

Жульков Максим Олегович

Устройство вспомогательной поддержки кровообращения на основе
насоса дискового типа (экспериментальное исследование)

3.1.15 – сердечно-сосудистая хирургия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск - 2021

Работа выполнена в научно-исследовательском отделе хирургии аорты, коронарных и периферических артерий института патологии кровообращения ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России

Научный руководитель

д-р мед.наук, профессор Чернявский Александр Михайлович

Официальные оппоненты:

Шемакин Сергей Юрьевич, к-т мед. наук, (Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы» ;ведущий научный сотрудник)

Шипулин Владимир Митрофанович, д-р мед.наук, профессор, (Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», главный научный сотрудник НИИ кардиологии Томского НИМЦ)

Ведущая организация:

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России

Защита состоится 15.09. 2021 года в 10.00 часов на заседании диссертационного совета

Д 208.063.01 при ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России.

Адрес: 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, 15;

e-mail: v_usoltseva@meshalkin.ru

http://meshalkin.ru/nauchnaya_deyatelnost/dissertatsionnyy_sovet/soiskateli

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке

ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России

и на сайте

http://meshalkin.ru/nauchnaya_deyatelnost/dissertatsionnyy_sovet/soiskateli

Автореферат разослан « ___ » _____ 20__ года

Ученый секретарь совета Д 208.063.01

д-р мед. наук

Альсов Сергей Анатольевич

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД_д – диастолическое артериальное давление

АД_с – систолическое артериальное давление

АД_{ср} – среднее артериальное давление

АДФ – аденозиндифосфат

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

АСТ – активированное время свертывание крови

ДЗЛК – давление заклинивания легочных капилляров

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

КПД – коэффициент полезного действия

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ЛСС – легочное сосудистое сопротивление

МНО – международное нормализованное сопротивление

ННП – насос непульсирующего типа

ОСН – острая сердечная недостаточность

РНХ – расходно-напорные характеристики

СИ – сердечный индекс

ССС – системное сосудистое сопротивление

УВК – устройство вспомогательного кровообращения

УО – ударный объем

ФЖ – фибрилляция желудочков

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ЦВД – центральное венозное давление

ЦН – центробежный насос

ЧПЭХОКГ – чреспищеводная эхокардиография

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЭКГ – электрокардиография

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

В течении последних 15 лет ХСН остается основной причиной смерти [Bleumink G.S. et al., 2004]. Учитывая увеличение продолжительности жизни по всему миру, в условиях сохраняющихся факторов риска, таких как артериальная гипертензия и ишемическая болезнь сердца, прогнозируемое увеличение распространенности сердечной недостаточности составит 46% за период с 2012 по 2030 год и, следовательно, останется главной причиной смерти [Heidenreich P.A. et al., 2013].

В нашей стране по последним данным XI сообщения регистра Российского трансплантологического общества за период с 2012 года по 2018 число пациентов в листе ожидания донорского сердца увеличилось в 2 раза при том, что средний срок ожидания органа не изменился [Готье С.В. и соавт., 2018]. Методы вспомогательной поддержки кровообращения в последние десятилетия стали одним из наиболее эффективных средств помощи для лечения пациентов с ХСН [Kirklin, J.K. et al., 2014].

В нашей стране существует большая потребность в подобных устройствах, но использование зарубежных аппаратов значительно ограничивается их высокой стоимостью, что диктует необходимость в разработках и клиническом применении отечественных моделей [Готье С.В. и соавт., 2014]. В то же время разработка новых моделей систем поддержки кровообращения обусловлена тем, что на сегодняшний день не существует ни одного идеального устройства, которое на 100% было бы физиологично и безопасно для пациентов [Hanke J.S. et al., 2017]. Поэтому исследования в области разработки систем вспомогательного кровообращения являются актуальными и востребованными. В последние два десятилетия в нашей стране активно ведутся работы по созданию отечественных устройств механической поддержки кровообращения [Khalilulin T.A. et al., 2018]. Одной из

перспективных является идея использования дискового насоса вязкого трения, основанного на принципе работы насоса Тесла [Podergajs M., 2011].

Цель исследования

Исследовать технические и медико-биологические характеристики устройства вспомогательной поддержки кровообращения на основе дискового насоса вязкого трения.

Задачи исследования

1. Исследовать цитотоксические и тромбогенные свойства кремний-углеродного покрытия ($\alpha\text{-C:H:SiO}_x$) внутренней поверхности дискового насоса.

2. Исследовать гемодинамические характеристики потока разработанной модели УВК в стендовых испытаниях.

3. Исследовать гемолитические свойства разработанного опытного образца УВК.

4. Исследовать эффективность и безопасность системы механической поддержки кровообращения на базе насоса дискового типа в острых и субхронических экспериментах на животных.

Новизна исследования

1. Разработанное устройство механической поддержки кровообращения на основе насоса дискового типа обладает расходно-напорными характеристиками, необходимыми для осуществления эффективной циркуляции (производительность 5-7 л/мин при минимальном числе оборотов ротора (2500-3000 об/мин), давлении в отточной магистрали 100 мм.рт.ст., потребляемой мощности 7-10 Вт).

2. Разработанная модель насоса вызывает минимальный уровень гемолиза при расчетных параметрах производительности (расход 5-7 л/мин,

минимальном числе оборотов ротора (2500-3000 об/мин), давлении в отточной магистрали 100 мм.рт.ст., потребляемой мощности 7-10 Вт).

3. Впервые было использовано а-C:H:SiO_x покрытие, уменьшающее адгезию тромбоцитов крови и обладающее минимальной цитотоксичностью.

Отличие полученных новых научных результатов от результатов, опубликованных другим авторами

Впервые разработано устройство вспомогательной поддержки кровообращения на основе дискового насоса вязкого трения, исследованы расходно-напорные и гемолитические характеристики, проведены испытания в острых и субхронических экспериментах, проведена оценка антитромботической модификации внутренних поверхностей насоса.

Достоверность выводов рекомендациям

Использование признанных методик разработки дизайнов проведения клинических экспериментов, применение научного анализа с помощью методов статистической обработки являются свидетельством достоверности результатов и выводов.

Практическая ценность работы

Результаты настоящего исследования демонстрируют принципиальную возможность и безопасность использования дискового насоса вязкого трения в качестве перекачивающего блока новой модели устройства вспомогательной поддержки кровообращения.

