

# Выживаемость сердца при различных системах подачи кардиоплегического раствора в условиях экстракорпоральной нормотермической перфузии: экспериментальное исследование

**Для корреспонденции:** Софья Дмитриевна Робустова, [robustova.sd@phystech.edu](mailto:robustova.sd@phystech.edu)

Поступила в редакцию 16 октября 2024 г. Исправлена 23 ноября 2024 г. Принята к печати 10 декабря 2024 г.

**Цитировать:** Робустова С.Д., Качан В.С., Кононова Д.В., Яровой А.С., Гусев М.А., Литвиненко В.В., Джабраилов В.Д., Бричагина А.А., Образумова З.В., Чекалина С.Д., Турчанинова Е.А., Бакуменко С.С., Носов М.С., Бережной А.К., Козлов В.А., Цвеляя В.А., Агладзе К.И. Выживаемость сердца при различных системах подачи кардиоплегического раствора в условиях экстракорпоральной нормотермической перфузии: экспериментальное исследование. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2024;28(4):78-93. <https://doi.org/10.21688/1681-3472-2024-4-78-93>

## Финансирование

Исследование выполнено в рамках проекта «Инновационные кардиоплегические магистрали для кардиохирургических операций» по Соглашению о предоставлении гранта Правительства Московской области в сферах науки, технологий, техники и инноваций № 12/04-24 от 27.04.2024 г.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Вклад авторов

Концепция и дизайн работы: В.А. Цвеляя, С.Д. Робустова, В.С. Качан, М.С. Носов, А.К. Бережной, В.А. Козлов, К.И. Агладзе

Сбор и анализ данных: С.Д. Робустова, В.С. Качан, Д.В. Кононова, А.С. Яровой, М.А. Гусев, В.В. Литвиненко, В.Д. Джабраилов, А.А. Бричагина, З.В. Образумова, С.Д. Чекалина, С.С. Бакуменко, Е.А. Турчанинова, В.А. Цвеляя

Статистическая обработка данных: С.Д. Робустова, В.С. Качан, Д.В. Кононова, А.С. Яровой, М.А. Гусев, В.В. Литвиненко, В.Д. Джабраилов, А.А. Бричагина, З.В. Образумова, С.Д. Чекалина, С.С. Бакуменко, Е.А. Турчанинова

Написание статьи: С.Д. Робустова, В.С. Качан, Д.В. Кононова, З.В. Образумова, Е.А. Турчанинова, В.А. Цвеляя

Исправление статьи: С.Д. Робустова, Е.А. Турчанинова, В.А. Цвеляя, К.И. Агладзе

Утверждение окончательного варианта статьи: все авторы

## ORCID

С.Д. Робустова, <https://orcid.org/0009-0004-5744-2325>  
В.С. Качан, <https://orcid.org/0009-0004-1599-6119>  
Д.В. Кононова, <https://orcid.org/0009-0002-7631-2126>  
А.С. Яровой, <https://orcid.org/0009-0003-4777-6228>

С.Д. Робустова<sup>1</sup>, В.С. Качан<sup>1</sup>, Д.В. Кононова<sup>1</sup>, А.С. Яровой<sup>1</sup>, М.А. Гусев<sup>1</sup>, В.В. Литвиненко<sup>1</sup>, В.Д. Джабраилов<sup>1</sup>, А.А. Бричагина<sup>1</sup>, З.В. Образумова<sup>1</sup>, С.Д. Чекалина<sup>1</sup>, Е.А. Турчанинова<sup>1</sup>, С.С. Бакуменко<sup>1</sup>, М.С. Носов<sup>1,4</sup>, А.К. Бережной<sup>1,4</sup>, В.А. Козлов<sup>1,4</sup>, В.А. Цвеляя<sup>1,2,3</sup>, К.И. Агладзе<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>4</sup> Акционерное общество «КардиоСистемФарма», Химки, Московская область, Российская Федерация

## Аннотация

**Актуальность.** Помещение изолированного сердца в кардиоплегический раствор при нормотермии — перспективная стратегия увеличения срока сохранения органа. Развитие этой стратегии и разработка новых изделий для подачи растворов поможет оптимизировать технологию транспортировки донорских сердец.

**Цель.** Тестирование эффективности нормотермической перфузии с постоянным потоком для длительного сохранения сердца по методу Лангендорфа с помощью системы на основе инновационных магистралей для подачи кардиоплегических растворов АО «КардиоСистемФарма» (Химки, Московская область, Россия) в сравнении с системой на основе узлов и трубок Radnoti (ADInstruments, Колорадо-Спрингс, США) в серии экспериментов на крысиных сердцах.

**Методы.** Провели сравнение установки с кардиоплегическими магистралями АО «КардиоСистемФарма» для кардиохирургии и системы перфузии Radnoti в экспериментах на крысиных сердцах при нормотермии как без добавления кардиоплегического раствора «Нормакор» (ООО «Мосфарм», Московская область, Россия), так и с его использованием. Регистрировали время до полной остановки сердца и изменение уровня флуоресценции кофермента никотинамидадениндинуклеотид. После остановки сердца проводили иммуногистохимическое окрашивание срезов желудочков для детекции повреждения миокарда при перфузии.

М.А. Гусев, <https://orcid.org/0009-0004-7842-1283>  
 В.В. Литвиненко, <https://orcid.org/0009-0002-8960-0039>  
 В.Д. Джабраилов, <https://orcid.org/0009-0004-7154-386X>  
 А.А. Бричагина, <https://orcid.org/0009-0005-6673-3201>  
 З.В. Образумова, <https://orcid.org/0009-0002-3932-1066>  
 С.Д. Чекалина, <https://orcid.org/0009-0001-3255-3369>  
 Е.А. Турчанинова, <https://orcid.org/0009-0003-8165-2595>  
 С.С. Бакуменко, <https://orcid.org/0009-0001-7156-5215>  
 М.С. Носов, <https://orcid.org/0009-0003-2694-582X>  
 А.К. Бережной, <https://orcid.org/0000-0001-8484-6510>  
 В.А. Козлов, <https://orcid.org/0009-0002-0349-0562>  
 В.А. Цвеляя, <https://orcid.org/0000-0002-3554-9736>  
 К.И. Агладзе, <https://orcid.org/0000-0002-9258-436X>

© Робустова С.Д., Качан В.С., Кононова Д.В., Яровой А.С., Гусев М.А., Литвиненко В.В., Джабраилов В.Д., Бричагина А.А., Образумова З.В., Чекалина С.Д., Турчанинова Е.А., Бакуменко С.С., Носов М.С., Бережной А.К., Козлов В.А., Цвеляя В.А., Агладзе К.И., 2024



**Результаты.** Кардиоплегические магистрали АО «КардиоСистемФарма» не уступали системе перфузии Radnoti и превосходили ее по длительности сохранения изолированного сердца. Использование повышенной концентрации глюкозы при нормотермической перфузии может существенно повысить время сохранения органа. Эффективность нормотермической перфузии в эксперименте подтвердили с помощью мониторинга клеточного дыхания путем регистрации флуоресценции никотинамидадениндинуклеотида.

**Заключение.** При длительном сохранении сердец в условиях нормотермии инновационные магистрали АО «КардиоСистемФарма» являются перспективной заменой системе на основе узлов и трубок Radnoti.

**Ключевые слова:** длительное сохранение донорских органов; ишемия; кардиоплегия; никотинамидадениндинуклеотид; нормотермия; перфузия изолированного сердца; трансплантация сердца

## Survival of the heart in different cardioplegic solution delivery systems under extracorporeal normothermic perfusion conditions: an experimental study

**Corresponding author:** Sofya D. Robustova, [robustova.sd@phystech.edu](mailto:robustova.sd@phystech.edu)

Received 16 October 2024. Revised 23 November 2024. Accepted 10 December 2024.

**How to cite:** Robustova S.D., Качан В.С., Кононова Д.В., Яровой А.С., Гусев М.А., Литвиненко В.В., Джабраилов В.Д., Бричагина А.А., Образумова З.В., Чекалина С.Д., Турчанинова Е.А., Бакуменко С.С., Носов М.С., Бережной А.К., Козлов В.А., Цвеляя В.А., Агладзе К.И. Survival of the heart in different cardioplegic solution delivery systems under extracorporeal normothermic perfusion conditions: an experimental study. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2024;28(4):78-93. (In Russ.) <https://doi.org/10.21688/1681-3472-2024-4-78-93>

### Funding

The study was carried out within the framework of the project "Innovative cardioplegic lines for cardiac surgery" under the Agreement on the provision of a grant from the Government of the Moscow Region in the fields of science, technology, engineering and innovation No. 12/04-24 dated 04/27/2024.

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

### Contribution of the authors

Conception and study design: V.A. Tselaya, S.D. Robustova, V.S. Kachan, M.S. Nosov, A.K. Berezhnoy, V.A. Kozlov, K.I. Agladze  
 Data collection and analysis: S.D. Robustova, V.S. Kachan, D.V. Kononova, A.S. Yarovoy, M.A. Gusev, V.V. Litvinenko, V.D. Dzhabrailov, A.A. Brichagina, Z.V. Obrazumova, S.D. Chekalina,

Sofya D. Robustova<sup>1</sup>, Valeryia S. Kachan<sup>1</sup>, Daria V. Kononova<sup>1</sup>, Alexander S. Yarovoy<sup>1</sup>, Mikhail A. Gusev<sup>1</sup>, Veronika V. Litvinenko<sup>1</sup>, Vitalii D. Dzhabrailov<sup>1</sup>, Alina A. Brichagina<sup>1</sup>, Zlata V. Obrazumova<sup>1</sup>, Svetlana D. Chekalina<sup>1</sup>, Elena A. Turchaninova<sup>1</sup>, Sergey S. Bakumenko<sup>1</sup>, Mikhail S. Nosov<sup>1,4</sup>, Andrey K. Berezhnoy<sup>1,4</sup>, Vladimir A. Kozlov<sup>1,4</sup>, Valeriya A. Tselaya<sup>1,2,3</sup>, Konstantin I. Agladze<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> ITMO University, Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>4</sup> CardioSystemPharma, Khimki, Moscow Region, Russian Federation

### Abstract

**Introduction:** Preservation of isolated hearts in cardioplegic solution at normothermia is a promising strategy for increasing the organ lifespan. Further development of this strategy and search for new products for solution delivery can help optimize the technology of donor heart transportation.

