

WALDEMAR OLSZEWSKI, JERZY POLAŃSKI, HANNA LUKASIEWICZ, BOGDAN  
MICHAŁOWICZ, MARIA ROSNOWSKA, IRMINA DURA-KUBAS, JAN NIELU-  
BOWICZ

## PRZECHOWYWANIE WĄTROBY SWINI ZA POMOCĄ STAŁEJ PERFUZJI W HIPOTERMII

### I. ZMIANY BIOCHEMICZNE I PRZEPLYWU W PRZECHOWYWANEJ PRZEZ 3 GODZ. WĄTROBIE

Z Zespołu Chirurgii Doświadczalnej i Transplantologii CMD i K PAN

Kierownik: prof. dr *J. Nielubowicz*

i z Zakładu Izotopów Zakładu Radiologii AM

Kierownik: prof. dr *L. Zgliczyński*

Przygotowanie chorego do przeszczepienia wątroby pobranej ze zwłok musi trwać od kilku do kilkunastu godzin. W tym czasie muszą być wykonane badania serologiczne zgodności tkankowej oraz próba na obecność przeciwciał cytotoksycznych krążących we krwi biorcy. Jeżeli badania wypadną korzystnie, u chorego bądź usunie się całą wątrobę w przeszczepie ortopowym lub odsłoni się przy przeszczepie heterotropowym wypreparowane rozwidlenie aorty i żyły głównej. Oznacza to, że wyjęta ze zwłok wątroba na to, aby zachowała swoją czynność musi być odpowiednio przechowywana przez wiele godzin.

Celem przedstawionych badań doświadczalnych było opracowanie metody 3-godzinnej przechowywania wątroby oraz ocena jej czynności w sztucznym układzie perfuzyjnym.

Chcieliśmy uzyskać odpowiedzi na następujące pytania:

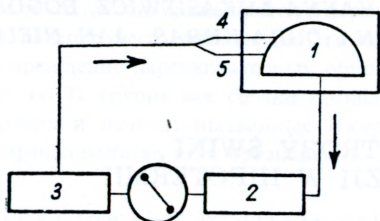
1. Jakie zmiany biochemiczne zachodzą w wątrobie w okresie przechowywania?
2. Jakie zmiany biochemiczne można wykryć we krwi przepływającej przez wątrobę włączoną do sztucznego układu perfuzyjnego?
3. Jaki jest przepływ przez części środkowe, a jaki przez części brzeżne wątroby w okresie przechowywania oraz w okresie perfuzji krwią?

### POSTĘPOWANIE

Badania wykonano na 12 wątrobach świńskich, które przepłukiwano za pomocą pompy w układzie zamkniętym: pompa — utleniacz — wymiennik ciepła — wątroba (ryc. 1). Kaniulowano przewód żółciowy wspólny i odprowadzano wydzielaną żółć. Każde doświadczenie podzielono na dwa etapy. W I etapie płukano wątrobę przez

3 godziny płynem Ringera o temp. 10°C; w II etapie przez taki sam czas krwią o temp. 37°C.

W I etapie pobraną ze świni wątrobę najpierw wypłukiwano 10 l płynu Ringera o temp. 4°C i pH = 7,8, następnie perfundowano ją przez 3 godziny utlenionym płynem Ringera z dodatkiem glukozy (3 g/l), o temp. 10°C i pH = 7,8. Pompę regulowano tak, aby przepływ odbywał się przez tętnicę wątrobową i żyłę wrotną przy ciśnieniu 25/10 mm Hg oraz 5 mm Hg wynosząc 0,2—0,4 ml/g wątroby/min.



Ryc. 1. Schemat układu. 1 — wątroba, 2 — utleniacz, 3 — wymiennik ciepła, 4, 5 — tętnica wątrobową i żyła wrotna.