Краткая характеристика клинического материала и научных методов исследования

В ходе выполнения работы были использованы методы математического моделирования, методы стендовых исследований, методы экспериментальных исследований на животных и методы статистической обработки полученных

данных. В основе диссертационной работы лежат результаты стендовых испытаний (n-6) расходно-напорных и гемолитических характеристик насоса, серии острых (n-6) и субхронических (n-4) экспериментов по имплантации крупным лабораторным животным опытного образца перекачивающего блока новой модели устройства вспомогательной поддержки кровообращения. Данные были выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (SD). Статистический анализ и значимость были оценены с использованием одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим апостериорным тестом Тьюки. Все анализы выполнены с использованием программы Statistica 13 (TIBCO Software, США). Различия между контрольными и обработанными образцами считались значимыми при $p < 0,05$.

Личный вклад автора

Автором лично выполнены стендовые испытания гемолитических характеристик, имплантации разработанного устройства в острых и субхронических экспериментах, гемостазиологические исследования гипотромбогенного алмазоподобного покрытия, а также выполнен статистический анализ результатов экспериментов и интерпретированы полученные данные.

Реализация и внедрение результатов работы

Основные положения и результаты диссертационной работы используются в экспериментальной деятельности Лаборатории экспериментальной хирургии и морфологии ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России.

Апробация работы и публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 11 статей в изданиях, рекомендованных ВАК. Основные положения работы доложены и обсуждены на региональных и международных конференциях.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста и состоит из введения; пяти глав, содержащих литературный обзор, описание используемых материала и методов исследования, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов; ограничения исследования, выводы, список используемой литературы. Указатель литературы содержит 37 отечественных и 98 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 15 таблицами и 43 рисунками.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Разработанная модель дискового насоса обладает параметрами, позволяющими обеспечить эффективную механическую поддержку кровообращения.

2. Устройство вспомогательной поддержки кровообращения на базе насоса вязкого трения не вызывает клинически значимую травму эритроцитов крови.

3. Опытный образец УВК на базе насоса дискового типа позволяет эффективно и безопасно осуществлять длительную механическую поддержку кровообращения в живом организме по данным серии острых и субхронических экспериментов.

4. Внутренняя поверхность дискового насоса, модифицированная а-С:Н:SiO_x покрытием, обладает низкими цитотоксическими и тромбогенными свойствами.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Данное исследование посвящено экспериментальной оценке технических и медико-биологических характеристик новой модели отечественного устройства вспомогательной поддержки кровообращения на базе насоса вязкого трения, а также разработке способа снижения тромбогенности внутренних поверхностей перекачивающего блока. Экспериментальные исследования выполняли в условиях Лаборатории экспериментальной

хирургии и морфологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России.

Исследование расходно-напорных и энергетических характеристик дискового насоса

Для изучения расходно-напорных и энергетических характеристик новой модели дискового насоса был разработан специальный гидродинамический стенд. Данный стенд представлял собой замкнутый контур, в котором последовательно были включены герметичный мешок, имитирующий эластические свойства сосудистой системы, поплавковый ротаметр (Krohne VA-40) и насос. Все элементы контура соединяли силиконовыми тайгоновыми трубками с внутренним диаметром $\frac{1}{2}$ дюйма. В непосредственной близости от насоса устанавливались датчики для измерения давления, параметры фиксировались при помощи прибора производства фирмы «Биософт-М». С помощью установленного на отточной магистрали дросселирующего устройства регулировали сопротивление по уровню давления в контуре. В качестве рабочей жидкости использовали 37% водный раствор глицерина. Во время проведения стендовых испытаний РНХ производили измерение потребляемой электрической мощности и запись контролируемых параметров. В ходе стендовых испытаний дискового насосы были получены параметры производительности при разной частоте оборотов ротора (рис. 1).

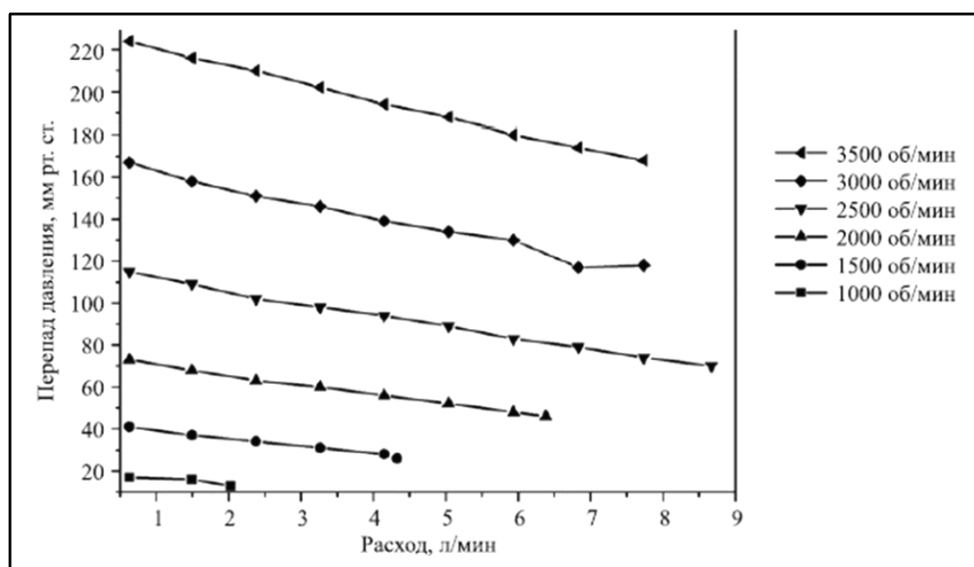


Рисунок 1. Расходно-напорные характеристики дискового насоса, график зависимости производительности насоса от оборотов ротора и развиваемое давление в отточной магистрали

Была получена линейная прямая зависимость между производительностью насоса и создаваемым им перепадом давления жидкости на входе и выходе насоса. Требуемые значения расхода (5–7 л/мин) и давления (90–100 мм.рт.ст.) были достигнуты при частоте вращения ротора в диапазоне 2500–3000 об/мин. При этом потребляемая мощность составила 7-10 Вт.