**Objective:** The study was aimed to test the efficacy of device for normothermic constant perfusion flow with innovative lines for the cardioplegic solution delivery (CardioSystemPharma, Khimki, Moscow Region, Russia) according to the Langendorff mode in comparison with a system based on nodes and tubes of Radnoti Langendorff

S.S. Bakumenko, E.A. Turchaninova, V.A. Tsvelaya  
Statistic analysis: S.D. Robustova, V.S. Kachan, D.V. Kononova, A.S. Yarovoy, M.A. Gusev, V.V. Litvinenko, V.D. Dzhabrailov, A.A. Brichagina, Z.V. Obrazumova, S.D. Chekalina, S.S. Bakumenko, E.A. Turchaninova  
Drafting the article: S.D. Robustova, V.S. Kachan, D.V. Kononova, Z.V. Obrazumova, E.A. Turchaninova, V.A. Tsvelaya  
Critical revision of the article: S.D. Robustova, E.A. Turchaninova, V.A. Tsvelaya, K.I. Agladze  
Final approval of the version to be published: S.D. Robustova, V.S. Kachan, D.V. Kononova, A.S. Yarovoy, M.A. Gusev, V.V. Litvinenko, V.D. Dzhabrailov, A.A. Brichagina, Z.V. Obrazumova, S.D. Chekalina, E.A. Turchaninova, S.S. Bakumenko, M.S. Nosov, A.K. Berezhnoy, V.A. Kozlov, V.A. Tsvelaya, K.I. Agladze

#### ORCID

S.D. Robustova, <https://orcid.org/0009-0004-5744-2325>  
V.S. Kachan, <https://orcid.org/0009-0004-1599-6119>  
D.V. Kononova, <https://orcid.org/0009-0002-7631-2126>  
A.S. Yarovoy, <https://orcid.org/0009-0003-4777-6228>  
M.A. Gusev, <https://orcid.org/0009-0004-7842-1283>  
V.V. Litvinenko, <https://orcid.org/0009-0002-8960-0039>  
V.D. Dzhabrailov, <https://orcid.org/0009-0004-7154-386X>  
A.A. Brichagina, <https://orcid.org/0009-0005-6673-3201>  
Z.V. Obrazumova, <https://orcid.org/0009-0002-3932-1066>  
S.D. Chekalina, <https://orcid.org/0009-0001-3255-3369>  
E.A. Turchaninova, <https://orcid.org/0009-0003-8165-2595>  
S.S. Bakumenko, <https://orcid.org/0009-0001-7156-5215>  
M.S. Nosov, <https://orcid.org/0009-0003-2694-582X>  
A.K. Berezhnoy, <https://orcid.org/0000-0001-8484-6510>  
V.A. Kozlov, <https://orcid.org/0009-0002-0349-0562>  
V.A. Tsvelaya, <https://orcid.org/0000-0002-3554-9736>  
K.I. Agladze, <https://orcid.org/0000-0002-9258-436X>

© 2024 Robustova et al.



Constant Perfusion Flow Apparatus (ADInstruments, Colorado Springs, USA) in a series of experiments on rat hearts.

**Methods:** The innovative cardioplegic delivery system (CardioSystemPharma) and traditional perfusion system (Radnoti) were compared in experiments on rat hearts at normothermia without cardioplegic solution and using the cardioplegic solution Normacor (Mosfarm, Moscow Region, Russia). The time until complete cardiac arrest and the changes in the NADH coenzyme fluorescence were recorded. After cardiac arrest, immunohistochemical staining of ventricular sections was performed to detect myocardial injury during perfusion.

**Results:** It was shown that the innovative cardioplegic delivery system was not inferior to the traditional perfusion system (Radnoti) and even surpassed it in terms of the time duration for preservation of the isolated heart. It was found that the using of elevated glucose concentration during normothermic perfusion could significantly increase the organ lifespan. The efficacy of normothermic perfusion in the experiment was confirmed by monitoring cellular respiration through recording the NADH fluorescence.

**Conclusion:** Testing showed that long-term preservation under normothermia with usage of an innovative delivery system of Russian manufacture is a promising replacement for Radnoti solution delivery system.

**Keywords:** Cardioplegic Solutions; Heart Arrest, Induced; Heart Transplantation; Ischemia; NAD; Perfusion; Rats

## Введение

Согласно оценке Всемирной организации здравоохранения, сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности взрослого трудоспособного населения: ежегодно от них умирает 17,9 млн человек. Крайняя мера в случаях тяжелых патологий, не поддающихся медикаментозному лечению и приводящих к сердечной недостаточности, — операция по трансплантации донорского сердца [1]. По статистике американского реестра по донорству и трансплантации OPTN (англ. Organ Procurement and Transplantation Network), каждые 10 мин лист ожидания операции пополняется новым пациентом, однако число операций по трансплантации сердца остается прежним [2]. Ежегодно в США проводят около 2 400 таких вмешательств. В России в 2019 г. было выполнено 337 пересадок сердца, при этом лист ожидания состоял из 900 потенциальных реципиентов. Средний срок ожидания

донорского сердца в России составляет 2,9 года, но с каждым годом количество потенциальных реципиентов увеличивается примерно в 2 раза [3]. Улучшения требует как технология пересадки сердца, до сих пор сопряженная с рисками, так и методы транспортировки, мониторинга состояния и хранения донорских органов [4].

Стандартной стратегией сохранения донорского сердца является холодовая ишемия, то есть сохранение при гипотермии. Донорское сердце промывают консервационным раствором *in vivo*, быстро отделяют от донора и хранят в холодном физиологическом растворе или консервационном промывочном растворе при 4 °C [5]. Эта методика наиболее часто применяется в клинической практике и дает стабильные результаты. Однако существенные недостатки стратегии — короткое время хранения и транспортировки органа (4–6 ч) и возможность оценки его состояния только методами *in*

*vivo* — стимулируют проведение новых исследований и внедрение инновационных разработок в данной области.

Машинная перфузия *ex vivo*, впервые выполненная в 2014 г. в больнице Святого Винсента (Сидней, Австралия), позволяет быстро реанимировать органы и оценивать их функциональность до трансплантации [6; 7]. Система сохранения сердца получила название Organ Care System Heart (TransMedics, Inc., Андовер, США) и активно используется в некоторых клиниках США. В ней применяется комбинация донорской крови и запатентованного раствора в качестве перфузата для сердца при легкой гипотермии (34 °C), почти при нормотермии (37 °C).

Для нормотермической перфузии необходимо использовать кровь и (или) растворы особого состава, чтобы поддерживать постоянное давление, содержание газов и температуру. Система позволяет оценивать физиологические параметры: гематокрит, сатурацию артериальной крови кислородом, аортальный кровоток, аортальное давление, коронарный поток и температуру. Для сохранения сердца также проводятся рутинные измерения содержания газов в крови, включая исследование уровня лактата. К сожалению, как и прежде, эти параметры невозможно измерять постоянно, и в целом они не дают точной оценки функциональности и степени ишемии органа непосредственно при сохранении. Поэтому показателями функциональности могут быть только непосредственное состояние органа до трансплантации, характерное время сохранения и параметры до сохранения — как при нормо-, так и при гипотермии [8]. По сути, преимущество нормотермической перфузии заключается в ее способности дольше сохранять сердце и быстрее выводить его из состояния сохранения, что позволяет врачу оценить функциональность донорского органа непосредственно перед трансплантацией. Но способность нормотермии дольше сохранять донорское сердце окончательно не доказана.

Для исследования длительности сохранения сердца при нормотермии с различными условиями подачи cardiopleгического раствора мы провели тестирование систем нормотермической перфузии.

Цель исследования — определить эффективность нормотермической перфузии с постоянным потоком для длительного сохранения сердца по методу Лангендорфа с помощью системы на основе инновационных магистралей для подачи cardiopleгических растворов АО «КардиоСистемФарма» (Химки, Московская область, Россия; далее — АО «КСФ») в сравнении с системой на ос-

нове узлов и трубок Radnoti (ADInstruments, Колорадо-Спрингс, США) в серии экспериментов на крысиных сердцах.

