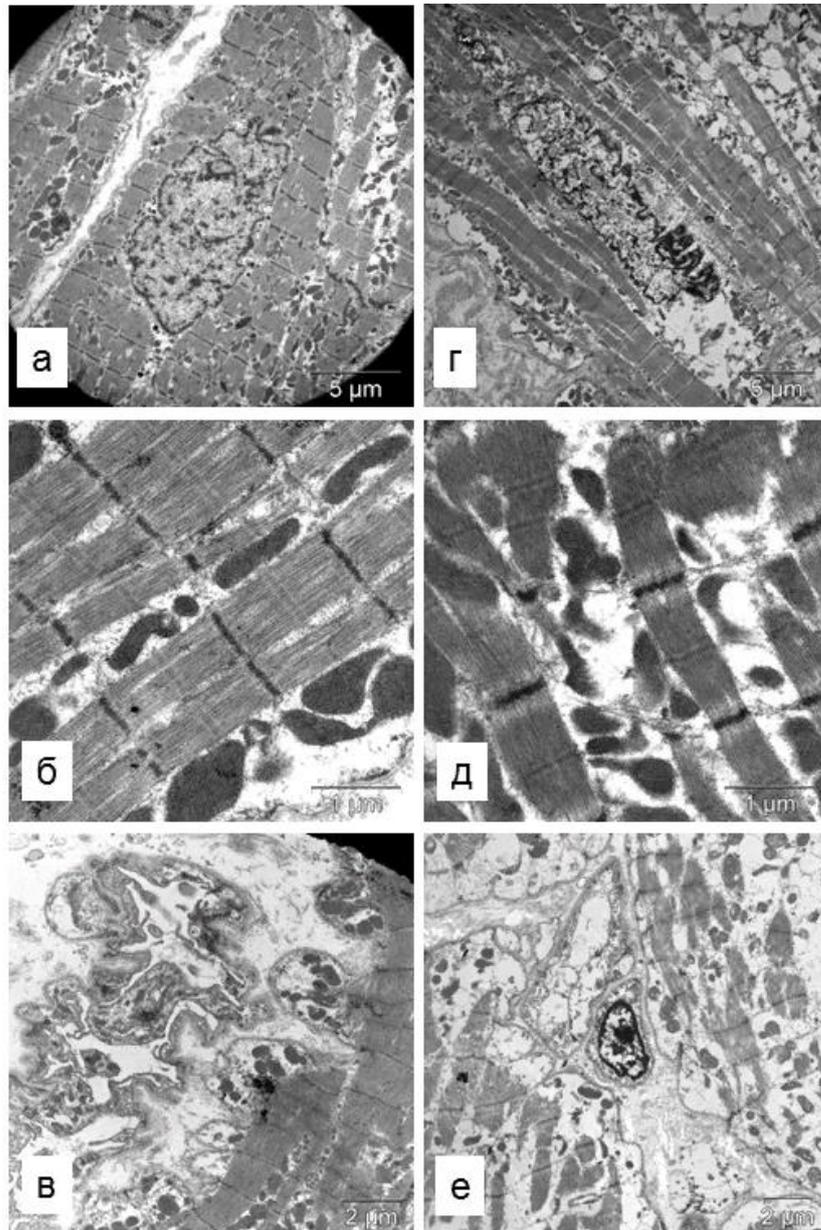


Рисунок 15 – Ультраструктурная характеристика кардиомиоцитов и эндотелиоцитов в биопсиях левого предсердия донорских сердец в условиях холодной ишемии менее 240 мин (а, б, в) и более 240 мин (г, д, е).

Трансмиссионная электронная микроскопия. а, г – в кардиомиоцитах параллельные пучки миофибрилл и очаги внутриклеточного отека. Увеличение 2 500; б, д – в саркомерах редукция изотропных дисков; истончение, расслоение, очаговая деструкция миофибрилл; лизис наружной мембраны митохондрий. Увеличение 20 000; в, е – внутриклеточный отек и вакуолизация мембранных органелл эндотелиоцитов микроциркуляторного русла; выраженная фестончатость сарколеммы кардиомиоцита. Увеличение 6 000

Поскольку на полутонких срезах скопления достаточно крупных аутофагосом локализовались преимущественно в перинуклеарной зоне сердечных миоцитов (в отличие от единичных периферических), этот маркер усиленного метаболизма и/или патологического воздействия на клетки был исследован количественно на продольных ультратонких срезах кардиомиоцитов.

При сравнении первичных стереологических показателей обращало на себя внимание статистически значимое превосходство объемной плотности митохондрий кардиомиоцитов в 1-й группе ($p = 0,0196$, критерий Манна – Уитни) и меньшее – саркоплазматической сети ($p = 0,0106$) при относительном равенстве показателей других органелл и цитозоля. При отсутствии различий между группами в объемной плотности миофибрилл, выявлена статистическая значимость вторичного стереологического параметра – показателя «насыщенности» миофибрилл митохондриями, вычисляемого как отношение объемной плотности митохондрий к объемной плотности миофибрилл: она принимала более высокие значения в образцах 1-й группы ($p = 0,0019$), то есть с меньшей продолжительностью холодовой ишемии (Рисунок 16).

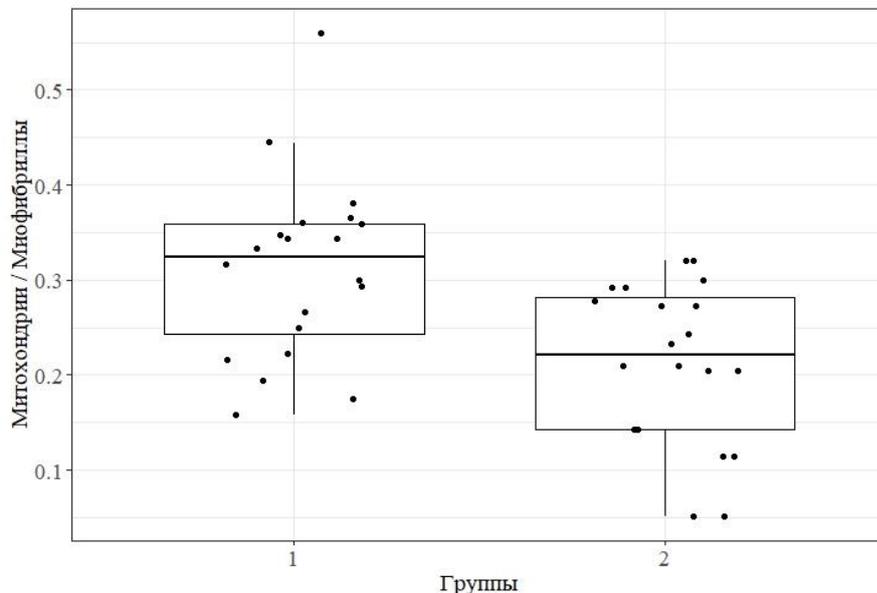


Рисунок 16 – Объемно-объемное отношение митохондрий и миофибрилл в кардиомиоцитах 1-й группы статистически значимо превышает показатель 2-й группы. Критерий Манна – Уитни ($p = 0,0196$)

Таким образом, сравнительное исследование биоптатов левого предсердия донорских сердец в условиях стандартного и продленного периода холодовой ишемии выявило стереотипные дистрофические изменения кардиомиоцитов на тканевом и ультраструктурном уровне. Полутонкие срезы демонстрировали мозаичность паренхимы миокарда, обусловленную контрактурными и менее выраженными литическими изменениями сердечных миоцитов, которые сопровождалась отеком стромы в обеих группах без статистически значимых отличий по данным стереологического исследования. Ультратонкие срезы перинуклеарных зон кардиомиоцитов свидетельствовали о редукции и очаговом повреждении миофибрилл и митохондрий в сочетании с выраженной аутофагией; при этом при меньшей длительности холодовой ишемии стереологические показатели органелл сердечных миоцитов свидетельствовали о сравнительно лучшем обеспечении миофибрилл митохондриями.

3.3 Характеристика клинико-функциональных показателей реципиентов с холодовой ишемией миокарда до 240 минут и более 240 минут

3.3.1 Характеристика основных исходных клинико-функциональных показателей на дооперационном этапе

Для изучения основных клинико-функциональных характеристик на до- и операционном и послеоперационном этапах ведения, нами подвергнуто ретроспективному комплексному анализу 54 пациента (реципиента): 46 мужчин и 8 женщин, которым в ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России в период с июля 2011 года по октябрь 2023 года была выполнена ТС. В зависимости от длительности времени холодовой ишемии трансплантата пациенты разделены на две группы. В первую группу исследования включены 27 реципиентов с холодовой ишемией донорского сердца менее 240 мин, во вторую группу 27 реципиентов с холодовой ишемией донорского сердца более 240 мин. В случаях второй группы длительная ишемия была обусловлена

транспортировкой из отдаленных регионов: Красноярский край, Кемеровская область, Алтайский край. В большинстве случаев транспортировка осуществлялась с использованием служебного транспорта, в ряде случаев (из Красноярского края) – с использованием гражданской авиации. Возраст доноров варьировался от 23 до 56 лет, медиана возраста во второй группе – 40 [34; 46] лет, в первой группе – 43 [40; 51] года.

Все изъятия выполнялись у доноров с установленной смертью головного мозга на основании клинической картины, результатов лабораторных и инструментальных исследований, которые проводились коллегиально в соответствии с Национальными рекомендациями и принятыми клиническими протоколами (Министерство здравоохранения Российской Федерации приказ от 25.12.2014 № 908н «О порядке установления диагноза смерти мозга человека»). Изъятие сердца выполнялось стандартным методом, с консервацией охлажденным кардиopleгическим раствором Bretschneider (Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Германия). ТС была выполнена по классической бикавальной технологии (Рисунок 17).

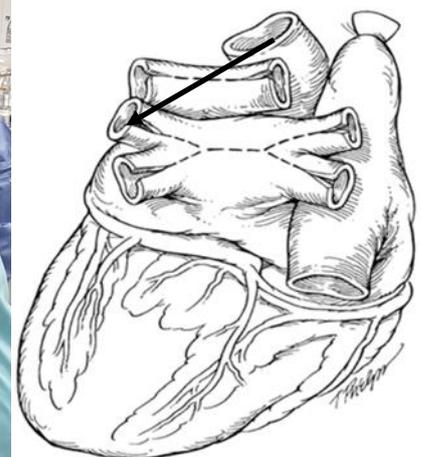


Рисунок 17 – Трансплантация сердца по бикавальной методике

Средний возраст, антропометрические показатели, наличие сопутствующей патологии достоверно не различались в исследуемых группах. В обеих группах

было отмечено преобладание пациентов мужского пола: в первой группе 26 (96 %), во второй 20 (74 %) человек (Таблица 3).

Таблица 3 – Исходная характеристика пациентов

Параметр		Длительность холодовой ишемии трансплантата, минуты		
		< 240 мин (n = 27)	> 240 мин (n = 27)	p
Возраст, годы		47 (38–51)	42 (32–51)	0,091
Мужской пол, n (%)		26 (96 %)	20 (74 %)	0,061
Индекс массы тела, кг/м ²		26 (18–40)	25 (17–38)	0,288
Этиология	ишемическая	12 (44 %)	5 (19 %)	0,543
	неишемическая	15 (56 %)	22 (81 %)	
ФК по классификации NYHA	III, n (%)	18 (67 %)	23 (85 %)	0,323
	IV, n (%)	9 (33 %)	4 (15 %)	
Острый ИМ в анамнезе, n (%)		12 (44 %)	5 (19 %)	0,543
Острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе, n (%)		2 (7 %)	7 (2,5 %)	0,256
Сахарный диабет, n (%)		2 (7 %)	1 (3,7 %)	0,692
Хронические заболевания легких, n (%)		1 (3,7 %)	1 (3,7 %)	0,642
Хронические заболевания почек > С3А ст., n (%)		1 (3,7 %)	1 (3,7 %)	0,642

Большинство пациентов, как в первой 23 (85,0 %), так и во второй 17 (62,0 %) группе относились ко второму классу ургентности в соответствии рекомендациями UNOS (United Network of Organ Sharing, 1989). Длительность нахождения в листе ожидания не различались в исследуемых группах. Среди предшествующих ТС кардиохирургических вмешательств у пациентов обеих групп: в первой группе 13 (48 %) и второй группе 10 (37 %) преобладала чрезкожная транслюминальная ангиопластика со стентированием пораженных коронарных артерий. Механическая поддержка кровообращения в виде имплантации системы обхода левого желудочка INCOR в качестве «моста» к

трансплантации выполнялась 8 пациентам (по 4 случая в каждой группе) (Таблица 4).

Таблица 4 – Исходная характеристика пациентов

Параметр	Длительность холодовой ишемии трансплантата, минуты		
	< 240 мин (n = 27)	> 240 мин(n = 27)	p
Предшествующая установка INCOR, n (%)	4 (15 %)	4 (15 %)	0,150
Предшествующие кардиохирургические вмешательства, n (%)	13 (48 %)	10 (37 %)	0,412
Длительность нахождения в листе ожидания, сутки	244,5 (132–440)	241,5 (74–387)	0,653
Статус по UNOS (класс ургентности United Network of Organ Sharing, 1989)			
1a	2 (7,5 %)	5 (19,0 %)	—
1b	2 (7,5 %)	5 (19,0 %)	
2	23 (85,0 %)	17 (62,0 %)	

Проведенная, посредством трансторакальной эхокардиографии (Эхо-КГ), оценка функции и объемных характеристик камер сердца реципиента, давления в легочной артерии не показала различий основных показателей в исследуемых группах (Таблица 5).

