

## ОТЗЫВ

**официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора  
Кирпатовского Владимира Игоревича на диссертационную работу  
Богданова В.К. «Сохранение структурно-функциональных характеристик  
донорских легких при нормотермической *ex vivo* перфузии  
(экспериментальное исследование)», представленную на соискание  
ученой степени кандидата медицинских наук по специальности  
3.1.14 – трансплантология и искусственные органы**

### **Актуальность темы диссертации**

На сегодняшний день трансплантация лёгких является основным и единственным методом выбора при лечении пациентов с терминальными стадиями прогрессирования заболеваний лёгких. Однако потребности в выполнении подобных операций до настоящего времени существенно превышают существующие возможности. Одним из путей увеличения доступности получения трансплантата может быть использование субоптимальных доноров при разработке критериев оценки функционального состояния изъятых у них легких. Использование процедуры экстракорпоральной перфузии легких (*ex vivo lung perfusion* – EVLP) – перспективное направление развития трансплантации лёгких, позволяющее расширить критерии эффективности донора и увеличить количество трансплантаций в несколько раз. Процедура EVLP позволяет поддерживать жизнеспособность лёгких в физиологических условиях, позволяя лёгочной паренхиме находиться в метаболически активном состоянии по сравнению со статическим гипотермическим хранением. В процессе нормотермической перфузии удаленного и консервированного легкого потенциально имеется возможность оценить выраженность ишемического/реперфузионного повреждения органа, состояние его метаболизма и функции. Кроме того, в условиях кратковременной нормотермической перфузии возможна коррекция развившихся в процессе консервации метаболических нарушений с помощью введения в перфузат фармакологических препаратов с противоишемическими и антиоксидантными свойствами, что может позволить увеличить пул пригодных для трансплантации органов. При этом подобных исследований как в зарубежной, так и в отечественной литературе немного, что, безусловно, требует интенсивной разработки данного направления для оптимизации протокола постконсервационной нормотермической перфузии



легких, в том числе и в экспериментальных исследованиях, обосновывающих целесообразность предлагаемых модификаций.

Исследование ряда нерешенных вопросов в этом направлении, в частности, создание эффективной и доступной экспериментальной модели, выбор оптимального перфузионного раствора и доказательство эффективности введения в перфузат антиоксиданта пероксиредоксина-6, являющегося аналогом естественного метаболита, присутствующего в легочной ткани, посвящена диссертация В.К. Богданова. Исходя из вышесказанного, актуальность данной диссертационной работы не вызывает сомнений.

### **Новизна исследования и полученных результатов диссертации**

Учитывая ограниченность данных в научной, а особенно, в отечественной литературе, практически все полученные автором результаты обладают существенной новизной. Впервые разработана методика экстракорпоральной нормотермической перфузии легких крыс, позволяющая оценить состояние метаболизма и функциональную полноценность легочного трансплантата после фармако-холодового хранения, а также доказана возможность функциональной реабилитации консервированного органа. При этом отработаны режимы перфузии, направленные на стабилизацию клеточных мембран перфузируемых легких. Обоснована эффективность разработанного автором перфузионного раствора на основе декстата-40 для фармако-холодовой консервации легких и последующей нормотермической перфузии *ex vivo*. Впервые доказана целесообразность включения в состав перфузионного раствора антиоксиданта пероксиредоксина-6, что позволяет в период реперфузии уменьшить выраженность ишемического/реперфузионного повреждения и улучшить показатели углеводного метаболизма и оксигенирующей способности консервированного легкого.

### **Значимость для науки и практики полученных результатов**

Практическая значимость работы несомненна и заключается в создании предпосылок для внедрения в практику научных лабораторий малообъемного стенда, лабораторного оксигенатора для процедуры нормотермической машинной *ex vivo* перфузии донорских легких с использованием оригинальной методики и перфузионного раствора для процедуры фармако-холодовой консервации на основе декстрана-40, а также оценки влияния ишемически реперфузионного повреждения. Разработанный протокол перфузии донорских легких позволяет успешно проводить нормотермическую перфузию в условиях эксперимента, а добавление



антиоксиданта пероксиредоксина-6 позволяет уменьшать выраженность постконсервационного ишемического\реперфузионного повреждения легких. Разработанная автором методика трансплантации легких с использованием методики манжетного соединения сосудов и бронхов трансплантата и реципиента может служить оптимальным методом оценки эффективности консервации и кондиционирования легочного трансплантата.

Предложенные практические рекомендации направлены на оптимизацию метода нормотермической *ex vivo* перфузии донорских легких, что может являться перспективным направлением развития для клинической практики и дальнейших исследований.

### **Обоснованность и достоверность основных положений, результатов и выводов диссертации**

Работа является продолжением исследований, проводимых в ФГБУ «НМИЦ ТИО им ак. В.И. Шумакова» Минздрава России по изучению нормотермической *ex vivo* перфузий изолированных легких в период с сентября 2020 по февраль 2023 года. Обоснованность результатов проведенной работы определяется достаточным объемом лабораторных и инструментальных исследований, подвергнутых статистическому анализу с использованием современных методов, соответствующих принципам доказательной медицины. Достоверность подтверждается высоким научно-методическим уровнем исследования и логичной интерпретацией полученных результатов.