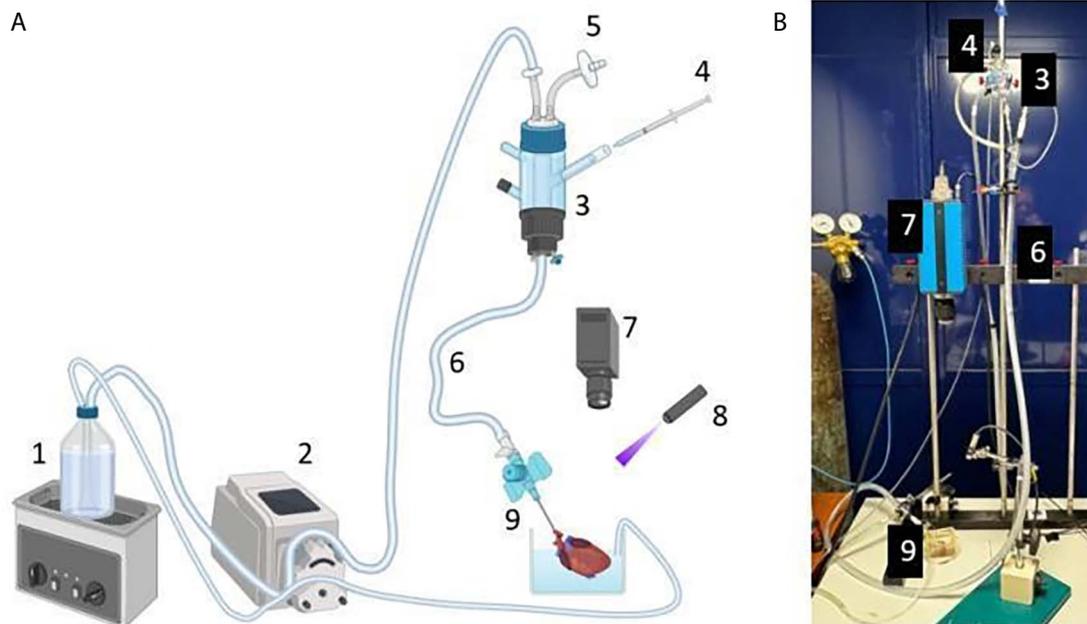
## Методы

Все манипуляции с животными проводили в соответствии с рекомендациями по вопросам этики и благополучия животных Международной ассоциации редакторов ветеринарных журналов (International Association of Veterinary Editors, IAVE), Хельсинкской декларацией в интересах животных и руководством Национальных институтов здравоохранения США по содержанию и использованию лабораторных животных. Протокол исследования одобрен Институциональной комиссией по уходу и использованию животных Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М.Ф. Владимирского (протокол № 7 от 18 апреля 2024 г.) и Временной комиссией по процедурам содержания и исследования животных Научного центра по жизни Московского физико-технического института (протокол № А2-2012-09-02 от 4 марта 2024 г.). Исследование проводили с 13 мая по 30 сентября 2024 г. в Московском физико-техническом институте и Московском областном научно-исследовательском клиническом институте им. М.Ф. Владимирского.

### Установки для экспериментальной перфузии

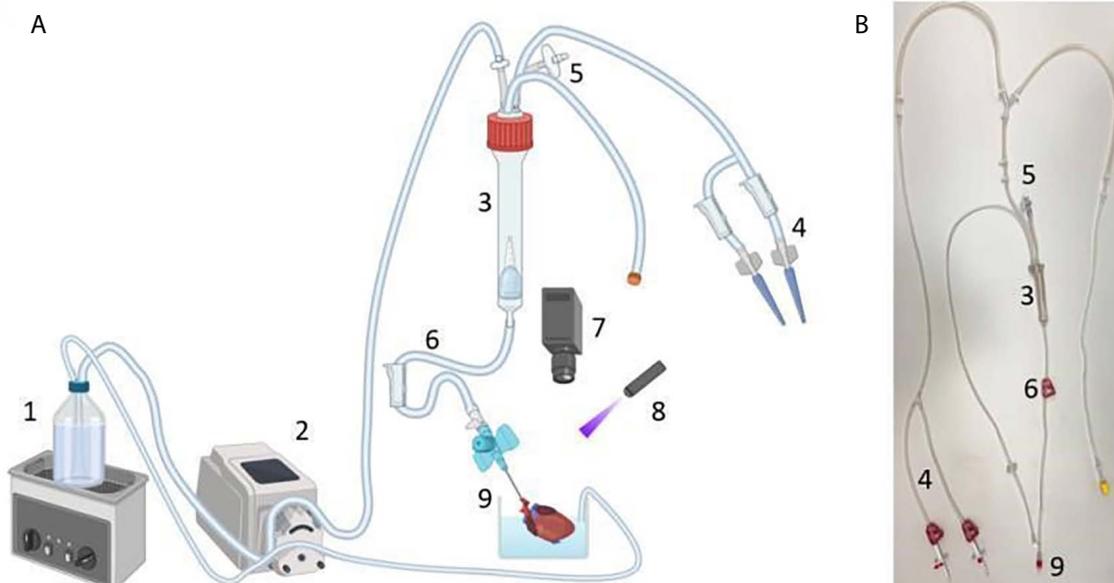
В эксперименте тестировали систему перфузии по Лангендорфу с постоянным потоком на основе узлов и трубок Radnoti и систему с инновационными магистральями для подачи cardiopleгических растворов АО «КСФ».

Устройство системы перфузии было аналогичным для обеих установок. Использовали общие элементы: емкость с раствором, заменяющим кровь (раствор солей Тироде); оксигенатор Cole-Parmer (Вернон-Хиллз, США); водяную баню с нагревом Polystat Standard (6,5 л, 150 °C, 115 В АС/60 Гц) (Cole-Parmer, Вернон-Хиллз, США), подогревающую раствор для перфузии до 37 °C; насос Masterflex L/S с цифровым приводом (600 об/мин, 115/230 В АС) с головкой Masterflex L/S Easy-Load II, ротором из нержавеющей стали, двухканальный (Cole-Parmer, Вернон-Хиллз, США); камеру для погружения сердца из полидиметилсилоксана. Насос прокачивал оксигенированный раствор солей Тироде со скоростью 1,5 мл/мин, далее жидкость шла через капельный узел установки. После узла раствор солей Тироде через канюлю поступал в подвешенное по Лангендорфу сердце, давление на этом уровне



**Рис. 1.** Экспериментальная установка с системой перфузии Radnoti: схема (А); фото (В)

*Примечание.* 1 — водяная баня с нагревом Polystat Standard 6,5 л с емкостью, наполненной оксигенированным раствором для перфузии, 2 — насос Masterflex L/S с цифровым приводом, 3 — капельный узел, 4 — выход для подачи кардиоплегического раствора, 5 — клапан для спуска воздуха и выравнивания давления, 6 — трубка соединительная, 7 — видеокамера PCO.1200hs со светофильтром 450/58 из светового куба Olympus BX76, 8 — светодиод НАМАМАТСУ LC-L2 с длиной волны 365 нм, 9 — камера для погружения сердца из полидиметилсилоксана.



**Рис. 2.** Экспериментальная установка с магистралями АО «КардиоСистемФарма»: схема (А); фото (В)

*Примечание.* 1 — водяная баня с нагревом Polystat Standard 6,5 л с емкостью, наполненной оксигенированным раствором для перфузии, 2 — насос Masterflex L/S с цифровым приводом, 3 — узел капельный асимметричный с фильтром крови и крышкой трехпортовой в сборе (Haemotronic S.p.A., Мирандола, Италия), 4 — выходы для подачи кардиоплегических растворов, 5 — кран трехходовой (Haemotronic S.p.A.), 6 — трубки соединительные из поливинилхлорида пластифицированного медицинского экструзионного (RB 4), 7 — видеокамера PCO.1200hs со светофильтром 450/58 из светового куба Olympus BX76, 8 — светодиод НАМАМАТСУ LC-L2 с длиной волны 365 нм, 9 — камера для погружения сердца из полидиметилсилоксана.

составляло 1 000 мм водного столба, что находится в пределах оптимального значения для перфузии крысиного сердца [9]. Орган в обоих случаях полностью погружали в ванну с раствором солей Тироде температуры 35–37 °С. Температуру жидкости в ванне измеряли перед началом каждого эксперимента и далее поддерживали неизменной. Избыточная жидкость из ванны возвращалась в емкость для оксигенации на водяной бане через насос. Капельный узел в обоих случаях дополняли трубки и клапаны: для спуска воздуха, выравнивания давления и ввода кардиopleгии.

Схема системы перфузии на основе узлов и трубок Radnoti представлена на рис. 1, схема системы на основе магистралей АО «КСФ» — на рис. 2. Двумя основными отличиями системы магистралей от стандартных систем подачи кардиopleгии и перфузии, в том числе Radnoti, являются сетчатый фильтр крови в капельном узле и трубки из пластифицированного медицинского экструзионного поливинилхлорида (класс безопасности RB 4, соответствующий USP (англ. United States Pharmacopeia) классу VI). Переходники в системе изготовлены из поликарбоната и поливинилхлорида. Сертифицированные для перфузии сердца в трансплантологии трубки Radnoti Silicone Tubing (Radnoti, ADInstruments, Ко-

лорадо-Спрингс, США), используемые в соответствующей установке, также имеют медицинскую спецификацию L-T-790B, тип 1, но в среднем обладают меньшей толщиной стенок. Они и переходники выполнены из политетрафторэтилена и полимера Тугон для внешних рубашек.

Все трубки были стерильны и распакованы непосредственно перед началом эксперимента.

### Экспериментальный протокол перфузии сердца

Эксперимент проводили с использованием 9 крыс линии Wistar, распределенных в 5 групп. Выполнили сравнение систем АО «КСФ» и Radnoti без добавления кардиopleгического раствора «Нормакор» (ООО «Мосфарм», Московская область, Россия), сравнение указанных систем с добавлением раствора «Нормакор», а также эксперимент контрольного образца. Деление на группы описано ниже.

Группа I, n = 2	АО «КСФ» без кардиopleгии
Группа II, n = 2	Radnoti без кардиopleгии
Группа III, n = 2	АО «КСФ» с кардиopleгией
Группа IV, n = 2	Radnoti с кардиopleгией
Группа V, n = 1	Контроль без перфузии

Табл. 1. Состав использованных растворов

Показатель	Раствор солей Тироде (нормальный)	Раствор солей Тироде (повышенная глюкоза)	Кардиopleгический раствор «Нормакор», раствор № 1 (высококальциевый)
Коммерческий продукт-основа	Sigma-Aldrich, номер продукта T2145, модиф.	Sigma-Aldrich, номер продукта T2145, модиф.	ООО «Мосфарм», рег. уд. № ЛП003689
NaCl, г/л	8,0	8,0	–
KCl, г/л	0,4	0,4	7,450
CaCl <sub>2</sub> (безвод.), г/л	0,2	0,2	–
MgCl <sub>2</sub> (безвод.), г/л	0,1	0,1	–
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (безвод.), г/л	0,05	0,05	–
NaHCO <sub>3</sub> , г/л	1,0	1,0	–
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O, г/л	–	–	2,34
D-глюкоза, г/л	1,0	4,5	–
Маннитол, г/л	–	–	35,9
Трометамол, г/л	–	–	0,5
HEPES (Gibco, Thermo Fisher Scientific Inc., Уолтем, США, номер продукта 15-630-080), ммоль/л	1	1	–
Гепарин (ООО «Эллара», Москва, Россия, рег. уд. № ЛП-002955), МЕ/мл	50*	50*	–
НСI		доведение pH	
pH	7,2	7,2	7,6–8,0

Примечание. \* — гепарин добавляли только в растворы для промывания сердца до подключения к перфузионной установке.

