

## Оценка метаболизма во время родственной трансплантации печени

Е.А. Кукаева

М.Ю. Андрианова

М.В. Палютина

В.И. Мильчаков

Э.В. Алмазова

Е.А. Слуцкий

Лаборатория экспресс  
диагностики (рук.-  
проф. И.И.

Деменьтьева),

Российский научный  
центр РАМН, Москва

На различных этапах трансплантации печени от живого родственного донора у 20 реципиентов исследовали показатели кислотно-основного равновесия и водно-электролитного баланса, содержание глюкозы, лактата, малонового диальдегида и средних молекул, а также свободнорадикальные и антиоксидантные свойства, которые оценивали с помощью метода индуцированной хемилуминесценции.

Параметры кислотно-основного равновесия и водно-электролитного баланса крови во время операции не претерпевали значительных изменений. Наибольшие отклонения обнаружены в содержании глюкозы и лактата. За беспеченочный период уровень лактата вырос в 4,5 раза, а к концу операции превышал исходный в 5-6 раз. Концентрация глюкозы в крови равномерно нарастала на протяжении всего исследования и к концу операции превышала исходные значения в 1,9-2.5 раза. Поскольку при исследовании параметров кислородного статуса крови не выявлено дефицита кислорода, увеличение содержания лактата и глюкозы во время операции, вероятно, можно объяснить нарушением способности печени к их утилизации.

Снижение интенсивности хемилуминесценции, пропорциональной содержанию гидроперекисей липидов, при практически неизменной антиоксидантной активности и нарастании концентрации малонового диальдегида могло быть вызвано сдвигом процессов перекисного окисления липидов от инициации в сторону образования вторичных продуктов. Данное явление, по нашему мнению, свидетельствовало о накоплении недоокисленных продуктов, токсичных для организма, что подтверждалось обнаруженным нами во время операции существенным увеличением уровня средних молекул.

Отсутствие выраженных изменений параметров, характеризующих свободнорадикальные процессы и антиоксидантные свойства крови, на протяжении беспеченочного периода и после включения трансплантата в кровоток при родственной трансплантации печени свидетельствовало об отсутствии активации процессов перекисного окисления липидов.

При невозможности непосредственного измерения показателей, характеризующих интенсивность свободнорадикальных процессов и антиоксидантные свойства, о выраженности повреждения трансплантата можно судить, по нашему мнению, по содержанию малонового диальдегида и средних молекул в крови.

## Evaluation of Metabolism during live-donor liver transplantation

E.A. Kukaeva

M.I. Andrianova

M.V. Paliutina

V.I. Milchakova

E.V. Almasova

E.A. Slutski

Laboratory of Express  
Diagnostics (Director -  
prof. T.I.

Dement'eva), Russian

Scientific Center of

Surgery RAMSICI.

Moscow

Acid-base and electrolyte balance, serum levels of glucose, lactate, malonic dialdehyde and middle molecule as well as free radical and antioxidant characteristics were studied in 20 recipients at different stages of live-donor liver transplantation. The latter two were estimated by an induced chemiluminescence method.

There were no considerable acid-base and electrolyte disturbances during the procedure. The changes in serum levels of glucose and lactate were particularly pronounced. The lactate level had increased up to 4.5 times at the «liverless» stage and became 5-6 times more than initial at the end of procedure. The glucose level had been evenly increasing during the procedure and became 1.9-2.5 times as large as initial at the end of procedure. No decrease in blood oxygenation was revealed, so the increase in lactate and glucose levels appeared to be due compromised liver ability for the utilization.

A shift of lipid peroxidation from initiation to secondary product formation might cause decrease in lipid hydroperoxide level, proportional to reduction of chemiluminescence, with concurrent increase in malonic dialdehyde level and constant antioxidant activity. It reflects the accumulation of non-oxidated toxic products, also confirmed by a notable increase in middle molecule level during the procedure. The absence of lipid peroxidation was confirmed by invariable free radical and antioxidant characteristics during the «liverless» stage and after graft transplantation.

