

## Εγχειρητικές τεχνικές λεπτομέρειες κατά τη λήψη, συντήρηση και μεταμόσχευση του ήπατος σε αρουραίους

Β. Παπανικολάου, Δ. Βροχίδης, Π. Μαργάρη\*, Δ. Γάκης, Ν. Αντωνιάδης, Ι. Φούζας, Δ. Τακούδας, Α. Αντωνιάδης

Χειρουργική Κλινική Μεταμοσχεύσεων ΑΠΘ,  
\*Β' Πρ. Παθ. Κλινική ΑΠΘ, "Ιπποκράτειο" ΓΠΝ Θεσ/νίκης

**Περίληψη.** Η μεταμόσχευση ήπατος στον αρουραίο είναι τεχνικά δύσκολη και, δυστυχώς, στη σχετική βιβλιογραφία δεν υπάρχουν επαρκείς απεικονιστικές περιγραφές και δεν αναλύονται σημαντικές τεχνικές λεπτομέρειες στα διάφορα στάδια της επέμβασης. Η πολυπλοκότητα του εγχειρητικού αυτού πρωτοκόλλου σε συνδυασμό με την ανάγκη εκτέλεσης τον από δύο άτομα περιορίζει την ευρεία χρησιμοποίησή του σε κέντρα με μικρή ερευνητική εμπειρία και ανεπάρκεια εξειδικευμένου προσωπικού, όπως κατά κανόνα συμβαίνει στην Ελλάδα. Στην εργασία αυτή γίνεται λεπτομερής περιγραφή της εγχειρητικής τεχνικής με πλούσιο φωτογραφικό υλικό από τα διάφορα στάδια της επέμβασης και αναλύεται σειρά τεχνικών τροποποιήσεων, οι οποίες επιτρέπουν την πραγματοποίησή της επέμβασης από ένα και μόνο άτομο με πολύ ικανοποιητικά ποσοστά επιτυχίας (>80%). Τα στοιχεία που παρατίθενται στηρίζονται στην πρόσφατη εμπειρία μας από 250 και πλέον ορθοτοπικές μεταμοσχεύσεις ήπατος σε αρουραίους, που έγιναν στο Πειραματικό Εργαστήριο της Χειρουργικής Κλινικής Μεταμοσχεύσεων του Α.Π.Θ, στο «Ιπποκράτειο» Γ.Π.Ν. Θεσσαλονίκης.

**Papanicolaou V, Vrochides D, \*Margari P, Gakis D, Antoniadis N, Fouzas J, Takoudas D, Antoniadis A. Surgical technical details during harvesting, storage and liver transplantation in rats.** Organ Transplant Surgical Unit, 2nd Dept. of Internal Medicine\*, Aristotle University of Thessaloniki, Greece. *Organ & Tissue Transplant* 2000, 5:17 - 25.

*Orthotopic rat liver transplantation is technically difficult and unfortunately in the relative bibliography illustrated descriptions are lacking and important technical details of the procedure are not analyzed. The surgical complexity of this protocol in combination with the need of two researchers to be performed limits the wide utilisation of the procedure in centres with small inquiring experience and insufficiency of specialised staff, which is almost always the case in Greece. In this paper several details of the surgical technique are described with rich photographic material from the various stages of intervention. Important also technical modifications are analyzed that allow the orthotopic rat liver transplantation to be performed by only one researcher with quite successful rates of survival (>80%). The elements that are mentioned are based on our recent experience of over 250 liver transplantations in rats performed in the Laboratory of Organ Transplant Surgical Unit, Aristotle University of Thessaloniki, Greece.*

### Εισαγωγή

Η Ορθοτοπική μεταμόσχευση ήπατος σε αρουραίους συνοδεύεται από πολλαπλά διεγχειρητικά προβλήματα, τα οποία ακόμη και σήμερα αποτρέπουν την ευρεία, χρησιμοποίησή του πειραματικού αυτού μοντέλου. Εντούτοις η αναμφισβήτητη υπεροχή των αρουραίων έναντι των άλλων πειραματόζων στη μελέτη ανοσολογικών και μη προβλημά-

των καθιστά επιβεβλημένη τη χρησιμοποίησή τους. Υπάρχουν διάφορες βιβλιογραφικές αναφορές στην τεχνική μεταμόσχευσης ήπατος σε αρουραίους, αλλά είναι ελλιπείς, καθόσον δεν περιλαμβάνουν επαρκή αριθμό διευκρινιστικών εικόνων και διεγχειρητικών φωτογραφιών και παραλείπουν σημαντικές τεχνικές λεπτομέρειες που είναι ζωτικής σημασίας για την εξοικείωση του αρχάριου ερευνητή με ένα τόσο απαιτητικό εγχειρητικό πρωτόκολλο.

Η αναγκαιότητα επίσης διενέργειας της επέμβασης από δύο άτομα αποτελεί, εκτός από τα παραπάνω, έναν ακόμη σοβαρό λόγο περιορισμού της ευρείας χρησιμοποίησης της σε κέντρα με μικρή ερευνητική εμπειρία και ανεπάρκεια εξειδικευμένου προσωπικού, όπως κατά κανόνα συμβαίνει στην Ελλάδα.

Στην εργασία αυτή γίνεται λεπτομερής περιγραφή της εγχειρητικής τεχνικής με πλούσιο φωτογραφικό υλικό από τα διάφορα στάδια της επέμβασης και αναλύεται σειρά τεχνικών τροποποιήσεων, οι οποίες επιτρέπουν την πραγματοποίηση της επέμβασης από ένα και μόνο άτομο με πολύ ικανοποιητικά ποσοστά επιτυχίας (>80%). Τα στοιχεία που παρατίθενται στηρίζονται στην πρόσφατη εμπειρία μας από 250 και πλέον ορθοτοπικές μεταμοσχεύσεις ήπατος σε αρουραίους, που έγιναν στο Πειραματικό Εργαστήριο της Χειρουργικής Κλινικής Μεταμοσχεύσεων του Α.Π.Θ, στο «Ιπποκράτειο» Γ.Π.Ν. Θεσσαλονίκης.

