

Sıçanlarda Deneysel Karaciğer Nakli Modelinde Rearteriyelizasyon Tekniği Sonuçlarımız

THE RESULTS OF THE TECHNIQUE FOR REARTERIALIZATION OF LIVER GRAFTS IN RAT

Dr. İbrahim ASTARCIOĞLU*, Dr. Hüseyin ASTARCIOĞLU*, Dr. Mehmet Ali KOÇDOR*
Dr. Paul CAUQUIL

* Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, İZMİR

** Paul Brousse Hospital Departmant of Radiology, Villejuif, FRANSA

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada sıçanlarda deneysel karaciğer nakli modelinde, hepatik pedikül düzeyinde direkt anastomoz ile gerçekleştirilen rearteriyelizasyon tekniğimizin sonuçları irdelenmiştir.

Durum Değerlendirmesi: Sıçanlarda yapılan deneysel karaciğer naklinde, daha az biliyer komplikasyon oranı ve uzun prezervasyon zamanlarından sonra sağkalımın daha yüksek olması nedeniyle rearteriyelizasyon gittikçe artan sıklıkla uygulanmaktadır.

Yöntem: Greftin çöliak arteri, alıcının arteria hepatica komunisine arteria hepatica propria ve gastroduodenal arter bifurkasyon yerinde yapılan bir anjioplasti sonrasında anastomoz edildi. Anastomoz 11/0 polyamid monofil ile kontinü sütürlerle gerçekleştirildi.

Çıkarımlar: 36 greftin arteriyel anastomoz açıklığı transplantasyon sonrası 48 (n=3) ile 1 yıl sonrasında direkt mikroskopik bakı (n=27) veya hepatik anjiyografi ile (n=9) konfirme edildi. Posttransplant 6. ayda yapılan anjiyografide tespit edilen arter trombozu dışında tromboz tespit edilmedi. Arteriyel rekonstrüksiyonun tüm prosedürü ortalama 20-25 dakika kadar uzattığı hesaplandı.

Sonuç: Bu tekniğin sınırlı diseksiyon gerektiren, iyi bir uzun dönem açıklık sağlayan, klinik karaciğer nakline oldukça benzeyen, hızlı bir teknik olduğu görüşüne varıldı.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer transplantasyonu, rearteriyelizasyon, sıçan

SUMMARY

Rearterialization of rat liver grafts is being more widely performed, since it has been demonstrated that rearterialized grafts have lower incidence of biliary complications and better survival after long preservation times than non-arterialized grafts. In this study, we evaluated the results of the rearterialization technique of rat liver grafts, in which direct arterial anastomosis is being performed at the level of hepatic pedicle. The celiac trunk of the graft is anastomosed to the recipient common hepatic artery. A running suture with 11/0 polyamid monofil is performed under an operating microscope. Arterial patency of 36 liver grafts was confirmed by microscopic observation (n=27) or selective celiac angiography (n=9) from 48 hours to 1 year (n=3) following transplantation. No thrombosis was observed except one of which postoperative sixth month angiography showed arterial thrombosis. Operating time was increased by 20-25 minutes compared to the model of orthotopic liver transplantation without arterial reconstruction. On conclusion, this technique is relatively rapid, requires limited dissection, provides a good long-term arterial patency and reproduces that of human liver transplantation.

Keywords: Liver transplantation, rearterialization, rat

İlk olarak 1979 yılında Kamada'nın sıçanlarda deneysel karaciğer nakli (OLT) modelinde "cuff" tekniğini başarı ile uygulamasıyla (1), organ prezervasyonu (2), greft metabolizması (3), immunolojik yanıt mekanizmaları (4) gibi birçok konuda deneysel araştırma yapılması olanağı doğdu. Bu teknikte, greft rearteriyelize edilmemekte ve "cuff" tekniği ile portal ve kaval anastomoz zamanı kısaldığı için anhepatik fazla kısa olmaktadır (1). Ancak yapılan çalışmalarda, bu modelde safra kanallarının nekrozu ile birlikte giden biliyer komplikasyonların, persistan hiperbilirubinemi ve kronik kolestaz gibi problemlerin sıklıkla görüldüğü gösterilmiştir (5,6,7). Yine, arteriyelize greftlerle karşılaştırıldığında, "major histocompatibility complex" (MHC) antijen sekresyonunun ve ekspresyonunun bu modelde daha sık gözlemlendiği bildirilmektedir (8). Bununla beraber, uzun prezervasyon zamanlarından sonra (> 24 saat), arteriyelize karaciğer greftlerinin, non-arteriyelize greftlere oranla revaskülarizasyon sonrasında daha iyi bir mikrovasküler perfüzyona sahip oldukları ve dolayısıyla post-transplant greft fonksiyonu ve sağkalımlarının daha iyi olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (9,10).