The levels of malonic dialdehyde and middle molecule may be used for the graft injury evaluation when direct measuring of free radical and antioxidant characteristics is inaccessible.

## **Введение**

Своевременная диагностика и адекватная коррекция нарушений гомеостаза во время трансплантации печени во многом обуславливают конечный успех хирургического вмешательства. Наиболее опасными с этой точки зрения этапами операции являются ишемия при изъятии органа у донора и реперфузия трансплантата при включении его в кровоток реципиента. Патогенез органных нарушений, возникающих и развивающихся во время ишемии и реперфузии, включает дефицит кислорода, активацию свободнорадикальных процессов - стимуляцию перекисного окисления липидов (ПОЛ), приводящего к изменению структуры и функции клеточных мембран, а также изменение антиоксидантных свойств [1]. Кроме того, в период реперфузии наблюдается избыточный приток портальной крови, несущей токсичные компоненты, которые также вносят свой вклад в нарушение метаболических процессов.

В задачи исследования входило изучение динамики показателей метаболизма на различных этапах трансплантации печени от живого родственного донора.

## **Материал и методы**

Обследовано 20 реципиентов во время операций родственной трансплантации печени по поводу болезни Вильсона - Коновалова, цирроза печени вирусной этиологии, болезни Байлера, первичного склерозирующего холангита, первичного билиарного цирроза, цирроза печени на фоне дефицита антитрипсина.

Продолжительность операций составляла  $11,2 \pm 1,6$  ч, беспеченочного периода -  $158 \pm 53$  мин, кровопотеря -  $7,1 \pm 2,3$  л. Возраст доноров - 24-49 лет, реципиентов - 9-55 лет. Особенности хирургической тактики отражены в статье С. В. Готье и соавт. [3].

В цельной крови исследовали параметры кислотно-основного состояния (КОС) - pH,  $pO_2$ ,  $pCO_2$ , BE, SBC, уровень гемоглобина (Hb), степень насыщения гемоглобина кислородом ( $sO_2$ ) - а также показатели водно-электролитного баланса - концентрацию калия, натрия, хлора, ионизированного кальция, а также метаболитов - глюкозы и лактата - на анализаторе ABL-625 (фирма Radiometer, Дания); в плазме крови спектрофотометрически определяли содержание малонового диальдегида (МДА) [5] и средних молекул (СМ) [2], свободнорадикальные и антиоксидантные свойства, которые оценивали с помощью метода индуцированной хемилюминесценции (ХЛ). Регистрировали максимальную интенсивность пика индукции ХЛ, отражавшую генерацию свободных радикалов кислорода, и скорость гашения ХЛ, характеризовавшую антирадикальную активность (коэффициент антиоксидантной активности - Каоа) [6]. Исследования проводили в артериальной и венозной крови. Пробы крови брали в начале общей анестезии, в конце беспеченочного периода, через 5-10 мин после пуска кровотока и в конце операции.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики, различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## **Результаты и обсуждение**

Результаты исследования показателей КОС, газов крови, содержания калия, натрия, хлора, ионизированного кальция, глюкозы и лактата представлены в таблице 1.

Средние величины pH артериальной и венозной крови в начале операции и в беспеченочный период находились на нижней границе нормальных значений, несколько снижались после пуска кровотока, а к концу операции несколько превышали исходные, не выходя за границы нормальных величин. Некоторое снижение pH после пуска кровотока через трансплантат объясняется, по-видимому, вымыванием из него недоокисленных продуктов, образовавшихся в период ишемии. На этом же этапе исследования можно отметить незначительный рост  $pCO_2$  венозной крови, сопровождающий соответствующее падение pH.

