

WALDEMAR OLSZEWSKI, JERZY POLAŃSKI, ZBIGNIEW SAWICKI,
ZDZISŁAW MACHOWSKI, MARIA ROSNOWSKA

CECHY WCZESNEGO ODRZUCANIA PRZESZCZEPU WĄTROBY U PSÓW

Z Zakładu Chirurgii Doświadczalnej i Transplantologii CMD i K PAN
Kierownik: prof. dr J. Nielubowicz

W Zespole Chirurgii Doświadczalnej i Transplantologii prowadzone są od 2 lat przygotowania do klinicznego programu przeszczepienia wątroby. W skład tych przygotowań wchodzi badania doświadczalne nad przechowywaniem wątroby, rozpoznawaniem odrzucania i immunosupresją. Celem przedstawianej pracy, stanowiącej część studium nad odrzucaniem allogennego przeszczepu wątroby, było zbadanie jakie zmiany biochemiczne rozwijają się w tzw. wczesnym odrzucaniu przeszczepu wątroby. Najomość tych zmian byłaby pomocna w rozpoznaniu wczesnego odrzucania i stosowaniu odpowiedniego leczenia immunosupresyjnego. Przez wczesne odrzucanie rozumiemy proces rozwijający się między 3 a 60 dniem po przeszczepieniu.

POSTĘPOWANIE

Badania wykonano na 17 psach w 3 grupach. W grupie I u 9 psów wykonano ortotopyczny przeszczep wątroby pobranej od innego psa wg techniki opisanej poprzednio (6). Czas niedokrwienia wątroby wynosił od 45 do 80 min. Psy tej grupy otrzymywały leczenie immunosupresyjne wg schematu: 1–3 dzień immuran 4 mg/kg oraz hydrokortizon 4 mg/kg, 4–10 dzień immuran 3 mg/kg i prednison 1 mg/kg, dalej immuran i prednison w dawce przewlekłej 1 mg/kg.

W grupie II – porównawczej składającej się z 6 psów wykonano przeszczep wątroby tak jak w grupie I, lecz nie stosowano leczenia immunosupresyjnego. W grupie III – trzem psom bez przeszczepu podawano leczenie immunosupresyjne jak w grupie I.

U wszystkich psów wykonywano codziennie badania biochemiczne: poziomu bilirubiny w surowicy, aktywności AspAT, AlAT, fosfatazy zasadowej we krwi, liczbę krwinek białych, płytek krwi oraz hematokryt.

W czasie sekcji sprawdzono drożność zespoleń naczyniowych i żółciowych wątroby, oraz pobrano do badania histopatologicznego wycinki z przeszczepu wątroby i własnych narządów, jak nerki, węzły chłonne, śledziona i płuca.

WYNIKI

Grupa I

Czas przeżycia zwierząt wynosił od 6 do 48 dni, przeciętnie 17,5 dnia.

Poziom bilirubiny w surowicy wzrastał stopniowo u wszystkich psów

(tab. 1), równoległe ze wzrostem aktywności fosfatazy zasadowej. Im wcześniej dochodziło do hiperbilirubinemii, tym krótszy był okres przeżycia po przeszczepieniu. Zwiększony poziom bilirubiny występował w różnym okresie po przeszczepieniu, mimo stosowania takiego samego leczenia immunosupresyjnego. Pojawił się on u 2 psów w 1 dniu, u 2 — w 2, u 2 — w 6, u 1 — w 11, i u 2 — w 19 dniu.

Aktywność transaminaz była stosunkowo wysoka w pierwszych dwóch dobach po przeszczepieniu sięgała AspAT i AlAT 1500 j. Później obniżała się ona znacznie i wykazywała wahania dla AspAT do 500 j. i dla AlAT

Tabela 1

Czas przeżycia, dane biochemiczne oraz przyczyna zgonu psów grupy I

| Nr psa | Czas przeżycia | Wyniki biochemiczne w chwili zgonu | | | | Przyczyna zgonu |
|--------|----------------|------------------------------------|----------|---------|------------------|-------------------------------------|
| | | bilirubina mg % | AspAT j. | AlAT j. | fosf. zas. I. U. | |
| 379 | 6 | 6,1 | 504 | 1412 | 140 | wglóbiecie |
| 473 | 7 | 11,0 | 144 | 616 | 212 | martwica pęcherzyka żółciowego |
| 423 | 8 | 13,6 | 458 | 1070 | 168 | niewydolność wątroby |
| 478 | 10 | 4,6 | 76 | 286 | 220 | przedziurawienie jelita |
| 408 | 14 | 0,8 | 42 | 616 | 200 | wytrzewienie |
| 443 | 16 | 6,6 | 170 | 308 | 164 | ? |
| 412 | 17 | 4,0 | 96 | 316 | 258 | ? |
| 532 | 30 | 4,5 | 80 | 328 | 264 | przedziurawienie wrzodu dwunastnicy |
| 657 | 48 | 4,8 | 112 | 164 | 160 | niewydolność wątroby |