Таблица 5 – Исходная характеристика пациентов

Параметр	Длительность холодовой ишемии трансплантата, минуты		
	< 240 мин (n = 27)	> 240 мин (n = 27)	p
Фракция выброса левого желудочка, %	20 (19–26)	22 (19–25)	0,444
Фракционное изменение площади правого желудочка, %	30 (25–35)	31 (26–34)	0,267
Систолическое давление в легочной артерии, мм рт. ст.	45 (36–49)	39 (31–48)	0,153

3.3.2 Характеристика основных клинико-функциональных показателей в интраоперационном и раннем послеоперационном этапах

У пациентов 1-й группы длительность холодовой ишемии составила 167 (157–184); минимально – 135 мин, максимально – 230 мин, у пациентов 2-й группы – 349 (285–395) мин; минимально – 240 мин, максимально – 456 мин, ($p < 0,001$). Показатели интраоперационного периода, длительность искусственного кровообращения, длительность окклюзии аорты, общая длительность операции, не различались в исследуемых группах. Среди показателей раннего послеоперационного периода обращает на себя внимание различие в уровне инотропной поддержки, который был достоверно выше во второй группе, чем в первой: 96 (57–139) против 56 (34–77) часов, $p = 0,014$. Необходимость в продолжении механической поддержки сердца в раннем послеоперационном периоде во второй группе с длительной ишемией трансплантата возникла у 5 пациентов (18,5 %), так в первой группе с холодовой ишемией миокарда менее 240 минут – у 2 пациентов (7,5 %). Показатели длительности ИВЛ и пребывания в ОРИТ на различались в обеих группах. Оценка функции и объемных характеристик камер сердца реципиента, давления в легочной артерии показала статистически значимое повышение по отношению к исходному значению в обеих исследуемых группах таких показателей как ФВ ЛЖ и ФИП ПЖ: первая группа 60,5 % (57–65) и 41 % (39–43), вторая группа 61 % (56–66) и 39 % (35–42) соответственно (Таблица 6).

Таблица 6 – Интраоперационные характеристики и ранний послеоперационный период после трансплантации сердца

Параметр	Длительность холодовой ишемии трансплантата, минуты		
	< 240 мин (n = 27)	> 240 мин (n = 27)	p
Длительность ишемии трансплантата, мин	167 (157–184)	349 (285–395)	< 0,001
Длительность искусственного кровообращения, мин	184 (161–201)	198 (185–242)	0,619
Длительность окклюзии аорты, мин	107 (95–154)	113 (92–131)	0,705
Общая длительность операции, мин	360 (305–465)	402 (325–503)	0,321
Длительность пребывания в ОРИТ, сут	7 (5–11)	9 (7–11)	0,375
Длительность инотропной поддержки, часы	56 (34–77)	96 (57–139)	0,014
Длительность ИВЛ > 24 часов, n (%)	4 (14,8 %)	5 (18,5 %)	0,245
Использование МПК после операции, n (%)	2 (7,5 %)	5 (18,5 %)	0,032
Повторные хирургические вмешательства, n (%)	3 (11,1 %)	1 (3,7 %)	0,221
Фракция выброса левого желудочка, %*	60,5 (57–65)	61 (56–66)	0,030*
Фракционное изменение площади правого желудочка, % *	41 (39–43)	39 (35–42)	0,017*
Систолическое давление в легочной артерии, мм рт. ст.	29 (25–30)	32 (28–35)	0,269
Первичная дисфункция трансплантата, n (%)	0	0	0,163
Летальность, ассоциированная с первичной дисфункцией трансплантата, n (%)	0	0	0,361
Примечание – * По отношению к исходным показателям.			

3.3.3 Характеристика основных клинико-функциональных показателей в отдаленные сроки наблюдения

Отдаленный период наблюдения после ТС составил 30 дней (Таблица 7). Большинство пациентов относились к III ФК по классификации NYHA: в первой группе 22 (88,0 %), во второй группе 20 (80,0 %) случаев. В тоже время, в сравнение с исходными данными, улучшили свой ФК и перешли из III во II класс соответственно 3 (12,0 %) пациентов первой группы и 5 (20,0 %) второй группы. Сократительная способность миокарда, показатель систолического давления в

легочной артерии в 30-дневном периоде после ТС соответствовала нормальным значениям, без значимых отличий между группами (см. Таблицу 7).

Таблица 7 – Клинико-функциональная характеристика пациентов в отдаленные сроки после трансплантации сердца

Параметр		Длительность холодовой ишемии трансплантата, минуты		
		< 240мин (n = 25)	> 240мин (n = 25)	P
Длительность наблюдения, дни		30	30	—
ФК по классификации NYHA	II, n (%)	3 (12,0)	5 (20,0)	—
	III, n (%)	22 (88,0)	20 (80,0)	—
Фракция выброса левого желудочка, %		65 (61–66)	64 (59–67)	0,521
Фракционное изменение площади правого желудочка, %		45 (40–46)	45 (40–46)	0,523
Систолическое давление в легочной артерии, мм рт. ст.		31 (28–35)	33 (32–36)	0,545
Летальность, n (%)		2 (7,5 %)	2 (7,5 %)	0,502

Госпитальная выживаемость в обеих группах реципиентов с длительной холодовой ишемией донорского сердца до 240 минут и после 240 минут составила 92,5 % (n = 25) при 2 летальных случаях в каждой группе (по 7,5 %). По данным анализа выживания Каплана – Мейера разницы между группами не выявлено (логарифмический ранг, P 1/4 0,5025) (Рисунок 18).

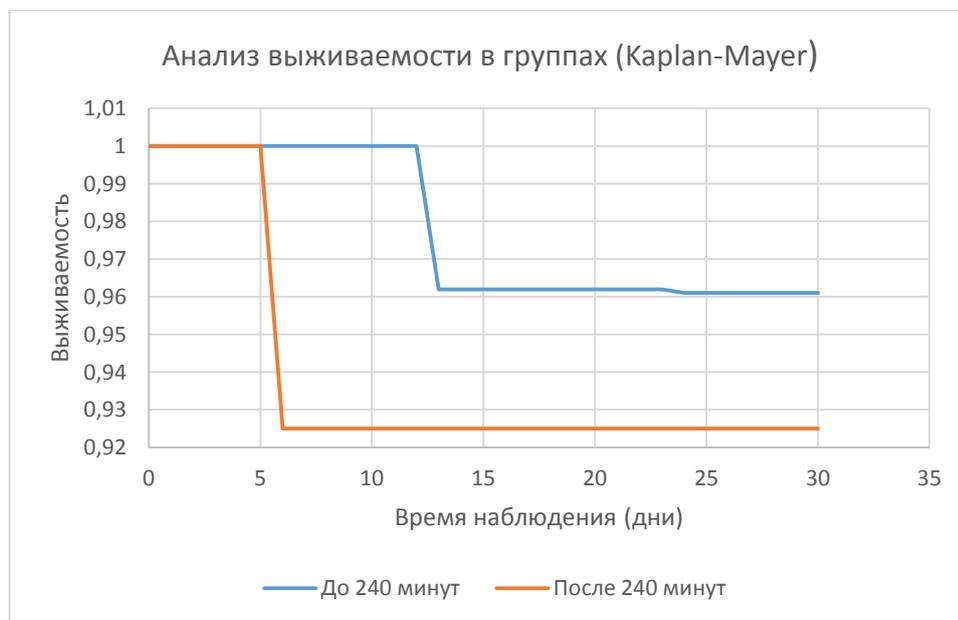


Рисунок 18 – Анализ выживаемости в группах (Kaplan – Mayer)

При этом причиной летальности в 1-й группе в обоих случаях являлась развившаяся пневмония, приведшая к летальному исходу на 13-е и 24-е сутки после операции. Во второй группе причиной смерти в одном из случаев явилось случившееся послеоперационное кровотечение, приведшее к летальному исходу на 6-е сутки после операции, в другом случае острая сердечная недостаточность, явившаяся причиной смерти также на 6-е сутки послеоперационного периода. Все умершие пациенты относились ко второму классу ургентности в соответствии с рекомендациями UNOS (United Network of Organ Sharing, 1989 год).

3.4 Оценка степени острого клеточного отторжения

В послеоперационном периоде все реципиенты получали комбинированную иммуносупрессивную терапию, которая включала ингибитор кальциневрина (циклоспорин 4–6 мг/кг/день или такролимус 0,05–0,1 мг/кг/день), микофенолат и преднизолон 1 мг/кг/день с постепенным снижением дозы до 0,1–0,2 мг/кг/день. Целевой уровень циклоспорина составлял 250–300 нг/мл, концентрация такролимуса – 15–20 нг/мл с постепенным снижением терапевтической

концентрации в отдаленных сроках после ТС.

По результатам гистологического исследования эндомикардиальной биопсии, оценивалась степень острого клеточного отторжения, согласно рекомендованной классификации ISHLT-2004 [202].

В течение месяца в динамике изменения степени острого клеточного отторжения у больных как в первой, так и второй исследуемых групп наблюдались равнонаправленные положительные тенденции. Стоит отметить, что в результатах первой биопсии в обеих группах доминировала легкая степень G1R – 25 (92,5 %) случаев в 1-й группе и 21 (77,8 %) случай во второй группе, при этом в последней были выше показатели степени G0R – 3 (11,1 %) против 1 (3,7 %) случая 1-й группы. Степень G3R была отмечена однократно у 1 (11,1 %) больного 1-й группы.

К 30-дневному сроку наблюдения у пациентов 1-й группы степень отторжения G0R была выявлена у 3 пациентов (11,1 %) (Рисунок 19), G1R – у 22 пациентов (81,5 %). Степени G2R и G3R не встречались. Умерло 2 (7,5 %) пациента, при степени отторжения, не превышающей G1R (Таблица 8).

Таблица 8 – Степень острого клеточного отторжения пациентов 1 группы

Неделя \ Степень	1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя
	(количество человек/количество биопсий)			
G 0R	1/5	3/15	4/20	3/15
G 1R	25/125	23/115	23/115	22/110
G 2R	0	1/5	0	0
G 3R	1/5	0	0	0
Летальность	0	0	0	2
ИТОГО человек/биопсий	27/135	27/135	27/135	25/125

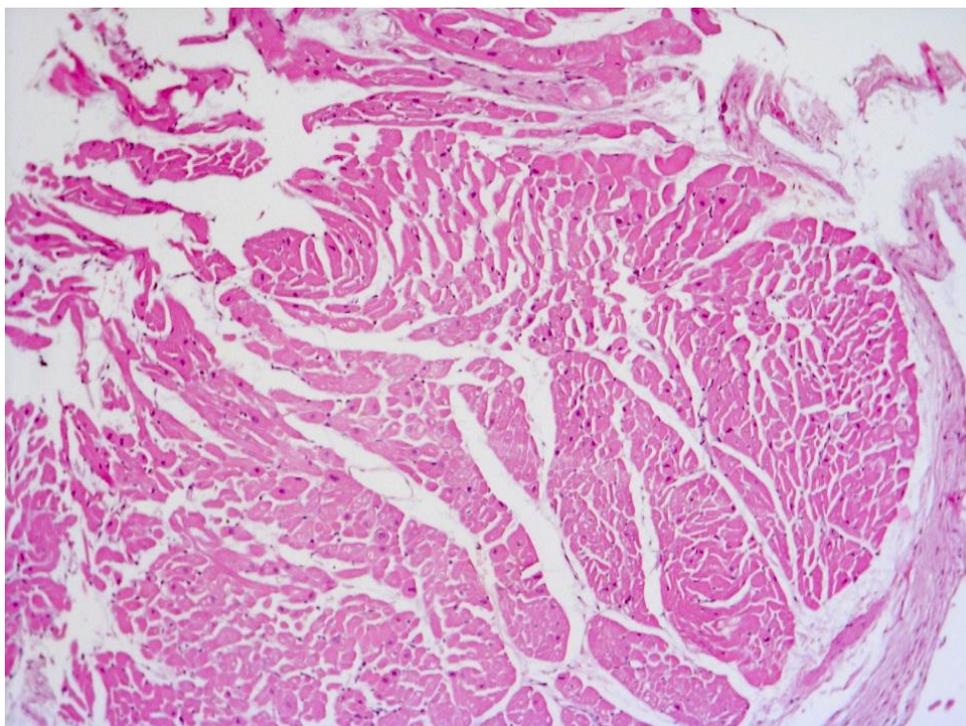


Рисунок 19 – Степень G0R. Отсутствие воспалительного инфильтрата и повреждения кардиомиоцитов. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение $\times 100$

У пациентов 2-й группы к концу первого месяца наблюдения степень отторжения G0R была выявлена у 2 пациентов (7,5 %), G1R – у 21 пациента (77,8 %) (Рисунок 20). Степень G2R встречалась в 2 случаях (7,5 %) (Рисунок 21), степень G3R отсутствовала. Умерло 2 (7,5 %) пациента при степени отторжения, не превышающей G1R (Таблица 9).

Таблица 9 – Степень острого клеточного отторжения пациентов 2 группы

Степень	Неделя			
	1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя
	(количество человек/количество биопсий)			
G 0R	3/15	4/20	4/20	2/10
G 1R	21/105	22/110	22/110	21/105
G 2R	3/15	1/5	1/5	2/10
G 3R	0	0	0	0
Летальность	0	0	0	2
ИТОГО человек/биопсий	27/135	27/135	27/135	25/125

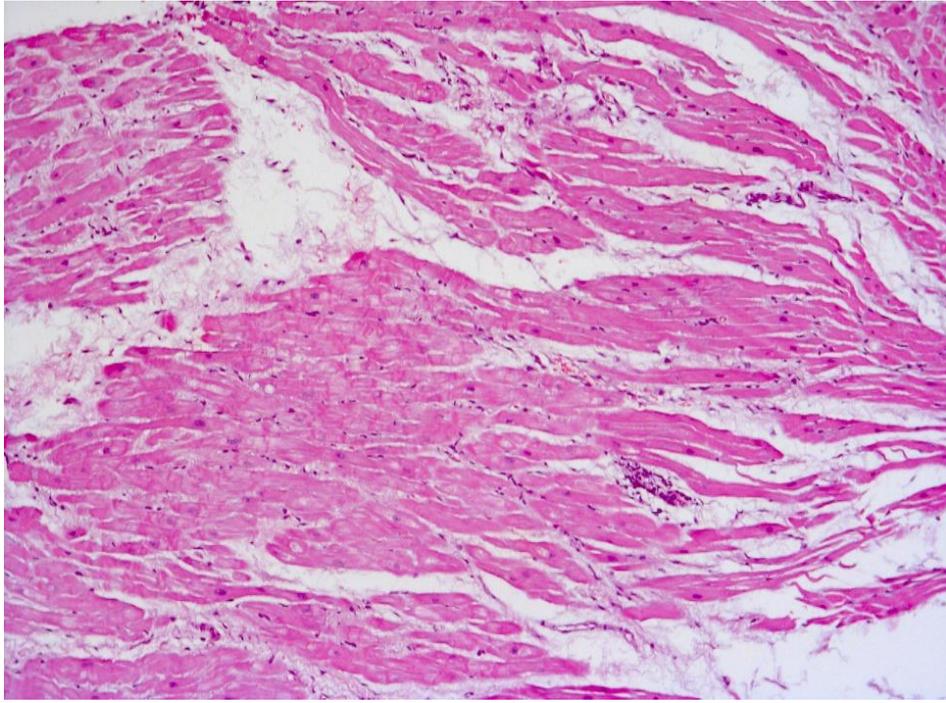


Рисунок 20 – Степень G1R. Слабая, неравномерная мононуклеарная инфильтрация интерстиция. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение $\times 100$

