

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

УТВЕРЖДАЮ  
ЗАМЕСТИТЕЛЬ МИНИСТРА  
А.И. ВЯЛКОВ  
12 мая 1999 года

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА "ПЕРФТОРАН" ДЛЯ ЗАЩИТЫ  
ПОЧЕК ОТ ИШЕМИЧЕСКОГО И РЕПЕРФУЗИОННОГО  
ПОРАЖЕНИЯ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

*МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ № 99/51*

СОГЛАСОВАНО  
РУКОВОДИТЕЛЬ ДЕПАРТАМЕНТА  
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ И  
ОБРАЗОВАТЕЛЬСКИХ  
МЕДИЦИНСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ  
В.И.СЕРГИЕНКО  
12 мая 1999 года

МОСКВА-99

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в трансплантологии сложилась ситуация, при которой количество пригодных донорских органов, заготавливаемых для трансплантации, существенно отстает от возможностей действующих трансплантационных центров.

В значительной степени это связано с отсутствием адекватного решения проблемы противоишемической защиты трансплантатов, как в организме трупного донора, так и в организме реципиента на этапе их реперфузии.

Особую важность решение этой проблемы приобретает при трансплантации почек, поскольку для преодоления дефицита донорских почек в клинике все чаще прибегают к использованию почек от так называемых субоптимальных доноров, в том числе от трупных органов с остановкой сердца.

Для ослабления повреждающего действия ишемии на донорские почки на этапе заготовки обычно проводят комплексную медикаментозно-инфузионную терапию в организме агонизирующего донора (В.Ю. Клейза, Б.Э. Дайнис). Между тем, клинический опыт показывает, что проведение указанной терапии в полном объеме не служит гарантией осуществления успешной противоишемической защиты донорских почек (В.И. Шумаков и др., 1983, Н.В. Тарабарко, 1997). Это обусловлено тем, что в организме агонизирующего донора несмотря на проводимую терапию сохраняются условия недостаточной оксигенации тканей и органов инфузионными растворами (снижение кислородной емкости крови, развитие метаболического ацидоза и спазма периферических сосудов, сопровождающееся явлениями микротромбозов и агрегации форменных элементов крови, нарушение процессов доставки кислорода тканям вследствие сдвига кривой диссоциации оксигемоглобина влево, и т.д.), которые препятствуют полноценной реализации защитного действия используемых медикаментозных средств.

В организме реципиента при реперфузии ишемически поврежденного почечного трансплантата признаки повреждения нарастают. Клинически это выражается развитием острой почечной недостаточности разной степени выраженности, которая обусловлена активизацией процессов перекисного окисления липидных структур клеточных мембран (М.В. Биленко, 1978), нарушением микроциркуляции и развитием вторичного ишемического повреждения почечного трансплантата.

Для профилактики ишемического и реперфузионного повреждения почек при трансплантации, в качестве средства патогенетической терапии ишемического повреждения должен быть применен новый отечественный препарат "Перфторан" в организме донора (авторское свидетельство №1325732 от 22.03.87 г. "Способ определения пригодности донорских почек к пересадке", авторы: В.И. Шумаков, Н.А. Онищенко и др.) и/или реципиента (авторское свидетельство №1827253 от 13.10.92 г. "Способ профилактики криза отторжения почечного аллотрансплантата", авторы: Н.А. Онищенко, П.С. Серняк и др.), так как в отличие от других препаратов он создаст условия для более полной реализации действия традиционной противоишемической медикаментозной терапии почечного трансплантата. Препарат "Перфторан" изготавливается НПФ "Перфторан" (Московская обл., г. Пущино), в 1994 г. утвержден фармкомитетом РФ и включен в перечень фармакопейных препаратов России (см. Справочник фармакопейных препаратов "Видаль", 1995), разрешенных для клинического применения при трансплантации органов (почек). № 96/50/10