### Ιστορική αναδρομή

Η πρώτη Ορθοτοπική μεταμόσχευση ήπατος σε αρουραίους πραγματοποιήθηκε το 1973 από τους Lee και συν.<sup>1</sup> Για την επέμβαση αυτή χρησιμοποιήθηκε εξωσωματική πυλαιοσυστηματική παράκαμψη. Ο χοληδόχος πόρος του μοσχεύματος εμφυτεύτηκε στο δωδεκαδάκτυλο του λήπτη. Όλες οι φλεβικές αναστομώσεις (υπερηπατική, υφηπατική κάτω κοίλη φλέβα και πυλαία φλέβα) έγιναν τελικοτελικά, με συνεχείς ραφές. Η αρτηριακή ροή αποκαταστάθηκε με τελικοπλάγια αναστόμωση (συνεχής ραφή) της κοιλιακής αρτηρίας του μοσχεύματος με την αορτή (κάτω από τις νεφρικές αρτηρίες) του λήπτη. Το 1975 ο ίδιος ερευνητής πραγματοποίησε την επέμβαση χωρίς τη χρήση εξωσωματικής πυλαιοσυστηματικής παράκαμψης και χωρίς αποκατάσταση της αρτηριακής ροής.<sup>2</sup> Το 1979, οι Zimmermann και συν. περιέγραψαν, τη διενέργεια χοληδοχο-χοληδοχοαναστόμωσης με τη χρήση τηλεσκοπικών καθετήρων πολυαιθυλενίου.<sup>3</sup> Το 1979 επίσης, οι Kamada και συν. περιγράφουν τη χρήση cuff από πολυαιθυλένιο για την πραγματοποίηση της πυλαίας αναστόμωσης.<sup>4</sup> Η χρήση cuff στην πυλαία αναστόμωση απλοποίησε την εγχειρητική τεχνική και κατέστησε την Ορθοτοπική μεταμόσχευση ήπατος σε αρουραίους αξιόπιστο ερευνητικό μοντέλο.<sup>5</sup> Το 1980, οι Miyata και συν. επεκτείνουν πλέον τη χρήση των cuff πολυαιθυλενίου στις αναστομώσεις της υπερηπατι-

κής και της υφηπατικής κάτω κοίλης φλέβας.<sup>6</sup> Το 1985, ο Engemann εισάγει τροποποιήσεις στην τεχνική αποκατάστασης της αρτηριακής ροής στο μόσχευμα.<sup>7</sup> Το 1989, οι Steffen και συν. περιγράφουν τη χρήση cuff από πολυαιθυλένιο για την πραγματοποίηση της αναστόμωσης μεταξύ της ιδίως ηπατικής αρτηρίας του δότη και της κοινής ηπατικής αρτηρίας του λήπτη.<sup>8</sup> Τέλος, το 1993, οι Gao και συν. περιγράφουν τη χρήση cuff από πολυαιθυλένιο για την πραγματοποίηση της αναστόμωσης μεταξύ της ιδίως ηπατικής αρτηρίας του δότη και της αντίστοιχης του λήπτη.<sup>9</sup>

Σύμφωνα με την τρέχουσα τεχνική ορθοτοπικής μεταμόσχευσης ήπατος σε αρουραίους, η αρτηριακή παροχή του μοσχεύματος δεν αποκαθίσταται.<sup>4</sup> Επιπλέον, χρησιμοποιούνται cuff πολυαιθυλενίου για την πραγματοποίηση των αναστομώσεων της πυλαίας και της υφηπατικής κάτω κοίλης φλέβας.<sup>5</sup> Η επέμβαση πραγματοποιείται από δύο πάντα άτομα με τη χρήση μεγεθυντικών (x4) διόπτρων και τα εργαλεία που χρησιμοποιούνται είναι μεν καθαρά, αλλά όχι αποστειρωμένα<sup>4,10</sup>. Η διάρκεια της ανηπατικής φάσης του λήπτη δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 26 min<sup>4</sup>.

### Υλικό και μέθοδοι

Όλα τα πειραματόζωα (δότες και λήπτες) ήταν αρσενικοί αρουραίοι σωματικού βάρους 350-400 g με ελεύθερη πρόσβαση σε νερό και τροφή (Amylum Θεσσαλονίκη). Η αναισθησία γινόταν με διαιθυλαιθέρα, γιατί επέτρεπε τον έλεγχο του βάθους της αναισθησίας που είναι πολύ σημαντικός παράγων στη διάρκεια της ανηπατικής κυρίως φάσης στους λήπτες πειραματόζωα. Τα πειράματα έγιναν με βάση προκαθορισμένες οδηγίες για την ορθή μεταχείριση των πειραματόζωων<sup>11</sup> και το πρωτόκολλο είχε εγκριθεί από την Ethical Committee for laboratory animals of Uppsala και από την Κτηνιατρική Επιτροπή της Θεσσαλονίκης.