do 1500 j. Nasilenie aktywności transaminaz było krótkotrwałe okresowe i nie przebiegało równoległe ze wzrostem poziomu bilirubiny. W chwili zgonu aktywność transaminaz była niska z wyjątkiem 2 psów, u których na sekcji stwierdzono martwicę płata wątroby.

Przyczyną zgonu była w 2 przypadkach śpiączka, żółtaczką i wyniszczenie, w 2 — przedziurawienie i krwawienie z wrzodu dwunastnicy, w innych kolejno martwica pęcherzyka żółciowego, wglóbiecie jelita i wytrzewienie, 2 psy padły bez uchwytnych przyczyn. U żadnego z psów nie znaleziono na sekcji żółci w drogach żółciowych.

Histologicznie u 7 z 9 psów stwierdzono drobne ogniska martwicy hepatocytów i jedynie u 2 — z 9 drobnokomórkowe nacieki w przestrzeniach wrotnych. Natomiast u 2 — obserwowano zastój żółci w kanalikach i u 5 nagromadzenie barwników żółciowych w komórkach wątroby.

Grupa II

Czas przeżycia psów wyniósł od 2 do 7 dni, przeciętnie 5 dni (tab. 2). Począwszy od 3 dnia poziom bilirubiny i aktywność fosfatazy zasadowej

szybko wzrastały. Również wzrastała aktywność transaminaz. Wszystkie psy padły wśród objawów śpiączki. Na sekcji stwierdzono u wszystkich psów powiększoną, kruchą, ciemno-brunatną wątrobę, bez żółci w drogach żółciowych. Histologicznie u psów, które padły 6 i 7 dnia istniała martwica hepatocytów wokół żyły środkowej i nacieki drobnokomórkowe w przestrzeniach bramnych — typowe objawy odrzucenia przeszczepionej wątroby.

Tabela 2

Czas przeżycia, dane biochemiczne oraz przyczyna zgonu psów grupy II i III

| Nr psa | Czas przeżycia | Wyniki biochemiczne w chwili zgonu | | | | Przyczyna zgonu |
|---------|----------------|------------------------------------|----------|---------|------------------|----------------------|
| | | bilirubina mg% | AspAT j. | AlAT j. | fosf. zas. I. U. | |
| Grupa 2 | | | | | | |
| 1 | 2 | 0,5 | 612 | 1248 | 254 | niewydolność wątroby |
| 2 | 3 | 0,2 | 47 | 116 | 164 | niewydolność wątroby |
| 3 | 6 | 5,5 | 560 | 1200 | 200 | niewydolność wątroby |
| 4 | 7 | 4,5 | 1150 | 1280 | 258 | niewydolność wątroby |
| 5 | 7 | 5,0 | 850 | 1020 | 258 | niewydolność wątroby |
| Grupa 3 | | | | | | |
| 1 | 21 | 0,1 | 15 | 85 | 24 | |
| 2 | 21 | 0,1 | 83 | 490 | 30 | |
| 3 | 29 | 1,9 | 200 | 455 | 12 | |

Grupa III

U wszystkich psów poziom bilirubiny w surowicy był przez cały okres leczenia prawidłowy, podobnie jak fosfataza zasadowa. Aktywność transaminaz ulegała zmianom, nie przekroczyła jednak 200 j. dla AspAT i 500 j. dla AlAT. Na sekcji wykonanej 21 dnia nie stwierdzono makroskopowych zmian w wątrobie. Histologicznie obserwowano tzw. dysocjację beleczek wątroby, bez wyraźnych ognisk martwicy, nacieków i zastoju żółci.