Günümüzde, sıçanlarda karaciğer greftlerinin arteriyelizasyonu, donörün aortik segmentinin diseksiyonu ve uç-yan aorto-aortik anastomoz şeklinde yapılmakta olup, oldukça zor ve vakit kaybına yol açan bir tekniktir (11). Benzer olarak, diğer teknikler, alıcı sıçanda nefrektomi ve renal artere donörün çöliak arterinin "sleeve" anastomozu (12), hepatik pedikül düzeyinde arteria hepatica kommunis (AHK) ile gastroduodenal arter (GDA) bağlandıktan sonra donör çöliak arteri arasında "cuff" anastomozu (6) ve donör ve alıcı hepatik arterlerinin bir intraluminal stent aracılığı ile anastomozundan oluşmaktadır (10,11,12,13). Bütün bu tekniklerde ekstra veya intraluminal yabancı cisim (cuff veya stent) kullanıldığı için erken ya da geç tromboz riski artmaktadır. Bu çalışmamızda, hepatik pedikül düzeyinde direkt arteriyel anastomozun gerçekleştirildiği rearteriyelizasyon tekniğimizin sonuçlarını irdledik.

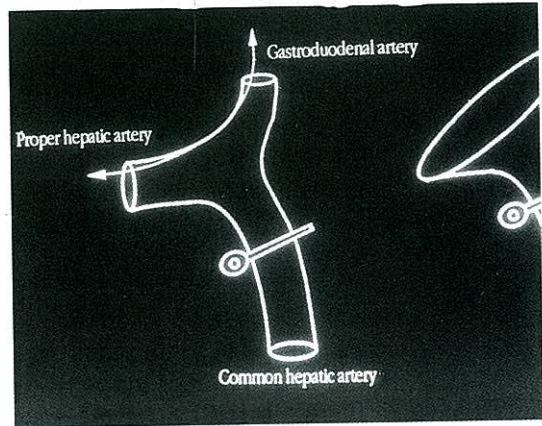
GEREÇ ve YÖNTEM

Ağırlıkları 250 ile 280 gr arasında değişen 36 adet Lewis sıçanda ortotopik karaciğer nakli gerçekleştirildi. Tüm cerrahi prosedürler ope-

rasyon mikroskobu (Carl-Zeiss Jena OPM 212 F) kullanılarak, ether anestezi altında yapıldı. Karaciğer nakilleri, Kamada'nın "cuff" tekniği ile, arteriyel rekonstrüksiyon ise Farges O ve Astarçoğlu İ'nin tanımladığı tekniklerle gerçekleştirildi (14). Greftlerin rearteriyelizasyonu, donörün çöliak arteri ile alıcının AHK'in arteria hepatica propria (AHP) ve GDA olarak ikiye ayrıldığı bifurkasyon düzeyinde yapılan termino-terminal anastomoz ile temin edildi.

Donörün çöliak arterinin hazırlanması: GDA orijininin bağlandı ve kesildi. Daha sonra AHP pankreasın hemen üzerinden itibaren vena portodan ayrıldı, sol gastrik arter (SGA) ve splenik arter (SA) bağlanarak kesildi ve çöliak arter aortaya dek diseke edildi. Donör 1 U/kg heparin ile heparinize edildikten sonra, çöliak arter aortaya yakın olarak bağlandı ve kesildi. Sonrasında, greft portal ven ve hepatik arterden prezervasyon solusyonu ile perfüze (sırasıyla 6-8 ml ve 1-2 ml) edildi. İşlem süresi ortalama 9 ± 1 dakika olarak saptandı.

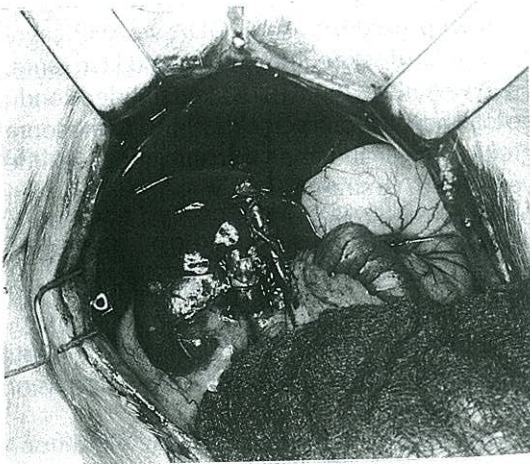
Alıcı prosedürü: AHK, GDA ve AHP çevre dokulardan diseke edilip yalınlaştırıldıktan sonra, GDA ve AHP'ya distal işaretleme sütürleri kondu ve total hepatektomi gerçekleştirildi. Daha sonra greft karaciğer abdomen içerisine uygun şekilde yerleştirildi ve sırasıyla suprahepatik vena kava, portal ven ve infrahepatik vena kaval anastomozlar gerçekleştirildi. İşaretleme sütürlerinin altından AHK klampe edildikten sonra, AHK'nin GDA ve AHP'ya ayrıldığı bifurkasyonda longitudinal bir arteriyotomi yapıldı, bu arteriyoplasti 0.5-0.7 mm'lik bir arteriyel lümen oluşmasını sağladı (Resim 1).