### Λήψη του μοσχεύματος

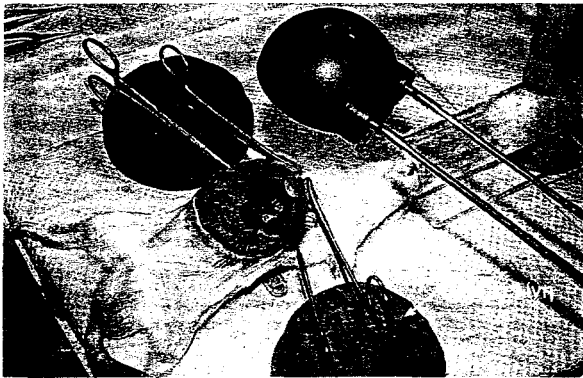
Μετά την αναισθητοποίηση του δότη αρουραίου διανοίγεται η περιτοναϊκή κοιλότητα με υποπλεύρια άμφω εγκάρσια τομή. Τα κεντρικά κοιλώματα των αιμορραγούντων άνω επιγάστριων αρτηριών συλλαμβάνονται μαζί με τους σύστοιχους ορθούς κοιλιακούς μύες με λαβίδες τύπου mosquito, οι οποίες συγκρατούνται με πλαστελίνη έτσι ώστε το άνω χείλος του τραύματος να ανα-

σπάται και να διευρύνεται το εγχειρητικό πεδίο (Εικ. 1). Η αιμορραγία από άλλα μικρότερα αγγεία ελέγχεται με προσωρινή σύνθλιψη τους. Κατά τη διάρκεια της επέμβασης η περιτοναϊκή κοιλότητα διαβρέχεται κατά διαστήματα με διάλυμα Ringer's 37°C. Στη συνέχεια διατέμνονται κατά σειρά ο δρεπανοειδής σύνδεσμος, ο αριστερός τρίγωνος σύνδεσμος και οι διαλοβιακοί σύνδεσμοι και παρασκευάζεται ο πρόσθιος και ο οπίσθιος κερκοφόρος λοβός του ήπατος (Εικ. 2). Παρασκευάζονται επίσης η υφηπατική κάτω κοίλη, η δεξιά νεφρική και δεξιά επινεφριδική φλέβα (Εικ. 3). Οι δύο τελευταίες απολινώνονται, όπως απολινώνεται και η αριστερή διαφραγματική φλέβα. Παρασκευάζεται επίσης, απολινώνεται και διατέμνεται η στεφανιαία φλέβα, ώστε να αποκαλυφθεί η πυλαία τριάδα και ακολουθεί η παρασκευή και απολίνωση της ιδίως ηπατικής αρτηρίας. Κατόπιν καθετηριάζεται ο χοληδόχος πόρος με αγγειακό καθετήρα εύρους 24G, ο οποίος ακινητοποιείται με περιβρογχισμό από ράμμα μεταξύ 6-0. Η οδηγός βελόνη απομακρύνεται και το μήκος του καθετήρα ρυθμίζεται έτσι ώστε να μην εισέρχεται στο δεξιό



Εικ. 3. Παρασκευή υφηπατικής κάτω κοίλης φλέβας.

ή αριστερό ηπατικό πόρο. Η άμεση εκκροή χολής υποδηλώνει πάντα επιτυχή καθετηριασμό του χοληδόχου πόρου (Εικ. 4). Στη συνέχεια παρασκευάζεται η πυλαία και σπληνική φλέβα, οι οποίες απολινώνονται κεντρικά. Ακολουθεί ενδοφλέβια bolus έγχυση ηπαρίνης 0,5 IU/gr βάρους σώματος από την πείκη φλέβα. Μετά την αναμονή 3 min η πυλαία φλέβα καθετηριάζεται στο ύψος της άνω μεσεντερίου με αγγειακό καθετήρα εύρους 20 G, ο οποίος ακινητοποιείται με περιβρογχισμό σε δύο σημεία με ράμμα μεταξύ 6-0 και αφαιρείται η οδηγός βελόνη (Εικ. 5). Τοποθετείται οδηγό ράμμα



Εικ. 1. Ευρεία υποπλευρία άμφω εγκάρσια τομή.



Εικ. 4. Καθετηριασμός χοληδόχου πόρου.



Εικ. 2. Παρασκευή πρόσθιου και οπίσθιου κερκοφόρου λοβού.

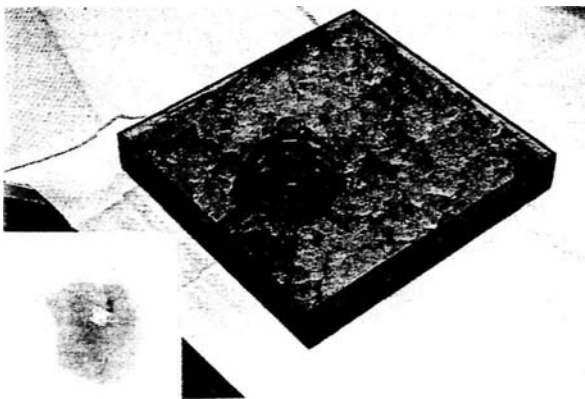


Εικ. 5. Καθετηριασμός πυλαίας φλέβας.

(μετάξι 3-0) στη υπηπατική κάτω κοίλη φλέβα αμέσως κάτω από την εκβολή των νεφρικών φλεβών και το αγγείο διατέμνεται περιφερικότερα. Από τον καθετήρα της πυλαίας φλέβας αρχίζει αμέσως η χορήγηση με σύριγγα 10 ml ψυχρού (4°C) διαλύματος UW-1 με ρυθμό 1 ml/min (Εικ. 6). Η κεφαλή του πυλαίου καθετήρα απομακρύνεται και το εναπομένον τμήμα του εκτός του αγγείου ρυθμίζεται στα 3 cm. Κατόπιν διανοίγεται η θωρακική κοιλότητα και διατέμνεται η υπηπατική κάτω κοίλη φλέβα στο ύψος των καρδιακών κόλπων, έτσι ώστε το αγγείο να παρασκευασθεί και στη συνέχεια να ληφθεί με τμήμα του διαφράγματος. Αφού διαταμούν οι οπίσθιοι ήπατικοί σύνδεσμοι ακολουθεί η διαίρεση της δεξιάς επινεφριδικής, της δεξιάς νεφρικής, της αριστερής διαφραγματικής και της στεφανιαίας φλέβας, προσέχοντας ώστε οι κεντρικές απολινώσεις που είχαν προηγουμένως τοποθετηθεί να συνοδεύουν το μόσχευμα. Τέλος διατέμνονται και οι τελευταίες διασυνδέσεις του ήπατος με το σώμα του δότη και το μόσχευμα μεταφέρεται και τοποθετείται σε λεκάνη με ψυχρό (0-4°C) διάλυμα UW-1 για περαιτέρω επεξεργασία (Εικ. 7).