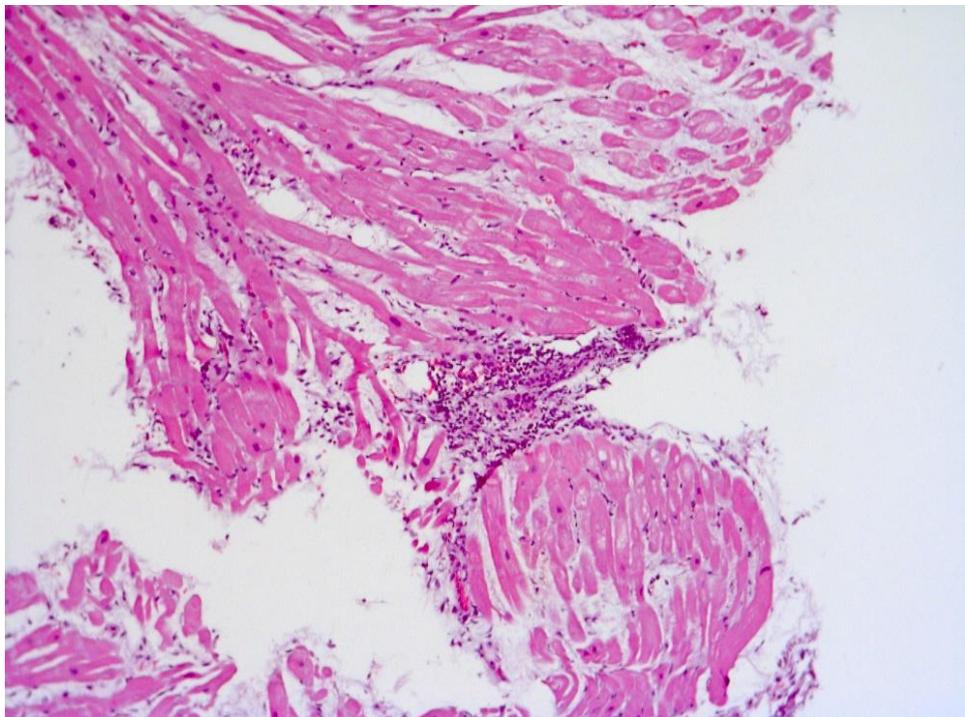


Рисунок 21 – Степень G2R. Единичные воспалительные инфильтраты и неравномерное повреждение кардиомиоцитов. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение $\times 100$

Таким образом в обеих исследуемых группах средний возраст, антропометрические показатели, сопутствующая патология практически не различались друг от друга. Большинство пациентов, как в первой 23 (85,0 %), так и во второй группе 17 (62,0 %) относились ко второму классу ургентности в соответствии с рекомендациями UNOS (United Network of Organ Sharing, 1989). У пациентов 1-й группы длительность холодовой ишемии составила 167 (157–184); минимально – 135 мин, максимально – 230 мин, у пациентов 2-й группы – 349 (285–395) мин; минимально – 240 мин, максимально – 456 мин.

Оценка функции и объемных характеристик камер сердца показала в послеоперационном периоде статистически значимое повышение по отношению к исходному значению в обеих исследуемых группах ФВ ЛЖ и ФИП ПЖ: первая группа 60,5 % (57–65) и 41 % (39–43), вторая группа 61 % (56–66) и 39 % (35–42) соответственно.

На основании полученных данных показано, что через 30 дней после операции ТС длительность холодовой ишемии донорского сердца не влияет на степень острого клеточного отторжения: пациенты с длительностью холодовой ишемии сердца до 240 мин и более 240 мин имели преимущественно легкую степень (G1R) клеточного отторжения (88 % и 84 % соответственно). В обеих группах, независимо от времени холодовой ишемии, пациенты имели одинаково высокую выживаемость (92,5 %).

3.5 Обсуждение результатов проведенного исследования

В современном мире продолжает расти количество людей, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями, которые, в силу своей продолжительности и особенностей течения, приводят к развитию сердечной недостаточности и инвалидизации населения планеты. В определенных случаях эти заболевания становятся причиной смерти. Хотя фармацевтическая промышленность достигла определенных успехов в разработке новых лекарственных препаратов для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, консервативные методы терапии у данной

категории пациентов не являются всецело эффективными. Для многих пациентов с терминальной стадией заболевания трансплантация сердца является единственным радикальным способом лечения, который значительно улучшает прогноз и качество жизни [15, 80, 81].

Трансплантация сердца напрямую зависит от полного использования имеющихся донорских ресурсов. Несмотря на принимаемые меры для развития органного донорства, включая улучшение законодательной базы и организационную работу службы трансплантации, все еще остается критический дефицит донорских органов [91]. В настоящее время стандартным методом является удаленное изъятие органов, при котором донорская база находится на некотором расстоянии от трансплантационного центра, где происходит пересадка. В процессе транспортировки донорского сердца время холодовой ишемии миокарда может значительно превышать допустимую норму, что может привести к отклонению в состоянии органа, который изначально был пригодным для пересадки. Среднее допустимое время холодовой защиты донорского сердца в настоящее время составляет 4–6 часов, приоритет отдается пересадке органа с консервацией менее 4 часов [134, 159]. Превышение этого безопасного порога увеличивает риск развития послеоперационных осложнений и смертности [157]. Тем не менее, существуют доклады, которые указывают на возможность продления времени ишемии донорского сердца без серьезного риска осложнений [160, 171, 195, 199, 203].

Основным фактором, в основном отвечающим за снижение выживаемости имплантированного органа, является ишемия сердечной мышцы донора, обусловленная отключением от системного кровотока и последующим продолжительным периодом холодовой консервации, особенно методом холодовой перфузии с применением консервационных растворов [206].

Несмотря на значительное количество публикаций, посвященных изучению состояния мышцы сердца донорского сердца при холодовой ишемии, большая часть этих исследований проведена в клинической среде с использованием различных клинико-функциональных методов [28, 46, 133, 172]. Поэтому нельзя

не отметить, что существует лишь небольшое число работ, посвященных исследованию именно морфологии миокарда в условиях холодовой ишемии. При этом опубликованные данные о взаимосвязи между результатами трансплантации сердца и длительностью холодовой ишемии миокарда весьма неоднозначны [19, 171, 202].

В клиническую часть исследования вошли 54 пациента, с хронической сердечной недостаточностью, которым в 2011–2023 годах в ФГБУ «НМИЦ им. академика Е. Н. Мешалкина» Минздрава России выполнена ТС. В зависимости от длительности холодовой ишемии донорского сердца они были разбиты на 2 группы по 27 человек в каждой: 1 группа (менее 240 минут) – возраст 47 [38; 51] лет, длительность холодовой ишемии трансплантата 167 [157–184] минут; 2 группа (более 240 минут) – возраст 42 [32; 51] лет, длительность холодовой ишемии трансплантата 349 [285; 395] минут.

Операция ТС осуществлялась по классической бикавальной технологии. Изъятие сердца выполнялось стандартным методом, с консервацией холодным кардиоплегическим раствором Bretschneider (Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, (Custodiol®), НТК, Германия). Забор образцов миокарда для морфологического исследования производился сердечно-сосудистыми хирургами: 1) в условиях операционного блока во время проведения основного этапа операции забирались образцы миокарда левого предсердия донорского сердца после холодовой ишемии раствором Bretschneider 2) еженедельно в течение первого месяца выполнялась эндомиокардиальная биопсия после операции ТС. Забор эндомиокардиальных биоптатов из межжелудочковой перегородки со стороны полости правого желудочка проводился в отделении рентгенфункциональных методов диагностики.

Временной период холодовой ишемии донорского сердца зависит от многих причин, в том числе удаленности медицинских учреждений друг от друга, дорожной доступности и другие. Увеличение времени холодовой ишемии более 240 мин демонстрирует отрицательное воздействие на состояние трансплантата и увеличивает возможность негативных последствий ТС [57, 67]. Возникающие

изменения, связанные с нарушением оксигенации и последующей реперфузией тканей, приводящих к дестабилизации биологических мембран, нарушению коагуляционного гемостаза электролитного баланса, энергообеспечению клеток, значимо влияют на механизмы повреждения аллотрансплантата [68]. Тем не менее, ряд выполненных исследований показал, что повышение времени холодной ишемии не оказывает существенного влияния на ранние и отдаленные результаты ТС [99, 188]. Даже в ситуациях с максимально длительной ишемией донорского органа операции ТС выполнялись с благополучными итогами [99, 116].

Полученные нами результаты показали, что длительность времени холодной ишемии не влияла на степень острого клеточного отторжения трансплантированного сердца и исход хирургического лечения в послеоперационном периоде после ТС. В обеих группах в большинстве случаев степень клеточного отторжения соответствовала степени G1R – у 22 (81,5 %) пациентов 1-й группы и 21 (77,8 %) пациента во 2-й группе. Постишемические повреждения миокарда носили кратковременный и обратимый характер и проявлялись миоцитоллизом отдельных кардиомиоцитов, легкими контрактурами без развития некроза сократительного пучка. Выживаемость в обеих группах пациентов составила по 25 (92,5 %) больных.

В части исследований отмечается, что продолжительный срок холодной ишемии трансплантата не может быть фактором его дисфункции и не оказывает какого-либо влияния на результаты хирургического лечения [60, 62, 63]. Констатация повреждения сердечной мышцы методом светооптической микроскопии связана с определенными сложностями если со времени её начала проходит небольшой срок. В практической деятельности для диагностики повреждений миокарда актуально применение иммуногистохимического метода или микроскопии в поляризованном свете [24, 31, 43, 44, 52], позволяющих при изучении участков ишемии миокарда дать заключение о статусе макромолекулярной структуры мышечных клеток сердца.

Структура кардиомиоцитов, включая порядок положения в ней клеточных

белков строго детерминирована. Клеточные белки обладают полифункциональностью, выполняя различные функции и взаимодействуя с различными структурами внеклеточного и внутриклеточного пространства. Это позволяет им обеспечивать сохранность клетки и её стабильную работу в течение сердечных циклов. Взаимодействуя с компонентами внеклеточной матрицы клеточные белки, обеспечивают механическую прочность и поддержку клеток, помогают в формировании и стабилизации тканевых структур. Внутри клетки, белки взаимодействуют с различными органеллами, тем самым осуществляют регуляцию клеточного обмена веществ, энергетического обеспечения клетки, транспорта и сортировки белков, а также сигнальных путей внутри клетки [13, 76, 165, 174, 197, 208]. В литературных источниках заболевания сердца, при которых прослеживаются повреждения структуры мышечных клеток представлены большей частью кардиомиопатиями. Использование иммуногистохимического метода в диагностике повреждения молекулярных структур клетки, позволяет оценить, как динамику изменения их количества, так и степень целостности кардиомиоцитов.

Изучение экспрессии актина и десмина при исследовании миокарда в условии холодовой ишемии показало её разнонаправленность по группам. Интенсивность экспрессии десмина с увеличением длительности ишемии уменьшалась (по бальной шкале оценки достоверно увеличивалась группа с характеристикой в один балл). Достоверное снижение экспрессии десмина при различных формах ишемического повреждения миокарда отмечено во многих исследованиях. Ишемическое повреждение миокарда приводит к нарушению кровоснабжения сердца и последующей гибели кардиомиоцитов. Это может вызывать изменение экспрессии разных белков, включая десмин. Исследования, использующие методы иммуногистохимии, иммуноблотинга и другие методы, также подтверждают, что при ишемическом повреждении миокарда происходит снижение экспрессии десмина, что связано с активацией патологических сигнальных путей, изменением генной экспрессии и другими механизмами. Снижение экспрессии десмина при ишемическом повреждении миокарда имеет

важные последствия для структуры и функции сердечной мышцы. В таких условиях уменьшение уровня десмина приводит к нарушению целостности клеток, дезорганизации саркомеров и других структурных компонентов. Однако, необходимо отметить, что характер и степень изменения экспрессии десмина могут различаться в разных стадиях и формах ишемического повреждения миокарда. Так в работе [20] указывают на достоверное снижение экспрессии десмина при различных формах ишемического повреждения миокарда, но при этом отмечают гетерогенность его присутствия на различных участках – от полного отсутствия реакции кардиомиоцитов на десмин до её усиления в области Z-полос и вставочных дисков.

Наше исследование при длительной тотальной ишемии миокарда ЛП в условиях холодовой ишемии так же показало разную интенсивность экспрессии в обеих группах, но при этом участков полного отсутствия реакции на десмин не было. Интенсивность экспрессии актина в отличие от десмина увеличивалась у пациентов 2-й группы и была неравномерной. Учитывая, что в условиях холодовой тотальной ишемии миокарда восстановление поврежденных миофибрилл путем активации синтетических процессов невозможно, следует предположить иной механизм усиления экспрессии актина, связанный с повышением доступности реактивных групп в актиновых нитях в условиях денатурации белков при развитии смешанных повреждений в виде контрактур и миоцитолизиса [73]. Возможно, это связано и с включением дополнительных рецепторов при фрагментации контрактур, спирально скрученных актиновых нитей в очагах пересокращения и перерастяжения миофибрилл.

Равномерная интенсивность экспрессии E-кадгерина как в области вставочных дисков, характеризующих цитоскелет саркомера, так и вне саркомерного цитоскелета, связанного с сарколеммой, свидетельствовала о сохранности макромолекулярной структуры данного белка, структурной и функциональной полярности мышечных клеток миокарда и соответственно его физических свойств – пластичности и компактности. В случае отсутствия такой защиты, длительная ишемия приводит к диссоциации актинового цитоскелета от

мембраны кардиомиоцита, что вызывает дегенерацию и апоптоз клеток. Однако в нашем исследовании такие процессы не были обнаружены.

Проведенное исследование показало, что активность E-кадгерина в условиях холодовой ишемии миокарда с использованием раствора Custodiol в течение 240 минут и более 240 минут остается стабильной. Лизисные изменения отдельных кардиомиоцитов были обнаружены только у пациентов второй группы, в то время как иммуногистохимические реакции кардиомиоцитов на E-кадгерин были сохранены в обеих группах практически на одном уровне, что свидетельствует о сохранности макромолекулярной структуры данного белка, структурной и функциональной полярности мышечных клеток миокарда и соответственно его физических свойств – пластичности и компактности.

