

56

JAN NIELUBOWICZ, WALDEMAR OLSZEWSKI, WOJCIECH ROWIŃSKI, DITTA  
BULIEN, JERZY GRUCHAŁSKI, ZDZISŁAW MACHOWSKI, EWA MAYZNER,  
JERZY POLAŃSKI, SŁAWOMIR PLUCIŃSKI, JERZY SOKOŁOWSKI, MAREK  
SKOŚKIEWICZ, JACEK SZMIDT

## BADANIA DOŚWIADCZALNE POZAUSTROJOWEJ PERFUZJI WĄTROBY

Z Zespołu Chirurgii Doświadczalnej i Transplantologii,  
Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN w Warszawie  
Kierownik: prof. dr J. Nielubowicz

W Zespole Chirurgii Doświadczalnej PAN od 1966 r. prowadzone są badania możliwości zastosowania w Klinice, u ludzi z ostrą niewydolnością wątroby pozaustrojowej perfuzji obcogatunkowej wątroby. Metoda ta zaproponowana przed 10 laty znajduje się ciągle jeszcze w okresie eksperymentalnym wymagając zmian i ulepszeń. Każdy zespół, który podejmuje tego typu próby kliniczne musi przeprowadzić wiele badań doświadczalnych tak, aby zdać sobie sprawę z wielu trudności i niebezpieczeństw, które ta metoda w sobie kryje. Perfuzja wątroby obcogatunkowej wykonywana u człowieka nawet w stanie końcowej niewydolności jego wątroby bez odpowiedniego przygotowania doświadczalnego i możliwości stałego, doraźnego wykonywania różnych prób jest w naszym przekonaniu błędem. Perfuzja w warunkach nieodpowiednich w imię zasady „temu choremu i tak nic nie pomoże”, jest, naszym zdaniem, nieusprawiedliwiona. Najważniejsze zadania, które muszą być rozwiązane, to: 1) umiejętność szybkiego pobrania wątroby od zwierzęcia, 2) możliwość całkowitego wypłukania wątroby z krwi, 3) możliwość stworzenia w wątrobie perfundowanej dostatecznie wysokiego ciśnienia i dostatecznego przepływu, 4) możliwość doraźnej oceny czynności wątroby, 5) niezawodna i doraźna kontrola osobnika perfundującego wątrobę.

W pracy niniejszej badano:

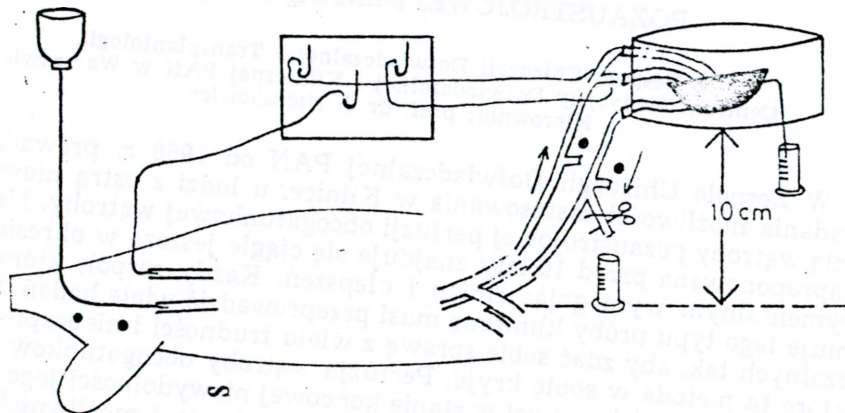
- 1) ocenę czynności wydzielniczej i biochemicznej oraz przepływ przez izolowaną wątrobę świni,
- 2) zmiany biochemiczne oraz hemodynamiczne, które występują u zwierzęcia perfundującego drugą wątrobę, umieszczoną poza ustrojem.

### POSTĘPOWANIE

Badania przeprowadzono w 2 grupach, używając do doświadczeń łącznie 30 świń przeciętnej wagi 25—30 kg. W grupie I wykonano 12 pozaustrojowych perfuzji wątroby świńskiej u świń z wytworzoną doświadczalnie ostrą niewydolnością własnej wątroby. W grupie drugiej porównawczej wywoływano u 6 świń ostrą niewydolność wątroby własnej, podobnie jak w grupie I, jednak bez pozaustrojowej perfuzji wątroby.

Grupa I. Przygotowanie biorcy. Niewydolność wątroby wywoływano następująco: w znieczuleniu eunarkonem zespolono żyłę kręzkową górną z żyłą główną dolną bok do boku, a następnie podwiązywano we wnęce t. wątrobową, żyłę wrotną przewód ż. wspólny oraz pozostałe części więzadła wątrobowo-dwunastniczo-żółłdkowego. Przerzywało to całkowicie dopływ krwi do wątroby własnej. Świnie przygotowano do perfuzji wprowadzając kaniule do aorty przez t. biodrową oraz do ż. głównej dolnej przez żyłę biodrową. Kaniule łączono z drenami prowadzącymi do perfundowanej wątroby umiejscowionej w pojemniku.