**Εικ. 6.** Έκπλυση με 10 ml ψυχρού (4°C) διαλύματος UW-1 με ρυθμό 1 ml/min.

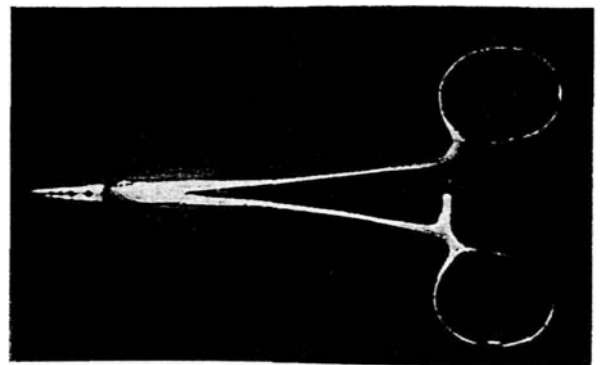


**Εικ. 7.** Το μόσχευμα στη λεκάνη με ψυχρό (0-4°C) διά-

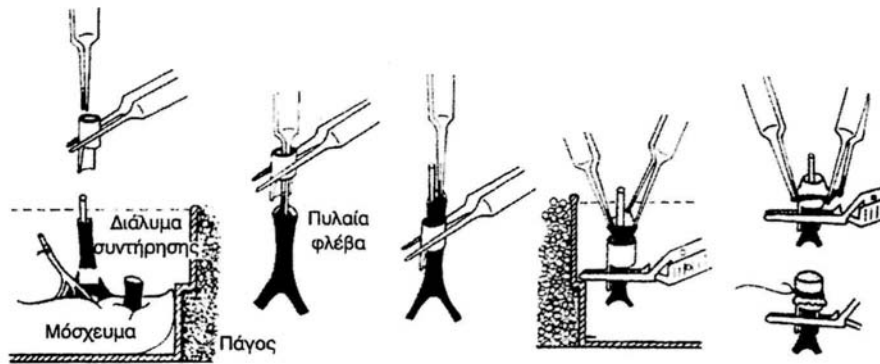
Ο συνολικός χρόνος της λήψης του μοσχεύματος διαρκεί περίπου 75 min.

### Τοποθέτηση των cuff στο μόσχευμα

Ο πυλαίος καθετήρας των 20 G προωθείται ώστε τα χείλη του αγγειακού στομίου να συμπέσουν. Κατόπιν η πυλαία φλέβα του μοσχεύματος διέρχεται μέσα από τμήμα αγγειακού καθετήρα 16 G μήκους 4 mm (πυλαίο cuff). Στη συνέχεια ο καθετήρας των 16 G επαναφέρεται στην αρχική του θέση ώστε να προβάλλει ξανά από το στόμιο της πυλαίας. Το σύμπλεγμα του καθετήρα ενσφηνώσης των 20 G με την πυλαία φλέβα και το cuff της ακινητοποιούνται με τη βοήθεια ειδικής λαβίδας τύπου mosquito (Εικ. 8) σε τέτοια θέση ώστε ο καθετήρας ενσφηνώσης να προβάλλει από την πυλαία, της οποίας το στόμιο βρίσκεται το λιγότερο 4 mm πάνω από το εξωτερικό στόμιο του cuff της (Σχ. 1). Ακολουθεί η εκστροφή της πυλαίας πάνω στο cuff της και η ακινητοποίηση του με τη χρήση δύο βρόγχων από ράμμα πολυπροπυλενίου 7-0. Το cuff της κάτω κοίλης φλέβας τοποθετείται με παρόμοιο τρόπο, χρησιμοποιώντας ως cuff τμήμα από αγγειακό καθετήρα 14G, μήκους 6 mm. Ως καθετήρας ενσφηνώσης χρησιμοποιείται αγγειακός καθετήρας 18G. Η βατότητα του κοιλικού cuff ελέγχεται με την κατά μήκος διέλευση καθετήρα πολυαιθυλενίου, μεγέθους 10 cm, από την κάτω κοίλη φλέβα του μοσχεύματος (Εικ. 9). Κατόπιν η υπηπατική κάτω κοίλη φλέβα διατέμνεται αμέσως κάτω από το τμήμα του διαφράγματος που είχε παρασκευασθεί κατά τη λήψη του μοσχεύματος και στο νεοδημιουργηθέντα αυλό της υπηπατικής κάτω κοίλης τοποθετούνται έκκεντρα, από έξω προς τα μέσα, δύο οδηγά ράμματα πολυπροπυλενίου 7-0. Ο συνολικός χρόνος τοποθέτησης των cuff δεν ξεπερνά τα 30 min περίπου. Το ηπατικό



**Εικ. 8.** Λαβίδα τύπου mosquito ειδική για τοποθέτηση cuff.



Σχ. 1. Σχηματική απεικόνιση της τεχνικής τοποθέτησης του πυλαίου cuff.



Εικ. 9. Έλεγχος βατότητας του cuff της υπερηπατικής κάτω κοίλης με τη χρήση καθετήρα πολυαιθυλενίου.

μόσχευμα παραμένει πλέον έτοιμο στη λεκάνη με το ψυχρό διάλυμα συντήρησης μέχρι την προετοιμασία του λήπτη και τη μεταμόσχευση του.