Холодовой стресс изолированного донорского сердца приводит к обратимым и необратимым ишемическим дистрофическим изменениям паренхимы органа, сопровождающимся застойными сосудистыми нарушениями и отеком стромы. Выявленные нами на биоптатах левого предсердия изменения являлись неспецифическими и расценивались как обратимые. Следует отметить, что при рутинном патоморфологическом светооптическом исследовании эндомиокардиальной биопсии человека среди выявляемых повреждений миокарда наиболее часто регистрируется вакуольная дегенерация кардиомиоцитов, имеющая небольшую диагностическую ценность, поскольку чаще всего содержимое вакуолей невозможно идентифицировать [210]; поэтому авторы «настоятельно рекомендуют проводить электронную микроскопию при каждой процедуре эндомиокардиальной биопсии».

Электронная микроскопия ультратонких срезов кардиомиоцитов и полутонкие срезы (в том числе в сочетании с поляризационной микроскопией продольных парафиновых срезов миокарда) позволяют визуализировать стереотипные и специфические нарушения сократительного аппарата как в клинике, так и в эксперименте, при моделировании патологических процессов различного генеза. При холодовой ишемии в биоптатах донорских сердец нами выявлены доминирующие контрактурные и единичные литические изменения

миофибрилл, являющиеся универсальными ультраструктурными маркерами дистрофии сердечных миоцитов, которые были ранее описаны при изучении поражения сердца различного генеза – ишемического и токсического, в т. ч. при антрациклиновой кардиомиопатии [164].

Поскольку сократительная способность миофибрилл характеризуется высокой энергозависимостью, при ишемически-реперфузионном повреждении кардиомиоцитов особенно сильно страдают их митохондрии, поэтому одним из способов улучшения качества трансплантата сердца предлагают методику трансплантации митохондрий в кардиомиоциты, эффективность которой продемонстрирована в эксперименте [157]. Разрушенные митохондрии и органеллы с агрегированными митохондриальными кристами описаны при кардиомиопатии токсического генеза при воздействии циклофосамида [97]

Наряду с поражением и уменьшением количества митохондрий, в изученных нами биоптатах сердца при фармако-холодовой ишемии развивались процессы митофагии, что документировалось перинуклеарными скоплениями крупных митофагосом, заметных даже на полутонких срезах.

Поиски структурных диагностических и прогностических признаков выживаемости трансплантата сердца активно продолжаются. Как известно, основным осложнением трансплантации сердца является его острое клеточное отторжение. При анализе биопсий сердца с поиском новых ультраструктурных маркеров отторжения [122] выделен новый аспект – кластеризация митохондрий. Пациенты из одного медицинского центра были разделены на две группы: пациенты, перенесшие трансплантацию без отторжения аллотрансплантата (уровень 0R), и пациенты с подтвержденным биопсией отторжением аллотрансплантата (уровень $\geq 2R$). С помощью электронной микроскопии обнаружено значительное увеличение объемной плотности митохондрий ($p < 0,0001$) и «плотных телец» ($p < 0,01$) в группе отторжения. Наиболее значимым открытием было наличие локальных скоплений митохондрий вблизи ядерной оболочки, сдавливающих эту мембрану во всех образцах отторжения (100 %). Авторы идентифицировали этот феномен перинуклеарной кластеризации

митохондрий в (68 ± 27) % всех ядер кардиомиоцитов, наблюдаемых в образцах при отторжении. Не наблюдали этого явления ни в одном неотторгнутом образце, что отражает превосходную чувствительность и специфичность признака. Выявлен специфический феномен, влияющий на архитектуру ядерной мембраны – перинуклеарную кластеризацию митохондрий – в эндомикардиальных биоптатах пациентов с отторжением сердечного трансплантата.

Проведенное нами сравнительное исследование биоптатов левого предсердия донорских сердец в условиях стандартного и продленного периода холодовой ишемии выявило стереотипные дистрофические изменения кардиомиоцитов на тканевом и ультраструктурном уровне. Полутонкие срезы демонстрировали мозаичность паренхимы миокарда, обусловленную контрактурными и менее выраженными литическими изменениями сердечных миоцитов, которые сопровождалась отеком стромы в обеих группах без статистически значимых отличий по данным стереологического исследования. Ультратонкие срезы перинуклеарных зон кардиомиоцитов свидетельствовали о редукции и очаговом повреждении миофибрилл и митохондрий в сочетании с выраженной аутофагией; при этом при меньшей длительности холодовой ишемии стереологические показатели органелл сердечных миоцитов свидетельствовали о сравнительно лучшем обеспечении миофибрилл митохондриями.

Полученная в ходе данного исследования информация, является уникальной и новаторской. Благодаря комплексному клинико-морфологическому анализу удалось выявить динамику патоморфологических изменений донорского и трансплантированного сердца в зависимости от различной продолжительности холодовой ишемии трансплантата. Такой многокомпонентный анализ представляет собой сложную задачу, однако, без него невозможно полноценно понять протекающие процессы в сердце.

ВЫВОДЫ

1. При различных сроках холодовой ишемии (до 240 минут и более 240 минут) структурная организация миокарда донорского сердца характеризуется мозаичностью изменений, обусловленной контрактурными I-II степени и менее выраженными литическими изменениями кардиомиоцитов, сопровождающимися отеком стромы миокарда и не имеет статистически значимых отличий в обеих группах по данным стереологического исследования.

2. Иммуногистохимическое исследование миокарда, проведенное при различных сроках холодовой ишемии, выявило стабильную экспрессию E-кадгерина в кардиомиоцитах обеих исследуемых групп.

3. В разные временные промежутки холодовой ишемии прослеживается стабильная морфологическая динамика уровня экспрессии актина и десмина в кардиомиоцитах по показателю объемной плотности: в группе с длительностью холодовой ишемии миокарда более 240 минут характеризуется минимальным, но статистически значимым увеличением десмина (в 1,13 раза), актина в 1,07 раза ($p < 0,05$). Интенсивность экспрессии актина и десмина в кардиомиоцитах носила разнонаправленный характер в исследуемых группах: уменьшение десмина в 1,6 раза в группе с длительностью более 240 мин по сравнению с группой с длительностью ишемии до 240 минут за счет увеличения числа кардиомиоцитов со слабым уровнем интенсивности экспрессии; увеличение актина за счет повышенного в 1,5 раза количества кардиомиоцитов с умеренной и выраженной интенсивностью, что свидетельствует о достаточно высокой степени сохранности структурного резерва миокарда для восстановления адекватной сердечной деятельности после трансплантации сердца.

4. Сравнительное исследование биоптатов левого предсердия донорских сердец в условиях стандартного и продленного периода холодовой ишемии выявило стереотипные дистрофические изменения кардиомиоцитов на тканевом и ультраструктурном уровне. При холодовой ишемии миокарда менее 240 минут значимо доминировала объемная плотность митохондрий кардиомиоцитов (V_v)

0,117 (0,098; 0,160) ($p = 0,0196$, критерий Манна – Уитни) и в меньшей степени – саркоплазматической сети 0,0123 (0,0123; 0,0123) ($p = 0,0106$) при относительном равенстве показателей других органелл и цитозоля. Отношение объемной плотности митохондрий к объемной плотности миофибрилл имеет более высокие значения также в группе с холодовой ишемией миокарда менее 240 минут ($p = 0,0019$).

5. Длительность холодовой ишемии трансплантированного сердца не влияет на степень острого клеточного отторжения: в отдаленном 30-дневном послеоперационном периоде пациенты с длительностью холодовой ишемии сердца до 240 минут и более 240 минут имели одинаково высокую выживаемость (92,5 %), преимущественно легкую степень (G1R) клеточного отторжения (81,5 % и 77,8 % соответственно) со стабильно высокими показателями сердечной гемодинамики.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Результаты выполненного клинико-морфологического комплексного исследования могут быть использованы в практической работе патологоанатомических отделений кардиохирургических центров, выполняющих трансплантацию сердца, при исследовании операционных образцов миокарда донорского сердца (левого предсердия), взятых на основном этапе операции для прогноза степени ишемического повреждения после предшествующей холодовой ишемии.

2. Применение донорских сердец с длительной холодовой ишемией (более 240 минут) в условиях дефицита донорских органов является эффективным приемом для увеличения числа трансплантаций и снижения смертности пациентов, ожидающих пересадку в «листе ожидания».

3. Полученные данные о структурных изменениях миокарда могут быть информативными для понимания особенностей патогенеза развития ишемических повреждений миокарда при различных сроках холодовой ишемии, а также для разработки перспективных методов консервации.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД	артериальное давление
АСТ	активированное время свертываемости
ИГХ	иммуногистохимия
КДО	конечно-диастолический объем
КСО	конечно-систолический объем
ЛДГ	лактатдегидрогеназа
СН	сердечная недостаточность
ТС	трансплантация сердца
ЛП	левое предсердие
ФИП ПЖ	фракционное изменение площади правого желудочка
ФК	функциональный класс
ФВ	фракция выброса
ЦВД	центральное венозное давление
ЧСС	частота сердечных сокращений
ЭКГ	электрокардиография
ЭМБ	эндомиокардиальная биопсия

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алюхин, Ю. С. Температурные и временные пределы обратимости остановки сердца млекопитающих от холода / Ю. С. Алюхин // Успехи физиологических наук. – 2008. – Т. 390, № 4. – С. 66–82.
2. Беленков, Ю. Н. Нейрогормоны и цитокины при сердечной недостаточности: новая теория старого заболевания? / Ю. Н. Беленков, Ф. Т. Агеев, В. Ю. Мареев // Сердечная недостаточность. – 2000. – Т. 1, № 4. – С. 135–138.
3. Биленко, М. В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения) / М. В. Биленко – М. : Медицина, 1989. – 368 с.
4. Бокерия, Л. А. Актуальные вопросы интраоперационной защиты миокарда (кардиоплегия) / Л. А. Бокерия, Р. Р. Мовсесян, Р. А. Мусина // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 1998. – № 5. – С. 63.
5. Бокерия, Л. А. Аортокоронарное шунтирование на работающем сердце / Л. А. Бокерия, В. М. Авалиани, В. Ю. Мерзляков. – М. : НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 2008. – 490 с.
6. Бретшнайдер, Х. Ю. Кардиоплегия / Х. Ю. Бретшнайдер, М. М. Гебхард, К. Ю. Прюссе // Физиология и патофизиология сердца / в 2 т. Т. 2 : пер. с англ. ; под ред. Н. Сперелакиса. – М. : Медицина, 1988. – С. 291–306.
7. Быков, В. Л. Цитология и общая гистология (функциональная морфология клеток и тканей человека) / В. Л. Быков. – Санкт-Петербург : СОТИС, 2002. – 237 с. – ISBN 5-85503-080-6.
8. Вишневский, А. А. Искусственное кровообращение и гипотермия в хирургии открытого сердца / А. А. Вишневский, С. Ш. Харнас. – М. : Медицина, 1968. – 296 с.
9. Влияние дистантного ишемического прекондиционирования на течение периоперационного периода при изолированном протезировании аортального клапана / А. Е. Баутин, М. М. Галагудза, С. В. Даценко [и др.] //

Анестезиология и реаниматология. – 2014. – № 3. – С. 11–17.

10. Влияние концентрации ионов натрия на функцию миокарда, подвергнутого кардиоплегической ишемии (экспериментальное исследование) / Л. А. Бокерия, А. А. Болдырев, Р. Р. Мовсесян [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 156, № 12. – С. 854–858.

11. Гайтон, А. К. Медицинская физиология / А. К. Гайтон, Д. Э. Холл ; под ред. В. И. Кобрин. – Москва : Логосфера, 2008. – С. 1113–1296. – ISBN 978-5-98657-013-6.

12. Гасанов, А. Г. Роль изменений внеклеточного матрикса при возникновении сердечно-сосудистых заболеваний / А. Г. Гасанов, Т. В. Бершова // Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55, № 2. – С. 155–168.

13. Геннис, Р. Биомембраны. Молекулярная структура и функции / Р. Геннис : пер. с англ. – М. : Мир, 1997. – 624 с.

14. Головкин, А. С. Механизмы синдрома системного воспалительного ответа после операций с применением искусственного кровообращения : специальность 14.03.03 «Патологическая физиология» : диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Головкин Алексей Сергеевич ; Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. – Кемерово., 2014. – 268 с. – Библиогр.: с. – Текст : непосредственный.

15. Готье, С. В. Инновации в трансплантологии: развитие программы трансплантологии в Российской Федерации / С. В. Готье // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2017. – № 21 (3S). – С. 61–68.

16. Григорян, С. В. Миокардиальный фиброз и фибрилляция предсердий / С. В. Григорян, Л. Г. Азарпетян, К. Г. Адамян // Российский кардиологический журнал. – 2018. – № 23 (9). – С. 71–76.

17. Гурин, А. М. Структурно-функциональные особенности сердечной мышечной ткани человека / А. М. Гурин // Современные наукоемкие технологии. – 2009. – № 11. – С. 28–40.

18. Длительная нормотермическая аутоперфузия сердечно-легочного

комплекса *ex vivo* как метод эффективного кондиционирования трансплантата: экспериментальное исследование / М. О. Жульков, А. Р. Таркова, И. С. Зыков [и др.] // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2023. – Т. 27, № 4. – С. 33–42.

19. Длительность холодовой ишемии трансплантата в отдаленном прогнозе ортотопической трансплантации сердца / О. В. Каменская, И. Ю. Логинова, А. С. Клинова [и др.] // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. – 2021. – Т. 36, № 1. – С. 74–81.

20. Заднипряный, И. В. Морфологические маркеры нитритного повреждения миокарда в эксперименте / И. В. Заднипряный, Т. П. Сатаева, О. С. Третьякова // Оперативная хирургия и клиническая анатомия. – 2017. – № 1 (2). – С. 7–12.

21. Зайратьянц, О. В. Инфаркт миокарда и острый коронарный синдром: дефиниции, классификация и критерии диагностики / О. В. Зайратьянц, О. Д. Мишнев, Л. В. Кактурский // Архив патологии. – 2014. – Т. 76, № 6. – С. 3–11.

22. Защита миокарда от глобальной ишемии/реперфузии с использованием кардиоплегического раствора на основе буфера Кребса-Хензеляйта / С. М. Минасян, М. М. Галагудза, М. С. Васильева [и др.] // Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2010. – Т. 9, № 4. – С. 353–361.

23. Защита миокарда при операциях на «открытом» сердце / С. В. Кузнецов, В. В. Давыденко, О. Ю. Мочалов [и др.] – СПб. : Издательство СПбГМУ, 2009. – 42 с.