Всех крыс, включая контроль, анестезировали изофлураном с кислородом на установке R500 (RWD Life Science, Шугар-Ленд, США) для анестезии малых животных и умерщвляли путем цервикальной дислокации. После извлечения сердца промывали теплым раствором солей Тироде с гепарином в концентрации 50 МЕ/мл, введенную в аорту канюлю 16G фиксировали нитью. Все сердца перфузировали по Лангендорфу до полной остановки, анализировали общее время сохранения, степень повреждения органа по окончании эксперимента, регистрировали метаболический статус на протяжении всего времени перфузии.

Использовали следующие основные растворы: раствор солей Тироде с уровнем глюкозы 1 г/л (нормальный) или 4,5 г/л (повышенный); раствор кардиоплегический «Нормакар»; 4% раствор параформальдегида (Sigma-Aldrich, Сент-Луис, США, номер продукта 158127) (табл. 1). Оксигенированный раствор солей Тироде использовали в качестве заменителя крови, для лучшего соответствия физиологических параметров повышали содержание ионов калия до 5,4 ммоль/л относительно стандартного состава. Это распространенная методика сохранения сердец мелких животных: морских свинок, кроликов и крыс [10].

Рассмотрим экспериментальные протоколы перфузии сердца для групп I–V.

*Протокол эксперимента для групп I, II (рис. 3):*

1. После фиксации на канюле и промывки теплым раствором солей Тироде сердце подключали к установке для перфузии (группа I — АО «КСФ», группа II — Radnoti). Общий объем циркулирующего раствора солей Тироде составлял 300 мл. В ходе эксперимента фиксировали общее время перфузии органа с момента подключения к установке до полной остановки сердца.

2. Во время перфузии визуально фиксировали наличие спонтанных сокращений желудочков и предсердий, а также вели видеорегистрацию автофлуоресценции никотинамидадениндинуклеотида.

3. Через 8 ч после начала эксперимента проводили кратковременные остановки перфузии длительностью 2–5 мин с периодичностью 1–2 ч, чтобы исключить вероятность того, что наблюдаемые визуально сокращения являются результатом перистальтики насоса, а также смоделировать кратковременную ишемию.

4. Перфузию с периодическими остановками продолжали до прекращения спонтанных сокращений. После этого при постоянной перфузии про-

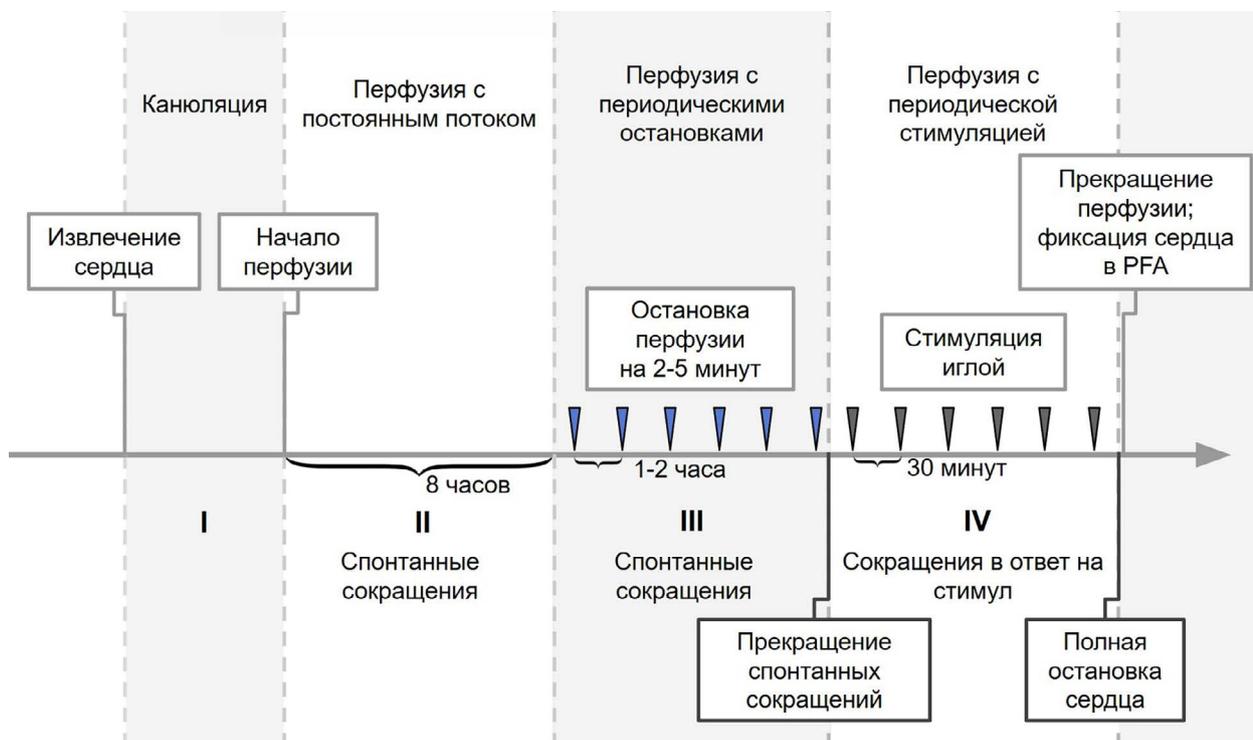


Рис. 3. Схема эксперимента для групп I и II

Примечание. PFA — параформальдегид.

водили периодическую механическую стимуляцию сердца нажатием тупой поверхностью стальной иглы и электрическую стимуляцию. В случае если в ответ на стимуляцию наблюдалось сокращение миокарда, перфузию продолжали.

5. После исчезновения ответа на механическую стимуляцию эксперимент считали завершенным, производили остановку перфузии, орган фиксировали в параформальдегиде.

*Протокол эксперимента для групп III, IV (рис. 4):*

1. После фиксации на канюле и промывки теплым раствором солей Тироде через шприц, подсоединенный к канюле, вводили в сердце 5 мл кардиоплегического раствора «Нормакор». Подключали к установке перфузии с общим объемом циркулирующего раствора солей Тироде 300 мл. Фиксировали общее время перфузии с момента подключения сердца к установке до его полной остановки.

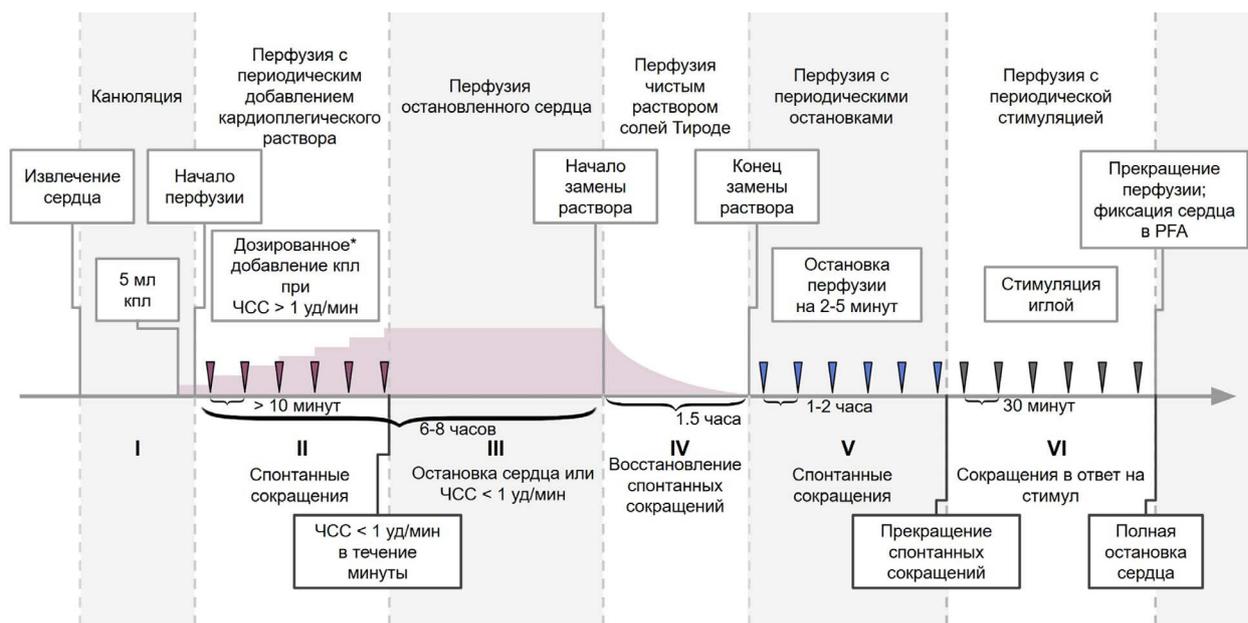
2. Дозированно добавляли кардиоплегический раствор «Нормакор» непосредственно в капельный узел перфузионной установки, так как точная дозировка данного раствора, необходимая для остановки крысиного сердца, неизвестна. Режим дозирования выбирали с учетом объема капельного узла установки, чтобы не превысить соотношение 1:4 объема кардиоплегического раствора к объему раствора солей Тироде в капельном узле. Объемы

капельных узлов систем АО «КСФ» и Radnoti составляют 25 и 5 мл соответственно, поэтому объемы добавленного кардиоплегического раствора в группах III и IV не превышали 5 и 1 мл соответственно. Следующее добавление производили, если с момента предыдущего прошло не менее 10 мин и частота сердечных сокращений была выше 1 уд/мин.

3. При частоте сердечных сокращений менее 1 уд/мин прекращали добавлять кардиоплегический раствор. Перфузию продолжали до 8 ч с момента канюляции при полном отсутствии видимых сокращений или до исчезновения сокращения, если на фоне кардиopleгии наблюдалось уменьшение частоты сердечных сокращений до 1 уд/мин и ниже.