Исследование гемолитических характеристик дискового насоса

Гидродинамический стенд для испытаний гемолитических свойств насоса был смонтирован в соответствии с требованиями международного протокола ASTM F1841. Эластичный резервуар (объем заполнения 400 мл) соединяли с советующими патрубками насоса при помощи поливинилхлоридных трубок 3/8 дюйма с общей длиной 2 м и помещали в водяную баню. Ультразвуковой датчик флоуметра устанавливали на расстоянии 30 см от выходного патрубка насоса. На отточном сегменте петли между датчиком флоуметра и резервуаром устанавливали специальный зажим для создания перепада давления в 100 ± 3 мм.рт.ст. при расчетной производительности $5 \pm 0,25$ л/мин. В качестве заправочного раствора

использовали 450±45 мл свежей цельной человеческой крови. Часть крови помещали в ту же водяную баню в качестве контроля уровня свободного гемоглобина. В случае необходимости производили гемодилюцию физиологическим раствором хлорида натрия до показателей гематокрита 30±2 %. В полученном растворе производили измерение базового уровня свободного гемоглобина плазмы и в случае превышения этого показателя 20 г/100 л, данный раствор не использовали. Время проведения стендовых испытаний во всех экспериментах (n-6) составляло 6 часов. В течение этого времени, каждый час, через заправочный порт производили забор проб крови для определения уровня свободного гемоглобина плазмы. С помощью лабораторной центрифуги из пробы выделяли плазму, и на спектрофотометре (НемоСие Plasma Low/Нб, Швеция) оценивали уровень свободного Нб. Математическая оценка гемолиза проводилась на основании расчёта нормализованного индекса гемолиза НИИ и модифицированного индекса гемолиза МИИ. Нормализованный индекс гемолиза (НИИ) рассчитывали по формуле:

$$\text{НИИ g/100 l} = \text{pHb} \times V \times \frac{100 - \text{Ht}}{100} \times \frac{100}{Q \times T},$$

где: pHb – увеличение свободного гемоглобина плазмы(г/л) в течение интервала времени выборки;

V –объем контура (л); Q – расход крови (л/мин);

Ht – гематокрит (%);

T – интервал времени между измерениями (мин).

Модифицированный индекс гемолиза (МИИ) оценивали с учётом исходного уровня гемоглобина по формуле:

$$\text{МИИ} = \text{pHb} \times V \times \frac{100 - \text{Ht}}{100} \times \frac{10^6}{Q \times T \times \text{Hb}},$$

где: Hb – общий гемоглобин в начальный момент времени (мг/л); pHb – увеличение свободного гемоглобина плазмы (г/л) в течение интервала времени выборки;

V – объем контура (л);

Q – расход крови(л/мин); Ht – гематокрит (%);

T – интервал времени между измерениями (мин).

В серии экспериментов ($n=6$) по прошествии 6 часов функционирования насоса в режиме (2500-3000 об/мин, производительность - $5\pm 0,25$ л/мин, давление в выходном патрубке - 100 ± 3 мм.рт.ст.) средний уровень свободного гемоглобина составил $0,07\pm 0,02$ г/л (рис. 2.).

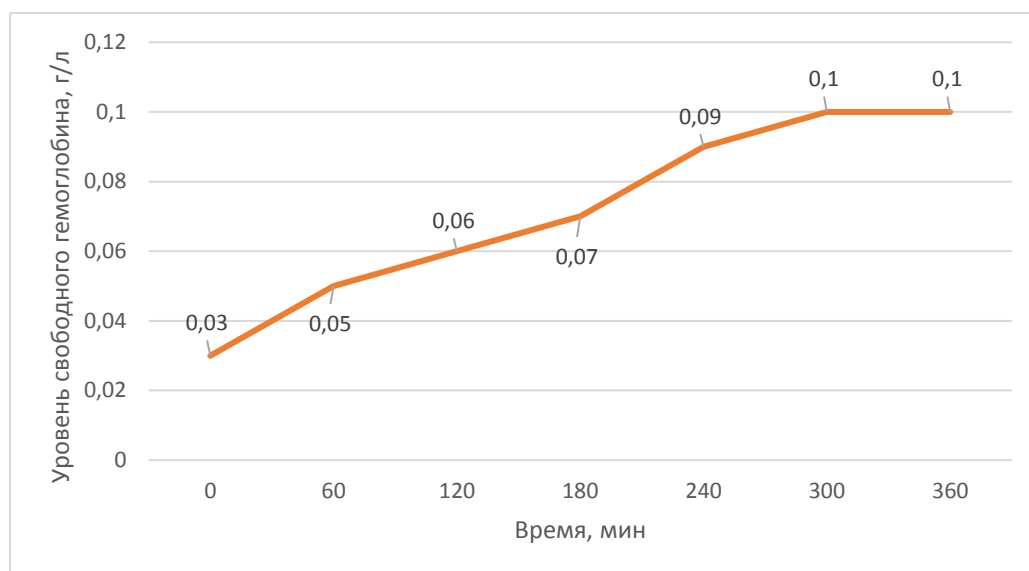


Рисунок 2. График зависимости среднего уровня свободного гемоглобина от времени работы насоса ($n=6$)

При этом максимальные расчетные значения индексов гемолиза составили $NIH - 0,00002$, $MIH - 0,0003$ (рис. 3.).