W II etapie wypełniono układ 1500 ml krwi o hematokrycie 25 i temp. 37°C. Przepływ krwi przez wątrobę odbywał się w tym etapie pod ciśnieniem 120/80 mm Hg w tętnicy wątrobowej i 15 mm Hg w żyłę wrotnej. Krew była stale utleniana, a jej temperatura utrzymywana na poziomie 37—38°C. przy pomocy wymiennika ciepła z termostatem. Temperatura wątroby wzrastała od 10 do 37°C w ciągu 30 minut. Etap ten trwał 3 godziny. W 1 i 3 godzinie I etapu i w 1 i 3 godzinie II etapu badano w płynie przepływającym wątrobę i krwi wpływającej i wypływającej z wątroby pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, poziom kwasu mlekowego, potasu, sodu, białka oraz kreatyniny. Badano również objętość i skład wydzielanej żółci.

Zarówno w I jak i w II etapie w 3 godzinie doświadczenia badano Xe 133 przepływ przez wątrobę, a czerwienią bengalską znakowaną J 131 czynność wątroby.

## WYNIKI

I etap. W czasie 3 godzinnego płukania wątroby płynem Ringera o temp. 10°C stwierdzono, iż pH płynu wypływającego z wątroby jak i poziom w nim kwasu mlekowego zależą od przepływu perfundującego płynu Ringera. Przy przepływie 0,2 ml/g wątroby/min., pH wynosiło 6,95—7,3, a za-

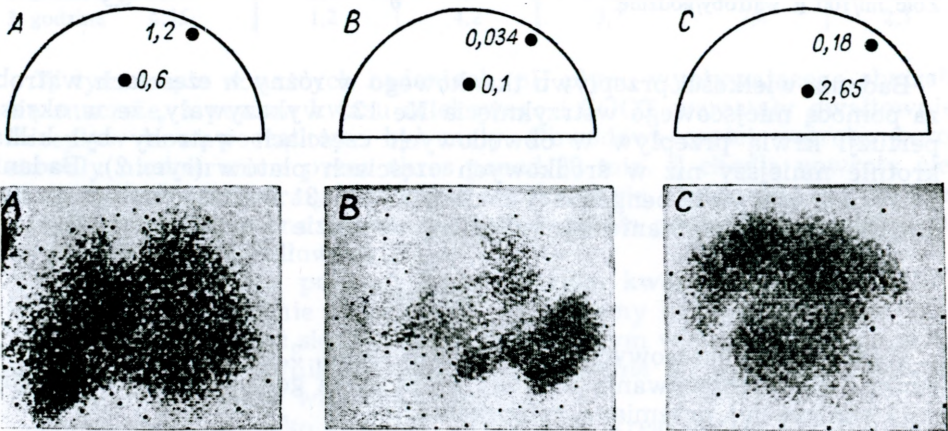
Tabela 1

Wyniki badań biochemicznych w płynie wypływającym z wątroby w 3 godzinie przechowywania

	Przepływ w ml/g wątroby/min.	
	0,2	0,4
pH	6,95—7,3	7,42—7,48
Kwas mlekowy mg%	50(30—98)	5 (poniżej 5—15)
SGOT j.		170 (40—428)
K <sup>+</sup> mEq/l		3,9 (2,9—6,2)
Kreatynina mg%		0,7 (0,15—2,6)
Białko g%		0,17 (0—0,7)

wartość kwasu mlekowego przeciętnie 50 mg<sup>0</sup>/o (30—98), przy wyższych przepływach 0,4 ml/g wątroby/min., pH wynosiło 7,42—7,48, a poziom kwasu mlekowego 5 mg<sup>0</sup>/o (5—15) (tab. 1). Zużycie tlenu było bardzo małe, a różnica ciśnień parcjalnych tlenu w płynie dopływającym i odpływającym wynosiła przeciętnie 75 mm Hg.

Poziom SGOT wynosił przeciętnie 170 j (40—428), poziom potasu wynosił średnio 3,9 mEq/l (2,9—6,2), a kreatyniny 0,7 mg<sup>0</sup>/o (0,15—2,6). Przybór wagi po 3 godzinach przechowywania nie przekraczał 10<sup>0</sup>/o. W okresie przepłukiwania wątroby płynem Ringera o temp. 10°C wykazano za pomocą Xe 133, iż przepływ tkankowy w obwodowych częściach wątroby był kilkakrotnie niższy niż w środkowych częściach płatów (ryc. 2). Badania z użyciem czerwieni bengalskiej znakowanej J 131 wykrywały upośledzone wychwytywanie na obwodzie wątroby (ryc. 2).