4. По истечении 8 ч производили отмывку от кардиopleгии раствором солей Тироде. Для этого трубку для забора раствора солей Тироде перемещали в новую емкость с 300 мл нормального раствора солей Тироде. Спустя 90 мин после начала отмывки в новую емкость с раствором солей Тироде перемещали сливную трубку и возобновляли рециркуляцию раствора.

5. Если после отмывки сердце начинало снова сокращаться, перфузию продолжали до его полной остановки. Раз в 1–2 ч производили остановку перфузии не более чем на 5 мин для детекции спонтанных сокращений аналогично п. 3 протокола для групп I и II.



**Рис. 4.** Схема эксперимента для групп III и IV

*Примечание.* Кпл — кардиоплегический раствор «Нормакор»; ЧСС — частота сердечных сокращений; PFA — параформальдегид; \* — по 2–5 мл в группе III и по 0,5–1,0 мл в группе IV (объемы капельных узлов 25 и 5 мл соответственно).

6. После прекращения спонтанных сокращений аналогично п. 4 протокола для групп I и II проводили периодическую механическую и электрическую стимуляцию.

7. После исчезновения ответа на стимуляцию эксперимент считали законченным, производили остановку перфузии, орган фиксировали в параформальдегиде.

#### *Протокол эксперимента для группы V:*

1. После извлечения сердца канюлировали и промывали теплым раствором солей Тироде с гепарином в концентрации 50 МЕ/мл.

2. Фиксировали орган в параформальдегиде.

#### **Автофлуоресценция никотинамидадениндинуклеотида**

Проводили мониторинг клеточного дыхания путем видеорегистрации флуоресценции кофермента никотинамидадениндинуклеотид (NADH, восстановленная форма) — метода оптической биопсии, который в том числе применяется для оценки состояния миокарда [11–14]. С момента начала перфузии и до полной остановки сердца проводили детекцию автофлуоресценции NADH в ткани, возбуждаемой светодиодом LC-L2 (HAMAMATSU, Ивата, Япония) с длиной волны 365 нм при постоянном облучении потоком с 18% мощностью от 100 %, составляющей 360 мВт/см<sup>2</sup>. Осуществляли съемку камерой PCO.1200hs (Excelitas Technologies Corp., Питтсбург, США) со светофильтром 450/58 из светового куба VX76 (Olympus, Токио, Япония), частота 2 кадра в секунду. Для калибровки порога критической ишемии использовали дополнительный пул животных.

#### **Иммуногистохимическое окрашивание**

Поперечные срезы желудочков зафиксированных сердец толщиной 60 мкм делали с помощью криотома Shandon FE (Thermo Fisher Scientific, Уолтем, США). Срезы окрашивали на F-актин (Alexa Fluor 488 Phalloidin, Molecular Probes, Thermo Fisher Scientific, номер продукта A12379),  $\alpha$ -актинин (mouse anti- $\alpha$ -actinin, Sigma-Aldrich, номер продукта A7811 + goat anti-mouse Alexa Fluor 594, Sigma-Aldrich, номер продукта SAB4600105) и DAPI (Thermo Fisher Scientific, номер продукта D1306). Фотографии срезов делали с помощью камеры конфокального микроскопа LSM 710 (Carl Zeiss AG, Оберкохен, Германия) и программного обеспечения Zen black 3.0 (Carl Zeiss AG).

#### **Обработка данных**

Обработку изображений с конфокального микроскопа производили в программах Zen и ImageJ. Карты преобразования Фурье создавали с помощью встроенной функции ImageJ. Обработку картирования NADH проводили с использованием программ Wolfram Mathematica 9 (Wolfram Research, Шампейн, США), Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Редмонд, США) и Image J.

#### **Статистический анализ**

Сравнение проводили между объединенными экспериментальными группами: I и III (перфузия в системе АО «КСФ») против II и IV (перфузия в системе Radnoti). Если какие-то эффекты регистрировали внутри объединенных групп, их отмечали отдельно.

Для оценки различия между двумя выборками использовали U-критерий Манна – Уитни. Для его применения составили единый ранжированный список из обеих выборок, затем разделили на два, состоящих соответственно из единиц первой и второй выборок, отдельно просуммировали ранги разных выборок. Значение U-статистики Манна – Уитни определили по формуле:

$$U = \min \{U_1; U_2\}.$$

Выполнив все вычисления, проверили справедливость нулевой (альтернативной) гипотезы. Выявили различие между системами Radnoti и АО «КСФ», что доказывает отсутствие случайности в выявленном преимуществе второй системы над первой.

#### **Результаты**

##### **Нормотермическая перфузия без кардиopleгии**

Согласно протоколу осуществляли перфузию без добавления кардиоплегического раствора. Сердца под номерами 1 и 4 (группа II) перфузировали с помощью системы Radnoti, сердца 2 и 3 (группа I) — с помощью системы магистралей АО «КСФ». Для сердец 2 и 4 использовали раствор солей Тироде с повышенным содержанием глюкозы. Раствор солей Тироде имеет ионный состав и химические элементы, соответствующие составу крови, и является ее временной заменой в условиях лабораторных экспериментов. Во время перфузии раствор постоянно оксигенировали. В случае сомнений в функциональности сохраняемого с помощью одной из систем сердца орган механически

Табл. 2. Общее время сохранения сердец в зависимости от условий их сохранения

№ сердца	Группа	Повышенный уровень глюкозы	Введенная кардиоплегия, мл	Система Radnoti	Система АО «КардиоСистем-Фарма»	Время канюляции, мин	Общее время сохранения
1	II	-	-	+	-	20	6 ч 1 мин
2	I	+	-	-	+	15	8 ч 42 мин*
3	I	-	-	-	+	15	11 ч 39 мин
4	II	+	-	+	-	14	7 ч 4 мин
5	III	-	15	-	+	22	13 ч 47 мин
6	III	-	29	-	+	15	22 ч 32 мин
7	IV	-	11	+	-	11	15 ч
8	IV	-	11,5	+	-	6	12 ч 8 мин

Примечание. \* — контроль, фиксацию провели до исчезновения спонтанных сокращений.

или электрически стимулировали; при получении постоянного ответа и наблюдении самостоятельных сокращений без перфузии продолжали эксперимент.

Фиксировали время канюляции сердца, начала перфузии, остановок перфузии для проверки функциональности, регистрации полной остановки сердца. В табл. 2 представлены результаты серий экспериментов. В случае нормотермической перфузии без добавления кардиоплегического раствора (сердца 1–4) при перфузии в системе магистралей АО «КСФ» сердца сохранялись дольше, чем в системе Radnoti. При использовании нормального раствора солей Тироде для системы Radnoti получили значение 6 ч 1 мин, для системы АО «КСФ» — 11 ч 39 мин. В среднем сердца были стабильнее при использовании раствора солей Тироде с повышенным содержанием глюкозы по сравнению с нормальным. При повышенном содержании глюкозы длительность сохранения в системе магистралей АО «КСФ» была выше, чем в системе Radnoti (8 ч 42 мин против 7 ч 4 мин соответственно).

### Нормотермическая перфузия с кардиоплегией

Проводили нормотермическую перфузию раствором солей Тироде с добавлением кардиоплегического раствора для систем АО «КСФ» (группа III) и Radnoti (группа IV). В качестве кардиоплегии в систему перфузии вводили препарат «Нормагор» согласно инструкции по применению в случаях трансплантации, далее препарат циркулировал вместе с перфузатом. С помощью системы Radnoti сохраняли сердца 7 и 8, с помощью системы магистралей АО «КСФ» — сердца 5 и 6 (табл. 2). В среднем

при добавлении кардиоплегии в условиях нормотермии сердца сохранялись более 8 ч, при этом, как и в группах без кардиоплегии, в среднем органы сохранялись дольше при использовании системы магистралей АО «КСФ».

Рассчитали значения времени сохранения сердца при перфузии с помощью системы Radnoti ( $n = 4$ , среднее значение 603 мин, медиана 576 мин, стандартное отклонение 255 мин) и с помощью системы магистралей АО «КСФ» ( $n = 4$ , среднее значение 850 мин, медиана 763 мин, стандартное отклонение 357 мин) с кардиоплегией и без нее. Средние значения представлены на рис. 5. С использованием этих значений протестировали две статистические гипотезы, чтобы оценить достаточность выборки. Поскольку выборки не подчиняются нормальному распределению, применили однонаправленный тест Манна – Уитни. Сформулировали нулевую гипотезу: распределения обеих объединенных групп неодинаковы, при этом медиана группы Radnoti больше медианы группы АО «КСФ». Значение  $p$ -value для такой гипотезы 0,843, из чего можно предположить, что перфузия с помощью системы магистралей АО «КСФ» не уменьшает время сохранения сердца по сравнению с перфузией в системе Radnoti. При этом и медианные, и средние значения времени сохранения увеличиваются при использовании системы магистралей АО «КСФ», то есть, если группы поменять местами, то  $p$ -value падает в 4 раза. Следовательно, вероятность того, что преимущество использования системы магистралей АО «КСФ» для сохранения не случайно, значительно выше. Размер выборки не позволяет статистически охарактеризовать количественные изменения, но качественно показывает их общую значимую тенденцию.