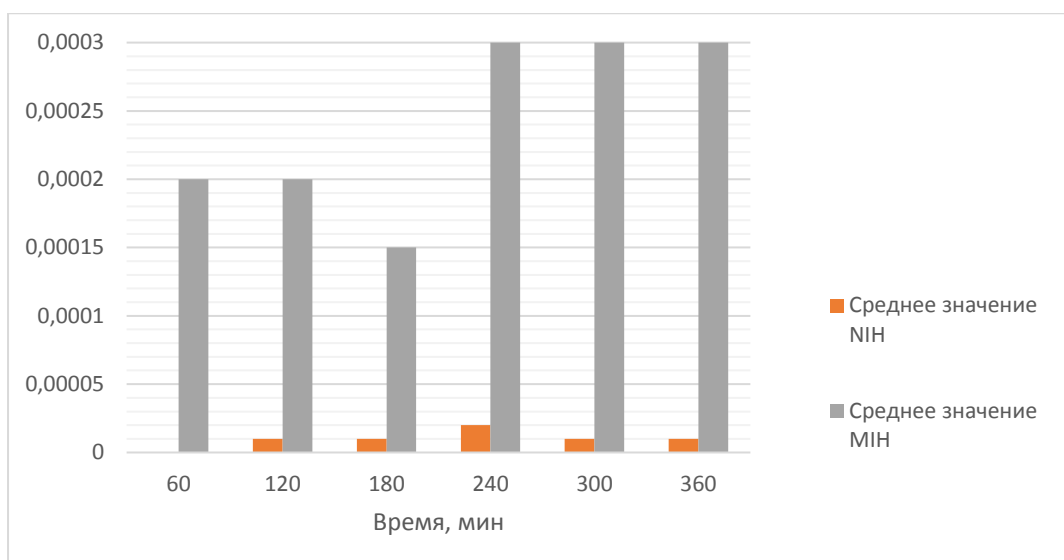


Рисунок 3. Средние значения индексов NIN и MIN

Проведение испытаний дискового насоса в остром эксперименте.

Для экспериментальной апробации дискового насоса в качестве УВК в острых экспериментах в качестве модели была выбрана свинья (mini-pig) с параметрами, указанными в таблице 1.

Таблица 1. Характеристики экспериментальных животных

Параметр	Значение
Вид	Sus scrofa
Пол	женский
Статус здоровья	конвенциональный
Возраст к началу исследования:	6 месяцев
Масса тела к началу исследования, средняя (min÷max):	50 кг (45 ÷ 70)

Уход за животными, обеспечение экспериментов, наблюдение и вывод животных из него выполнялось в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18.03.1986). Имплантацию УВК выполняли в условиях эндотрахеального наркоза. Все критически важные параметры жизнедеятельности (пульс, артериальное давление, температуру в глотке, ЭКГ, насыщение крови кислородом) фиксировали системой мониторинга

типа IntelliVue MP70 (Phillips, Германия). Параметры гемодинамики исследовали при помощи катетера Сван-Ганца и ЧПЭХОКГ. Имплантации дискового насоса эксперименты проводили как с применением искусственного кровообращения, так и без него. Животное укладывали на правый бок, выполняли переднебоковую торакотомию в VI межреберье слева. Соединительные тайгоновые магистрали 1/2 дюйма проводили через сформированные подкожные каналы паравертебрально. После системной гепаринизации (3 мг/кг) формировали анастомоз по типу «конец в бок» между дакроновым сосудистым протезом Intergard 14 мм и нисходящей грудной аортой нитью 5/0 (отточный тракт). Имплантацию приточной канюли проводили на работающем сердце через бессосудистую зону верхушки левого желудочка либо через ушко левого предсердия. После тщательного удаления воздуха из всех патрубков производили постепенное включение насоса и выход на расчетную производительность (4-5 л/мин) под контролем ЧПЭХОКГ, добиваясь незначительного выброса через аортальный клапан и сглаживание пиков кривой артериального давления на мониторе. После стабилизации работы насоса и параметров гемодинамики, устанавливали дренажные трубки и рану грудной клетки послойно зашивали.

В эксперименте №1, в связи со значимой потерей крови на этапе имплантации приточной канюли в полость левого желудочка, учитывая небольшую массу тела экспериментального животного (45 кг) в раннем послеоперационном периоде, наблюдалась выраженная анемия (общий гемоглобин – 40-50 г/л). Кроме того, основной причиной, не позволяющей выйти насосу на расчетную производительность, было «схлопывание» полости левого желудочка и нарушение притока крови в насос, несмотря на оптимальное позиционирование канюли в полости левого желудочка (по данным ЧПЭХОКГ) и достаточную волевическую нагрузку животного (ДЗЛК 12-15 мм.рт.ст.). Однако, в течении 4 часов дисковый насос обеспечивал адекватную для тела животного системную перфузию (4-4,5

л/мин) в условиях сохраняющего выброса правого желудочка. Данные газового состава крови и другие параметры гемодинамики приведены в таблице 2.

Таблица 2. Некоторые параметры гомеостаза в эксперименте №1

Время, мин	30	60	90	120	150	180	210	240
Параметры								
АДс, мм.рт.ст.	90	100	110	115	105	100	95	105
ЧСС	86	90	83	87	80	86	90	95
SpO ₂ , % ¹	98	97	98	97	95	98	98	98
FreeHb, мг/% ²	1,5	2,0	2,1	2,0	2,3	2,2	2,2	2,0
pH	7,4	7,5	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	7,5
cЛас, ммоль/л ³	2,0	2,5	3,0	2,0	3,5	2,0	3,0	3,0

где 1 – насыщение гемоглобина кислородом, 2 – уровень свободного гемоглобина, 3 – уровень лактата крови

В эксперименте № 2 схема имплантации была той же, однако было использовано животное большей массы тела (67 кг). При этом удалось развить производительность насоса до 5,0-5,5 л/мин и обеспечить адекватную перфузию тела животного в течении 3 часов. Параметры газового состава крови так же были в пределах референтных значений. Однако, через 3 часа перфузии на фоне пробуждения животного в станке, развилась устойчивая фибрилляция желудочков сердца, потеря выброса правых отделов и как следствие, дефицит притока в насос. Было принято решение о прекращении эксперимента и выполнении эвтаназии. Имплантацию дискового насоса в эксперименте № 3 проводили в условиях искусственного кровообращения. Во время вентрикулотомии определялась выраженная гипертрофия стенок левого желудочка и небольшой объем полости, при этом интимное прилегание тканей эндокарда и близость клапанного аппарата создавали угрозу блока приточной канюли. После окончания процедуры имплантации на этапе отлучения животного от искусственного кровообращения развилась устойчивая фибрилляция желудочка,

восстановить координированные сокращения не удалось. Эксперимент был прекращен. В экспериментах №4-6 для имплантации были использованы животные с массой тела 60-70 кг. В качестве места размещения приточной канюли была выбрана полость левого предсердия. Данная техника имплантации приточной канюли позволила практически бескровно обеспечить достаточный приток в насос и избежать развития анемии в послеоперационном периоде. В трех последних экспериментах дисковый насос обеспечивал адекватный системный поток (5,0-5,5 л/мин) в течении 6 часов. Параметры гомеостаза на 6-ой час наблюдения указаны в таблице 3. Во всех экспериментах отмечался нормальный темп диуреза 1-1,5 мл/кг/час.