### Ορθοτοπική μεταμόσχευση του ήπατος

Ο λήπτης τοποθετείται μέσα σε κώδωνα αναισθησίας που περιέχει διαιθυλαιθέρα. Η διατήρηση της αναισθησίας επιτυγχάνεται με μάσκα της οποίας η ατμόσφαιρα εμπλουτίζεται με O<sub>2</sub>. Το πειραματόζωο ακινητοποιείται ατραυματικά στην χειρουργική τράπεζα. Ακολουθεί ενδομυϊκή έγχυση ατροπίνης και βουπρενορφίνης, από 1 μg/gr βάρους σώματος. Ενδοφλέβια γραμμή για τη στάγδην χορήγηση περίπου 3 ml διαλύματος D 5% εξασφαλίζεται με την τοποθέτηση αγγειακού καθετήρα 26 G στη δεξιά μηριαία φλέβα μετά από χειρουργική αποκάλυψη. Η περιτοναϊκή κοιλότητα διανοίγεται και το ήπαρ κινητοποιείται όπως στο δότη. Στη συνέχεια παρασκευάζονται, απολινώνονται (κεντρικά και περιφερικά) με ράμμα πολυπροπυλενίου 7-0 και διατέμνονται ανάμεσα στις απολινώσεις η αριστερή διαφραγματική φλέβα και η οισοφαγική αρτηρία. Οδηγός φακαρόλα (υγρή) τοποθετείται στην υπερηπατική κάτω

κοίλη φλέβα (Εικ. 10) και στη συνέχεια παρασκευάζεται, απολινώνεται (κεντρικά και περιφερικά) με ράμμα πολυπροπυλενίου 7-0 και διατέμνεται ανάμεσα στις απολινώσεις η δεξιά επινεφριδική φλέβα. Ακολουθεί η παρασκευή της υπερηπατικής κάτω κοίλης φλέβας μέχρι το ύψος της δεξιάς νεφρικής και τοποθετείται οδηγό ράμμα (μετάξι 3-0). Κατόπιν παρασκευάζονται, απολινώνονται (κεντρικά και περιφερικά) με ράμμα πολυπροπυλενίου 7-0 και διατέμνονται ανάμεσα στις απολινώσεις η στεφανιαία φλέβα και η ιδίως ηπατική αρτηρία. Στη συνέχεια παρασκευάζεται η πυλαία φλέβα μέχρι το ύψος της σπληνικής. Ο χοληδόχος πόρος καθετηριάζεται μέσω της ληκύθου με αγγειακό καθετήρα εύρους 22 G, ο οποίος ακινητοποιείται με περιβρογχισμό από ράμμα μετάξι 6-0. Η οδηγός βελόνη απομακρύνεται και το μήκος του καθετήρα ρυθμίζεται έτσι ώστε να μην εισέρχεται στο δωδεκαδάκτυλο. Η υπερηπατική κάτω κοίλη φλέβα απολινώνεται με το οδηγό της ράμμα όσο το δυνατόν ψηλότερα (Εικ. 11) και η πυλαία φλέβα αποκλείεται με μικροαγγειακή λαβίδα τύπου bulldog στο ύψος της σπληνικής. Μετά την παρέλευση 1 min περίπου, που απαιτείται για την



Εικ. 10. Τοποθέτηση οδηγού φακαρόλας στην υπερηπατική κάτω κοίλη.



Εικ. 11. Υψηλή απολίνωση της υπερηπατικής κάτω κοίλης.

απομάκρυνση του αίματος από το ήπαρ του λήπτη, τοποθετείται λαβίδα Lewton στην υπερηπατική κάτω κοίλη φλέβα κατά τρόπο ώστε ανάμεσα στα σκέλη της να συμπεριλαμβάνεται και μικρό τμήμα του διαφράγματος (Εικ. 12). Ακολουθεί η τοποθέτηση οδηγών ραμμάτων (μετάξι 6-0) στο δεξιό και αριστερό κλάδο της πυλαίας φλέβας και μετά τη διατομή των υπολοίπων στοιχείων, τα οποία συγκρατούν ακόμη το ήπαρ στη θέση του, αφαιρείται το όργανο από το σώμα του λήπτη.

Το μόσχευμα πλέον καλυπτόμενο με υγρή και ψυχρή γάζα μεταφέρεται από τη λεκάνη με το διάλυμα συντήρησης UW-1 στο εγχειρητικό πεδίο και αρχίζει η διενέργεια της αναστόμωσης της υπερηπατικής κάτω κοίλης του λήπτη με την υπερηπατική κάτω κοίλη του μοσχεύματος. Χρησιμοποιώντας τα δύο έκκεντρα οδηγιά ράμματα που είχαν τοποθετηθεί στην υπερηπατική κάτω κοίλη του μοσχεύματος αναστομώνεται με συνεχή ραφή πρώτα το οπίσθιο (από μέσα προς τα έξω) και

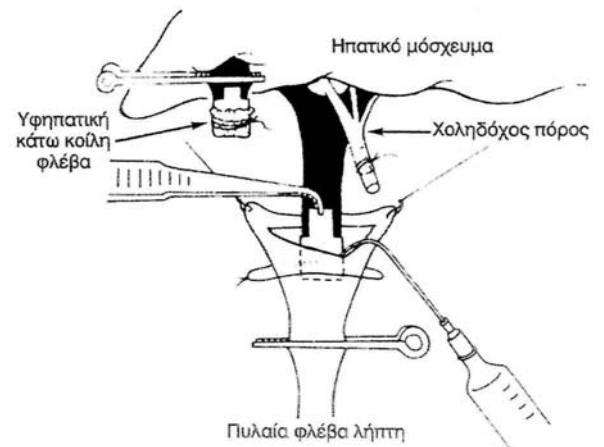


Εικ. 12. Ορθός τρόπος αποκλεισμού της υπερηπατικής κάτω κοίλης φλέβας με τη χρήση λαβίδας τύπου Lawton.



Εικ. 13. Αναστόμωση υπερηπατικής κάτω κοίλης φλέβας.