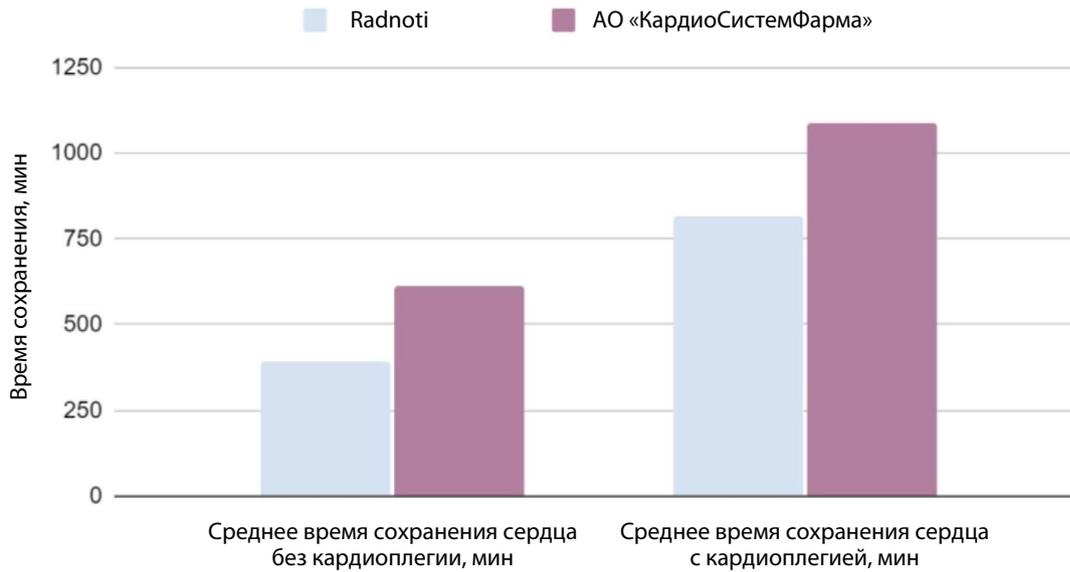


Рис. 5. Среднее время сохранения сердца с помощью систем подачи растворов Radnoti (группы II, IV) и АО «КардиоСистемФарма» (группы I, III)

### Контроль клеточного дыхания при длительном сохранении сердец

На протяжении всех экспериментов для контроля ишемии органа осуществляли видеорегистрацию автофлуоресценции NADH. Кофермент NADH характеризует клеточное дыхание и является маркером ишемии, что подтверждается рядом статей [11; 15]; методика детектирования была аналогична данным работам. NADH должен увеличиваться в условиях ишемии, что мы и наблюдали локально при временном выключении перфузии и проверке собственной сократительной активности сердца (рис. 6–8). Как общую тенденцию мы отмечали постепенное снижение общего количества NADH, которое обуслов-

лено выгоранием самого кофермента под действием ультрафиолета.

При потере функциональной активности, то есть утрате способности к спонтанным сокращениям и сокращениям в ответ на стимул, в условиях длительного сохранения наблюдалось резкое падение уровня фермента, обусловленное постепенной гибелью клеток в условиях ишемии и уменьшением компенсаторного механизма восстановления NADH. Поэтому мы оценивали повреждение органа по степени падения уровня флуоресценции NADH. В контроле при длительном сохранении сердца без зарегистрированного прекращения собственной сократительной активности органа зафиксировали

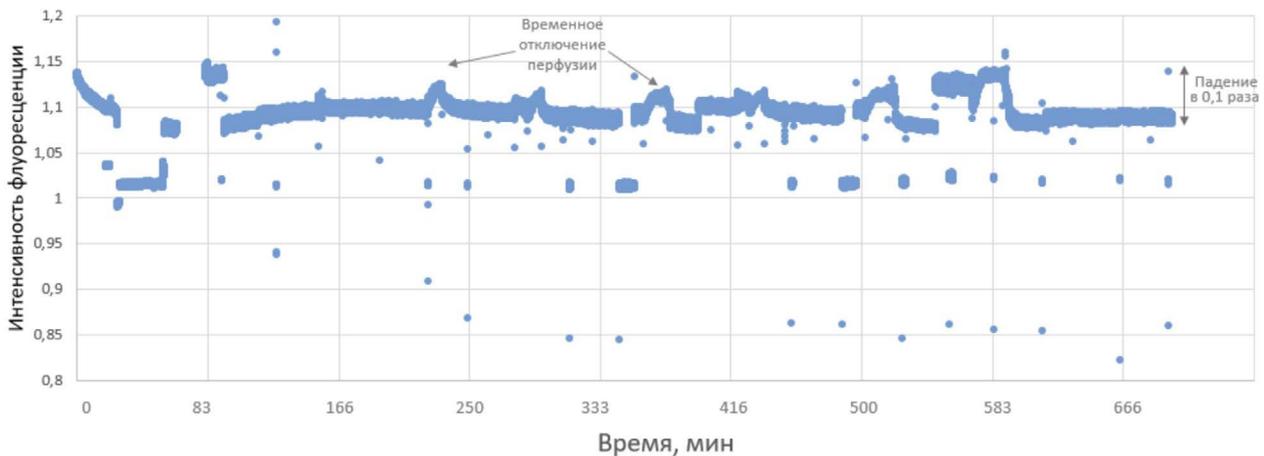
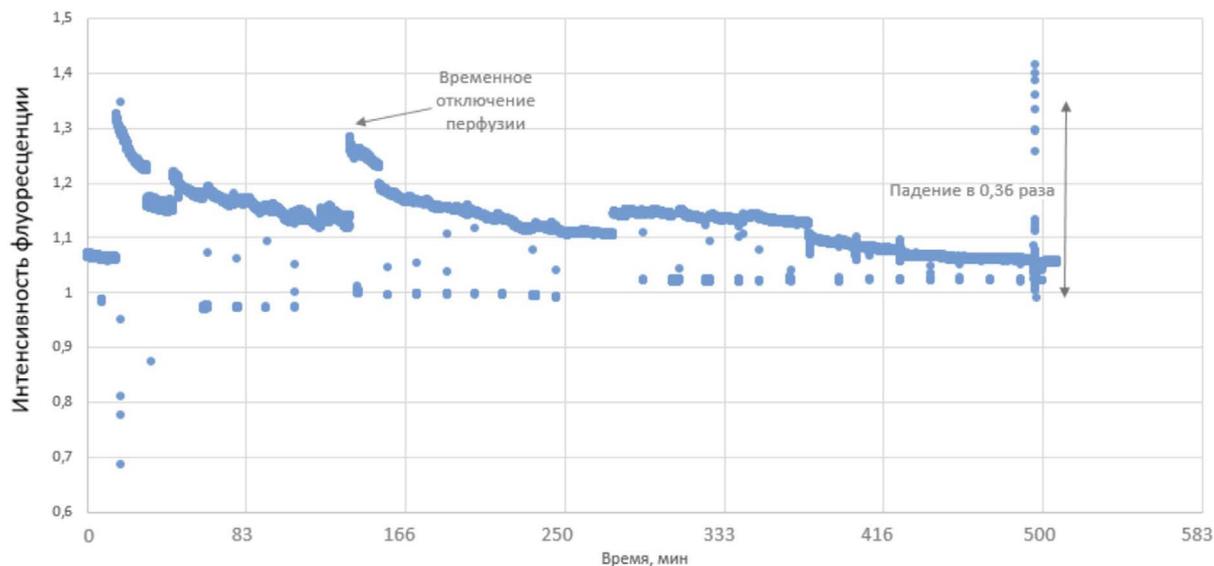


Рис. 6. Сигнал автофлуоресценции кофермента никотинамидадениндинуклеотид во время перфузии с помощью системы магистралей АО «КардиоСистемФарма» в случае контроля (сердце № 2 с сохранной сократительной функцией до фиксации в параформальдегиде)



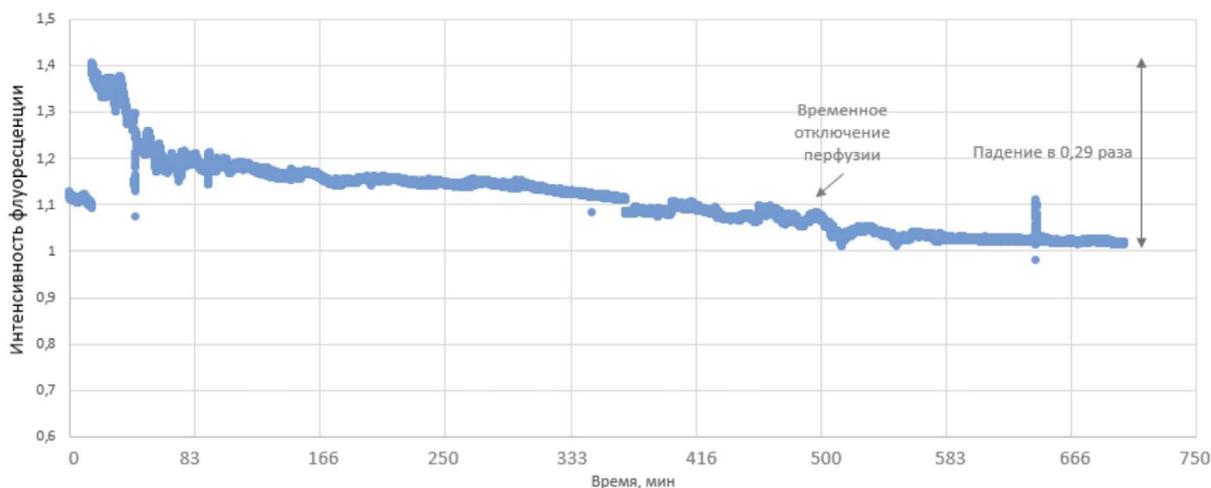
**Рис. 7.** Сигнал автофлуоресценции кофермента никотинамидадениндинуклеотид с начала длительного сохранения с помощью системы Radnoti в случае зарегистрированной полной остановки сердца — потери сократительной активности органа и отсутствия таковой в ответ на механический и электрический стимул

крайне малое общее снижение уровня флуоресценции NADH — в 0,1 раза (рис. 6).