Таблица 3. Параметры гомеостаза в эксперименте №4, №5 и №6

Параметры	АДср, мм.рт.с г.	ЧСС	SpO ₂ , % ¹	FreeHb, мг/% ²	pH	cЛас, ммоль/л ³
Эксперимент №4	78	78	100	1,0	7,4	2,5
Эксперимент №5	67	76	97	0	7,5	3,0
Эксперимент №6	72	84	98	2,3	7,4	4,0

где 1 – насыщение гемоглобина кислородом, 2 – уровень свободного гемоглобина, 3 – уровень лактата крови

Для предотвращения тромбообразования перед имплантацией внутривенно во всех экспериментах вводили гепарин в дозе 2-3 мг/кг и затем инфузионно для поддержания АСТ на уровне 180-250 сек., кроме эксперимента №6. В шестом эксперименте после имплантации насоса и стабилизации параметров гемодинамики гепарин был полностью инактивирован (до АСТ 120 сек.). В течении 5 часов устройство функционировало без сбоев с минимальным энергопотреблением (7-8 Вт). При демонтаже были обнаружены нескольких нитей тромбов, плотнофиксированных к поверхности дисков. При гистологических исследованиях участков тканей сердца, почек, легких и печени не было

обнаружено зон ишемии, тромбоэмболии или кровоизлияний. Во время проведения острых экспериментов не было зафиксировано случаев отказа в работе или поломки насоса, а уровень свободного гемоглобина оставался в пределах нормы (до 0,1-0,2 г/л). Температура корпуса насоса в области входного патрубка составила 36,0°C, в области основания (двигателя) не превышало 38,0°C в течении 6-часовых острых экспериментов.

Проведение испытаний дискового насоса в субхроническом эксперименте.

Для проведения длительных испытаний дискового насоса в качестве модели были выбраны телята черно-пестрой породы. Основные характеристики животных указаны в таблице 4.

Таблица 4. Характеристики экспериментальных животных

Параметр	Значение
Вид	Bos Taurus (теленки)
Пол	мужской
Статус здоровья	конвенциональный
Возраст к началу исследования:	3-4 месяца
Масса тела к началу исследования, средняя (min÷max):	100 кг (90 ÷ 115)

Подготовка и анестезиологическое обеспечение при проведении хронических экспериментов были схожи с таковыми при проведении острых экспериментов. Для имплантации дискового насоса была выбрана паракорпоральная схема имплантации, поскольку данная схема позволяла значительно упростить процесс послеоперационного наблюдения за устройством, хотя и создавала большую угрозу для жизни животного. Подключение УВК выполняли через левостороннюю торакотомию в 4-м межреберном промежутке по схеме «ушко левого предсердия – нисходящая грудная аорта». После имплантации начинали инфузию гепарина для поддержания АСТ на уровне 180-250 сек.

В серии субхронических экспериментов было выполнено 4 имплантации дискового насоса. Максимальный срок наблюдения составил 6 суток. Имплантацию насоса выполняли по схеме «ушко левого предсердия – нисходящая грудная аорта». В первом эксперименте производительность насоса составила $5 \pm 0,5$ л/мин при 2800-3000 об/мин. На протяжении периода наблюдения проводили инфузию гепарина для поддержания уровня АСТ на уровне 180-250 сек. Параметры гомеостаза оставались в рамках референтных значений (табл. 5.).

Таблица 5. Параметры гомеостаза в эксперименте №1

Параметры	АДср, мм.рт.с т.	ЧС С	SpO ₂ , % ¹	FreeHb , мг/% ²	pH	cЛас, ммоль/л 3	ЛДГ, Ед/л	АСТ, сек
До имплантации	95	96	100	1,0	7,4	2,5	160,0	110,0
Через час после имплантации	90	115	97	4,0	7,5	3,0	153,0	270,0
Через сутки	86	97	98	2,0	7,5	5,0	170,0	260,0

где 1 – насыщение гемоглобина кислородом, 2 – уровень свободного гемоглобина, 3 – уровень лактата крови

На вторые сутки после имплантации были обнаружены сгустки крови в местах соединения магистралей и коннекторов (в виде кольца), по причине их неплотного прилегания. Для исключения потенциального роста и попадания тромботических масс в системный кровоток было принято решение провести замену сегмента магистрали. Однако, во время повторного подключения насоса произошло попадание воздуха в приточную канюлю. Через несколько минут развилась устойчивая фибрилляция желудочков сердца, которую не удалось купировать. После потери выброса правых отделов сердца производительность дискового насоса снизилась до 3,0-3,5 л/мин. В течении последующих 2 часов нарастали признаки

гипоперфузионного синдрома (табл. 6.), было принято решение остановить эксперимент и выполнить эвтаназию.

Таблица 6. Параметры гомеостаза в эксперименте №1 на этапе совершения попыток восстановления правильного ритма сердца

Параметры	АДср, мм.рт. ст.	ЧСС	SpO ₂ , % ¹	FreeHb, мг/% ²	pH	cЛас, ммоль/л ³	ЛДГ, Ед/л	АСТ, сек
До ФЖ	95	98	98	1,0	7,4	2,5	153,0	260,0
Через час после начала ФЖ	90	≈300	87	0	7,5	14,0	165,0	280,0
Через два часа после начала ФЖ	86	≈300	80	0	7,5	18,0	160,0	300,0

где 1 – насыщение гемоглобина кислородом, 2 – уровень свободного гемоглобина, 3 – уровень лактата крови

На вскрытии была обнаружена массивная воздушная эмболия коронарных артерий. В эксперименте №2 в раннем послеоперационном периоде у животного развилась задняя параплегия, сопровождающаяся послеоперационным парезом кишечника и атонией рубца. По-видимому, связанная со значимым дефицитом перфузии в период формирования анастомоза между протезом и нисходящим отделом аорты (40 мин). Мероприятия по восстановлению моторики кишечника (зондирование и декомпрессия, введение наропина в эпидуральное пространство) оказались малоэффективны. Повышенный темп дренажных потерь в первые сутки на этапе подбора дозы гепарина привел к выраженной анемии (гемоглобин 50-60 г/л) и дефициту белка (общий белок крови – 35 г/л, альбумин - 22,7 г/л). Путем постоянного введения гепарина протромбиновое время поддерживалось на уровне 30-35 сек., АСТ на уровне 180-250 сек. На четвертые сутки развились выраженные позиционные отеки задних конечностей. В связи с тяжестью и бесперспективностью состояния экспериментального животного на 5-ые сутки наблюдения была выполнена эвтаназия. На вскрытии признаков ишемии кишечника не выявлено.