OMÓWIENIE

Rozpoznanie wczesnego odrzucenia przeszczepionej wątroby jest trudne z dwóch przyczyn. Po pierwsze nie wiadomo jaka czynność wątroby ulega jako pierwsza upośledzeniu w procesie odrzucania, w związku z czym nie ma specyficznej próby biochemicznej, która wskazywałaby na odrzucanie. Po drugie niedokrwienie wątroby w czasie przeszczepiania oraz przechowywania powoduje mniej lub więcej nasiloną kilkudniową niewydolność narządu, której nie udaje się odróżnić od niewydolności z powodu odrzucania. Bezpośredni okres po przeszczepieniu charakteryzuje się zwiększoną aktywnością transaminaz, dehydrogenazy kwasu mlekowego, podwyższoną

nym hematokrytem. Nie obserwuje się przy tym wzrostu poziomu bilirubiny i fosfatazy zasadowej we krwi. Zmiany zależne od niedokrwienia wątroby utrzymują się zwykle przez 2—3 dni, jeśli niedokrwienie nie trwało dłużej niż półtorej godziny. Przy dłuższym trwającym niedokrwieniu utrzymują się one długo i w tym czasie mogą nakładać się na nie zaburzenia czynności hepatocytów wywołane odrzucaniem.

Proces odrzucania wątroby u osobników bez leczenia immunosupresyjnego trwa około 7 dni. Charakteryzuje się on biochemicznie podwyższonym poziomem bilirubiny, fosfatazy zasadowej oraz wysoką aktywnością transaminaz i dehydrogenazy kwasu mlekowego. Histologicznie widoczne są nacieki drobnokomórkowe w przestrzeniach wrotnych i środkowych częściach zrazików oraz martwica hepatocytów wokół żyły środkowej (7, 8). W tym typie odrzucania przeważa martwica komórek wątroby i wynikający z tego wysoki poziom enzymów.

U osobników z immunosupresją farmakologiczną (immuran, sterydy), biologiczną (globulina przeciwlifocytarna) lub połączeniem tych metod leczenia proces odrzucania przebiega odrębnie, przewlekłe i w sposób trudny do wczesnego rozpoznania. Klinicznie rozróżnia się 3 typy odrzucania (8). Pierwszy to tzw. odrzucanie beżółtaczkowe. Poziom bilirubiny w surowicy jest wówczas prawidłowy, aczkolwiek w moczu pojawia się na okres kilku godzin, a pojedyncze stolce mogą być odbarwione. Aktywność transaminaz i fosfatazy zasadowej ulega chwilowym wyżynom, ale nigdy nie jest wysoka. Drugi rodzaj odrzucania to tzw. przełom odrzuceniowy. Poziom bilirubiny wzrasta wówczas do bardzo wysokich wartości w ciągu 24—48 godzin. Poprzedzone to jest szybkim wzrostem poziomu fosfatazy zasadowej. Aktywność transaminaz nie ulega większym zmianom. Trzeci typ odrzucania to tzw. powolne odrzucanie ze stałym wzrostem poziomu bilirubiny, fosfatazy zasadowej i nieznacznymi wahaniami aktywności transaminaz. Proces ten postępuje mimo leczenia immunosupresyjnego.

W procesie odrzucania wątroby można więc rozróżnić dwa zjawiska powodujące nieco odmienne zmiany hemodynamiczne. Jedno to bliżej nie zbadane uszkodzenie komórek wątroby z wewnątrzkomórkowym i wewnątrzkanalikowym zastojem żółci (3, 5, 7, 8) dające objawy żółtaczki zastoinowej. Drugie to martwica tkanki wątrobowej, dotycząca pojedynczych segmentów lub płatów, przebiegająca ze znacznym wzrostem aktywności transaminaz we krwi (1, 8). Martwica ta przebiegając pod postacią zakaznego zawału jest następstwem procesu immunologicznego, który powoduje zaburzenia przepływu przez wątrobę. Zostało to potwierdzone histologicznie i immunofluorescencyjnie (8).

Badania doświadczalne wskazują na to, że proces odrzucania wątroby u takich zwierząt jak pies, świnia, małpa jest podobny do procesu zachodzącego u człowieka. Pozwala to na wyciągnięcie wniosków pomocnych w rozumowaniu klinicznym (2, 3, 4, 8). Dlatego też przygotowując się do przeszczepienia wątroby u człowieka staraliśmy się zbadać jakie zmiany biochemiczne występują w czasie wczesnego odrzucenia, czy ich nasilenie ma związek z długością przeżycia zwierząt oraz jaka część tych zmian zależna jest od samego leczenia immunosupresyjnego środkami farmakologicznymi.