Ryc. 2. Badanie izotopowe wątroby. W górnej części ryciny przepływ badany przy użyciu Xe 133. W obwodowych i środkowych częściach wątroby podano przepływy w ml/g/min. W dolnej części ryciny scyntygramy przy użyciu czerwieni bengalskiej z J 131. A — wątroba prawidłowa, B — po 3 godzinnym przechowywaniu, C — po przechowywaniu i 3 godzinnej perfuzji krwią.

II etap. Po rozpoczęciu perfuzji krwią o temp. 37°C wątroba osiągała normalną ciepłotę w ciągu 30 min. W początkowym okresie jedynie środkowe części wątroby miały zabarwienie różowo-czerwone, obwodowe pozostawały niedokrzwione. Później obwodowe części stopniowo przybierały zabarwienie sino-czerwone. Przybływ krwi przy stałym ciśnieniu 120/80 mm Hg w tętnicy wątrobowej i 15 mm Hg w żyłę wrotnej wahał się w różnych doświadczeniach w zależności od oporu obwodowego od 0,45 do 1,5 ml/g wątroby/min. Zużycie tlenu oznaczane od 30 min. od początku perfuzji do 3 godzin wzrastało od 0,004 do 0,0085 ml/g wątroby/min., pH w tym czasie obniżało się bardzo nieznacznie. Poziom kwasu mlekowego obniżał się przeciętnie z 105 mg<sup>0</sup>/o w 1 godzinie do 93 mg<sup>0</sup>/o w 3 godzinie, SGOT z 80 do 76 j., potas z 3,6 do 3,0 mEq/l, a kreatynina wzrastała z 1,58 do 2,1 mg<sup>0</sup>/o (tab. 2). Również poziom białka we krwi wzrastał w tym etapie z 2,2 (0,78—3,3) do 2,31 (1,8—3,38) g<sup>0</sup>/o.

We wszystkich doświadczeniach wątroba wydzielala żółć. Wydzielanie

to rozpoczynało się dopiero w II etapie, zwykle z chwilą osiągnięcia przez wątrobę temp. 37°C. Przeciętnie wydzielano się 0,6 ml żółci/100 g wątroby/godz.

Tabela 2

Wyniki badań biochemicznych we krwi wypływającej z wątroby w czasie perfuzji krwią o temp. 37°C, w 1 i 3 godzinie doświadczenia

Czas perfuzji krwią w godz.	1	3
Kwas mlekowy mg%	105 (22—250)	93,7 (22—170)
SGOT j.	80 (30—196)	76 (44—212)
K <sup>+</sup> mEq/l	3,6 (2,4—5,0)	3,0 (1,2—4,55)
Kreatynina mg%	1,58 (0,25—6,9)	2,1 (0,25—7,6)
Białko g%	2,0(0,78—3,3)	2,3 (1,8—3,38)
Żółć ml/100 g wątroby/godzinę	0	0,5

Badania wielkości przepływu tkankowego w różnych częściach wątroby za pomocą miejscowego wstrzyknięcia Xe 133 wykazywały, że w okresie perfuzji krwią przepływ w obwodowych częściach wątroby był kilkakrotnie mniejszy niż w środkowych częściach płatów (ryc. 2). Badania z użyciem czerwieni bengalskiej znakowanej J 131 wykazały również upośledzone wychwytywanie barwnika na obwodzie wątroby (ryc. 2).

#### OMÓWIENIE

Według dotychczasowych badań uważa się (2, 3, 5, 7), że najlepsze warunki dla przechowywania wątroby przez kilka godzin uzyskuje się gdy:

- 1) obniżyć jej przemianę komórkową,
- 2) dostarczyć odpowiednią ilość tlenu i materiałów energetycznych,
- 3) usunąć produkty przemiany komórkowej i dwutlenek węgla (5).