Resim 1: Alıcı arteria hepatica kommunisinin arterio hepatica propria ve gastroduodenal arter bifurkasyonu düzeyindeki anjioplastisi.

Alıcının AHK'ine (AHK'in GDA ve AHP'ya ayrıldığı bifurkasyonun hemen proksimaline) ve ayrıldığı bifurkasyonun hemen proksimaline) ve donörün çöliak arterine (GDA orijini sağda, SA ve SGA orijinleri solda olacak pozisyonda) yaklaştırma klempini kondu. Operasyon mikroskopu altında (x20), ön yüzden başlayarak 11/0 Ethilon ile kontinü sütürlerle anastomoz gerçekleştirildi. Posterior yüz anastomozu, dikışı kolaylaştırmak amacıyla traktör sütürlerin 180° rotasyonu sağlanarak yapıldı.

Daha sonra, klempin önce proksimal sonra distal bacağı açıldı ve anastomozun açıklığı kontrol edildi (Resim 2). Anastomoz açıklığının intrahepatik kontrolü ise hilustaki küçük arteriyel branşların mikroskop altında pulsasyonu gözlenerek yapıldı. Arteriyel rekonstrüksiyon süresi ortalama 13 ± 12 dakika idi ve rekonstrüksiyon yapılmayan modellere göre tüm prosedür süresinin ortalama 22 ± 2 dakika kadar uzadığı hesaplandı.



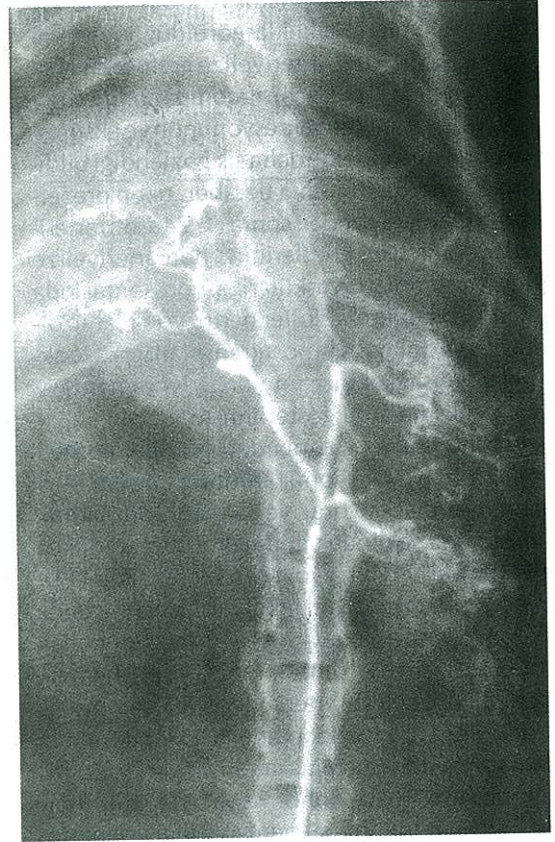
Resim 2: Arterial rekonstrüksiyon tamamlandıktan sonra intraoperatif görüntüsü.

SONUÇLAR

36 greftin arterial anastomozunun açıklığı postoperatif 48 saat ile 1 yıl arasında anjiyografi (n=9) ve mikroskopik gözlem (n=27) ile kontrol edildi. Seldinger yöntemi ile çekilen 9 selektif çöliak anjiyografide, 8 greft hepatic arterinin (%89) değişik zaman aralıkları sonrasında (1/1 birinci ayda, 4/5 altıncı ayda ve 3/3 birinci yılda), intrahepatik branşlarına kadar açık olduğu görüldü (Resim 3).