ύστερα το πρόσθιο (από έξω προς τα μέσα) τοίχωμα του αγγείου (Εικ. 13). Αφαιρείται ο καθετήρας πολυαιθυλενίου από την κάτω κοίλη του μοσχεύματος και αρχίζει η αναστόμωση της πυλαίας. Μέσω των οδηγών ραμμάτων ασκείται έλξη στους δύο πυλαίους κλάδους του λήπτη και στο σημείο της συνένωσης τους διενεργείται τομή στο πρόσθιο τοίχωμα του στελέχους της πυλαίας φλέβας (Σχ. 2). Ο αυλός του αγγείου εκπλένεται με θερμό (37C) διάλυμα NS. Στη συνέχεια διαμέσου της φλεβοτομής τοποθετείται το πυλαίο cuff του μοσχεύματος στην πυλαία φλέβα του λήπτη και ακινητοποιείται με περιβρογισμό από ράμμα μετάξι 6-0. Το υπόλοιπο τμήμα της πυλαίας κεντρικότερα της αναστόμωσης αφαιρείται. Κατόπιν αποκλείεται με μικροαγγειακή λαβίδα τύπου bulldog η υπερηπατική κάτω κοίλη φλέβα του μοσχεύματος. Προς αποφυγή εμβολής η περιτοναϊκή κοιλότητα πληρούται με θερμό (37C) διάλυμα NS και ακολουθεί η διάνοιξη της λαβίδας Lewton και της πυλαίας bulldog. Σταδιακά το ήπαρ ανακτά το χρώμα του και σύντομα αρχίζει η παραγωγή χολής (Εικ. 14). Η ανη-



Σχ. 2. Σχηματική απεικόνιση της τεχνικής αναστόμωσης της πυλαίας φλέβας.



Εικ. 14. Επαναιμάτωση μοσχεύματος.

πατική φάση διαρκεί περίπου 22 min. Η αναστόμωση της υφηπατικής κάτω κοίλης φλέβας πραγματοποιείται με παρόμοιο επίσης τρόπο (Εικ. 15). Η αναστόμωση του χοληδόχου πόρου πραγματοποιείται με την ενσφήνωση του χοληδόχου καθετήρα του μοσχεύματος στον ελάχιστο μεγαλύτερο χοληδόχο καθετήρα του λήπτη (Εικ. 16). Αυτή η



Εικ. 15. Αναστόμωση υφηπατικής κάτω κοίλης φλέβας.



Εικ. 16. Αναστόμωση χοληδόχου πόρου.

αναστόμωση εξασφαλίζεται με την επίδεση του ενός με το άλλο των δύο ραμμάτων ακινητοποίησης των χοληδόχων καθετήρων και κάλυψη της περιοχής με μείζον επίπλουν. Κατόπιν εγχέεται ενδοπεριτοναϊκά κεφουροξίμη 50 μg/gr βάρους σώματος και το μυϊκό τοίχωμα συρράπτεται με ράμμα cat-gut 3-0, ενώ το δέρμα με μετάξι 3-0. Ο συνολικός χρόνος τοποθέτησης του μοσχεύματος φτάνει τα 135 min περίπου.

### Συζήτηση

Η Ορθοτοπική μεταμόσχευση ήπατος στους αρουραίους αποτελεί το πλέον αξιόπιστο και φθινό μοντέλο μελέτης της συμπεριφοράς των ηπατικών μοσχευμάτων. Ωστόσο η επέμβαση αυτή είναι τεχνικά δύσκολη και κατά κανόνα εκτελείται από δύο πειραματιστές. Δικαιολογείται επομένως το συγκεκριμένο πρωτόκολλο να μην χρησιμοποιείται ευρέως παρά το ότι η χρήση των cuff στις αγγειακές και χολαγγειακές αναστομώσεις έλυσε ορισμένα από τα τεχνικά προβλήματα και βελτίωσε την καμπύλη επιβίωσης των ληπτών πειραματόζωων.

Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν να περιγράψουμε με κάθε, σημαντική τουλάχιστον, λεπτομέρεια τα διάφορα στάδια της επέμβασης και με συγκεκριμένες τροποποιήσεις να γίνει εφικτή η διενέργεια του εγχειρητικού αυτού πρωτοκόλλου από ένα και μόνο άτομο, δεδομένης της έλλειψης εξειδικευμένου προσωπικού στον τομέα της πειραματικής έρευνας.

Ένα αντικείμενο διαφωνίας μεταξύ των ερευνητών που πραγματοποιούν ορθοτοπικές μεταμοσχεύσεις ήπατος σε αρουραίους είναι το κατά πόσο κρίνεται απαραίτητη η αποκατάσταση της αρτηριακής παροχής του μοσχεύματος. Οι πραγματοποιούντες αρτηριακή αναστόμωση υποστηρίζουν πως τα μοσχεύματα χωρίς αρτηριακή παροχή εμφανίζουν βαρείες ιστολογικές αλλοιώσεις<sup>5</sup> (πυλαία μονοπυρήνωση, νεόπλαστα χολαγγεία, ίνωση, κτλ.), αυξημένη έκφραση των MHC τάξης II στα κύτταρα Kupffer,<sup>12</sup> σταδιακή καταστροφή του χολαγγειακού δένδρου,<sup>13</sup> αύξηση του αριθμού και της βαρύτητας των απορριπτικών επεισοδίων<sup>12</sup> και κυμαινόμενα ποσοστά επιβίωσης πειραματόζωων<sup>10</sup>. Αντίθετα, οι μη πραγματοποιούντες αρτηριακή αναστόμωση υποστηρίζουν πως τα μοσχεύματα χωρίς αρτηριακή παροχή δεν εμφανίζουν αξιόλογες ιστολογικές αλλοιώσεις, δεν υποφέρουν ιδιαίτερα από χολαγγειακά συμβλήματα, δεν επά-

γουν απορριπτικά επεισόδια και συνοδεύονται από υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης των πειραματοζώων<sup>5,14</sup>.