Расчетные параметры КОС крови - BE и SBC - на протяжении операции существенно не менялись и оставались в целом в пределах нормальных значений, что свидетельствовало, по нашему мнению, об адекватной коррекции КОС. Показатели газового состава -  $pO_2$  и  $pCO_2$  - в

артериальной крови во время операции не претерпевали значительных изменений, что подтверждало адекватность анестезиологического обеспечения и сохранность дыхательной функции легких.

Обращает на себя внимание рост значений  $pO_2$  и  $sO_2$  венозной крови после пуска кровотока и заметное их снижение к концу операции по сравнению с исходными. Эти изменения, возможно, связаны с колебаниями объема венозной циркуляции, в данном случае с его уменьшением.

Средние значения гемоглобина крови, исходно сниженные по сравнению с нормальными, еще больше (на 8,2%) снижались за время беспеченочного периода, а затем практически не менялись до конца операции.

Таблица 1. Показатели метаболизма на различных этапах родственной трансплантации печени (m±δ)

Показатель	Единицы измерения	Тип крови	Этап исследования			
			Общая анестезия	До пуска кровотока	После пуска кровотока	Конец операции
pH	ед.	A	7,36 ± 0,06	7,36 ± 0,06	7,32 ± 0,06	7,40 ± 0,01
		B	7,32 ± 0,07	7,32 ± 0,08	7,28 ± 0,09	7,34 ± 0,06
pCO <sub>2</sub>	мм рт.ст.	A	37,3 ± 5,16	43,5 ± 6,76	43,8 ± 5,82	38,9 ± 3,23
		B	43,4 ± 5,71	48,2 ± 8,61	52,6 ± 12,7	46,8 ± 7,02
BE	ммоль/л	A	- 4,03 ± 3,97	-0,76 ± 4,38	-2,95 ± 3,46	-0,49 ± 2,36
		B	- 3,14 ± 4,89	-0,86 ± 6,09	-2,38 ± 3,89	-0,16 ± 2,82
SBC	ммоль/л	A	21,4 ± 3,14	23,8 ± 3,79	21,8 ± 3,22	24,1 ± 2,02
		B	21,6 ± 3,91	23,6 ± 5,37	21,8 ± 2,67	24,3 ± 2,44
pO <sub>2</sub>	мм рт.ст.	A	244,8 ± 71,4	237,8 ± 41,4	212,1 ± 28,7	213,1 ± 52,7
		B	63,1 ± 14,2	67,1 ± 17,5	77,3 ± 17,6	53,2 ± 9,9
sO <sub>2</sub>	%	A	99 ± 1	99 ± 1	99 ± 1	99 ± 1
		B	87,1 ± 6,5	87,8 ± 9,7	92,2 ± 5,4	83,6 ± 6,4
Гемоглобин	г/л	A	102 ± 20	93 ± 22	94 ± 16	91 ± 19
Лактат	ммоль/л	A	1,37 ± 0,57	6,06 ± 2,21 *	6,1 ± 2,1 *	6,8 ± 3,9 *
		B	1,48 ± 0,68	5,33 ± 2,77 *	6,3 ± 2,7 *	8,5 ± 5,5 *
Глюкоза		A	5,8 ± 2,0	8,97 ± 1,8 *	10,8 ± 2,4 *	10,9 ± 2,5 *
		B	5,0 ± 1,3	9,3 ± 1,7 *	10,9 ± 0,9 *	12,3 ± 2,3 *
Калий		A	3,82 ± 0,46	4,15 ± 0,61	3,57 ± 0,79	3,56 ± 0,45
		B	3,82 ± 0,46	3,73 ± 0,52	3,31 ± 0,56	3,66 ± 0,81
Натрий		A	136,4 ± 6,3	144,5 ± 6,3	140,8 ± 4,2	143,0 ± 5,7
		B	137,4 ± 6,1	143,5 ± 6,1	144,4 ± 4,4	143,2 ± 5,8
Хлор		A	98,5 ± 8,7	101,1 ± 4,7	98,9 ± 4,5	97,3 ± 5,5
		B	100,5 ± 5,1	98,9 ± 4,9	101,3 ± 3,7	100,5 ± 4,8
Ионизированный кальций		A	1,01 ± 0,23	0,91 ± 0,29	1,01 ± 0,25	0,97 ± 0,25
		B	1,02 ± 0,27	0,96 ± 0,28	0,99 ± 0,27	0,97 ± 0,27