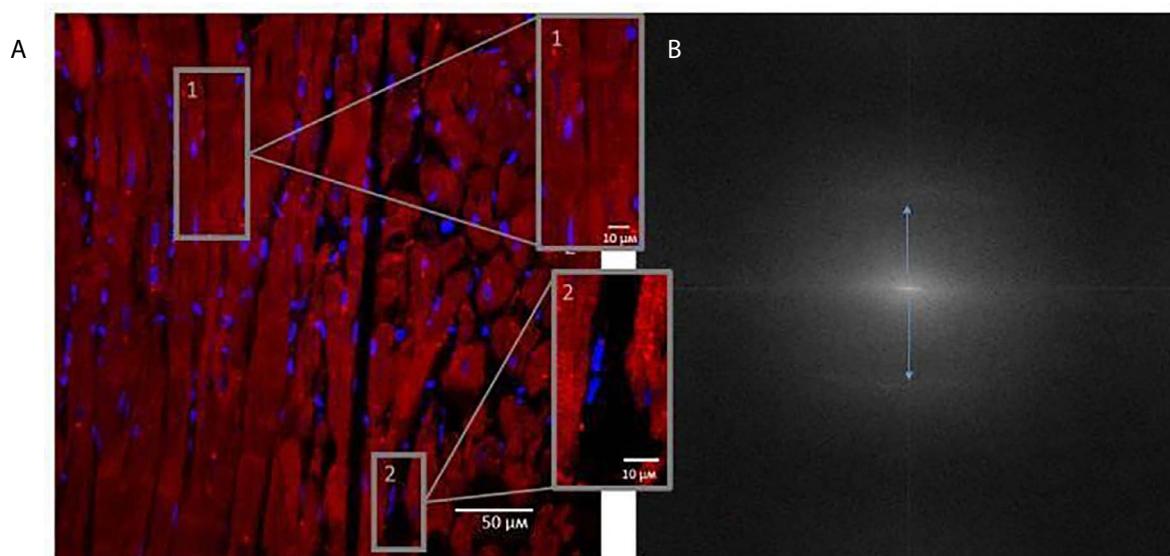
При сравнении данных сигнала автофлуоресценции NADH в контрольном случае, когда собственные сокращения сердца не прекратились, с данными о зарегистрированном прекращении спонтанной сердечной активности при длительном сохранении выявили, что падение уровня сигнала всегда в таких условиях было больше чем в 0,25 раза. Это значение, помимо отсутствия спонтанных сокращений, служило показателем того, что сердце потеряло функциональность. Пример такой регистрации зависимости сигнала автофлуоресценции от времени

в случае длительного сохранения с помощью системы Radnoti представлен на рис. 7. Падение в приведенном случае составляло 0,36 раза.

При сравнении кривых сигнала автофлуоресценции от времени длительного сохранения с помощью обеих установок обнаружили, что, несмотря на длительную ишемизацию, в среднем падение уровня сигнала автофлуоресценции при использовании системы магистралей АО «КСФ» было меньше. На рис. 8 представлен пример, где оно составляло 0,29 раза. При длительном сохранении с помощью этой системы пики в случае отключения перфузии имели менее явный характер.



**Рис. 8.** Сигнал автофлуоресценции кофермента никотинамидадениндинуклеотид с начала длительного сохранения с помощью системы магистралей АО «КардиоСистемФарма» в случае зарегистрированной полной остановки сердца



**Рис. 9.** Иммуногистохимическое окрашивание среза для контрольного сердца без перфузии (группа V) (A) с общим преобразованием Фурье для всей фотографии среза (B). Красным обозначен  $\alpha$ -актинин, синим — ядра с окраской на DAPI. Синие стрелки на картине преобразования Фурье показывают характерные для нормы полосы в виде гало, свидетельствующие о нормальной поперечной полосатости кардиомиоцитов в срезе

*Примечание.* 1 — увеличенная клеточная структура срезов с выраженной поперечной полосатостью, соответствующей норме, 2 — возможные участки фиброза, присутствующие в нормальной ткани сердца.

### Иммуногистохимический анализ тканей сердца после длительного сохранения

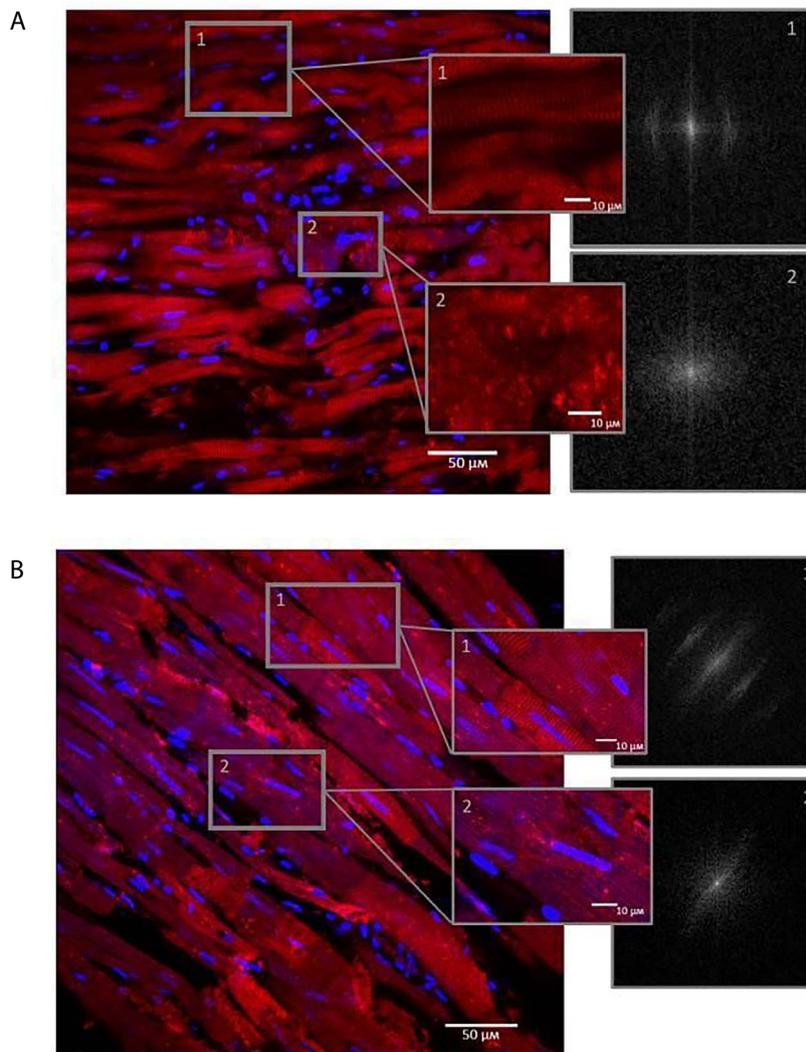
После каждого эксперимента и в контрольном случае без перфузии (группа V) сердца фиксировали в параформальдегиде. Для каждого эксперимента проводили иммуногистохимический анализ срезов органа согласно протоколу. Снимки изучали на предмет сохранения поперечно-полосатой структуры кардиомиоцитов. В контрольном случае зарегистрировали отчетливую поперечную полосатость с помощью окрашивания на  $\alpha$ -актинин (рис. 9), а также выявили незначительные участки фиброза. Для подтверждения сохранения поперечно-полосатой структуры осуществляли преобразование Фурье снимков конфокальной микроскопии образцов. В случае наличия поперечной полосатости на картине преобразования Фурье можно наблюдать характерные полосы в виде гало в направлении вытянутости цитоскелета кардиомиоцитов (по волокнам). При отсутствии таких полос можно регистрировать начало разрушения структуры цитоскелета, чаще всего связанного с ишемией.

При иммуногистохимическом исследовании срезов сердечной ткани после длительного сохране-

ния с помощью системы Radnoti подтвердили необратимые изменения в структуре сердечной ткани и выявили начальные разрушения структуры кардиомиоцитов (рис. 10, A). В ткани наблюдались значительные фиброзные изменения. При анализе срезов образцов системы магистралей АО «КСФ» также подтвердили необратимые изменения в структуре сердечной ткани и обнаружили начальные разрушения в структуре кардиомиоцитов (рис. 10, B), однако характер изменений цитоскелета был другим, разрушения — менее заметными, о чем свидетельствует и картина преобразования Фурье. В ткани выявили значительные фиброзные изменения.

### Обсуждение

В данной работе мы сравнили две установки для нормотермической перфузии по методу Лангендорфа: систему магистралей для подачи кардиоплегических растворов АО «КСФ» и систему на основе узлов и трубок Radnoti. Время сохранения сердца с помощью системы магистралей АО «КСФ» как с кардиоплегией, так и без нее качественно больше, чем с помощью системы Radnoti. В обеих объединенных группах на момент полной остановки сердца происходили необратимые изменения



**Рис. 10.** Изменение структуры кардиомиоцитов в срезе сердечной ткани, выявленное при иммуногистохимическом окрашивании после длительного сохранения с помощью систем подачи cardiopleгического раствора Radnoti (А); АО «КардиоСистемФарма» (В). Красным обозначен α-актинин, синим — ядра с окраской на DAPI

*Примечание.* 1 — увеличенная клеточная структура срезов с выраженной поперечной полосатостью, соответствующей норме. Преобразование Фурье для 1 показывает характерные для нормы кардиальной ткани полосы в виде гало, свидетельствующие о нормальной поперечной полосатости кардиомиоцитов в срезе; 2 — поврежденная структура кардиомиоцитов, характерная для начала их разрушения при длительной ишемии. Преобразование Фурье для 2 не демонстрирует полос, характерных для поперечной полосатости и нормальной структуры кардиальной ткани.

в структуре миокарда, установленные методом иммуногистохимического окрашивания. Также к моменту полной остановки сердца наблюдалось общее падение уровня флуоресценции кофермента NADH, свидетельствующее о гибели клеток в условиях ишемии и приводящее к нарушению компенсаторного механизма восстановления NADH.