## ОСУЩЕСТВЛЕНИЕ МЕТОДА ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ ПОЧЕК С ПОМОЩЬЮ ПРЕПАРАТА "ПЕРФТОРАН"

**ХАРАКТЕРИСТИКА СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА "ПЕРФТОРАН".** Препарат "Перфторан" представляет собой прозрачную, слегка опалесцирующую жидкость, разлитую в стандартные

флаконы по 200 или 400 мл. Химический состав и физико-химические свойства “Перфторана” представлены в таблице №1. Основными компонентами “Перфторана” (ПФ) являются две разновидности перфторорганических соединений (ПФОС) - перфтордекалин и перфторметилциклогесилпиперидин, а также проксанол - эмульгатор ПФОС.

Кислородтранспортную и мембранстабилизирующую функцию в ПФ выполняют эмульгированные ПФОС; остальные компоненты - электролиты и глюкоза - обеспечивают поддержание адекватности физико-химических свойств препарата (рН, онкотического и осмотического давления и пр.).

Использование двух разновидностей ПФОС в ПФ придает устойчивость этой эмульсии при хранении, предотвращает ее расслоение и укрупнение эмульсионных частиц.

Данные о кислородтранспортных свойствах ПФ предоставлены в таблице №2. Из этой таблицы видно, что вклад ПФ в доставку кислорода тканям существенно уступает эритроцитам. Однако, во время ишемии, когда часть капилляров становится труднопроходимой для эритроцитов (спазм, стаз, отек), или при больших кровопотерях - роль ПФ в транспорте физически растворенного кислорода существенно возрастает.

В присутствии ПФ происходит усиление экстракции кислорода из крови, что обусловлено более высокой константой диффузии Крота для кислорода в ПФОС по сравнению с водной средой. Благодаря субмикронному размеру эмульсионных частиц (0.03–0.15 мкм) ПФ способен глубоко проникать в гипоксемическую ткань, обеспечивая хорошую оксигенацию даже труднодоступных для эритроцитов участков ткани, поскольку размеры эмульсионных частиц в ПФ в 50-70 раз меньше размеров эритроцитов. Все это увеличивает полезную площадь капиллярного массообмена и обеспечивает снабжение кислородом участков ткани с обедненной сосудистой сетью и плохим кровообращением.

Под влиянием ПФ повышается также устойчивость клеточных мембран, в том числе и эндотелия к действию многих повреждающих факторов, таких как - гипотермия, ишемия, механическая травма, реоксигенация (относительная гипероксия), которые, как известно, сопутствуют трансплантации органов.

Показано (Н.А. Онищенко и др., 1990), что защитное действие ПФ реализуется за счет торможения процессов перекисного окисления в липидах клеточных мембран и торможения транспорта  $Ca^{2+}$  внутрь клеток.

Изучение фармакокинетики препарата ПФ показало, что 60-70% его выводится из организма через легкие, кожу и с желчью за 4-5 суток. Хотя кислородная емкость ПФ ~ в 3 раза больше любого плазмозаменителя, тем не менее, она в ~ 5 раз ниже цельной крови.

В связи с этим для коррекции гиповолемии, нормализации микроциркуляции и восстановления тканевого дыхания, а также  $O_2$ -баланса - введение ПФ необходимо сочетать с обогащением вдыхаемого воздуха кислородом: карбоген или смесь воздуха с кислородом (Ф.Ф. Белоярцев, 1983).

**ОЦЕНКА КАЧЕСТВА И ПРИГОДНОСТИ ПРЕПАРАТА “ПЕРФТОРАН” ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ.** Для клинического применения должен использоваться ПФ во флаконах, имеющих паспорт-спецификацию. В паспорте должны быть указаны допустимые и фактические, значения физико-химических и биологических характеристик препарата данной серии: средний размер частиц, содержание ПФОС, рН, осмотичность, контроль на стерильность и пирогенность.

В паспорте должны быть указаны также режимы низкотемпературного хранения препарата (при температуре от  $-5^{\circ}C$  до  $-17^{\circ}C$  ПФ хранится в течение 2-х лет, в размороженном состоянии (при температуре  $2-4^{\circ}C$ ) - 2-4 недели), а также критерии для его отбраковки.