Для предупреждения развития паралича в эксперименте №3 этап формирования анастомоза с грудной аортой выполняли в условиях активного шунтирования крови при помощи роликового насоса и канюляции аорты выше и ниже места пережатия. Животное было экстубировано через 1,5 часа после имплантации. Ранний послеоперационный период протекал без осложнений, на 2-ые сутки животное начало самостоятельно принимать пищу и воду. Параметры биохимического и общего анализа крови были в пределах нормы. Однако, на 6 сутки потребляемая мощность увеличилась до 20 Вт. Был заподозрен тромбоз насоса и принято решение об экстренной замене. В момент пережатия магистралей животное стало беспокойным, развилась выраженная тахикардия (до 150 уд/мин), гипотония (70 и 30 мм.рт.ст.), десатурация (60%). Экстренно была выполнена интубация трахеи с переходом на ИВЛ. На фоне кардиотонической поддержки (дофамин, адреналин) удалось стабилизировать параметры гемодинамики и газового состава крови. Через 2 часа насос был включен в систему кровообращения, однако, учащающиеся эпизоды синусовой тахикардии, сменяющиеся нарушениями проводимости и бесперспективность дальнейшего наблюдения, потребовали прекращения эксперимента. На вскрытии была обнаружена субтотальная обтурация правого венозного коллектора приточной канюлей. Таким образом, дренаж крови из правого легкого на протяжении всего периода наблюдения во многом осуществлялся благодаря работе насоса. Пережатие приточной канюли в период замены насоса привело к нарушению перфузии правого легкого и выраженной десатурации. Эту теорию подтверждают изменения параметров гемодинамики сразу после выключения насоса (снижение АД_{ср}, увеличившееся ЦВД, тахикардия). При демонтаже насоса был обнаружен плоский плотнофиксированный тромб, полностью выстилающий основание насоса.

В эксперименте №4 имплантацию насоса проводили так же, как и в предыдущем эксперименте. Ранний послеоперационный период протекал без осложнений. Производительность насоса составила $5 \pm 0,5$ л/мин при 2800-

3000 об/мин и потребляемой мощности 7-10 Вт. Срок наблюдения составил 6 суток. После эвтаназии и демонтажа насоса на внутренних поверхностях и пакете дисков не было обнаружено тромбов, однако, как и в предыдущих случаях на основании насоса был обнаружен слепок коагулированного белка, фибрина и тромбоцитов вокруг оси ротора, не препятствующий его вращению. Ни в одном эксперименте при морфологическом и гистологическом исследованиях сердца, почек, печени и легких не было выявлено зон ишемии, тромбоэмболии или кровоизлияний.

Исследования адгезии тромбоцитов на образцах кремний-углеродного покрытия (a-C:H:SiO_x).

В качестве исследуемых образцов были использованы титановые пластины марки ВТ- 6(с) размером 8×8 мм и толщиной 0,2 мм с нанесенной тонкой (менее 1 мкм) a-C:H:SiO_xплёнкой (5 образцов Т2). Контрольными образцами служили титановые образцы без a-C:H:SiO_xпокрытия (5 образцов Т1). Для проведения теста адгезии тромбоцитов из крови здорового взрослого донора мужского пола (предназначенной для гемотрансфузии) получали 50 мл плазмы, обогащенной тромбоцитами, с помощью центрифугирования и сепарации форменных элементов крови. Исследуемые образцы погружали в полученную суспензию тромбоцитов и инкубировали при 37°С в течение 30 минут. Затем образцы промывали дистиллированной водой для удаления слабо адгезированных клеток. Оставшиеся на поверхности тромбоциты фиксировали в 2% растворе глутарового альдегида при комнатной температуре в течение 1 часа и высушивали в термостате при 37°С. Образцы покрывали слоем хрома толщиной 20 нм в атмосфере аргона при ионном токе 6 мА и давлении 0,1 мм. рт. ст. с использованием установки Q150T ES (Quorum Technologies, Великобритания) и подвергали сканирующей электронной микроскопии на микроскопе Mira3 (Tescan, Чехия). На каждом образце производили подсчет количества адгезированных тромбоцитов в 20 случайных полях зрения. В ходе исследования было

доказано, что а-С:Н:SiO_x покрытие на титановой подложке резко снижает их поверхностную адгезию (табл. 7.). В группе T2 (титан с покрытием) число кровяных пластинок оказалось в 116 раз меньше (p<0,001), чем на поверхности образцов из группы T1 (без плазмохимической обработки).

Таблица 7. Плотность распределения адгезированных тромбоцитов на исследуемых образцах согласно сканирующей электронной микроскопии, M ± m

Маркировка группы	Наименование группы, n=5	Среднее число клеток на площади поверхности 250 мкм ²
T1	Титан марки BT-6(с) без обработки	290 ± 72 n ₁ = 20
T2	Титан марки BT-6(с) с а-С:Н:SiO _x пленкой	2,5 ± 1,8 n ₁ = 20 p<0,001

где n - число изученных образцов в каждой групп, n₁ - число изученных полей зрения на каждом образце, различия между группами достоверны, p<0,001

Определения цитотоксичности образцов с нанесенным кремний-углеродным покрытием (а-С:Н:SiO_x) методом экстракции

Для исследования цитотоксичности образцов с алмазным напылением, были приготовлены экстракты согласно ГОСТ ISO 109993-5-2011. Жизнеспособность клеток оценивали через 24 ч и 72 ч колориметрическим методом по включению МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолий бромид). В качестве отрицательного контроля использовали культуральную среду. Микроскопия выполнялась на микроскопе Axio Observer Z1 (Zeiss, Germany) через 24 и 72 часа совместного культивирования EA.hy 926 с экстрактами исследуемых образцов.