Σήμερα πάντως, οι περισσότερες ερευνητικές ομάδες δεν πραγματοποιούν αποκατάσταση της αρτηριακής παροχής του μοσχεύματος για λόγους τεχνικής κυρίως ευκολίας και επεμβατικής ταχύτητας<sup>5</sup>. Στις περιπτώσεις αυτές η αρτηριακή παροχή αποκαθίσταται με νεόπλαστα αγγεία που εξορμούνται από το στομάχι, το δωδεκαδάκτυλο και το οπισθοπεριτόναιο του αρουραίου<sup>15</sup>. Τρεις εβδομάδες μάλιστα μετά τη μεταμόσχευση, η αρτηριακή παροχή μοσχευμάτων, των οποίων η ηπατική αρτηρία δεν αναστομάθηκε, είναι μεγαλύτερη από την αρτηριακή παροχή που παρατηρείται σε μη μεταμοσχευμένα, φυσιολογικά ήπατα<sup>16</sup>.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το εγχειρητικό πρωτόκολλο της μη αποκατάστασης της αρτηριακής παροχής στο μόσχευμα και οι τροποποιήσεις που επέτρεψαν την πραγματοποίηση της επέμβασης από ένα και μόνο άτομο σχετίζονταν με την εγχειρητική τομή, τον καθετηριασμό της πυλαίας φλέβας του δότη, την τοποθέτηση των cuff, την αναστόμωση του χοληδόχου πόρου, την ενυδάτωση του λήπτη και την ακινητοποίηση των εργαλείων που χρησιμοποιούνται στο εγχειρητικό πεδίο.

Η προσπέλαση της περιτοναϊκής κοιλότητας γινόταν με εγκάρσια, υποπλευρία εγχειρητική τομή, σε αντίθεση με τη συνήθη κάθετη στερνοβική τομή<sup>1,3,4,6</sup>. Η εγκάρσια τομή προσφέρει ευκολότερη προσπέλαση στην οπίσθια επιφάνεια του ήπατος, σημείο εξαιρετικά δύσκολο στην παρασκευή, το οποίο απαιτεί την ύπαρξη βοηθού πειραματιστή. Μειονεκτήματα αυτής της τομής αποτελούν η αιμορραγία των άνω επιγάστριων αγγείων (ελέγχεται με mosquito ή bulldog) και ο μετεγχειρητικός πόνος (ελέγχεται με τη χρήση οπιοειδών αναλγητικών). Επομένως, η εγκάρσια τομή πρέπει να προτιμάται μόνο όταν δεν υπάρχει δεύτερος πειραματιστής.

Ο καθετηριασμός της πυλαίας και η έκπλυση του ήπατος του δότη γινόταν με τη χρήση αγγειακού καθετήρα, σε αντίθεση με τη συνήθη φλεβοτομή. Αυτή η μέθοδος προσφέρει λιγότερο αιματηρό χειρουργικό πεδίο και επιπλέον ο καθετήρας χρησιμοποιείται στην τοποθέτηση του πυλαίου cuff.

Η τοποθέτηση τόσο του πυλαίου, όσο και του κοιλικού cuff γινόταν με τη χρήση ενδοαγγειακού οδηγού καθετήρα και ειδικής λαβίδας τύπου mosquito, σε αντίθεση με τη συνήθη τεχνική των οδηγών ραμμάτων<sup>4,6</sup>. Αυτή η μέθοδος αποκλείει τη συ-

στροφή της φλέβας, εξοικονομεί μήκος αγγείου (λόγω της απουσίας των οδηγών ραμμάτων) για την τοποθέτηση του cuff και επιπλέον είναι πραγματοποιησίμη και επαναλήψιμη από ένα μόνο άτομο.

Η αναστόμωση του χοληδόχου πόρου γινόταν με τη χρήση αλληλοενσφηνούμενων αγγειακών καθετήρων, σε αντίθεση με τη συνήθη τεχνική των χοληδοχοτομών<sup>4,6</sup> ή της δωδεκαδακτυλικής εμφύτευσης<sup>2,3</sup>. Αυτή η μέθοδος είναι ταχύτερη και λιγότερο τραυματική από την κλασική.

Τέσσερα ερωτήματα σχετίζονται με την ενυδάτωση του λήπτη: α) τι είδους υγρό πρέπει να χορηγηθεί; β) πόσο πρέπει να χορηγηθεί; γ) πώς πρέπει να χορηγηθεί; και δ) από που πρέπει να χορηγηθεί; Όσον αφορά στο πρώτο ερώτημα, με βάση την επικείμενη ηπατική μεταμόσχευση και την παροδική αναστολή της γλυκογονόλυσης και της νεογλυκογένεσης, χορηγήθηκε D 5%, σε αντίθεση με τα κολλοειδή που συνήθως χορηγούνται<sup>1,3,4,6</sup>. Όσον αφορά στο δεύτερο ερώτημα, η ποσότητα κρυσταλλοειδούς σε σταδιακή ενδοφλέβια έγχυση που ανέχεται το πειραματοζώο, πριν καταλήξει από πνευμονικό οίδημα και χωρίς να έχει αιμορραγήσει, ανέρχεται σε 1 ml/100 gr βάρους σώματος. Όσον αφορά στο τρίτο ερώτημα, η στάγδην (μικροσταγόνες) έγχυση είναι η καλύτερα ανεκτή από το πειραματοζώο. Εξίσου καλά αποτελέσματα λαμβάνονται και με τις μικρές (0,25 ml), αλληπαλλήλες, bolus εγχύσεις. Τέλος, αναφορικά με το τέταρτο ερώτημα, από τις τρεις θέσεις αγγειακής προσπέλασης που δοκιμάστηκαν (σφαγίτιδα, πεικική και μηριαία φλέβα), ασφαλέστερη για ομαλή χορήγηση και με τις λιγότερες επιπλοκές αποδείχθηκε εκείνη από τη μηριαία φλέβα. Να σημειωθεί ότι η ανεπαρκής ενυδάτωση του λήπτη οδηγεί σε αδυναμία ανοχής του υποδιαφραγματικού αποκλεισμού, που εκδηλώνεται με σταδιακή έκπτωση της καρδιοαναπνευστικής λειτουργίας και τελικά θάνατο.