Diğer 27 greftte ise hepatic arter açıklığı, postoperatif 48 saat ile bir aylık sürelerde (48. saat n=6, 1. hafta n=14, 4. hafta n=7)

mikroskopik gözlem ile kontrol edildi. Bu olgularda anastomozun açıklığı, hilar branşlarda pulsasyonun olması ve seksiyon ile hemorajinin gözlemlenmesi ile verifiye edildi. Tüm hayvanlar gerek anjiyografi ile, gerekse mikroskopik gözlem ile arteriyel anastomoz açıklığı kontrol edildikten sonra sakrifiye edildiler. Sonuçta, transplantasyondan 48 saat ile 1 yıl sonrasına kadar (3 hayvan) değişik sürelerde yapılan anastomoz açıklığı kontrolünde, transplantasyon sonrası 6 . ayda yapılan anjiyografide saptanan arter trombozu dışında tromboz tespit edilmedi.



Resim 3: Graft hepatic arterinin intrahepatik branşlarına kadar açık olduğunu gösteren, 1. yıl alıcı selektif çöliak anjiyografisi (Seldinger yöntemi ile).

TARTIŞMA

Sıçanlarda deneysel karaciğer nakline sağ kalım açısından bakıldığında rearteriyelizasyonun mutlaka gerekli olmadığı, ancak arteriyel rekonstrüksiyon yapılan olguların, daha az komplikasyon oranına sahip olduğu ve karaciğer prezervasyonu ve transplantasyon immunolojisi

ile ilgili araştırmalarda klinik modele yakın, objektif bir model olduğu bir çok araştırmacı tarafından kabul edilmektedir.

Non-arteriyelize sinjeneik karaciğer greftlerinin belirgin lökosit infiltrasyonu ve MHC sınıf 1 ve 2 indüksiyonuna sebep olabilmeleri, allojeneik karaciğer transplantasyonu sonrası erken fazda gerçek rejeksiyon ile non-spesifik enflamasyonunun kesin olarak ayırmsanmasına engel olabilmektedir (5,7,8,14). Arteriyelize greftlerde ise bu non-spesifik enflamatuar hücrelerin sayısında ve aktivasyonunda herhangi bir artış gelişmemektedir (14). Ayrıca prezervasyon çalışmaları hepatic arterin, karaciğere gelen oksijenin yaklaşık % 50'sini taşıdığını dolayısıyla enerji üretiminde ve metabolizma regülasyonunda önemli rol oynadığını göstermiştir (10). Benzer çalışmalarda rearteriyelizasyonun, özellikle uzun prezervasyon zamanlarından sonra safra akımını, mikrovasküler perfüzyonu ve erken greft fonksiyonlarını arttırdığı belirtilmektedir (5,10).

Arteriyel rekonstrüksiyon, non-arteriyelize karaciğer greftlerinde rastlanan safra duktus proliferasyonu ve portal traktuslarda görülen enflamatuar değişiklikleri önlemekte ve daha az biliyer komplikasyona neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu histopatolojik değişikliklerin daha sonra biliyer siroz, kolanjit ve multipl hepatic abselere yol açabileceği gösterilmiştir. Arteriyel rekonstrüksiyon, büyük safra duktuslarının iskemiye özellikle çok duyarlı olması nedeniyle, biliyer histolojik bütünlüğü daha iyi korumaktadır (5,7,10).

Sıçanlarda karaciğer greftlerinin rutin arteriyelizasyonunu kısıtlayan unsurları teknik zorluklar ve beraberinde gelen zaman kaybı oluşturmaktadır. Önceden tanımlanan arteriyelizasyon teknikleri arasında, Engemann tekniğinde, alıcının infrarenal aortası düzeyinde uç-yan anastomoz yapabilmek için gerekli uzunluk ve çapta bir aort segmenti elde etmek amacıyla, donörün tüm çöliak arter dalları, süperiyör mezenter arter, renal ve lomber arterler diseke edilmektedir (11). Bu metod zaman alıcı olduğu ve ekstensif diseksiyon gerektirdiği için donörde hemodinamik instabiliteye yol açarak, greft kalitesinin bozulma riski taşımaktadır. Intraluminal bir stentin kullanılması ise arteriyel anastomozun erken veya geç dönemde tromboze olma riskini arttırmaktadır.

Serimizde, arteriyel anastomoz açıklıklarının verifikasyonu değişik süreler sonunda anjiyografi

veya mikroskopik gözlem ile yapılmıştır. Anastomozların tümünde açıklığın anjiyografi ile verifiye edilmesi pratik olarak mümkün olmadığı için, bir grup sıçanda açıklık mikroskopik gözlem ile test edilmiştir. Mikroskopik gözlemde, açıklığın objektif bir belirtici olan intrahepatik branşlarda pulsasyon gözlemlenmiş olup, bu branşlara kesi yapıldığında arteriyel kanamanın olduğu görülmüştür. Dolayısıyla anastomoz açıklığı kontrol edilen sıçanlar sakrifiye edilmiştir.