\*статистически достоверное различие p < 0,05 по сравнению с началом анестезии

Наибольшие отклонения обнаружены в содержании глюкозы и лактата. За беспеченочный период уровень лактата вырос в 4,5 раза, а к концу операции в артериальной и венозной крови он превышал исходный в 5 и 6 раз соответственно. Концентрация глюкозы в крови равномерно нарастала на протяжении всего исследования и к концу операции превышала исходные значения в 1,9 и 2,5 раза в артериальной и венозной крови соответственно.

Поскольку при исследовании параметров кислородного статуса крови -  $pO_2$  и  $sO_2$  - не выявлено дефицита кислорода, увеличение содержания лактата и глюкозы во время операции, вероятно, можно объяснить нарушением способности печени к их утилизации. В беспеченочный период, когда утилизация глюкозы и лактата полностью отсутствовала, эти метаболиты накапливались в крови в значительном количестве, а после включения трансплантата в кровотоки вымывались из него в кровеносное русло.

Известно, что после возобновления кровотока могут наблюдаться такие явления, как «шоковая печень» и реперфузионный синдром с внутриорганным дефицитом кислорода [7]. В этих условиях утилизация глюкозы может происходить главным образом с образованием большого количества молочной кислоты. Наше исследование показало, что к концу операции функции трансплантата полностью не восстанавливались, что способствовало дальнейшему накоплению глюкозы и лактата в крови.

Как видно из таблицы, средняя концентрация калия, натрия и хлора на протяжении всего исследования существенно не изменялась и оставалась в нормальных пределах. Уровень ионизированного кальция незначительно (менее чем на 10 %) снижался за время беспеченочного периода и в среднем был ниже нормального на протяжении всей операции.

Результаты исследования интенсивности свободнорадикальных процессов и антиоксидантных свойств крови представлены на рис. 1 и 2.

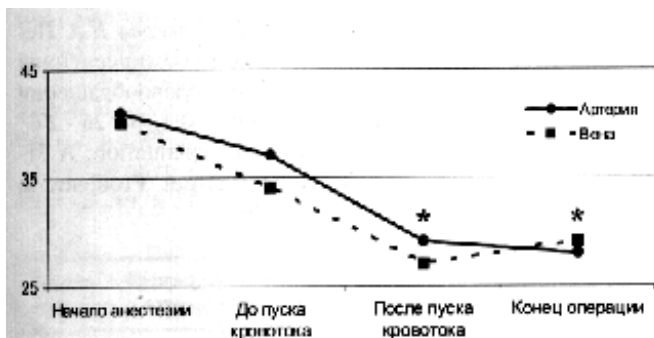


Рис 1. Динамика интенсивности хемилюминесценции (мВ/сек) во время операции.

\*  $p < 0,05$  по сравнению с началом анестезии.

Название оси Y - интенсивность хемилюминесценции (мВ/сек)

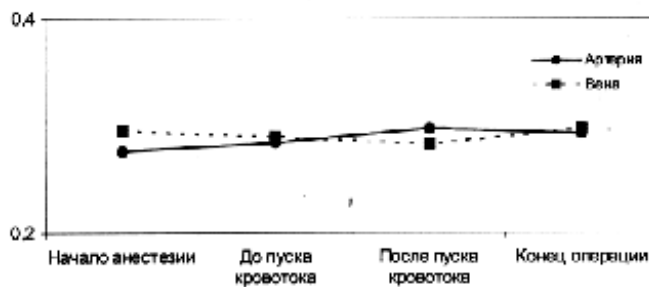


Рис 2. Динамика коэффициента антиоксидантной активности (сек<sup>-1</sup>) во время операции.