Οι λαβίδες τύπου mosquito και γενικότερα όλα τα εργαλεία που απαιτούσαν συγκεκριμένη τοποθέτηση και σταθερότητα ακινητοποιούνταν σε βάσεις πλαστελίνης. Η χρήση της πλαστελίνης εκμηδένισε πρακτικά την αναγκαιότητα του δεύτερου πειραματιστή.

Η έλλειψη αρτηριακής παροχής προς το ηπατικό μόσχευμα δεν προκάλεσε κλινικά προβλήματα για την περίοδο επιβίωσης που μελετήθηκε. Δύο σημαντικές αλλά απώτερες (14 ημέρες μετά την επέμβαση) επιπλοκές της ορθοτοπικής μετά-



μόσχευσης ήπατος είναι η πνευμονίτιδα και η περιτονίτιδα<sup>4</sup>. Με δεδομένη τη σύντομη μετεγχειρητική πορεία των πειραματόζωων, οι επιπλοκές αυτές δεν παρατηρήθηκαν. Τέλος, τα ιστολογικά ευρήματα ήταν παρόμοια με αυτά, που αναφέρονται και από άλλους ερευνητές<sup>17,18</sup>.

Συμπερασματικά, η λεπτομερής γνώση της εγχειρητικής τεχνικής και η υιοθέτηση των τροποποιήσεων που περιγράφησαν, καθιστούν όχι μόνο εφικτή την πραγματοποίηση της ορθοτοπικής μεταμόσχευσης ήπατος σε αρουραίους από ένα και μόνο άτομο, αλλά και τα ποσοστά επιτυχίας είναι παρόμοια με εκείνα της επέμβασης που γίνεται από δύο πειραματιστές (83% έναντι 87%)<sup>4</sup>.

### Βιβλιογραφία

1. Lee S, Charters III AC, Chandler JG, Orloff MJ. A technique for orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* 1973,16: 664-669.
1. Lee S, Charters III AC, Orloff MJ. Simplified technique for orthotopic liver transplantation in the rat. *Am J Surg* 1975,130: 38-40.
3. Zimmerman FA, Butcher GW, Davis HS, Brons G, Kamada N, Turel O. Techniques for orthotopic liver transplantation in the rat and some studies of the immunologic responses to fully allogeneic liver grafts. *Transplant Proc* 1979,11: 571-577.
4. Kamada N, Calne RY. Orthotopic transplantation in the rat. *Transplantation* 1979, 28: 47-50.
5. Kamada N, Calne RY. A surgical experience with five hundred thirty liver transplants in the rat. *Surgery* 1983,93:64-69.
6. Miyata M, Fischer JH, Fuhs M, Isselhard W, Kasai Y. A simple method for orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* 1980, 30: 335-338.
7. Engemann R. Technique for orthotopic liver transplantation. Στο: Thiede A, Deltz E, Engemann R, Hamelmann W, eds. *Microsurgical Models in Rats for Transplantation Research*, Springer, Berlin. 1985, 69-75.
8. Steffen R, Ferguson DM, Krom RAF. A new method for orthotopic rat liver transplantation with arterial cuff anastomosis to the recipient common hepatic artery. *Transplantation* 1989, 48 166-168.
9. Gao W, Lemasters JJ, Thurman RG. Development of a new model for hepatic rearterialization in rat orthotopic liver transplantation. *Transplantation*. 1993, 56:19-24.
10. Gassel HJ, Steger U, Thiede A. Liver transplantation. Στο: Timmerman W, Gassel HJ, Ulrichs K, Zhong R, Thiede A, eds. *Organ Transplantation in Rats and Mice*, Springer, Berlin 1998,123-131.
11. Dagnes-Hansen F. Laboratory animal genetics and genetic monitoring. Στο: Svedsen P, Hau J, eds. *Handbook of Laboratory Animal Science*, Vol I, CRC Press Inc., Boca Raton. 1994, 89-124.
12. Gassel HJ, Tellides G, Engemann R, Morris PJ. Cyclosporine A in orthotopic rat liver transplantation: Influence on MHC antigen expression and graft adaptation. *Transplant Proc* 1988, 20:1081-1090.
13. Slott PA, Liu MH, Travoloni N. Origin, pattern and mechanism of bile duct proliferation following biliary obstruction in the rat. *Gastroenterology* 1990, 99: 466-477.
14. Kamada N, Sumimoto R, Kaneda K. The value of hepatic artery reconstruction as a technique in rat liver transplantation. *Surgery* 1992, III: 195-200.
15. Isai H, Miyata M, Miyakawa A, Saito M, Uchino J, Marshall VC. Angiographic evidence of collateral rearterialization of the grafted liver in the rat. *Transplant Proc* 1989, 21: 2463-2465.
16. Svensson G, Naredi P, Hafstrom L, Tujveson G. Quantitative measurements of collateral arterial blood flow in nonarterialized rat liver grafts. *Transpl Int* 1994, 7: 136-139.
17. GouwASH, HouthoffHJ, Huitema S, Beelen JM, Gips CH, Poppema S. Expression of major histocompatibility complex antigens and replacement of donor cells by recipient ones in human liver grafts. *Transplantation* 1987, 43: 291-296.
18. Kamada N. Surgical techniques for rat liver transplantation. Στο: *Experimental Liver Transplantation*, CRC Press Inc., Boca Raton 1988, 7-18.