Można to osiągnąć przez:

- 1) obniżenie ciepłoty wątroby do 4—10°C,
- 2) stały powolny przepływ przez wątrobę płynu izosmotycznego o temp. 4—10°C i wysokim ciśnieniu parcjalnym tlenu.

Samo obniżenie temperatury wątroby jest niewystarczające, ponieważ powoduje to trwałe i nieodwracalne uszkodzenie wątroby (7). Celem naszych badań było opracowanie prostej i taniej techniki przechowywania wątroby, przestrzegając wyżej wymienionych zasad. Zastosowaliśmy najprostszы układ złożony z pompy rolkowej, utleniacza oraz wykonanego ze szkła wymiennika ciepła z termostatem.

Okres ciepłego niedokrwienia wątroby skróciliśmy do 5 min. oziębiając ją *in situ* płynem Ringera wlewany do żyły wrotnej. Jako płynu przepływającego wątrobę przez okres 3 godzin użyliśmy również płynu Ringera zbuforowanego do pH 7,8 z dodatkiem glukozy. Stosując przepływ przez tętnicę wątrobową i żyłę wrotną do 0,4 ml/g wątroby/min. nie stwierdziliśmy wyraźnego obrzęku wątroby, ponieważ po 3 godzinnym doświadczeniu przybór wagi nie przekraczał 10%. Przepływ ten był najlepszy ponieważ przy niższych przepływach płyn wypływający z wątroby

miał odczyn bardziej kwaśny i zawierał większą ilość kwasu mlekowego. Zużycie tlenu przez wątrobę w okresie perfuzji płynem Ringera o temp. 10°C było bardzo małe, przy czym trudno ocenić, czy było to wynikiem obniżonego metabolizmu, czy też utrudnionego pobierania tlenu przez komórki. Dowodem pewnego uszkodzenia komórek wątroby był wzrost poziomu SGOT w płynie przepływającym. Podobnie jak w pracach innych (3, 6, 7) i w naszych badaniach wyniki biochemiczne były najgorsze w okresie ogrzewania narządu.

Tabela 3

Poziom potasu we krwi wypływającej z wątroby w 1 i 3 godzinie perfuzji krwią o temp. 37°C w 6 kolejnych doświadczeniach w mEq/l

1 godzina	5,0	2,4	4,5	4,2	3,4	2,4
3 godzina	4,55	1,2	4,2	3,7	2,4	2,3

W tym czasie w naszych badaniach, pH płynu wypływającego obniżało się znacznie, a poziom kwasu mlekowego i SGOT wzrastały gwałtownie. Przepływ krwi początkowo był mały. Obwodowe części wątroby pozostawały niedokrwione przez okres ponad 30 min. Z chwilą powrotu ciepłoty wątroby do normy, przepływ zwiększał się, zwiększało się również zużycie tlenu. Było ono jednak w ciągu 3 godzin perfuzji stale niższe niż w warunkach prawidłowych (1).

W miarę trwania perfuzji krwią poziom kwasu mlekowego, SGOT oraz potasu nieznacznie obniżały się. Zwiększony poziom białka we krwi krążącej można starać się tłumaczyć zwiększonym wytwarzaniem go przez wątrobę lub jako wynik biernego wypłukiwania z wątroby. Niemniej zrozumiałą jest stały wzrost kreatyniny.

Tłumaczono to jako rezultat przemiany kreatyny w kreatyninę co wyzwała znaczne ilości energii dla odbudowy zapasów ATP (4). Badania izotopowe przepływu pokazały, iż zarówno w czasie przechowywania jak i perfuzji krwią przepływ na obwodzie wątroby był bardzo niewielki (6). Mogło to być przyczyną wielu obserwowanych zmian biochemicznych. Przyczyną obwodowego niedokrwienia mogą być niskie ciśnienie w tętnicy wątrobowej i w żyły wrotnej, agregacja krwinek i wytrącanie się niektórych składników osocza jak np. fosfolipidów (2).