Перед использованием ПФ необходим тщательный визуальный контроль качества

препарата - однородности его состава. При выявлении на дне флакона с ПФ - хлопьев, осадка, капель бесцветной жидкости или расслоения эмульсии на прозрачную и плотную несмешивающиеся фазы - препарат бракуется и признается непригодным для применения.

**ОПИСАНИЕ МЕТОДИКИ ПРИМЕНЕНИЯ “ПЕРФТОРАН” В ОРГАНИЗМЕ ДОНОРА И РЕЦИПИЕНТА ПОЧЕК.** Противоишемическая защита почек в организме трупного донора включает предварительную комплексную инфузионно-медикаментозную терапию донора по стандартной схеме (В.Ю. Клейза, Б.Э. Дайнис, 1983) на фоне которой за 1-1.5 часа до изъятия почек внутривенно со скоростью 50-80 мл/мин в течение 15-20 мин вводят Перфторан из расчета 10-20 мл/кг веса донора. При этом вплоть до иссечения почек проводится искусственная вентиляция легких (ИВЛ) донора кислородом или смесью воздуха с кислородом в отношении 1:1.

Усиление диуреза при проведении стандартной инфузионной терапии донора - указывает на сохранение жизнеспособности почечной ткани и пригодность почек донора для последующей трансплантации.

Отсутствие усиления диуреза при проведении стандартной инфузионно-медикаментозной терапии трупного донора - указывает на необратимое повреждение почек донора, но требует проведения их селекции, с помощью ПФ.

Появление форсированного диуреза у донора после дополнительного введения ПФ указывает на сохранение жизнеспособности его почек и свидетельствует об их пригодности для изъятия и последующей трансплантации (В.И. Шумаков и др., 1994). Отсутствие же форсированного диуреза у донора после дополнительного введения ПФ - должно рассматриваться как тест на необратимость ишемического повреждения донорских почек и необходимость отказа от их изъятия и последующей трансплантации.

Защита почечного трансплантата от реперфузионного повреждения проводится в организме реципиента во время трансплантации. Для этого приблизительно за 1 час до пуска кровотока через трансплантированную почку проводится инфузия ПФ из расчета 5-10 мл/кг веса реципиента. ИВЛ во время операции обеспечивается смесью воздуха с кислородом в отношении 1:1. Защитный эффект ПФ проявляется диурезом трансплантированной почки во время операции, а также увеличением количества реципиентов с немедленной функцией почечного трансплантата (см. ниже).

#### **СОВМЕСТИМОСТЬ ПЕРФТОРАНА С ДРУГИМИ ИНФУЗИОННЫМИ СРЕДСТВАМИ.**

Перфторан совместим с альбумином, донорской кровью, маннитолом, лактосолом, желатинолом, изотоническими солевыми растворами, глюкозой, антибиотиками и рентгеноконтрастными веществами. Перфторан нельзя вводить в одной смеси или в одном шприце с декстранами, полиглюкином или реополиглюкином и оксиэтилкрахмалами с молекулярной массой свыше 12 000. Указанные растворы при необходимости следует вводить в другую вену или в ту же после окончания инфузии Перфторана. Не следует во флакон с ПФ вводить ганглиоблокаторы или спазмолитики в связи с потенцированием их действия и возможностью развития гипотензивного эффекта.

**ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ ПЕРФТОРАНА.** Перфторан применяют у агонизирующих доноров с нестабильной или крайне нестабильной гемодинамикой, особенно у тех, у которых имеет место олигоанурия, централизация кровообращения, гипоксемия, гиповолемия, некоррегируемые расстройства микроциркуляции, ацидоз, синдром сладжа и т.д. У реципиентов почек ПФ применяют для профилактики реперфузионного повреждения длительно консервированного почечного трансплантата, изъятых от т.н. субоптимального донора.