İlk olarak Farges O, Astarcioglu İ ve ark. tarafından tanımlanan bizim uyguladığımız bu teknikte, daha önce tanımlanan tekniklerdeki bu zorluklar giderilmekte ve ayrıca şu avantajlar sağlanmaktadır :

1. Sınırlı diseksiyon ile daha kaliteli greft elde edilmekte ve aşırı zaman kaybı önlenmektedir (tüm prosedür ortalama 20-25 dakika kadar uzuyor).
2. Uzun dönemde iyi bir anastomoz açıklığı sağlamaktadır.
3. Model olarak klinik karaciğer nakline yakın bir model oluşturmaktadır.

Bütün bu avantajların yanında bu prosedür, klinikte "split-liver" ve canlı donörden yapılan karaciğer nakillerinde, çapları 1-2 mm arasında değişen ve mikroskop altında anastomoz edilmesi gereken arterlerin rekonstrüksiyonu için iyi bir mikrocerrahi antrenman modeli oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Kamada N, Calne RY: *Orthotopic liver transplantation in the rat: Technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage. Transplantation* 1979; 28: 47-53.
2. Theis JC, Walter PK, Zimmerman FA: *Prolongation of graft survival in allogenic pancreas and liver transplantation by (-) 15- deoxypergualin. Eur Surg Res* 1987; 19: 129-136.
3. Ferrero ME, Marni A, Caja C: *Metabolic function of allografted livers in rats. Transplant Proc* 1987; 19: 3842-3844.
4. Zimmerman FA, Butcher GW, Davies HS, Brons C, Kamada N, Turel O: *Techniques of liver transplantation in the rat and some studies of the immunologic to allogenic liver grafts. Transplant Proc.* 1979 ;1: 571-573.
5. Howden B, Jablonski P, Crossman H, Marshall VC: *The importance of hepatic artery in rat liver transplantation. Transplantation* 1989; 47: 428-434.
6. Steffen R, Ferguson MD, Krom RA: *A new method for orthotopic rat liver transplantation with arterial cuff anastomosis to the recipient common hepatic artery. Transplantation* 1989; 48: 166-170.

7. Zhao D, Zimmerman A, Whealey AM: Morphometry of the liver after liver transplantation in the rat: Significance of an intact arterial supply. *Hepatology* 1993;17: 310-313.
8. Sumimoto R, Shinomiya T, Yamaguchi A: Influence of hepatic arterial blood flow in rats with liver transplant. Examination of donor liver-derived serum class I MHC antigen in rats with liver transplants with or without hepatic arterial reconstruction. *Transplantation* 1991; 51: 1138-1143.
9. Post S, Menger MD, Rentsch M, Gonzales AP, Herfart C, Messner K: The impact of rearterialization on hepatic microcirculation and leukocyte accumulation after liver transplantation in the rat. *Transplantation* 1992; 54: 789-794.
10. Cao W, Lemaster JJ, Thurman RG: Development of a new method for hepatic rearterialization in rat orthotopic liver transplantation. Reduction of liver injury and improvement of surgical outcome by arterialization. *Transplantation* 1993; 56: 19-24.
11. Engemann R, Ulrichs K, Thiede A, Muller-Rucholtz W, Hamelmann H: Value of a physiological liver transplant model in rats. *Transplantation* 1982; 33: 566-570.
12. Ramos E, Sanfey H, Fernandez-Cruz L: Arterialization of orthotopic liver transplants by a sleeve anastomosis technique. *Transplant Proc* 1992; 24: 150-152.
13. Chaland P, Braillon A, Gaudin C: Orthotopic liver transplantation with hepatic artery anastomosis: Hemodynamics and response to hemorrhage in conscious rats. *Transplantation* 1990; 49: 675-679.
14. Farges O, Astarcioglu İ, Bismuth H: Arterialized liver transplantation in the rat. In: Green MK, Madelste, experimental transplantation models in small animals. Harwood Academic Publishers, 1994; 305-333.
15. Cassel HJ, Engemann R, Thiede A: MHC class II antigen expression on Kupper cells after orthotopic rat liver transplantation: Consequence of non-specific inflammation or allograft rejection? *Transplant Proc* 1987; 19: 3051-3053.

YAZIŞMA ADRESİ:

Dr.Hüseyin ASTARCIOĞLU
Yenikale mah.Burak sok.3/2
35320 Narlıdere, İZMİR