24. Иммуногистохимическая оценка структурного белка кардиомиоцитов десмина при острых очаговых повреждениях миокарда / С. В. Савченко, В. П. Новоселов, А. С. Гребенщикова [и др.] // Достижения российской судебно-медицинской науки XX-XXI столетия: к 100-летию со дня образования современных судебно-экспертных школ : труды VIII Всероссийского съезда судебных медиков с международным участием, Москва, 21–23 ноября 2018 года. Москва, 2019. – Т. 2. – С. 54–58.

25. Кактурский, Л. В. Внезапная сердечная смерть (морфологическая диагностика) / Л. В. Кактурский, М. Г. Рыбакова, И. А. Кузнецова. – Спб : ГПАБ,

2008. – Вып. 100. – С. 55.

26. Кактурский, Л. В. Поляризационная микроскопия / Л. В. Кактурский // в кн. Микроскопическая техника. – М. : Медицина, 1996.

27. Кардиоплегия и защита миокарда в кардиохирургии: современные тенденции / Н. К. Клышко, С. П. Щава, А. А. Фургал [и др.] // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2020. – № 13 (2). – С. 108–113.

28. Клинический случай трансплантации сердца с предельно длительной холодовой ишемией донорского органа / С. А. Альсов, А. В. Фомичев, Д. В. Доронин [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – № 20 (1). – С. 110–113.

29. Лискова, Ю. В. Патогенетическая и прогностическая значимость молекулярных маркеров ремоделирования миокарда у пациентов, страдающих хронической сердечной недостаточностью / Ю. В. Лискова // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2018. – № 1 (61). – С. 19–23.

30. Лубяко, А. А. Механизмы защиты и повреждения миокарда при действии кардиоплегических растворов / А. А. Лубяко, В. И. Кирпатовский, Н. А. Онищенко // Кардиология. – 1983. – № 7. – С. 51–55

31. Лушникова, Е. Л. Патоморфология мышечных клеток при действии циклофосамида и тритерпеноидов / Е. Л. Лушникова, Л. М. Непомнящих, Т. Н. Толстикова. – Новосибирск : Наука, 2009. – 272 с.

32. Меерсон, Ф. З. Гиперфункция, гипертрофия, недостаточность сердца / Ф. З. Меерсон. – 2-е изд., доп. и перераб. – М. : Медицина, 1968. – 388 с.

33. Меерсон, Ф. З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца / Ф. З. Меерсон. – М. : Медицина, 1984. – 272 с.

34. Мельников, Н. Ю. Эффективность методов анестезии в кардиопротекции при операциях с искусственным кровообращением : специальность 14.01.20 «Анестезиология и реаниматология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Мельников Николай Юрьевич ; Институт Федеральной службы безопасности Российской Федерации (г. Нижний Новгород). – Нижний Новгород, 2012. – 104 с. – Библиогр.: с. – Текст :

непосредственный.

35. Мерзляков, В. Ю. Оценка и прогностическое значение повреждения миокарда при операциях на открытом сердце / В. Ю. Мерзляков, Л. С. Селимян // Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. – 2012. – Т. 13, № 3. – С. 19–26.

36. Методика перфузии изолированного сердца крысы / С. М. Минасян, М. М. Галагудза, Д. Л. Сонин [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2010. – Т. 8, № 4 (32). – С. 54–59.

37. Механизмы защиты миокарда под действием кристаллоидной кардиopleгии — ключ к оптимизации интраоперационной кардиопротекции / С. М. Минасян, М. М. Галагудза, Д. И. Курапеев [и др.] // Бюллетень Федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова. – 2011. – № 1. – С. 24–31.

38. Миклишанская, С. В. Механизмы формирования миокардиального фиброза в норме и при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях. Методы его диагностики / С. В. Миклишанская, Н. А. Мазур, Н. В. Шестакова // Медицинский Совет. – 2017. – № 12. – С. 75–81.

39. Можейко, Н. П. Патоморфология трансплантированного сердца : специальность 14.01.24 «Трансплантология и искусственные органы» : диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Можейко Наталья Павловна ; Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В. И. Шумакова. – Москва, 2020. – 171 с. – Библиогр.: с. – Текст : непосредственный.

40. Муратов, Р. М. Дополнительная противоишемическая защита миокарда при фармакохолодовой кардиopleгии : специальность 14.01.20 «Анестезиология и реаниматология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Муратов Р. М. – Москва, 1989. – 28 с. : ил. – Библиогр.: с. – Текст : непосредственный.

41. Опыт кардиopleгии при операциях с искусственным кровообращением / В. И. Бураковский, В. А. Бухарин, Г. Г. Гельштейн [и др.] // Грудная хирургия. – 1963. – № 2. – С. 26–34.

42. Опыт трансплантации сердца с длительной холодовой ишемией трансплантата / А. М. Чернявский, А. В. Фомичев, Д. В. Доронин, С. А. Альсов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21, № 5. – С. 35.

43. Оценка изменений белков миокарда при острой ишемии по данным иммуногистохимического исследования / С. В. Савченко, В. П. Новоселов, Р. В. Скребов [и др.] // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2019. – № 3. – С. 95–104.

44. Оценка развития острых очаговых повреждений миокарда и экспрессии десмина в кардиомиоцитах при острой ишемии в эксперименте / С. В. Савченко, В. П. Новоселов, А. С. Гребенщикова [и др.] // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2018. – № 1. – С. 11–20.

45. Патоморфологические признаки повреждения миокарда при отторжении трансплантированного сердца / А. А. Веревкин, А. А. Славинский, Е. Д. Космачева, Т. В. Ставенчук // Кубанский научный медицинский вестник. – 2017. – № 6. – С. 17–21.

46. Периоперационный период при трансплантации с экстремально длительным (более 6 часов) сроком ишемии донорского сердца / В. Н. Попцов, В. М. Захаревич, Е. А. Спирина [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2022. – № 24 (3). – С. 64–73.

47. Писаренко, О. И. Защитное действие глутаминовой кислоты на функцию и метаболизм сердца при кардиоплегии и реперфузии / О. И. Писаренко, Е. С. Соломатина, И. М. Студнева // Грудная хирургия. – 1982. – № 5. – С. 10–16.

48. Полетаев, И. В. Интраоперационная защита миокарда кровяной и кристаллоидной кардиоплегией при хирургическом лечении приобретенных пороков сердца : специальность 14.01.20 «Анестезиология и реаниматология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Полетаев Игорь Владимирович ; Ульяновский государственный университет. – Саратов, 2011. – 130 с. – Библиогр.: с. – Текст : непосредственный.

49. Положий, Д. Н. Сравнительная оценка эффективности защиты миокарда с применением раствора Бретшнайдера и кровяной кардиоплегии при

хирургической коррекции клапанной патологии и ИБС : специальность 14.00.44 «Сердечно-сосудистая хирургия» / Положий Дмитрий Николаевич ; Научный центр сердечно-сосудистой хирургии РАМН. – Москва, 2003. – 140 с. – Библиогр.: с. – Текст : непосредственный.

50. Пришляк, А. М. Информационный анализ особенностей структурной перестройки желудочков сердца при воздействии хлорида кадмия / А. М. Пришляк, М. С. Гнатюк, И. О. Стахурская // Таврический медикобиологический вестник. – 2013. – Т. 16, № 1-1. – С. 202–205.

51. Ранняя диагностика критических постперфузионных расстройств кровообращения / Л. А. Кричевский, В. Ю. Рыбаков, О. Г. Гусева [и др.] // Общая реаниматология. – 2012. – Том 8. – № 3. – С. 25–30.

52. Распределение десмина в миокарде при острой ишемии в эксперименте / С. В. Савченко, В. П. Новоселов, Р. В. Скребов [и др.] // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2016. – № 4. – С. 14.

53. Редкобородый, А. В. Правосторонний доступ при повторной имплантации протезов в позицию атриовентрикулярных клапанов специальность 14.00.41 «Трансплантология и искусственные органы» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Редкобородый Андрей Вадимович. – Москва, 2004. – 104 с. – Библиогр.: с. – Текст : непосредственный.

54. Резник, О. Н. Сохранение и перфузионная реабилитация донорских органов: достижения последнего десятилетия / О. Н. Резник, А. Е. Скворцов, Я. Г. Мойсюк // Альманах клинической медицины. – 2020. – Т. 48, № 3. – С. 193–206.

55. Результаты исследования эффективности прямой коронарной персифляции как метода кондиционирования донорского сердца / М. О. Жульков, Д. А. Сирота, И. С. Зыков [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2022. – Т. 24, № 3. – С. 111–120.

56. Ретроградная кровяная коронарная перфузия сердца в клапанной хирургии: новый подход к защите миокарда / В. В. Пичугин, М. В. Бодашков, А. Б. Гамзаев [и др.] // Сборник статей X Межрегионального кардиологического форума. – Нижний Новгород, 2006. – С. 65–67.

57. Роль методики speckle-tracking echocardiography на стадии субклинического отторжения сердечного трансплантата / Т. В. Ставенчук, Е. Д. Космачева, А. А. Славинский [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Т. 17, № 4. – С. 24–32.

58. Романовский, Д. Ю. Патофизиологическая оценка методов защиты миокарда при операциях коронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения : специальность 14.00.44 «Сердечно-сосудистая хирургия», 14.00.16 «Патологическая физиология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Романовский Дмитрий Юрьевич ; Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова. – СПб., 2004. – 180 с. – Библиогр.: с. – Текст : непосредственный.

59. Современное состояние проблемы и результаты ex vivo перфузии донорских сердец / М. О. Жульков, А. В. Фомичев, С. А. Альсов [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 21, № 4. – С. 143–146.

60. Среднесрочные и отдаленные результаты трансплантации сердца с длительной холодовой ишемией / А. В. Фомичев, В. Н. Попцов, Д. А. Сирота [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2023. – № 25 (1). – С. 99–105.

61. Твердохлеб, И. В. Гетерогенность миокарда и ее развитие в нормальном кардиомиогенезе / И. В. Твердохлеб. – Днепропетровск : Пороги, 1996. – 224 с. – ISBN 966-525-055-8.

62. Тенчурина Э. А. Организационные и медико-эпидемиологические предпосылки пересмотра донорских критериев при трансплантации сердца / Э. А. Тенчурина, М. Г. Минина // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22, № 3. – С. 43–52.

63. Тенчурина, Э. А. Современные представления о критериях селекции доноров сердца / Э. А. Тенчурина, М. Г. Минина // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – № 22 (3). – С. 174–181.

64. Ткаченко Б. И., Нормальная физиология человека: учебник / Б. И. Ткаченко. – 2-е изд., испр. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 688 с. –

ISBN 978-5-9704-2861-0.

65. Трансплантация сердца: опыт десятилетий и перспективы развития / С. В. Готье, А. О. Шевченко, В. Н. Попцов [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2023. – Т. 25, № 5. – С. 25–26.

66. Фиброз миокарда: современные аспекты проблемы / В. Н. Каретникова, В. В. Кашталап, С. Н. Косарева, О. Л. Барбараш // Терапевтический архив. – 2017. – №. 89 (1). – С. 88–93.

67. Фролова, Э. Б. Современное представление о хронической сердечной недостаточности / Э. Б. Фролова, М. Ф. Яушев // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т. 6, № 2. – С. 87–92.

68. Функциональная геометрия левого желудочка у пациентов после ортотопической трансплантации сердца в раннем послеоперационном периоде / Т. В. Чумарная, Ю. С. Алуева, В. В. Кочмашева [и др.] // Трансплантология. – 2016. – № 2. – С. 9–15.

69. Функциональное состояние миокарда в период реперфузии в зависимости от уровня гипотермической защиты сердца / Г. А. Бояринов, И. В. Мухина, М. В. Баландина [и др.] // Кровообращение. – 1989. – № 2. – С. 38–41.

70. Хенсли, Ф. А. - мл. Практическая кардиоанестезиология / Ф. А. Хенсли - мл., Д. Е. Мартин, Г. П. Грэвли [и др.] ; : пер. с англ. – М. : МИА, 2017. – 1104 с.

71. Храмых, Т. П. Повреждение и защита донорского сердца: современное состояние проблемы и перспективы ее решения / Т. П. Храмых, А. С. Ипатова // Научный вестник Омского государственного медицинского университета. – 2021. – Т. 1, № 4 (4). – С. 19–34.

72. Хэм, А. Гистология В 5 т. / А. Хэм : пер. с англ. ; под ред. Ю. И. Афанасьева, Ю. С. Ченцова. – Москва : Мир, 1982, 1983.

73. Целлариус, Ю. Г. Применение поляризационной микроскопии для гистологической диагностики ранних стадий ишемических и метаболических повреждений миокарда / Ю. Г. Целлариус, Л. А. Семенова // Cor et vasa. – 1977. – Vol. 19. – № 1. – P. 28–33.

74. Цукерман, Г. И. Калиевая кардиоплегия как метод защиты миокарда при коррекции приобретенных пороков сердца и длительных сроках выключения сердца из кровообращения / Г. И. Цукерман, А. И. Малашенков, Д. О. Фаминский // Анестезиология и реаниматология. – 1985. – № 4. – С. 7–9.

75. Ченцов, Ю. С. Хондриом – совокупность митохондрий клетки / Ю. С. Ченцов // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – № 12. – С. 10–16.

76. Чумаченко, П. В. Иммуноморфологическая диагностика ранних некрозов миокарда с помощью моноклональных антител / П. В. Чумаченко, А. М. Вихерт // Архив патологии. – 1991. – Т. 53, № 3. – С. 16–19.

77. Шахов, В. П. Стволовые клетки и кардиомиогенез в норме и патологии / В. П. Шахов, С. В. Попов. – Томск : СТТ, 2004. – 170 с. – ISBN 5-93629-171-5.

78. Шевченко, Ю. Л. Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника / Ю. Л. Шевченко. – СПб. : ООО «ЭЛБИ-СПб», 2000. – 384 с.

79. Экспрессия молекул клеточной адгезии и рецепторов комплемента в диагностике отторжения трансплантированного сердца / А. А. Веревкин, А. А. Славинский, Е. Д. Космачева, Т. В. Ставенчук // Кубанский научный медицинский вестник. – 2018. – Т. 25, № 2. – С. 58–62.

80. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure / Theresa A McDonagh, M. Metra, M. Adamo [et al.] // European Heart Journal. – 2021. – Vol. 42 (36). – P. 3599–3726.

81. 2021 Update to the 2017 ACC Expert Consensus Decision Pathway for Optimization of Heart Failure Treatment: Answers to 10 Pivotal Issues About Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: A Report of the American College of Cardiology Solution Set Oversight Committee / T. M. Maddox, J. L. Januzzi, L. A. Allen [et al.] // J Am Coll Cardiol. – 2021. – Vol. 77 (6). – P. 772–810.