Na podstawie przeprowadzonych przez nas badań można przypuścić, że mimo znacznych odchyłeń od normy uzyskane przez nas wyniki badań biochemicznych wskazują, iż czynność metaboliczna wątroby po 3 godzinach przechowywania jest w dużej mierze zachowana, a po przywróceniu krążenia ulega stopniowej poprawie. Wskazuje również na to wydzielanie żółci w prawidłowych ilościach i składzie.

#### WNIOSKI

1. Wątroba przechowywana przez okres 3 godzin z przepłukiwaniem jej utlenionym płynem Ringera z glukozą o temp. 4–10°C zachowuje swoją czynność biochemiczną i wydziela żółć.

2. W warunkach sztucznej perfuzji pompą rolkową we krwi przepływającej przez wątrobę w pierwszych godzinach po okresie przechowywa-

nia stwierdza się wysoki poziom kwasu mlekowego, wysoki poziom SGOT, stałe obniżanie się poziomu potasu i wzrost poziomu kreatyniny i białka.

3. Przepływ przez obwodowe części wątroby zarówno w okresie przechowywania jak i po przywróceniu przepływu krwią jest upośledzony.

V. Ольшевски, Е. Полянски, Г. Лукасевич, Б. Михалович, М. Ростовска,  
И. Дура-Кубас, Я. Нелюбович

### КОЦСЕРВИРОВАНИЕ СВИНОЙ ПЕЧЕНИ ПРИ ПОМОЩИ ПОСТОЯННОЙ ПЕРФУЗИИ В ГИПОТЕРМИИ

I. Биохимические и проточные изменения в консервированной в течение 3 часов печени

#### Содержание

Авторы провели исследования касающиеся консервирования печени в течение 3 часов при сохраненном течении буферной и обогащенной кислородом жидкости Рингера с прибавлением глюкозы в гипотермии. Исследования обнаружили, что метаболическая и секреторная функция печени после периода консервации, в значительной мере сохранена.

W. Olszewski, J. Polański, H. Łukasiewicz, B. Michałowicz,  
M. Rosnowska, I. Dura-Kubas, J. Nielubowicz

### STORAGE OF PIG'S LIVER BY MEANS OF CONTINUOUS PERFUSION UNDER HYPOTHERMIA

Part I. Biochemical and flow alterations in liver stored during a 3-hour period

#### Summary

Studies on storage of pig's liver under hypothermia during a 3-hour period at maintained perfusion with buffered and oxygenated Ringer's solution with added glucose, evidenced that as well the metabolic as well as the secretory function of the liver was in a considerable degree preserved after the period of storage.

### PIŚMIENNICTWO

1. Abouna G. M., Ashcroft T., Hull C., Hodson A., Kirkley J., Walder D. N.: The assessment of function of the isolated perfused porcine liver. *Brit. J. Surg.*, 1969, 4, 289. — 2. Balzer F. O., Asheby B. S., Huang J. S., Dunphy J. E.: Etiology of rising perfusion pressure in isolated organ perfusion. *Ann. Surg.* 1969, 168, 382. — 3. Couch N. P., Middleton M. K.: Effect of storage temperature on the electrometric surface hydrogen ion activity of ischemic liver and heart. *Surgery*, 1968, 64, 1099. — 4. Herper H.: Review of physiological chemistry. Lange Med. Publishers California 1965. — 5. Humphries A. L.: Organ preservation: a review. *Transplantation* 1967, 5, 1138. — 6. Olszewski W., Polański J., Graban W., Bulien D., Nielubowicz J.: Zmiany biochemiczne i hemodynamiczne w czasie pozaustrojowej perfuzji wątroby. *Pol. Przegl. Chir.*, 1969, 41, 760. — 7. Sicular A., Moore F. D.: The postmortem survival of tissues. *J. Surg. Res.*, 1961, 1, 16.

Pracę nadesłano: 24. XI. 1969.

Adres autora: Warszawa, ul. Dworkowa 3.