Через 24 ч культивирования эндотелиальных клеток с экстрактами исследуемых материалов (в разведении 0, 1:2 и 1:5) жизнеспособность клеток варьировалась в пределах 102%-106%. Через 72 ч жизнеспособность эндотелиальных клеток при добавлении цельных (не разведенных) экстрактов образцов титана без напыления и образцов с алмазным

напылением значимо не отличалась друг от друга и составляла соответственно $85\% \pm 1,5\%$ и $84\% \pm 0,9\%$ ($p > 0,05$). Жизнеспособность эндотелиальных клеток для разведений 1:2 и 1:5 экстрактов данных образцов варьировалась в пределах 96 %-101% (рис. 4.)

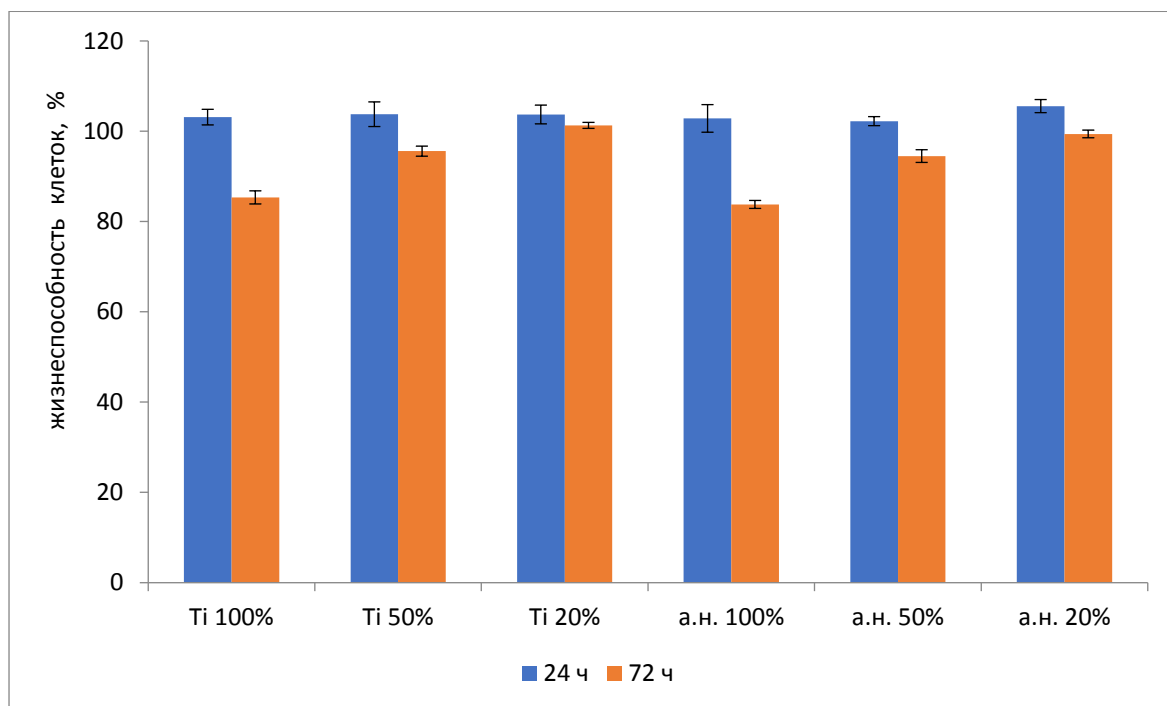


Рисунок 4. Результаты МТТ – теста; а.н. – образцы с а-C:H:SiOx покрытием, указан процент содержания экстракта от объема лунки (100%- цельный экстракт, 50%- экстракт в разведении 1:2, 20%- экстракт в разведении 1:5), $n=6$, $p > 0,05$

Исследование апоптоза показало, что образцы с а-C:H:SiOx покрытием значительно увеличивали долю некротических клеток через 24ч культивирования с эндотелиальными клетками по сравнению с контролем (без добавления экстрактов) и образцами титана. Данный эффект нивелировался при разбавлении экстрактов и по истечению 72 ч. Цитотоксический эффект образцов с алмазным покрытием значительно снижался через 72 ч культивирования экстрактов с эндотелиальными клетками и был сопоставим с уровнем для образцов титана (рис. 5.).

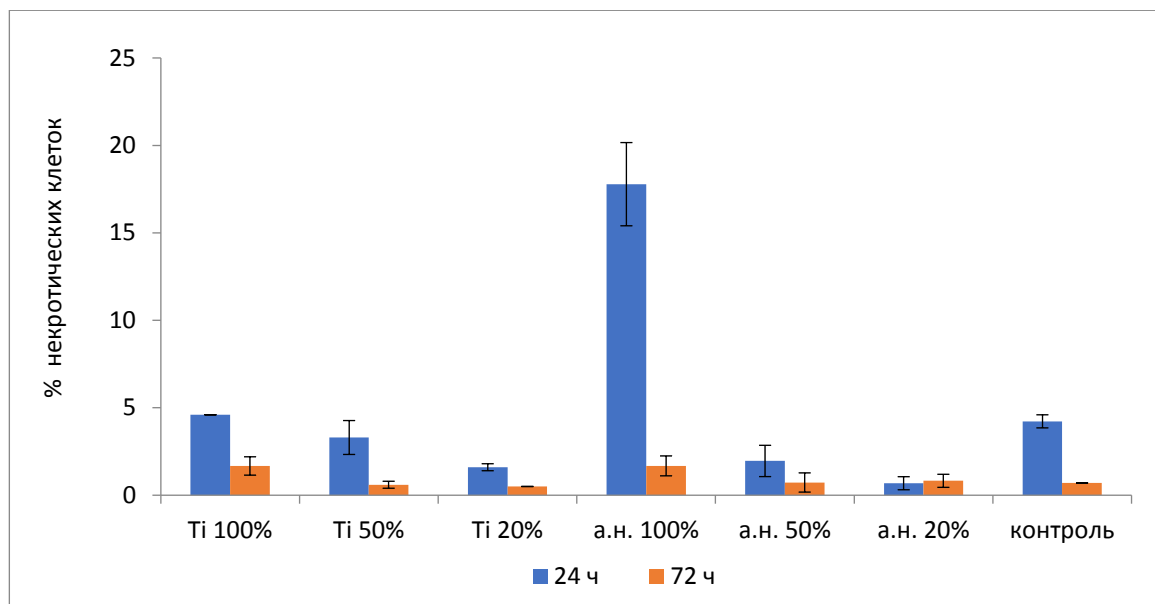


Рисунок 5. Результаты исследования апоптоза эндотелиоцитов; а.н. – образцы с а-С:Н:SiO_x покрытием, указан процент содержания экстракта от объема лунки (100%-цельный экстракт, 50%- экстракт в разведении 1:2, 20%- экстракт в разведении 1:5), n=6, p>0,05