82. 2022 AHA/ACC/HFSA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines / P. A. Heidenreich, B. Bozkurt, D. Aguilar [et al.] // Circulation. – 2022. – Vol. 145. – P. e895–e1032.

83. A comparative study of Celsior and University of Wisconsin solutions

based on 12-hr preservation followed by transplantation in canine models / J. Mohara, Y. Morishita, T. Takahashi [et al.] // *J. Heart Lung Transplant.* – 1999. – Vol. 18, № 12. – P. 1202–1210.

84. A comparative study of the most widely used solutions for cardiac graft preservation during hypothermia / P. Michel, R. Vial, C. Rodriguez [et al.] // *J. Heart Lung Transplant.* – 2002. – Vol. 21, № 9. – P. 1030–1039.

85. A computational study of the role of mitochondrial organization on cardiac bioenergetics / S. Gosh, E. J. Crampin, E. Hanssen, V. Rajagopal. – DOI: 10.1109/EMBC.2017.8037413. – Text: electronic // *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* – 2017. – P. 2696–2699. – URL: <https://ieeexplore.ieee.org/document/8037413> (date of access: 06.10.2020).

86. A novel bisindolylmaleimide derivative enhances functional recovery of heart after long-term hypothermic heart preservation / R. G. Katare, Z. Zhitian, M. Sodeoka, S. Sasaguri // *Transplantation.* – 2007. – Vol. 83, № 12. – P. 1588–1594.

87. A novel method of preserving cardiac grafts using a hydrogen-rich water bath / K. Noda, N. Shigemura, Y. Tanaka [et al.] // *J. Heart Lung Transplant.* – 2013. – Vol. 32, № 2. – P. 241–250.

88. A recombinant human neuregulin-1 peptide improves preservation of the rodent heart after prolonged hypothermic storage / A. Jabbour, L. Gao, J. Kwan [et al.] // *Transplantation.* – 2011. – Vol. 91, № 9. – P. 961–967.

89. A single nucleotide polymorphism of macrophage migration inhibitory factor is related to inflammatory response in coronary bypass surgery using cardiopulmonary bypass / L. E. Lehmann, S. Schroeder, W. Hartmann [et al.] // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* – 2006. – Vol. 30, № 1. – P. 59–63.

90. A systematic approach to chronic heart failure care: a consensus statement / K. Page, T. H. Marwick, R. Lee [et al.] // *Med J Aust.* – 2014. – Vol. 201. – № 3. – P. 146150.

91. Abouna, G. M. Organ shortage crisis: problems and possible solutions / G. M. Abouna // *Transplant Proc.* – 2008. – Vol. 40 (1). – P. 34–38.

92. Acute rejection after heart transplantation: noninvasive echocardiographic

evaluation / G. R. Ciliberto, M. Mascarello, E. Gronda [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 1994. – Vol. 23 (5). – P. 1156–1161.

93. Advanced heart failure: a position statement of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology / M. G. Crespo-Leiro, M. Metra, L. H. Lund [et al.] // *Eur J Heart Fail.* – 2018. – Vol. 20. – P 1505–1535.

94. Advantages of normothermic perfusion over cold storage in liver preservation / C. J. Imber, S. D. St Peter, I. Lopez de Cenarruzabeitia [et al.] // *Transplantation.* – 2002. – Vol. 73 (5). – P. 701–709.

95. Association of extracellular heat shock protein 70 and insulin resistance in type 2 diabetes; independent of obesity and C-reactive protein / P. Khaloo, H. Alemi, S. Rabizadeh [et al.] // *Cell Stress Chaperones.* – 2019. – 24 (1). – P. 69–75.

96. Attenuation by heat stress of a submaximal calcium paradox in the rabbit heart / M. S. Marber, J. M. Walker, D. S. Latchman, D. M. Yellon // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1993. – Vol. 25, № 9. – P. 1119–1126.

97. Avagimyan, A. A. Cardiotoxicity of cyclophosphamide: Current state of the problem / A. A. Avagimyan, L. V. Kaktursky // *Exp.Clin. Med.* – 2022. – Vol. 3. – P. 1–5.

98. Banerjee I., Yekkala K., Borg T. K., Baudino T. A., Dynamic interactions between myocytes, fibroblasts, and extracellular matrix / I. Banerjee, K. Yekkala, T. K. Borg, T. A. Baudino // *Annals of the New York Academy of Sciences.* – 2006. – Vol. 1080. – P. 76–84.

99. Barnard, C. N. Comments on the first human-to-human heart transplant. 1993 / C. N. Barnard // *Cardiovasc J S Afr.* – 2001. – Vol. 12, № 4. – P. 192–194.

100. Baum, J. Fibroblasts and myofibroblasts: what are we talking about? / J. Baum, H. S. Duffy // *Journal of Cardiovascular Pharmacology.* – 2011. – Vol. 57, № 4. – P. 376–379.

101. Book, W. M. Fulminant mixed humoral and cellular rejection in cardiac transplant recipient: a review of the histologic findings and literature / W. M. Book, L. Kelley, M. B. Gravanis // *J. Heart. Lung. Transplant.* – 2003. – Vol. 22. – № 5. – P. 604–607.

102. Bretschneider, H. J. Überlebenszeit und wiederbelebungszeit dez herzens

bei normo- und hyperthermie / H. J. Bretschneider // Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch. – 1964. – Vol. 30. – P. 11–34.

103. Bryner, B. S. Heart transplant advances: Ex vivo organ-preservation systems / B. S. Bryner, J. N. Schroder, C. A. Milano // JTCVS Open. – 2021. – Vol. 8. – P. 123–127.

104. Buchwalow, I. Immunohistochemistry. Basics and methods / I. Buchwalow, W. Bocker. – Heidelberg: Springer, 2010. – 150 p.

105. Buckberg, G. D. Invited letter concerning: phases of myocardial protection during transplantation / G. D. Buckberg // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1990. – Vol. 100. – № 3. – P. 461–463.

106. Cao, Y. P. Mitochondrial dynamics and inter-mitochondrial communication in the heart / Y. P. Cao, M. Zheng. – DOI: 10.1016/j.abb.2019.01.017. – Text : electronic // Arch. Biochem. Biophys. – 2019. – Vol. 663. – P. 214–219. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30664839/> (date of access : 09.10.2020).

107. Cardiac preservation in patients undergoing transplantation. A clinical trial comparing University of Wisconsin solution and Stanford solution / D. G. Stein, D. C. Jr. Drinkwater, H. Laks [et al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1991. – Vol. 102, № 5. – P. 657–665.

108. Cathepsin S-mediated fibroblast trans-differentiation contributes to left ventricular remodelling after myocardial infarction / H. Chen, J. Wang, M.-X. Xiang [et al.] // Cardiovascular Research. – 2013. – Vol. 100, № 1. – P. 84–94.

109. Chambers, D. J. Developments in cardioprotection: «polarized» arrest as an alternative to «depolarized» arrest / D. J. Chambers, D. J. Hearse // Ann. Thorac. Surg. – 1999. – Vol. 68, № 5. – P. 1960–1966.

110. Christen, S. Oxidative stress precedes peak systemic inflammatory response in pediatric patients undergoing cardiopulmonary bypass operation / S. Christen, B. Finckh, J. Lykkesfeldt [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2005. – Vol. 38, № 10. – P. 1323–1332.

111. Combined St. Thomas and histidine-tryptophan-ketoglutarat solutions for myocardial preservation in heart transplantation patients / K. C. Lee, C. Y. Chang,

Y. C. Chuang [et al.] // *Transplant. Proc.* – 2012. – Vol. 44, № 4. – P. 886–889.

112. Coronary oxygen persufflation combined with HTK cardioplegia prolongs the preservation time in heart transplantation / F. Kuhn-Régnier, J. H. Fischer, S. Jeschkeit [et al.] // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* – 2000. – Vol. 17, № 1. – P. 71–76.

113. Currie, M. E. Successful outcome following orthotopic heart transplantation with a donor half way across the country / M. E. Currie, Y. Shudo, Y. J. Woo // *Transplantation Proceedings.* – 2018. – Vol. 50 (10). – P. 4062–4063.

114. Custodiol versus blood cardioplegia in complex cardiac operations: an Australian experience / F. F. Viana, W. Y. Shi, P. A. Hayward [et al.] // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery.* – 2013. – № 43. – P. 526–532.

115. Decrease in donor heart injury by recombinant clusterin protein in cold preservation with University of Wisconsin solution / Q. Guan, S. Li, G. Yip [et al.] // *Surgery.* – 2012. – Vol. 151, № 3. – P. 364–371.

116. Detection of humoral rejection in human cardiac allografts by assessing the capillary deposition of complement fragment C4d in endomyocardial biopsies / T. M. Behr, H. E. Feucht, K. Richter [et al.] // *J Heart Lung Transplant.* – 1999. – Vol. 18, № 9. – P. 904–912.

117. Distinct functional roles of cardiac mitochondrial subpopulations revealed by a 3D simulation model / A. Hatano, J. Okada, T. Washio [et al.]. – DOI: 10.1016/j.bpj.2015.04.031. – Text : electronic // *Biophys. J.* – 2015. – Vol. 108, № 11. – P. 2732–2739. – URL: [https://www.cell.com/biophysj/fulltext/S0006-3495\(15\)00449-X](https://www.cell.com/biophysj/fulltext/S0006-3495(15)00449-X) (date of access: 23.12.2019).

118. Does the cardioplegic solution have an effect on early outcomes following heart transplantation? / A. Cannata, L. Botta, T. Colombo [et al.] // *Eur. J. Cardiothor. Surg.* – 2012. – Vol. 41, № 4. – P. e48–e53.

119. Donor Heart Preservation with Hydrogen Sulfide: A Systematic Review and Meta-Analysis / I. A. Ertugrul, V. van Suylen, K. Damman [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2021. – Vol. 22, № 11. – P. 5737.

120. Dynamic Model for Characterizing Contractile Behaviors and Mechanical Properties of a Cardiomyocyte / C. Zhang, W. Wang, W. He [et al.]. – DOI:

10.1016/j.bpj.2017.11.002. – Text : electronic // *Biophys. J.* – 2018. – Vol. 114, № 1. – P. 188–200. – URL: [https://www.cell.com/biophysj/fulltext/S0006-3495\(17\)31209-2](https://www.cell.com/biophysj/fulltext/S0006-3495(17)31209-2) (date of access: 10.10.2020).

121. Effects of older donor age and cold ischemic time on long-term outcomes of heart transplantation / H. J. Reich, J. A. Kobashigawa, T. Aintablian [et al.] // *Texas Heart Institute Journal.* – 2018. – Vol. 45 (1). – P. 17–22.

122. Electron microscopy reveals evidence of perinuclear clustering of mitochondria in cardiac biopsy-proven allograft rejection / E. Tarazón, L. Pérez-Carrillo, M. Portolés, E. Roselló-Lletí // *J Pers Med.* – 2022. – № 12 (2). – P. 296.

123. El-Morsy, G. Z. Does type of cardioplegia affect myocardial and cerebral outcome in pediatric open cardiac surgeries? / G. Z. El-Morsy, H. M. Abdullah, H. M. Abo-Haded // *Ain-Shams J. Anesthesiology.* – 2014. – Vol. 7. – P. 242–249.

124. Enhanced preservation of the rat heart after prolonged hypothermic ischemia with erythropoietin-supplemented Celsior solution / A. J. Watson, L. Gao, L. Sun [et al.] // *J. Heart Lung Transplant.* – 2013. – Vol. 32, № 6. – P. 633–640.

125. Enhanced tolerance of the rat myocardium to ischemia and reperfusion injury early after acute myocardial infarction / C. Pantos, I. Mourouzis, A. Dimopoulos [et al.] // *Basic. Res. Cardiol.* – 2007 – Vol. 102. – № 4. – P. 327–333.

126. Experimental renal preservation by normothermic resuscitation perfusion with autologous blood / A. Bagul, S. A. Hosgood, M. Kaushik [et al.] // *Br J Surg.* – 2008. – Vol. 95 (1). – P. 111–118.

127. Fischer, J. H. Maintenance of physiological coronary endothelial function after 3.3 h of hypothermic oxygen persufflation preservation and orthotopic transplantation of non-heart-beating donor hearts / J. H. Fischer // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* – 2004. – Vol. 25, № 1. – P. 98–104.

128. Fridell, J. A. Clinical experience with histidine-tryptophan-ketoglutarate solution in abdominal organ preservation: a review of recent literature / J. A. Fridell, R. S. Mangus, A. J. Tector // *Clin. Transplant.* – 2009. – Vol. 23, № 3. – P. 305–312.

129. Fu, J. D. Direct reprogramming of fibroblasts into cardiomyocytes for cardiac regenerative medicine / J. D. Fu, D. Srivastava. – 2015. – Vol. 79 (2). – P. 245–254.

130. Gao, L. Improved preservation of the rat heart with celsior solution supplemented with cariporide plus glyceryl trinitrate / L. Gao, M. Hicks, P. S. MacDonald // *Am. J. Transplant.* – 2005. – Vol. 5, № 8. – P. 1820–1826.

131. Goudswaard, L. J. Do the chemokines MDC and TARC contribute to obesityrelated platelet hyperactivity and cardiovascular disease? / L. J. Goudswaard. – University of Bristol, 2019. – P. 133.

132. Hammond, E. H. Utility of Histologic Parameters in Screening for Antibody-Mediated Rejection of Cardiac Allograft: A Study of 3170 Biopsies / E. H. Hammond, J. Stehlik, G. Snow // *J. Heart Lung Transplant.* – 2005. – № 24. – P. 2015–2021.

133. Heart allograft preservation / M. Erasmus, A. Neyrink, M. Sabatino, L. Potena // *Current Opinion in Cardiology.* – 2017. – Vol. 32 (3). – P. 292–300.

134. Heart transplant and donors after circulatory death: A clinical-preclinical systematic review / L. Di Chiacchio, M. L. Goodwin, H. Kagawa [et al.] // *The Journal of surgical research.* – 2023. – Vol. 292. – P. 222–233.

135. Histidinetryptophan-ketoglutarate or celsior: which is more suitable for cold preservation for cardiac grafts from older donors? / S. Lee, C. S. Huang, T. Kawamura [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 2011. – Vol. 91, № 3. – P. 755–763.