Следует с особой осторожностью применять ПФ у реципиентов, имеющих признаки печеночной недостаточности, т.к. ПФОС аккумулируются печенью и выводятся из организма с желчью через кишечник.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПЕРФТОРАНА В КЛИНИКЕ ДЛЯ ЗАЩИТЫ ПОЧЕК ОТ ИШЕМИЧЕСКОГО И РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

В настоящем разделе мы приводим результаты применения ПФ при трансплантации почек за период с января 1993 г. по настоящее время. Это обусловлено тем, что благодаря принятию Закона “О трансплантации органов и (или) тканей человека (декабрь 1992 г.), утверждению концепции смерти мозга и использованию для забора органов трупных доноров с бьющимся сердцами (Приказ МЗ СССР №236 от 12 февраля 1987 г. “О дальнейшем развитии клинической трансплантации в стране” и Приказ МЗ РФ №189 от 10 августа 1993 г. “О порядке изъятия органов человека у доноров - трупов”), а также благодаря широкому использованию циклоспорина А, новых более эффективных консервирующих растворов и подбору адекватных реципиентов - наши результаты по трансплантации почек стали более однородными для выявления вклада Перфторана (ПФ) в результаты проведенных нами трансплантаций.

ПФ применялся в организме 26 субоптимальных доноров почек после констатации судебно-медицинским экспертом смерти этих больных на фоне длительной гипотензии (> 3 часов), олигоанурии ( $\geq 1$  часа) и применения допамина (до 10-15 мкг/кг/мин). ПФ использовали в комплексе с другими медикаментозными средствами реанимационной поддержки терминальных больных (борьба с гиповолемией, инотропная поддержка, персфуляция кислорода, использование лазикса и определения жизнеспособности донорских почек).

ПФ вводили внутривенно за 1-1.5 часа до иссечения почек в дозе 10-15 мл/кг веса донора. Никаких аллергических реакций, указывающих на биологическую несовместимость ПФ в организме донора выявлено не было.

Кроме введения ПФ донору на этапе заготовки почечных трансплантатов ПФ вводили также интраоперационно 17 реципиентам почек, изъятых у трупных доноров с небьющимся сердцем. ПФ вводили внутривенно в дозе 5-10 мл/кг веса реципиента в момент наложения сосудистых анастомозов для профилактики реперфузионного повреждения и стимуляции ускоренного восстановления функции почечного трансплантата. Никаких аллергических реакций, указывающих на биологическую несовместимость ПФ в организме реципиента, выявлено не было.

Пересадка всех исследуемых почечных трансплантатов была выполнена реципиентам, совместимыми с донорами по группе крови и 2-3 лейкоцитарным антигенам системы HLA. О качестве трансплантатов и эффективности их защиты ПФ судили по способности почек к осуществлению водо-выделительной и азотовыделительной функции в раннем послеоперационном периоде (1-2 мес.). По клиническим тестам ориентировались на 4 степени ишемического повреждения почек:

I степень - отсутствие или очень слабое ишемическое повреждение почек — характеризуется самостоятельным адекватным мочеотделением;

II степень - неглубокое ишемическое повреждение - характеризуется адекватным диурезом на фоне применения диуретиков;

III степень - выраженное ишемическое повреждение, требующее применения гемодиализа;

IV степень - выраженное ишемическое повреждение, требующее трансплантэктомии и перевода реципиента на гемодиализ.