ВЫВОДЫ

1. Опытный образец насоса вязкого трения способен развивать производительность 5-7 л/мин при минимальном числе оборотов ротора (2500-3000 об/мин) и давлении в отточной магистрали 100 мм.рт.ст..
2. Разработанная модель дискового насоса не вызывает клинически значимую травму эритроцитов крови (средний уровень свободного гемоглобина не превысил 0,4 г/л в ходе 6-часовых стендовых испытаний).
3. Опытный образец УВК на базе насоса дискового типа позволяет эффективно и безопасно осуществлять длительную механическую поддержку кровообращения в живом организме по данным серии острых и субхронических экспериментов.
4. Внутренняя поверхность дискового насоса, модифицированная а-С:Н:SiO_x покрытием, обладает низкими цитотоксическими и тромбогенными свойствами.

ПУБЛИКАЦИИ

Всего опубликованных работ – 33, из них работ по теме диссертации – 12, среди них:

1. Работ, опубликованных в отечественных ведущих научных журналах и изданиях, определенных ВАК – 11
2. Монографий – 0
3. Работ в зарубежных научных изданиях – 3
4. Патентов – 0
5. Работ, опубликованных в материалах всероссийских и международных конференций и симпозиумов (тезисов) – 3

РАБОТЫ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Работы, опубликованные в отечественных ведущих научных журналах и изданиях, определенных в действующем перечне ВАК:

1. Жульков М.О., Головин А.М., Головина Е.О., Гренадеров А.С., Фомичев А.В., Альсов С.А., Чернявский А.М. Исследование гемолитических свойств насоса дискового типа // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2020. – Т. 24. – №. 1.
2. Жульков М.О., Головин А.М., Гренадеров А.С., Цирихов Р.В., Сабетов А.С., Агаева Х.А., Чернявский А.М. Методика проведения испытаний нового типа аппарата вспомогательного кровообращения на основе насоса вязкого трения // Bulletin of Experimental & Clinical Surgery. – 2020. – Т. 13. – №. 3.
3. Жульков М.О., Головин А.М., Головина Е.О., Гренадеров А.С., Фомичев А.В., Альсов С.А., Чернявский А.М. Первый опыт имплантации аппарата механической поддержки кровообращения на основе насоса дискового типа в остром эксперименте // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – №. 2. – С. 113-116.

4. Жульков М.О., Сирота Д.А., Фомичев А.В., Гренадеров А.С., Чернявский А.М. Проблема биосовместимости и тромбогенности устройств вспомогательного кровообращения // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2021. – Т. 22. – №. 4. – С. 83-88.

5. Жульков М.О., Гренадеров А.С., Корнеев Д.С., Агаева Х.А., Чернявский А.М., Хлусов И.А. Исследование реакции тромбоцитов на аС:Н:SiO_x покрытие, полученное методом плазмохимического осаждения с использованием импульсного биполярного смещения // Бюллетень сибирской медицины. – 2020. – Т. 19. – №. 3. – С. 15-21.

6. Жульков М.О., Зыков И.С., Головин А.М., Головина Е.О., Гренадеров А.С., Чернявский А.М., Сирота Д.А., Сергеевичев Д.С. Результаты экспериментальных исследований аппарата вспомогательного кровообращения нового типа на основе насоса дискового типа // Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского. – 2021. – Т. 9. – №. 2. – С. 90-95.

7. Чернявский А.М., Жульков М.О., Головин А.М., Головина Е.О., Гренадерова А.С., Фомин В.М. Результаты первых экспериментальных испытаний аппарата механической поддержки кровообращения на основе насоса дискового типа с применением магнитно-гидродинамического подвеса // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – №. 5. – С. 125-126.

8. Medvedev A.E., Fomin A.M., Chernyavskiy A.M., Prikhodko Yu.M., Zhulkov M.O., Golovin A.M. Implanted system of mechanical support of the disk-based heart pump viscous friction // AIP Conference Proceedings.- 2018. – Т. 2027. – №. 1. – С. 030149.

9. Чернявский А.М., Жульков М.О., Головин А.М., Головина Е.О., Фомин В.М., Караськов А.М. Результаты первых экспериментальных испытаний аппарата механической поддержки кровообращения на основе насоса дискового типа // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – №. 5. – С. 134-134.

10. Grenadyorov A.S., Solovyev A.A., Oskomov K.V., Onischenko S.A., Chernyavskiy A.M., Zhulkov M.O., Kaichev V.V. Modifying the surface of a titanium alloy with an electron beam and aC: H: SiOx coating deposition to reduce hemolysis in cardiac assist devices // Surface and Coatings Technology. – 2020. – Т. 381. – С. 125113.
11. Grenadyorov A.S., Solovyev A.A., Ivanova N.M., Zhulkov M.O., Chernyavskiy A.M., Malashchenko V.V., Khlusov I.A. Enhancement of the adhesive strength of antithrombogenic and hemocompatible aC: H: SiOx films to polypropylene // Surface and Coatings Technology. – 2020. – Т. 399. – С. 126132.
12. Grenadyorov A.S., Zhulkov M.O., Solovyev A.A., Oskomov K.V., Semenov V.A., Chernyavskiy A.M., Khlusov I.A. Surface characterization and biological assessment of corrosion-resistant aC: H: SiOx PACVD coating for Ti-6Al-4 V alloy // Materials Science and Engineering: C. – 2021. – Т. 123. – С. 112002.

Патенты, свидетельства, дипломы:

Работа получила поддержку:

- гранта Российского Фонда Фундаментальных исследований (РФФИ) – проект № 15-29-011
- гранта Российского Научного Фонда (РНФ) - проект № 19-19-00186

Соискатель

Жульков М.О.