136. Hoenicke, E. M. Donor heart preservation with a novel hyperpolarizing solution: superior protection compared with University of Wisconsin solution / E. M. Hoenicke // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2000. – Vol. 120, № 4. – P. 746–754.

137. Holscher, B. Studies by electron microscope on various forms of induced cardiac arrest in dog and rabbit / B. Holscher, O. H. Just, A. J. Mercker // *Surgery.* – 1961. – № 49. – P. 492–499.

138. Hosseini, H. S. A new hypothesis for foregut and heart tube formation based on differential growth and actomyosin contraction / H. S. Hosseini, K. E. Garcia, L. A. Taber. – DOI: 10.1242/dev.145193. – Text : electronic // *Development.* – 2017. – Vol. 144, № 13. – P. 2381–2391. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28526751/> (date of access: 11.02.2021).

139. How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: the HFA-

PEFF diagnostic algorithm: a consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC) / B. Pieske, C. Tschope, R. A. de Boer [et al.] // *Eur Heart J.* – 2019. – Vol. 40. – P. 3297–3317.

140. Hyperkalemic cardioplegia for adult and pediatric surgery: end of an era? / G. P. Dobson, G. Faggian, F. Onorati, J. Vinten-Johansen // *Front. Physiol.* – 2013. – Vol. 4. – № 4. – P. 228–256.

141. Immunohistochemical study of collagen types I and II and procollagen IIA in human cartilage repair tissue following autologous chondrocyte implantation / S. Roberts, J. Menage, L. J. Sandell [et al.] // *The Knee.* – 2009. – Vol. 16, № 5. – P. 398–404.

142. Incidence of acute cellular rejection and non-cellular rejection in cardiac transplantation / S. Subherwal, J. A. Kobashigawa, G. Cogert [et al.] // *Transplant. Proc.* – 2004. – Vol. 36 (10). – P. 3171–3172.

143. Kajihara, N. The UW solution has greater potential for longer preservation periods than the Celsior solution: comparative study for ventricular and coronary endothelial function after 24-h heart preservation / N. Kajihara // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* – 2006. – Vol. 29, № 5. – P. 784–789.

144. Kfoury, A. G. Controversies in defining cardiac antibody-mediated rejection: need for updated criteria / A. G. Kfoury, M. E. Hammond // *J. Heart Lung Transplant.* – 2010. – Vol. 29 (4). – P. 389–394.

145. Kirsch, U. Induced ischemic arrest. Clinical experience with cardioplegia in open-heart surgery / U. Kirsch, F. Rodenwald, P. Kalmar // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 1972. – Vol. 63, № 1. – P. 121–130.

146. Koeppen, B. M. *Berne & Levy Physiology* / B. M. Koeppen, B. A. Stanton. – 6 th edition. – Philadelphia : Mosby Elsevier, 2008. – P. 293–834. – ISBN 9780323045827.

147. Kuhn-Régnier F, Bloch W, Tsimpoulis I, Reismann M, Dagktekin O, Jeschkeit-Schubbert S et al. Coronary oxygen persufflation for heart preservation in pigs: analyses of endothelium and myocytes / T. R. Koves, R. C. Noland, A. L. Bates [et al.] // *Transplantation.* – 2004. – Vol. 77 (1). – P. 28–35.

148. Long conservation organs in heart transplantation: postoperative results and long-term follow-up in fourteen patients / J. F. Obadia, C. Girard, R. Ferrara [et al.] // *J. Heart. Lung. Transplant.* – 1997. – Vol. 16 (2). – H. 256–259.

149. Long term outcomes and management of the heart transplant recipients / S. L. McCarthy, C. Patel, J. Del Rio [et al.] // *Best Pract Research Clin Anesthesiol.* – 2017. – Vol. 31 (2). – P. 237–248.

150. Low ejection fraction in donor hearts is not directly associated with increased recipient mortality / C. W. Chen, M. H. Sprys, A. N. Gaffey [et al.] // *J Heart Lung Transplant.* – 2017. – Vol. 36. – P. 611–615.

151. Lowalekar, S. K. Further evaluation of Somah: long-term preservation, temperature effect, and prevention of ischemia-reperfusion injury in rat hearts harvested after cardiocirculatory death / S. K. Lowalekar, X. G. Lu, H. S. Thatte // *Transplant. Proc.* – 2013. – Vol. 45. – P. 3192–3197.

152. Luther, P. K. The vertebrate muscle Z-disc: sarcomere anchor for structure and signalling / P. K. Luther. – DOI: 10.1007/s10974-009-9189-6. – Text : electronic // *J. Muscle Res. Cell Motil.* – 2011. – Vol. 31, № 5-6. – P. 383. – URL: https://link.springer.com/article/10.1007_%2Fs10974-009-9189-6 (date of access: 18.02.2021).

153. Mechanoregulation of cardiac myofibroblast differentiation: implications for cardiac fibrosis and therapy / K. W. Yong, Y. Li, G. Huang [et al.] // *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology.* – 2015. – Vol. 309, № 4. – P. H532–542.

154. Mehra, M. R. Advances in Heart and Lung Transplantation 2004: Report from the 24th International Society for Heart and Lung Transplantation Annual Meeting, San Francisco, April 21–24, 2004 / M. R. Mehra, J. A. Kobashigawa // *J. Heart Lung Transplant.* – 2004. – Vol. 23, № 8. – P. 925–930.

155. Messer, S. Normothermic donor heart perfusion: current clinical experience and the future / S. Messer, A. Ardehali, S. Tsui // *Transpl Int.* – 2015. – Vol. 28 (6). – P. 634–642.

156. Miner, E. A look between the cardiomyocytes: the extracellular matrix in

heart failure / E. Miner, W. Miller. – 2006. – Vol. 125, № 1. – P. 117–146.

157. Mitochondrial trans-plantation prolongs cold ischemia time in murine heart transplantation / K. Moskowitsova, B. Shin, K. Liu [et al.] // *J Heart Lung Transplant.* – 2019. – Vol. 38 (1). – P. 92–99.

158. Mitochondrial-Shaping Proteins in Cardiac Health and Disease – the Long and the Short of It! / S. B. Ong, S. B. Kalkhoran, S. Hernández-Reséndiz [et al.] // *Cardiovascular Drugs and Therapy.* – 2017. – Vol. 31 (1). – P. 87–107.

159. Mitochondrion-targeted car-boxymethyl chitosan hybrid nanoparticles loaded with Coenzyme Q10 protect cardiac grafts against cold ischaemia–reperfusion injury in heart transplantation / S. Yuan, Y. Che, Z. Wang [et al.] // *J Transl Med.* – 2023. – Vol. 21 (1). – P. 925.

160. Morgan, J. A. Prolonged donor ischemic time does not adversely affect long-term survival in adult patients undergoing cardiac transplantation / J. A. Morgan, R. John, A. D. Weinberg // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2003. – Vol. 126 (5). – P. 1624–1633.

161. Mouton, A. J. Myocardial infarction remodeling that progresses to heart failure: a signaling misunderstanding / A. J. Mouton, O. J. Rivera, M. L. Lindsey // *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology.* – 2018. – Vol. 315, № 1. – P. H71–H79.

162. Mühlbacher, F. Preservation solutions for transplantation / F. Mühlbacher, F. Langer, C. Mittermayer // *Transplant. Proc.* – 1999. – Vol. 31, № 5. – P. 2069–2070.

163. Myocardial resistance and tolerance to ischemia: physiological and biochemical basis / H. J. Bretschneider, G. Hübner, D. Knoll [et al.] // *J. Cardiovasc. Surg. (Torino).* – 1975. – Vol. 16, № 3. – P. 241–260.

164. Nepomnyashchikh, L. M. Regenerative and plastic insufficiency of cardiomyocytes during impairment of protein synthesis / L. M. Nepomnyashchikh // *Bull Exp Biol Med.* – 2001. – Vol. 131 (1). – P. 6–14.

165. New Dimensions of Antigen Retrieval Technique: 28 Years of Development, Practice, and Expansion / S. R. Shi, Y. Shi, C. R. Taylor, J. Gu. – DOI: 10.1097/PAI.0000000000000778. – Text : electronic // *Appl. Immunohistochem. Mol.*

Morphol. – 2019. – Vol. 27, № 10. – P. 715–721. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31107695/> (date of access: 05.03.2021).

166. Novel small interfering RNA-containing solution protecting donor organs in heart transplantation / X. Zheng, D. Lian, A. Wong [et al.] // *Circulation*. 2009. – Vol. 120, № 12. – P. 1099–1107.

167. Ojima, K. Myosin: Formation and maintenance of thick filaments / K. Ojima. – DOI: 10.1111/asj.13226. – Text : electronic // *Anim. Sc J.* – 2019. – Vol. 90, № 7. – P. 801–807. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31134719/> (date of access: 06.03.2021).

168. Ong, S. B. Mitochondrial Dynamics as a Therapeutic Target for Treating Cardiac Diseases / S. B. Ong, D. J. Hausenloy. – DOI: 10.1007/164_2016_7. – Text : electronic // *Handb. Exp. Pharmacol.* – 2017 – Vol. 240. – P. 251–279. – URL: [https://link.springer.com/chapter/10.1007 %2F164_2016_7](https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F164_2016_7) (date of access: 04.03.2021).

169. Organ preservation solutions in heart transplantation-patterns of usage and related survival / T. L. Demmy, J. S. Biddle, L. E. Bennett [et al.] // *Transplantation*. – 1997. – Vol. 63, № 2. – P. 262–269.

170. Organ storage with University of Wisconsin solution is associated with improved outcomes after orthotopic heart transplantation / T. J. George, G. J. Arnaoutakis, W. A. Baumgartner [et al.] // *J. Heart Lung Transplant.* – 2011. – Vol. 30, № 9. – P. 1033–1043.

171. Outcome of hearts with cold ischemic time greater than 300 minutes. A case-matched study / F. A. Mitropoulos, J. Odum, D. Marelli [et al.] // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. – 2005. – Vol. 28 (1). – P. 143–148.

172. Overseas procurement of donor hearts: ischemic time effect on postoperative outcomes / J. Fernandez, J. Aranda, S. Mabbot [et al.] // *Transplantation Proceedings*. – 2001. – Vol. 33 (7-8). – P. 3803–3804.

173. Overview of the Muscle Cytoskeleton / C. A. Henderson, C. G. Gomez, S. M. Novak [et al.]. – DOI: 10.1002/cphy.c160033. – Text : electronic // *Compr. Physiol.* – 2017. – Vol. 7, № 3. – P. 891–944. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/DOI/10.1002/cphy.c160033> (date of access: 18.01.2021).

174. Pantin-Jackwood, M. J. Immunohistochemical Staining of Influenza Virus in Tissues / M. J. Pantin-Jackwood. – DOI: 10.1007/978-1-0716-0346-8_3.– 151. – Text : electronic // Methods Mol. Biol. – 2020. – Vol. 1161. – P. 51–58. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24899419/> (date of access: 27.02.2021).

175. Pauschinger, K. Schultheiss / K. Pauschinger, H.-P. Chandrasekharan // Heart Failure Reviews. – 2004. – Vol. 9, № 1. – P. 21–31.

176. Persufflation (gaseous oxygen perfusion) as a method of heart preservation / T. M. Suszynski, M. D. Rizzari, W. E. Scott [et al.] // J. Cardiothorac. Surg. – 2013. – Vol. 8. – P. 105.

177. Picard, M. Mitochondrial functional specialization in glycolytic and oxidative muscle fibers: tailoring the organelle for optimal function / M. Picard, R. T. Hepple, Y. Burelle. – DOI: 10.1152/ajpcell.00368.2011. – Text : electronic // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 2012. – Vol. 302, № 4. – P. 629–641. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22031602/> (date of access: 03.02.2021).

178. Predictors of adverse events after surgical ventricular restoration for advanced ischaemic cardiomyopathy / M. Pocar, A. Di Mauro, D. Passolunghi [et al.] // European Journal of Cardio-Thoracic Surgery: Official Journal of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery. – 2010. – Vol. 37, № 5. – P. 1093–1100.

179. Preserving and evaluating hearts with ex vivo machine perfusion: an avenue to improve early graft performance and expand the donor pool / M. J. Collins, S. L. Moainie, B. P. Griffith, R. S. Poston // Eur J Cardiothorac Surg. – 2008. – Vol. 34 (2). – P. 318–325.

180. Prior human leukocyte antigen-allosensitization and left ventricular assist device type affect degree of post-implantation human leukocyte antigen-allosensitization / S. G. Drakos, A. G. Kfoury, J. R. Kotter [et al.] // J. Heart Lung Transplant. – 2009. – Vol. 28, № 8. – P. 838–842.

181. Prolongation of myocardial viability by proteasome inhibition during hypothermic organ preservation / T. A. Baker, Q. Geng, J. Romero [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2010. – Vol. 401, № 4. – P. 548–553.

182. Raja, S. G. Modulation of systemic inflammatory response after cardiac

surgery / S. G. Raja, G. D. Dreyfus // *Asian. Cardiovasc. Thorac. Ann.* – 2005. – Vol. 13, № 4. – P. 382–395.

183. Remodeling of Cardiomyocytes: Study of Morphological Cellular Changes Preceding Symptomatic Ischemic Heart Failure / M. Kupryte, V. Lesauskaite, V. Keturakis [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24. – P. 14557.

184. Report from a workshop on multianalyte microsphere assays / M. C. Earley, R. F. Vogt, H. M. Shapiro [et al.] // *Cytometry.* – 2002. – Vol. 50, № 5. – P. 239–242.

185. Resuscitation of non-beating donor hearts using continuous myocardial perfusion: the importance of controlled initial reperfusion / S. Osaki, K. Ishino, Y. Kotani [et al.] // *Ann Thorac Surg.* – 2006. – Vol. 81 (6). – P. 2167–2171.

186. Rudd, D. M. Eight hours of cold static storage with adenosine and lidocaine (Adenocaine) heart preservation solutions: toward therapeutic suspended animation / D. M. Rudd, G. P. Dobson // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2011. – Vol. 142, № 6. – P. 1552–1561.

187. Sayers, Judy R. Heart regeneration: beyond new muscle and vessels / Judy R. Sayers, Paul R. Riley // *Cardiovasc Res.* – 2021. – Vol. 117 (3). – P. 727–742.

188. Serum matrix metalloprotease-1 and vascular endothelial growth factor-a predict cardiac allograft rejection / S. Aharinejad, K. Krenn, A. Zuckermann [et al.] // *Am J Transplant.* – 2009. – Vol. 9, №1. – P. 149–59.