W naszych doświadczeniach najbardziej charakterystyczny dla odrzucania był wzrost poziomu bilirubiny. Im później on następował tym dłuższe było przeżycie zwierzęcia, przy jednakowym schemacie immunosupresji. Histologicznie towarzyszył temu zastój żółci w komórkach wątroby i w ka-

nalikach żółciowych. Hiperbilirubinemia nie mogła być wczesnym wskaźnikiem odrzucania, ponieważ była ona późnym objawem niewydolności wątroby i zwierzęta ginęły w kilka dni po jej wystąpieniu. Aktywność transaminaz nie miała znaczenia rozpoznawczego, była niska w okresie śmierci zwierząt. Była ona podwyższona tylko w początkowym okresie po przeszczepieniu, co pozwalało na ocenę stopnia uszkodzenia wątroby wskutek niedokrwienia. Z przedstawionej pracy wynika, iż pewne uszkodzenie komórek wątroby może być wywołane immuranem, lecz nie towarzyszy temu wewnątrzkomórkowy i wewnątrzkanalikowy zastój żółci.

Wydaje się, iż dla celów wczesnego rozpoznania odrzucania wątroby konieczne jest wyjaśnienie mechanizmu zaburzeń tworzenia żółci w przeszczepionej wątrobie i opracowanie na tej podstawie testów rozpoznawczych.

WNIOSKI

1. W tzw. wczesnym odrzucaniu allogennego przeszczepu wątroby u psów najbardziej charakterystycznym objawem jest wzrost poziomu bilirubiny w surowicy.
2. Wysoki poziom bilirubiny świadczy o nieodwracalnych już zmianach w wątrobie i jest zbyt późnym wskaźnikiem dla odpowiedniego postępowania immunosupresyjnego.
3. Dla celów wczesnego rozpoznania odrzucania konieczne jest lepsze poznanie zaburzeń wytwarzania żółci w przeszczepionej wątrobie.

В. Ольшевски, Е. Полянски, З. Савицки, З. Маховски, М. Росновска

СИМПТОМ РАННЕГО ОДБРАСЫВАНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА ПЕЧЕНИ У СОБАК

Содержание

Исследовано биохимические изменения развивающиеся в так званом раннем одбрасывании аллогеновой печени. Исследования проведено на собаках в трёх группах: 1. ортотоповый трансплантат печени без иммуносупрессионного лечения, 2. ортотоповый трансплантат печени с иммуносупрессионным лечением, 3. собаки без трансплантата печени с иммуносупрессионным лечением, как в второй группе. Полученные результаты указывают, что наиболее характерным симптомом раннего одбрасывания печени является прирост уровня билирубина в сыворотке крови у животных. Высокий уровень билирубина свидетельствует о неотвращивающихся уже изменениях в печени и является очень поздним показанием для соответствующего иммуносупрессионного лечения.

W. Olszewski, J. Polański, Z. Sawicki, Z. Machowski, M. Rosnowska

SIGNS OF EARLY REJECTION OF LIVER TRANSPLANT IN DOGS

Summary

Biochemical alterations developing in the so-called early rejection of the allogenic liver transplant were studied. These studies were carried out on dogs. Experimental animals were divided into three groups: Ist — orthotopic liver transplantation without

immunosuppressive treatment; IIInd — orthotopic liver transplantation coupled with immunosuppressive treatment; IIIrd — dogs subjects only to immunosuppressive treatment without liver transplantation. Results of these studies evidenced that the most characteristic sign of early rejection of the transplant was an increase in blood serum bilirubin level. High level of bilirubin in blood serum of experimental animals signals that already irreversible alterations in liver parenchyma develop, thus making useless any trials to institute an immunosuppressive treatment.

PIŚMIENNICTWO

1. *Birtch A. G., Moore F. D.*: Experience in liver transplantation. *Transpl. Rev.*, 1969, 2, 3. — 2. *Calne R. Y.*: Liver transplantation. *Transpl. Rev.*, 1969, 2, 3. — 3. *Hunt A. C.*: Pathology of liver transplantation in the Pig. W Read E. A. — The liver. Butterworths, 1967, 337. — 4. *Moore F. D.*: kontakt osobisty. — 5. *Myburgh J. A., Abrahams C., Mendelsohn D., Mieny C. J., Bersohn I.*: The cholestatic phenomenon in hepatic allograft rejection in the primate. Międzynarodowy Zjazd Transplantologiczny, Haga 1970. — 6. *Olszewski W., Polański J.* i in.: Technika ortotopowego przeszczepiania wątroby u psów. *Pol. Przeg. Chir.*, w druku. — 7. *Porter K. A.*: Pathology of liver transplantation. *Transpl. Rev.*, 1969, 2, 129. — 8. *Starzl T. E., Brettschneider L., Penn I., Giles G., Picache R., Putnam Ch. W.*: Clinical liver transplantation. *Transpl. Rev.*, 1969, 2, 3.

Pracę nadesłano: 15. II. 1971.

Adres autora: Warszawa, ul. Chałubińskiego 5.