Название оси Y - коэффициент антиоксидантной активности (сек<sup>-1</sup>)

На протяжении всей операции регистрировали практически одинаковый спад интенсивности ХЛ в артерии и вене (см. рис. 1). За беспеченочный период интенсивность ХЛ снижалась в артерии на 8,8% и в вене - на 14,5%; после включения трансплантата в кровоток снижение составило в артерии - 29,7% и в вене - 31,8% по отношению к исходным значениям, а затем интенсивность ХЛ практически не изменялась. При этом содержание МДА в артериальной и венозной крови (см. рис. 3) нарастало к моменту пуска кровотока (на 19,5 и 18,7%, соответственно), а к концу операции практически возвращалось к исходному.

В отличие от интенсивности ХЛ антиоксидантные свойства крови в артерии и вене практически не изменялись (см. рис. 2). После включения трансплантата в кровоток в отходящей от него вене выявлено статистически незначимое снижение значений Каоа (на 4,1%), в артерии трансплантата, отмечена тенденция к росту (на 7,6%) этого показателя, что свидетельствовало, по нашему мнению, о наличии незначительного и обратимого реперфузионного повреждения трансплантата, приводившего к выходу в кровь внутриклеточных компонентов, обладавших антиоксидантной активностью.

Снижение интенсивности ХЛ, пропорциональной содержанию гидроперекисей липидов, при практически неизменной антиоксидантной активности (Каоа) и нарастании концентрации МДА могло быть вызвано сдвигом процессов ПОЛ от инициации в сторону образования вторичных продуктов. Данное явление, по нашему мнению, свидетельствовало о накоплении недоокисленных продуктов, токсичных для организма, что подтверждалось обнаруженным нами во время операции существенным увеличением уровня СМ (см. рис. 4).

Как можно видеть, после восстановления кровотока в трансплантате выявлено значительное увеличение содержания СМ как в артериальной (на 69,3%), так и в венозной (на 49,6%) крови. К концу операции значения СМ несколько снижались, но превышали исходные (на 56,5 и 24% в артерии и вене соответственно).

СМ представляют собой пул эндогенных компонентов с мол. массой 500-5000 д. - олигопептиды, олигосахара, соединения глюконовой кислоты и другие биологически активные низкомолекулярные соединения, в том числе токсические, участвующие в развитии ряда патологических процессов, образующиеся, в частности, при ишемическом повреждении тканей и ответственные за формирование реперфузионного синдрома.

Увеличение содержания СМ в кровеносном русле могло быть вызвано попаданием в кровь продуктов распада тканей, поврежденных в период ишемии, а также повышением проницаемости мембран, возникающим при развитии реперфузионного синдрома.

В отличие от предыдущей нашей работы [4], в которой установлены выраженная активация процессов ПОЛ и значительное усиление антирадикальных свойств крови при ортотопической трансплантации печени, свидетельствовавшие о наличии реперфузионного повреждения, при трансплантации от живого родственного донора мы не выявили стимуляции свободнорадикальных процессов и наблюдали лишь слабую тенденцию к нарастанию антиоксидантных свойств после пуска кровотока, что указывало на обратимость реперфузионного повреждения трансплантата.

Несмотря на существенное повышение содержания МДА и СМ на протяжении беспеченочного периода и после включения трансплантата в кровоток, свидетельствовавшее о накоплении недоокисленных продуктов, токсичных для организма, можно утверждать, что выявленные метаболические изменения были обратимыми.