Подробности осуществления трансплантаций почек на фоне применения ПФ изложены в

работе Н.В. Тарабарко “Обеспечение донорскими органами при клинической трансплантации”, дисс. докт. мед.наук, 1997.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПФ В ОРГАНИЗМЕ СУБОПТИМАЛЬНЫХ ДОНОРОВ (СД) ПОЧЕК.** Из 26 СД- 21 СД был отнесен к категории адекватных доноров, а 5 СД - к категории доноров с низкой пригодностью почечных трансплантатов. По этой причине нами было заготовлено не 52, а 47 почечных трансплантатов. От 5 доноров в связи с тяжелой травмой не только мозга, но и почки или в связи с аномалиями сосудов почки - вторые почки не заготавливались. Из этих 5 доноров - 4 донора по совокупности клинических данных были признаны -СД с крайне низкой пригодностью почечных трансплантатов и глубокой степенью их ишемического повреждения. Обычно почки от таких СД бракуются и не используются в последующем для трансплантации. Однако для определения противоишемической эффективности ПФ нами была осуществлена заготовка 4-х почек от таких СД и осуществлена их трансплантация соответствующим реципиентам.

В таблице №3 представлены результаты трансплантации почек от 4 доноров с высокой степенью риска ишемического повреждения почек уже в организме донора; в таблице №4 представлены результаты трансплантаций 43 почек от т.н. адекватных СД со средним сроком тепловой ишемии, не превышающем 15-30 мин.

Из таблиц №3 и №4 следует, что ПФ способен повысить специализированные функции почечных трансплантатов, в особенности тех, которые имеют признаки ишемического повреждения. Из полученных данных следует также, что ПФ не может восстановить уже погибшие органы, и что отсутствие усиления диуреза на введение ПФ донору должно служить противопоказанием к забору почек и их последующей трансплантации. Из таблицы №4 следует, что результаты трансплантации почек от трупных доноров с небьющимся сердцем, подготовленных ПФ, несколько уступают результатам пересадки почек от трупных доноров с бьющимся сердцем и стабильной гемодинамикой. Это обстоятельство заставило нас исследовать целесообразность изменения ПФ не только в организме донора, но и реципиента на этапе реперфузии, чтобы более эффективно препятствовать развитию реперфузионного повреждения.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПФ В ОРГАНИЗМЕ РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧЕК, ИЗЪЯТЫХ У ДОНОРОВ С НЕБЬЮЩИМСЯ СЕРДЦЕМ.** Результаты использования ПФ у реципиентов почек, полученных от трупных доноров с остановкой сердца, представлены в таблице №5.

Из таблицы №5 следует, что применение ПФ у этих реципиентов существенно улучшает качество функционирования трансплантатов по сравнению с той группой реципиентов, где не применяли ПФ ни у реципиентов, ни в организме донора почек. Использование ПФ привело в 100% наблюдений к появлению мочи во время пуска кровотока через трансплантат, повысился процент трансплантатов с немедленной функцией, снизилось количество трансплантатов с отсроченной функцией, трансплантатов с отсутствием функции мы вообще не выявили; увеличилось количество реципиентов без признаков острой почечной недостаточности (ОПН). Отмечено также, что возникновение ОПН сдвигается на более поздние сроки; при этом существенно сокращаются сроки нормализации функции трансплантата, снижается потребность в гемодиализах, отмечается тенденция к снижению количества койко-дней, проведенных в стационаре после трансплантации почек.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты применения ПФ при трансплантации почек в клинике позволяют считать, что ПФ должен служить составной частью кондиционирования донорских почек.

Применение ПФ в организме СД позволяет произвести селекцию донорских почек пригодных к трансплантации, повысить их противоишемическую резистентность и после трансплантации улучшить раннюю функцию. Введение ПФ в организм реципиента позволяет в наиболее полной мере проявиться его защитным свойствам, т.к. позволяет добиться сопоставимости ранней функции почек, полученных от СД (доноров с остановкой сердца, длительными периодами асистолии, гипотонии) и от трупных доноров с бьющимся сердцем.