### **Оценка содержания диссертации, ее завершенности в целом, замечания по оформлению**

Диссертация Богданова В.К. построена по классическому принципу, изложена на 150 страницах машинописного текста, включает в себя 4 главы основного содержания, выводы, практические рекомендации. Наглядный и иллюстративный материал представлен 49 рисунками, 5 таблицами и 5 формулами. Список использованной литературы включает 28 отечественных и 90 зарубежных источников.

**Во введении** исчерпывающе отражена актуальность исследования, практическая значимость, точно сформулированы положения, выносимые на защиту, и содержится 4 задачи, соответствующие поставленной цели. Научная новизна, отображающая суть диссертационной работы, сформулирована грамотно и лаконично.

**Обзор литературы** содержит подробный анализ литературных источников, включающих исторически значимые публикации, а также публикации современных отечественных и зарубежных авторов. Подробно

освещены такие вопросы, как технологии и перспективы использования нормотермической перфузии легких *ex vivo*, возможности коррекции этим методом ишемического/реперфузионного повреждения консервированных легких, значимость использования консервирующих растворов различного состава, а также научные данные о возможности использования пероксиредоксинов для коррекции постконсервационного повреждения.

Единственным замечанием к обзору является некоторая путаница в терминологии, связанной с определением типов консервирующих растворов относительно терминов «раствор внеклеточного типа» и «раствор внутриклеточного типа»

В главе **материалы и методы исследования** представлен дизайн эксперимента. Подробно описана конструкция малообъемного перфузионного стенда, а также методика изготовления лабораторного оксигенатора, обеспечивающих стабильность показателей перфузии. Большое внимание уделено технике изъятия и консервации донорских легких, их подготовке к процедуре *ex vivo* перфузии, а также методике проведения нормотермической перфузии. Обращает на себя внимание высокая технологичность разработанного метода с использованием оригинального контейнера для перфузируемого трансплантата, специальных канюль и методики канюляции сосудов и трахеи для нормотермической перфузии, а также разработанного миниатюрного оксигенатора, что позволило добиться стабильно воспроизводимых результатов. Автором использован адекватный набор современных методов оценки метаболического и функционального состояния легкого в процессе изолированной нормотермической перфузии и после трансплантации легкого животному-реципиенту, который подробно описан в данном разделе диссертации. Описана также методика определения экспрессии генов, регулирующих процессы оксидантного повреждения клеток, антиоксидантной защиты, регенерации клеток и факторов склерозирования органа.

В **третьей главе** обсуждаются результаты проведенного исследования. Что хочется отметить, что автором проведено 60 ортотопических трансплантаций легких у крыс, консервированных в течение 12 часов и подвергнутых предварительной нормотермической перфузии *ex vivo*. Подобные операции на мелких лабораторных животных требуют высокой профессиональной квалификации и подготовки, основанной на огромном труде.



Разработка перфузионного стенда мини-формата с небольшим объемом заполнения, поддерживающего необходимый температурный уровень и регулируемые параметры перфузии, с включением контур специально разработанного мини-оксигенатора и средств оценки гемодинамических параметров и газового состава перфузата заслуживает самой высокой оценки.

В данной главе приведены данные о возможности оценки функционального состояния органа в процессе двухчасовой нормотермической перфузии, при этом показано, что разработанный на основе декстрана-40 перфузионный раствор обладает существенными преимуществами перед зарубежным аналогом Steen solution как по ряду метаболических показателей, так и по сохранению функционального состояния консервированного легкого, по показателям степени оксигенации перфузионного раствора, параметрам вентиляции легких и динамики сопротивления легочных сосудов. При этом также показано, что добавление антиоксиданта пероксиредоксина-6 при использовании обоих сравниваемых растворов уменьшает выраженность развивающихся нарушений изучаемых показателей, но суммарный защитный эффект проявлялся в опытах с использованием раствора Декстран-40.

Особое внимание заслуживает модификация методики трансплантации легкого с использованием манжеточной техники, что значительно сокращает время интраоперационной ишемии и обеспечивает стабильность результатов. Результаты функциональной оценки состояния трансплантата в ближайший послеоперационный период после пересадки подтверждают преимущества использования раствора Декстран-40, особенно в опытах с добавлением пероксиредоксина-6.

В оценке метаболического состояния консервированного и реперфузированного трансплантата автор справедливо уделяет особое внимание метаболизму глюкозы как основному источнику образования энергии для поддержания клеточного гомеостаза. Однако, при оценке динамики изменений концентрации глюкозы следовало бы оценивать не концентрацию, а степень снижения концентрации глюкозы по отношению к исходному значению. То же относится к анализу динамики накопления лактата в перфузате. При добавлении к обоим перфузатам пероксиредоксина-6 в обеих сериях происходит снижение накопления лактата при сопоставимом потреблении глюкозы, но более выраженное в серии с Декстраном-40. То есть этот антиоксидант способствует активации аэробных процессов в клетках трансплантата, а раствор Декстран-40 способствует потенцированию этого эффекта.