Увеличение времени сохранения органа в системе магистралей АО «КСФ» можно объяснить двумя гипотезами. Первая — использование фильтра в капельном узле. Возможно, фильтр крови давал более равномерную оксигенацию ткани сердца в экспериментальной установке. Также он мог способствовать устранению мелких частиц, которые влияли на сохранение в системе Radnoti. Вторая гипотеза состоит в улучшенном сохранении тепла за счет материала трубок в системе магистралей. Описанные в данной работе материалы и конструкция маги-

стралей для подачи cardiopleгических растворов представлены впервые. Трубки в системе магистралей изготовлены из пластифицированного медицинского экструзионного поливинилхлорида (RB 4), имеющего более низкую теплопроводность в сравнении с политетрафторэтиленом, из которого сделаны трубки в системе Radnoti [16], что означает, что данный тип поливинилхлорида лучше сохраняет тепло. Считаем это ключевым фактором эффективности длительного сохранения крысиного сердца при использовании магистралей для подачи cardiopleгических растворов АО «КСФ».

### Ограничения

К ограничениям использованной методики как способа оценки пригодности систем перфузии для донорских органов следует отнести различия между модельным объектом (крысой) и человеком.

Из-за малого размера сердца для грызунов допустима перфузия кристаллоидными растворами (Тироде или Кребса – Гензелейта), так как они обеспечивают достаточное снабжение кислородом, однако для сердец крупных млекопитающих и человека этот и другие параметры отличаются. Сохранять такие сердца сложнее, например, Е.Е. Фесенко мл. и соавт. [17] упоминают, что сердце барана при перфузии раствором солей Тироде сокращалось от 10 до 30 мин, в то время как сердце крысы в аналогичном эксперименте при скорректированных параметрах продолжало сокращаться более 3 ч. Однако стоит отметить невозможность соотнести показатели времени сохранения органа для разных по размеру животных, а также тот факт, что данные о времени сохранения сердца крысы, приведенные Е.Е. Фесенко мл. и соавт., значительно отличаются от полученных нами (от 6 ч в группах I и II), что, скорее всего, свидетельствует об использовании указанным коллективом другой перфузионной установки.

Ряд аспектов использованной нами методики, а именно рециркуляция раствора, периодические остановки перфузии для моделирования ишемического повреждения, дозированное добавление кардиоплегического раствора, являются отступлениями от классической перфузии по Лангендорфу. Однако это не повлияло на выводы относительно основной цели работы — сравнение двух систем перфузии, — так как эксперименты для всех групп, кроме контрольной, проводили в одинаковых условиях.

Обнаруженная нами корреляция между повышением в перфузате уровня глюкозы (в том числе в экспериментах без кардиopleгии) и увеличением времени сохранения сердца может быть связана с выбранным базовым раствором: вместо считающегося эталонным раствора Кребса – Гензелейта (глюкоза 11 ммоль/л) мы использовали раствор солей Тироде с неоптимальной концентрацией (глюкоза 5,56 ммоль/л) [18].

## Заключение

Инновационные магистрали АО «КСФ» для перфузии и подачи кардиоплегических растворов не уступают системе на основе узлов и трубок Radnoti по времени сохранения сердца крысы при перфузии и увеличивают время сохранения органа. Дальнейшие исследования нормотермии и такие разработки, как тестируемые магистрали, помогут создать улучшенную систему транспортировки и хранения донорских органов.

## Список литературы / References

1. Beuth J., Falter F., Pinto Ribeiro R.V., Badiwala M., Meineri M. New strategies to expand and optimize heart donor pool: *ex vivo* heart perfusion and donation after circulatory death: a review of current research and future trends. *Anesth Analg.* 2019;128(3):406-413. PMID: 30531220. <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000003919>
2. Organ Procurement and Transplantation Network (OPTN) and Scientific Registry of Transplant Recipients (SRTR). OPTN/SRTR 2022 Annual Data Report. U.S. Department of Health and Human Services, Health Resources and Services Administration; 2024. Accessed 7.10.2024.
3. Жульков М.О., Фомичев А.В., Альсов С.А., Кливер Е.Н., Чернявский А.М. Современное состояние проблемы и результаты *ex vivo* перфузии донорских сердец. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2019;21(4):143-146. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2019-4-143-146>  
Zhulkov M.O., Fomichev A.V., Alsov S.A., Cleaver E.N., Chernyavsky A.M. Current state of the problem and results of *ex vivo* perfusion of donor hearts. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs.* 2019;21(4):143-146. (In Russ.) <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2019-4-143-146>
4. McCartney S.L., Patel C., Del Rio J.M. Long-term outcomes and management of the heart transplant recipient. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2017;31(2):237-248. PMID: 29110796. <https://doi.org/10.1016/j.bpa.2017.06.003>
5. Preusse C.J. Custodial cardioplegia: a single-dose hyperpolarizing solution. *J Extra Corpor Technol.* 2016;48(2):P15-P20.
6. Jia S., Caranasos T.G., Kumar P.A. Pro: advantages of using TransMedics Organ Care System Heart in heart transplantation. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2024;38(2):569-572. PMID: 38042742. <https://doi.org/10.1053/j.jvca.2023.11.005>
7. Pinnelas R., Kobashigawa J.A. *Ex vivo* normothermic perfusion in heart transplantation: a review of the TransMedics® Organ Care System. *Future Cardiol.* 2022;18(1):5-15. PMID: 34503344. <https://doi.org/10.2217/fca-2021-0030>
8. Волков И.М., Майдан В.А., Бокарев М.А. Факторы риска при пересадке сердца. *Университетский терапевтический вестник.* 2024;5(4):168-176. <https://doi.org/10.56871/UTJ.2023.57.96.015>  
Volkov I.M., Maidan V.A., Bokarev M.A. Risk factors for heart transplantation. *University Therapeutic Journal.* 2024;5(4):168-176. (In Russ.) <https://doi.org/10.56871/UTJ.2023.57.96.015>
9. Торопова Я.Г., Осяев Н.Ю., Мухамадияров Р.А. Перфузия изолированного сердца методами Лангендорфа и Нилли: особенности техники и применение в современных исследованиях. *Трансляционная медицина.* 2014;(4):34-39. <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2014-0-4-34-39>  
Toropova Ya.G., Osyayev N.Y., Mukhamadiyarov R.A. Perfusion of the isolated heart by Langendorff and Neely methods: particular techniques and applications in recent scientific research. *Translational Medicine.* 2014;(4):34-39. (In Russ.) <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2014-0-4-34-39>
10. King D.R., Hardin K.M., Hoeker G.S., Poelzing S. Reevaluating methods reporting practices to improve reproducibility: an analysis of methodological rigor for the Langendorff whole heart technique. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2022;323(3):H363-H377. PMID: 35749719; PMCID: PMC9359653. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00164.2022>

11. Asfour H., Wengrowski A.M., Jaimes R. 3<sup>rd</sup>, Swift L.M., Kay M.W. NADH fluorescence imaging of isolated biventricular working rabbit hearts. *J Vis Exp*. 2012;(65):4115. PMID: 22872126; PMCID: PMC3476403. <https://doi.org/10.3791/4115>
12. Bigio I.J., Mourant J.R. Optical biopsy. In: *Encyclopedia of Optical Engineering*. London: Taylor & Francis, 2003. P. 1577-1593.
13. Салмин В.В., Салмина А.Б., Фурсов А.А., Фролова О.В., Лалетин Д.И., Фурсов М.А., Юдин Г.В., Малиновская Н.А., Зыкова Л.Д., Проворов А.С. Использование флуоресцентной спектроскопии для оценки ишемического повреждения миокарда. *Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология*. 2011;4(2):142-157.  
Salmin V.V., Salmina A.B., Fursov A.A., Frolova O.V., Laletin D.I., Fursov M.A., Yudin G.V., Malinovskaya N.A., Zykova L.D., Provorov A.S. Application of fluorescence spectroscopy for assesment of myocardial ischemic injury. *Journal of Siberian Federal University. Biology*. 2011;4(2):142-157. (In Russ.)
14. Papayan G., Petrishchev N., Galagudza M. Autofluorescence spectroscopy for NADH and flavoproteins redox state monitoring in the isolated rat heart subjected to ischemia-reperfusion. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2014;11(3):400-408. PMID: 24854770. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2014.05.003>
15. Wengrowski A.M., Kuzmiak-Glancy S., Jaimes R. 3<sup>rd</sup>, Kay M.W. NADH changes during hypoxia, ischemia, and increased work differ between isolated heart preparations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014;306(4):H529-H537. PMID: 24337462; PMCID: PMC3920244. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00696.2013>
16. Chen X., Su Y., Reay D., Riffat S. Recent research developments in polymer heat exchangers — a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2016;60:1367-1386. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.03.024>
17. Фесенко Е.Е. мл., Гагаринский Е.Л., Аверин А.С., Грудинин Н.В., Гуринов А.Е., Шишова Н.В., Швирст Н.Э., Гольтяев М.В., Ковтун А.Л. Оценка сохранности миокарда крысы и изолированного сердца барана после пролонгированной 24-часовой гипотермической консервации под давлением газовой смеси на основе монооксида углерода. *Биофизика*. 2020;65(4):780-791. <https://doi.org/10.31857/S0006302920040213>  
Fesenko E.E. Jr., Gagarinsky E.L., Averin A.S., Grudinin N.V., Gurin A.E., Shishova N.V., Shvirst N.E., Goltyaev M.V., Kovtun A.L. Evaluation of preservation of rat myocardium and isolated sheep heart following prolonged (24 hour) hypothermic preservation after exposure to a gaseous mixture composed of carbon monoxide and oxygen. *Biophysics*. 2020;65(4):780-791. (In Russ.) <https://doi.org/10.31857/S0006302920040213>
18. Минасян С.М., Галагудза М.М., Сонин Д.Л., Боброва Е.А., Зверев Д.А., Королев Д.В., Дмитриев Ю.В., Васильева М.С., Григорова Ю.Н., Власов Т.Д. Методика перфузии изолированного сердца крысы. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2010;8(4):54-59.  
Minasian S.M., Galagudza M.M., Sonin D.L., Bobrova E.A., Zverev D.A., Korolev D.V., Dmitriev Yu.V., Vasilieva M.S., Grigorova Yu.N., Vlasov T.D. The technique of isolated rat heart perfusion. *Regional Blood Circulation and Microcirculation*. 2010;8(4):54-59. (In Russ.)