189. Shadrin, I. Y. Striated muscle function, regeneration, and repair / I. Y. Shadrin, A. Khodabukus, N. Bursac. – DOI: 10.1007/s00018-016-2285-z. – Text : electronic // *Cell Mol. Life Sci.* – 2016. – Vol. 37. – P. 4175–4202. – URL: 155 https://link.springer.com/article/10.1007_%2Fs00018-016-2285-z (date of access: 15.03.2021).

190. Stewart, S. Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection / S. Stewart // *J. Heart Lung Transplant.* – 2005. – V. 24, № 11. – P. 1710–1720.

191. Striated muscle cytoarchitecture: an intricate web of form and function / K. A. Clark, A. S. McElhinny, M. C. Beckerle, C. C. Gregorio – DOI:

10.1146/annurev.cellbio.18.012502.105840. – Text: electronic // Rev. Cell Dev. Biol. – 2002. – Vol. 18. – P. 637–706. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12142273/> (date of access : 02.03.2021).

192. Stromer, M. H. The cytoskeleton in skeletal, cardiac and smooth muscle cells / M. H. Stromer. – DOI: 10.14670/HH-13.283. – Text : electronic // Histol. Histopathol. – 1998. – Vol. 13, № 1. – P. 283–291. – URL: https://www.hh.um.es/Abstracts/Vol_13/13_1/13_1_31.htm (date of access: 18.02.2021).

193. Sub-normothermic preservation of donor hearts for transplantation using a novel solution, Somah: a comparative pre-clinical study / S. K. Lowalekar, H. Cao, X. G. Lu [et al.] // J. Heart. Lung. Transplant. – 2014. – Vol. 33 (9). – P. 963–970.

194. Subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria play distinct roles in regulating skeletal muscle fatty acid metabolism / T. R. Koves, R. C. Noland, A. L. Bates [et al.]. – DOI: 10.1152/ajpcell.00391.2004. – Text: electronic // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 2005. – Vol. 288, № 5. – P. 1074–1082. – URL: <https://journals.physiology.org/DOI:/full/10.1152/ajpcell.00391.2004> (date of access: 05.03.2021).

195. Successful long-term outcome with prolonged ischemic time cardiac allografts / E. M. Briganti, P. J. Bergin, F. L. Rosenfeldt [et al.] // J. Heart. Lung. Transplant. – 1995. – Vol. 14 (5). – P. 840–845.

196. Suleiman, M. S. Mitochondria: a target for myocardial protection / M. S. Suleiman, A. P. Halestrap, E. J. Griffiths // Pharmacol. Ther. Jan. – 2001. – Vol. 89, № 1. – P. 29–46.

197. The biology of desmin filaments: how do mutations affect their structure, assembly, and organization? / H. Bar, S. Strelkov, G. Sjöberg [et al.] // Journal of Structural Biology. – 2004. – 148. – P. 137–152.

198. The Effect of Cardiac Preservation Solutions on Heart Transplant Survival / K. T. Carter, S. T. Lirette, D. A. Baran [et al.] // J Surg Res. – 2019. – Vol. 242. – P. 157–165.

199. The effect of ischemic time on survival after heart transplantation varies by

donor age: An analysis of the United Network for Organ Sharing database / M. J. Russo, J. M. Chen, R. A. Sorabella [et al.] // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2007. – Vol. 133 (2). – P. 554–559.

200. The effects of propofol cardioplegia on blood and myocardial biomarkers of stress and injury in patients with isolated coronary artery bypass grafting or aortic valve replacement using cardiopulmonary bypass: protocol for a single-center randomized controlled trial / Z. E. Plummer, S. Baos, C. A. Rogers [et al.] // *JMIR Res. Protoc.* – 2014. – Vol. 3. – P. 1–10.

201. The organization of adherens junctions and desmosomes at the cardiac intercalated disc is independent of gap junctions / D. E. Gutstein, F. Y. Liu, M. B. Meyers [et al.]. – DOI: 10.1242/jcs.00258. – Text : electronic // *J. Cell Sci.* – 2003. – Vol. 116, № 5. – P. 875–885. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12571285/> (date of access: 27.03.2021).

202. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-fourth Adult Lung and Heartlung Transplantation Report–2017; Focus Theme: Allograft ischemictime / D. C. Chambers, R. D. Yusem, W. S. Cherikh [et al.] // *J. Heart Lung Transpl.* – 2017. – Vol 36, № 10. – P. 1047–1059.

203. The role of donor age and ischemic time on survival following orthotopic heart transplantation / D. F. Del Rizzo, A. H. Menkis, P. W. Pflugfelder [et al.] // *J. Heart. Lung. Transplant.* – 1999. – Vol. 18 (4). – P. 310–319.

204. Thiery, J. P. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression / J. P. Thiery // *Nature Reviews Cancer*. – 2002. – Vol. 2 (6). – P. 442–454.

205. Total recovery of heart grafts of non-heart-beating donors after 3 hours of hypothermic coronary oxygen persufflation preservation in an orthotopic pig transplantation model / G. Yotsumoto, S. Jeschkeit-Schubbert, C. Funcke [et al.] // *Transplantation*. – 2003. – Vol. 75, № 6. – P. 750–756.

206. Transit and integration of extracellular mitochondria in human heart cells / D. B. Cowan, R. Yao, J. K. Thedsanamoorthy [et al.] // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7 (1). – P. 17450.

207. Transverse stiffness of myofibrils of skeletal and cardiac muscles studied

by atomic force microscopy / N. Akiyama, Y. Ohnuki, Y. Kunioka [et al.]. – DOI: 10.2170/physiolsci.RP003205. – Text: electronic // Sci. – 2006. – Vol. 56, № 2. – P. 145–151. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16839448/> (date of access: 27.01.2021).

208. Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy / D. S. Herman, L. Lam, Matthew R. G. Taylor [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2012. – Vol. 336 (7). – P. 619–628.

209. Turnover of muscle protein in the fowl. Collagen content and turnover in cardiac and skeletal muscles of the adult fowl and the changes during stretch-induced growth / Millward / G. J. Laurent, M. P. Sparrow, P. C. Bates, D. J. Millward // The Biochemical Journal. – 1978. – Vol. 176, № 2. – P. 419–427.

210. Ultrastructural aspects of vacuolar de-generation of cardiomyocytes in human endomyocardial biopsies / G. Takemura, H. Kanamori, H. Okada [et al.] // Cardiovasc. Pathol. Off. J. Soc. Cardiovasc. Pathol. – 2017. – Vol. 30. – P. 64–71.

211. Ultra-structural criteria of cardiomyocyte regeneratory and plastic insufficiency in an-thracycline cardiomyopathy / E. L. Lushnikova, M. G. Klinnikova, O. P. Molodykh, L. M. Nepomnyashchikh // Bull Exp Biol Med. – 2005. – Vol. 139 (4). – P. 472–476.

212. Unique morphological characteristics of mitochondrial subtypes in the heart: the effect of ischemia and ischemic preconditioning / S. B. Kalkhoran, P. Munro, F. Qiao [et al.]. – DOI: 10.15190/d.2017.1. – Text : electronic // Discoveries (Craiova). – 2017. – Vol. 5, № 1. – P. 71. – URL: <https://www.discoveriesjournals.org/> (date of access: 17.01.2021).

213. Universal definition and classification of heart failure / B. Bozkurt, A. J. Coats, H. Tsutsui [et al.] // J Card Fail. – 2021. – Vol. 1. – P. S1071–9164.

214. Van Roy, F. The Cell-Cell Adhesion Molecule E-Cadherin / F. van Roy, G. Berx // Cellular and Molecular Life Sciences. – 2008. – Vol. 65. – P. 3756–3788.

215. Vinten-Johansen, J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury / J. Vinten-Johansen // Cardiovasc. Res. – 2004. – Vol. 61, № 3. – P. 481–497.

216. Weber, G. F. Integrins and cadherins join forces to form adhesive networks / G. F. Weber, M. A. Bjerke, D. W. DeSimone // Journal of Cell Science. – 2011. – Vol. 124 (8). – P. 1183–1193.

217. Wiedemann, D. Impact of cold ischemia on mitochondrial function in porcine hearts and blood vessels / D. Wiedemann, Th. Schachner, N. Bonaros // International Journal of Molecular Sciences. – 2013. – № 14. – P. 22042–22051.

218. Yellon, D. M. Myocardial Reperfusion Injury / D. M. Yellon, D. J. Hausenloy // New England Journal of Medicine. – 2007. – Vol. 357 (11). – P. 1121–1135.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Дизайн исследования. С. 42
2. Рисунок 2 – Пациенты 1-й группы: холодовая ишемия трансплантата менее 240 минут. Неравномерность оксифильной окраски миокарда левого предсердия (отмечено стрелками). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$ С. 50
3. Рисунок 3 – Пациенты 1-й группы: холодовая ишемия трансплантата менее 240 минут. Ранние ишемические повреждения миокарда левого предсердия. ГОФП окраска. Увеличение $\times 200$ С. 50
4. Рисунок 4 – Пациенты 1-й группы: холодовая ишемия трансплантата менее 240 минут. Контрактуры миофибрилл I–II степени (выделено фигурой). Поляризационная микроскопия. Увеличение $\times 630$ С. 51
5. Рисунок 5 – Пациенты 1-й группы: холодовая ишемия трансплантата менее 240 минут. Равномерное иммуногистохимическое окрашивание актина (А) (отмечено стрелкой) и десмина (Б) (отмечено стрелкой) в кардиомиоцитах. Иммуногистохимическое исследование. Увеличение $\times 400$ С. 52
6. Рисунок 6 – Пациенты 2-й группы: холодовая ишемия трансплантата более 240 минут. Неравномерность оксифильной окраски, цитоплазматический отек КМЦ. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$ С. 53
7. Рисунок 7 – Пациенты 2-й группы: холодовая ишемия трансплантата до 240 минут. Ранние ишемические повреждения миокарда левого предсердия. ГОФП окраска. Увеличение $\times 200$ С. 54
8. Рисунок 8 – Пациенты 2-й группы: холодовая ишемия трансплантата более 240 минут. Очаги миоцитолизиса (обозначено фигурой). Поляризационная микроскопия. Увеличение $\times 630$ С. 55
9. Рисунок 9 – Пациенты 2-й группы: холодовая ишемия

- трансплантата более 240 минут. Неравномерное иммуногистохимическое окрашивание актина (А) (обозначено стрелками) и десмина (Б) (обозначено стрелками) в кардиомиоцитах. Иммуногистохимическое исследование. Увеличение $\times 400$ С. 56
10. Рисунок 10 – Позитивная равномерная экспрессия Е-кадгерина в донорском сердце у пациентов менее 240 минут. Иммуногистохимическое исследование. Докраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 630$ С. 57
11. Рисунок 11 – Позитивная неравномерная экспрессия Е-кадгерина, размытость поперечной исчерченности кардиомиоцитов у пациентов более 240 минут. Иммуногистохимическое исследование. Докраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 630$ С. 58
12. Рисунок 12 – Очаговые контрактурные (гиперхромные) и литические изменения миофибрилл в цитоплазме кардиомиоцитов биопсий левого предсердия донорских сердец в условиях холодовой ишемии менее 240 мин (а, б, в) и более 240 мин (г, д, е). Скопления аутофагосом в перинуклеарной зоне кардиомиоцитов (б, д, стрелки). Полутонкие срезы, окраска азуром II (а, г) и толуидиновым синим (б, в, д, е). Увеличение 630. Бар = 50 мкм. . . . С. 61
13. Рисунок 13 – Отсутствие статистически значимых различий при сравнении паренхиматозно-стромальных отношений в условиях холодовой ишемии донорского сердца менее 240 мин (1-я группа) и более 240 мин (2-я группа) (критерий Манна – Уитни) С. 63
14. Рисунок 14 – Отсутствие статистически значимых различий при сравнении отношения паренхимы с аутофагосомами к паренхиме без аутофагии в условиях холодовой ишемии донорского сердца менее 240 мин (1-я группа) и более 240 мин (2-я группа) (критерий Манна – Уитни) С. 64

15. Рисунок 15 – Ультраструктурная характеристика кардиомиоцитов и эндотелиоцитов в биопсиях левого предсердия донорских сердец в условиях холодовой ишемии менее 240 мин (а, б, в) и более 240 мин (г, д, е). Трансмиссионная электронная микроскопия. а, г – в кардиомиоцитах параллельные пучки миофибрилл и очаги внутриклеточного отека. Увеличение 2 500; б, д – в саркомерах редукция изотропных дисков; истончение, расслоение, очаговая деструкция миофибрилл; лизис наружной мембраны митохондрий. Увеличение 20 000; в, е – внутриклеточный отек и вакуолизация мембранных органелл эндотелиоцитов микроциркуляторного русла; выраженная фестончатость сарколеммы кардиомиоцита. Увеличение 6 000. С. 66
16. Рисунок 16 – Объемно-объемное отношение митохондрий и миофибрилл в кардиомиоцитах 1-й группы статистически значимо превышает показатель 2-й группы. Критерий Манна – Уитни ($p = 0,0196$) С. 67
17. Рисунок 17 – Трасплантация сердца по бикавальной методике. С. 69
18. Рисунок 18 – Анализ выживаемости в группах (Kaplan – Mayer) С. 75
19. Рисунок 19 – Степень G0R. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение $\times 100$ С. 77
20. Рисунок 20 – Степень G1R. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение $\times 100$ С. 78
21. Рисунок 21 – Степень G2R. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение $\times 100$ С. 78
22. Таблица 1 – Объемная плотность, интенсивность экспрессии кардиомиоцитами левого предсердия актина и десмина у пациентов с холодовой ишемией миокарда менее 240 минут (1-я группа) и более 240 минут (2-я группа) С. 59
23. Таблица 2 – Первичные стереологические показатели тканевой и внутриклеточной организации донорского миокарда в условиях

	холодовой ишемии менее 240 мин (1-я группа) и более 240 мин (2-я группа) (критерий Манна – Уитни)	С. 62
24.	Таблица 3 – Исходная характеристика пациентов.	С. 70
25.	Таблица 4 – Исходная характеристика пациентов.	С. 71
26.	Таблица 5 – Исходная характеристика пациентов.	С. 71
27.	Таблица 6 – Интраоперационные характеристики и ранний послеоперационный период после трансплантации сердца.	С. 73
28.	Таблица 7 – Клинико-функциональная характеристика пациентов в отдаленные сроки после трансплантации сердца.	С. 74
29.	Таблица 8 – Степень клеточного отторжения пациентов 1 группы.	С. 76
30.	Таблица 9 – Степень клеточного отторжения пациентов 2 группы.	С. 77