### Выводы

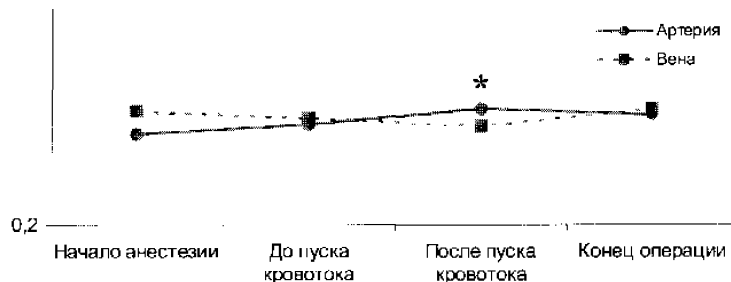
1. При трансплантации родственной печени в клинике наиболее опасными с точки зрения развития необратимых свободнорадикальных повреждений трансплантата являются беспеченочный период и особенно последующая реперфузия. Поэтому особое внимание на этих этапах следует уделять антиоксидантной защите.

2. Отсутствие выраженных изменений параметров, характеризующих свободнорадикальные процессы и антиоксидантные свойства крови, на протяжении беспеченочного периода и после включения трансплантата в кровоток при родственной трансплантации печени свидетельствует об отсутствии активации процессов ПОЛ.

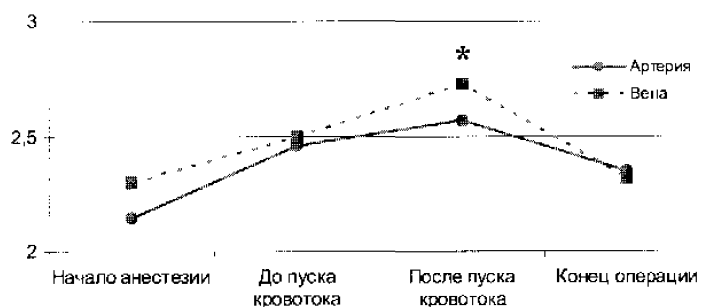
3. При невозможности непосредственного измерения показателей, характеризующих интенсивность свободнорадикальных процессов и антиоксидантные свойства, о выраженности повреждения трансплантата можно судить по содержанию МДА и СМ в крови.

### Указатель литературы

1. *Биленко М.В.* Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). М.: Медицина, 1989. 368 с.
2. *Габриэлян Н.И.* Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях // Методические рекомендации сотр. НИИТ и ИО МЗ СССР. М., 1985.
3. *Готье С.В., Цирульникова О.М., Филлин А.В., Вабищевич А.В. и др.* Хирургическая техника и результаты ортотопической трансплантации правой доли печени от живого родственного донора // *Анналы хир. гепатол.* 2001. Т. 6. № 2. С. 22 - 29. *Дементьева И.И., Андрианова Е.А., Кукаева Е.А.,*



**Рис 3.** Динамика содержания малонового диальдегида (нмоль/мл) во время операции  
\*  $p < 0,05$  по сравнению с началом анестезии.  
Ось Y содержание малонового диальдегида (нмоль/мл)



**Рис 4.** Динамика содержания средних молекул (отн.ед.) во время операции  
\*  $p < 0,05$  по сравнению с началом анестезии.  
Ось Y содержание средних молекул (отн.ед.)

**АННАЛЫ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ГЕПАТОЛОГИИ ТОМ 8 №2 2003 С.7-10**

4. Палюлина М.В., Мильчаков В.И. Патофизиологические аспекты свободнорадикального повреждения печени // Пат. физиол. 2001. №3. С. 23-25.
5. Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой//Лаб. дело. 1989. № 7. С. 8-9.
6. Мильчаков В.И., Дементьева И.И., Трекова Н.А. Перекисное окисление липидов и хемилюминесценция плазмы крови при искусственном кровообращении //Анестезиол. И реаниматол. 1996. №1.-С. 26-29.
7. Starzl T.E., Demetris A.J. Liver Transplantation: A 31-Year Respective. Part I-III // Current Problems in Surgery. 1990. V. 27, №4. P. 1- 240.