Таблица №1. Химический состав препарата “Перфторан”, изготовленного фармацевтической фирмой “Перфторан” (в г/на 100 мл H<sub>2</sub>O)

C <sub>10</sub> F <sub>18</sub> - перфтордекалин (Mw =462 D)	13,0
C <sub>12</sub> F <sub>23</sub> N - перфторметилциклогексилпиперидин (Mw = 595 D)	6,5
ПАВ - проксанол - 268 (Mw = 8000 D, ПОПР < 20 %)	4,0
NaCl - натрия хлорид	0,6
KCl - калия хлорид	0,039
MgCl <sub>2</sub> - магния хлорид	0,019
NaHCO <sub>3</sub> - натрия гидрокарбонат	0,065
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> - натрия гидрофосфат	0,02
C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub> - глюкоза	0,2
Физико-химические свойства препарата "Перфторан"	
Содержание ионов фтора F <sup>-</sup> , М	<10 <sup>-5</sup>
Средний размер частиц, мкм	0,03-0,15
Онкотическое давление, мм вод.ст.	25,0
Осмолярность, мосм	280-360
Вязкость, сП	2,5
рН	7,4-7,6
Растворимость O <sub>2</sub> (pO <sub>2</sub> = 760 мм рт.ст., t = 20 <sup>0</sup> C), об%	7
Растворимость CO <sub>2</sub> (pCO <sub>2</sub> = 760 мм рт.ст., t = 20 <sup>0</sup> C), об%	60

Таблица №2. Некоторые показатели газопереноса и растворения кислорода при внутривенном введении Перфторана в дозе 10 мл/кг (взято из инструкции по клиническому применению)

Компоненты	Растворимость O <sub>2</sub> (%)	Константа диффузии Крома для O <sub>2</sub>	Скорость оксигенации (мсек)	Поверхность газообмена (м <sup>2</sup> )
Эритроциты	98,21	-	200-250	3500
Плазма	1,29	5,3 • 10 <sup>-5</sup>	-	-
ПФОС	0,5*	4,4 • 10 <sup>-4**</sup>	14-26***	45000****

\* - Увеличение физически растворенного O<sub>2</sub> в плазме на 1/3.

\*\* - Увеличение массопереноса O<sub>2</sub> за счет ускоренной диффузии (в ткани).

\*\*\* - Увеличение скорости насыщения O<sub>2</sub> по сравнению с плазмой.

\*\*\*\* - Увеличение процесса переноса O<sub>2</sub> за счет большей поверхности газообмена.

Таблица №3. Влияние Перфторана на функцию почечного трансплантата от доноров с высокой степенью риска ишемического повреждения (n=4)

Критерии адекватной функциональной активности почек	Без применения Перфторана (n=4)	Использование Перфторана в организме донора (n=4)
Диурез в организме донора	Олиго- или анурия (n=4)	Усиление диуреза (n=3) анурия (n=1)
Диурез сразу после трансплантации	Диурез в виде единичных капель (n=4)	Диурез в умеренном количестве (n=3) анурия (n=1)
Диурез в 1 сутки после трансплантации	Олиго- или анурия на стимуляцию (n=4)	Полиурия (n=1) Диурез в умеренном количестве на стимуляцию (n=4) анурия (n=1)
Нормальная азотовыделительная функция почечного трансплантата	Анурия, трансплантатэктомия (n=4)	медленно, без ГД (n=1) медленно, с применением ГД (n=3) Анурия, трансплантатэктомия (n=1)

АВТОРСКОЕ СВИДЕТЕЛЬСТВО. Авторское свидетельство №1325732 от 22.03.87 г. “Способ определения пригодности донорских почек к пересадке. Авторы: В.И. Шумаков, Н.А. Онищенко, А.А. Сафонов, Ф.Ф. Белоярцев, А.Г. Долбин, А.С. Глушаков, Е.И. Маевский. Заявитель: Научно-исследовательский институт трансплантологии и искусственных органов МЗ РФ и Институт биологической физики АН РФ.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ. Способ определения пригодности донорских почек к пересадке путем введения донору инфузионных растворов и диуретиков, отличающийся тем, что, с целью повышения точности способа, донору через 30-40 минут после введения инфузионных растворов и диуретиков дополнительно вводят Перфторан в дозе 20-30 мл/кг, и по увеличению диуреза до 1 000 мл/ч и более устанавливают пригодность почек к пересадке.