Еще одним дискуссионным вопросом является анализ соотношения степени оксигенации перфузата консервированных легких, оцененной по индексу  $PaO_2/FiO_2$ , с накоплением лактата в процессе нормотермической перфузии. В представленных графиках проведенная линия тренда зависимости этих показателей свидетельствует, что с увеличением оксигенации перфузата продукция молочной кислоты возрастает, тогда как наблюдается обратная тенденция – при более высоких показателях  $PaO_2/FiO_2$  конечная концентрация лактата уменьшается. При том в выводах приводится правильная трактовка этих взаимоотношений.

Также в этой главе приведены данные о более благоприятной динамике убыли бикарбонатов в растворе Декстран-40 в процессе перфузии легких, чем в опытах с раствором Steen solution. Однако следует учитывать добавление крови к раствору Декстрана-40, что значительно повышает буферную емкость раствора. На наш взгляд следовало бы более детально обсудить значимость добавления крови к перфузату. В обсуждении результатов этот аспект упоминается, но вскользь.

Итоговым результатом исследования является оценка функциональной полноценности консервированного легкого крысы, подвергнутой нормотермической перфузии *ex vivo* при его ортотопической трансплантации. Помимо того, что автор разработал воспроизводимую модель этой операции с использованием манжеточной техники наложения анастомозов, полученные результаты убедительно доказали, что использование нормотермической перфузии позволяет сохранить такие функциональные показатели, как способность оксигенации крови, состояние бронхиальной системы, оцененной по параметрам вентиляции легких, а также метаболический статус, оцененный по накоплению молочной кислоты в крови, и морфологическую структуру органа в близких к норме значениях, особенно при использовании раствора Декстрана-40 с добавлением пероксиредоксина-6.

Подтверждением положительного влияния нормотермической перфузии консервированных легких в отношении влияния на нормализацию метаболизма органа, нарушаемого при фармако-холодовой консервации, являются исследования экспрессии генов, регулирующих основные метаболические пути, как патологического характера (оксидантный стресс, воспаление, склерозирование органа) так и компенсаторные (антиоксидантный статус, регенерация клеток).

Обсуждение результатов работы, представленное в соответствующей главе, демонстрирует способность автора к интерпретации и анализу

собственных исследований, обоснованность и достоверность которых не вызывает сомнений, учитывая объём проведенного исследования и примененные методы статистической оценки.

**Выводы** полностью соответствуют поставленной цели и задачам работы, подтверждены достаточным фактическим материалом с корректным уровнем достоверности.

**Практические рекомендации** представлены логично, удобны для практического применения, базируются на полученных результатах работы.

#### **Подтверждения опубликования основных результатов диссертации в научной печати**

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Центра, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

#### **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат в полном объёме отражает содержание диссертационной работы.

Принципиальных замечаний к диссертации нет. Вопросы, изложенные выше носят дискуссионный характер и не влияют на положительную оценку проведенного исследования.

#### **Заключение**

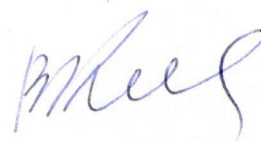
Диссертационная работа Богданова Владимира Константиновича «Сохранение структурно-функциональных характеристик донорских легких при нормотермической *ex vivo* перфузии (экспериментальное исследование)», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.14 – трансплантология и искусственные органы, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена важная научно-практическая задача – оптимизация методики и расширение возможностей изолированной нормотермической *ex vivo* перфузии донорских легких для последующей трансплантации.

По своей актуальности, научной новизне и практическому значению диссертационная работа Богданова Владимира Константиновича соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук согласно требованиям п.17



«Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации», утвержденным приказом директора от 12.02.2021 №70/8, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук и соответствует специальности 3.1.14 – трансплантология и искусственные органы, а сам автор, Богданов В.К., достоин присуждения ученой степени кандидата медицинских наук.

д.м.н., профессор, главный научный сотрудник  
НИИ урологии и интервенционной радиологии  
имени Н.А. Лопаткина — филиал  
ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России



Кирпатовский В.И.

Подпись д.м.н. профессора Кирпатовского В.И. заверяю  
Ученый секретарь  
НИИ урологии и интервенционной радиологии  
им. Н.И. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии»  
Минздрава России  
к.м.н.



Никушина А.А.

«25» 10 2023 г.

Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии имени Н.А. Лопаткина – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Юридический адрес: 249036, Калужская обл., г. Обнинск, ул. Королева, д. 4  
Фактический адрес: 105425, г. Москва, ул. Парковая 3-я, д. 51, стр.  
Телефон: 8-499-110-40-67  
e-mail: call@niiuro.ru