Pobieranie wątroby do perfuzji. Wątrobę pobierano jałowo ze świni uspionej eunarkonem. Krew z naczyń wątroby wypłukiwano poprzez żyłę



Ryc. 1. Schemat układu perfuzyjnego.

wrotną za pomocą 10—12 l. płynu Ringera o temp. 37°C z dodatkiem 50 ml/l heparyny oraz 300 000 j/l penicyliny, zbuforowanych za pomocą dwuwęglanu sodu do pH 7,8. Przeciętny czas niedokrwienia wątroby t od przerwania dopływu własnej krwi i rozpoczęcia wypłukiwania krwi do chwili połączenia z krążeniem biorcy wynosił 15—20 minut.

Schemat układu perfuzyjnego (ryc. 1). Z chwilą rozpoczęcia perfuzji krew płynęła z aorty świni „biorcy” do izolowanej wątroby drenem rogałęziającym się tuż przed pojemnikiem na gałąź do t. wątrobowej oraz do żyły wrotnej. Z wątroby krew odpływała siłą ciężkości do żyły biodrowej świni przez przewód wprowadzony do żył wątrobowych wątroby izolowanej. Pojemnik umieszczony był 10 cm ponad poziomem żyły głównej dolnej świni. Żółć zbierano do kalibrowanego naczynia osobnym drenem wprowadzonym do przewodu żółciowego wspólnego. Pojemnik wypełniano w całości płynem do dializy otrzewnowej Nr 1 (Polfa) o temp. 39°C. Stałą ciepłotę płynu utrzymywał termostat.

Perfuzję przeprowadzano po uprzednim podaniu świni 4 mg/kg heparyny. W czasie perfuzji, świni mierzono ciśnienie krwi w t. szyjnej w wątrobie znajdującej się w pojemniku ciśnienie krwi mierzono w t. wątrobowej i żyły wrotnej. Oznaczano też wypływ krwi z wątroby. Poza tym oznaczano w krwi dopływającej i odpływającej z izolowanej wątroby zawartość tlenu, pH i  $p\text{CO}_2$ . Mierzono ilość wydzielanej żółci i stężenie w niej bilirubiny. U świni określano poziom amoniaku we krwi tętniczej i żylniej w 5, 10, 15, 30 i 45 min. po obciążeniu cytrynianami.



amoniaku w dawce 30 mg/kg wagi ciała oraz zatrzymanie BSP w % w 2, 5, 10, 15, 30 min. po dożylnym podaniu w dawce 5 mg/kg. Poza tym badano u świni we krwi przed i po wykonaniu perfuzji hematokryt, poziom SGOT, SGPT, fosfazy zasadowej, kreatyniny, mocznika i białka w surowicy.

W grupie II wykonywano te same badania biochemiczne, co w grupie I.

### WYNIKI

Grupa I. Czas trwania perfuzji wynosił przeciętnie 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> godziny (2—4 godz.) i zależny był od stanu zwierzęcia w czasie doświadczenia.

#### A. Czynność wątroby perfundowanej

a) Przepływ krwi. Wynosił on od 0,27 do 2,0 ml/g wątroby/min. przeciętnie 0,94 (tab. 1). Przepływ zależał głównie od ciśnienia tętniczego świni. Stosunek dopływającej krwi do izolowanej wątroby przez t. wątro-

Tabela 1

Przeciętne ilości wydzielanej żółci, przepływu krwi i zużycie tlenu przez wątrobę perfundowaną pozaustrojowo przez okres 2,1/2 godziny

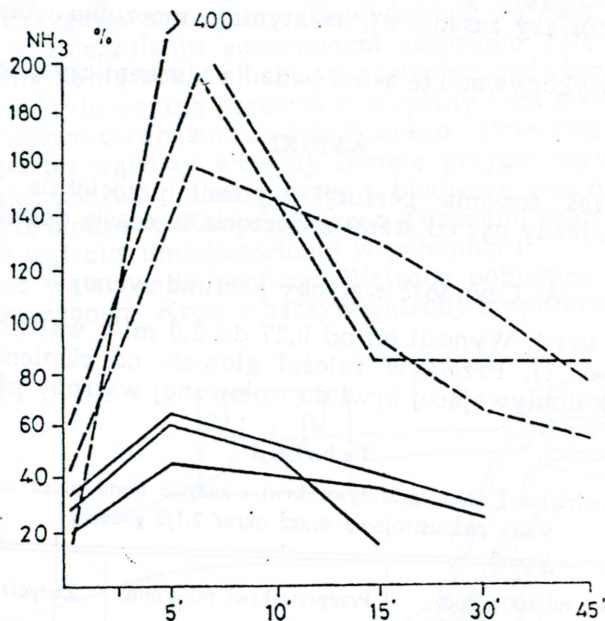
| Nr. dośw. | Żółć ml/100 g/godz. | Przepływ krwi ml/g/min. | Zużycie O <sub>2</sub> ml/g/min. |
|-----------|---------------------|-------------------------|----------------------------------|
| 1         | 0,73                | 0,58                    | 0,043                            |
| 2         | 1,1                 | 0,5                     | 0,047                            |
| 3         | 1,85                | 0,42                    | 0,059                            |
| 4         | 1,8                 | 1,0                     | 0,088                            |
| 5         | 1,43                | 0,37                    | 0,052                            |
| 6         | 0,61                | 0,44                    | 0,018                            |
| 7         | 0,93                | 0,62                    | 0,018                            |
| 8         | 0,87                | 1,0                     | 0,016                            |
| 9         | 1,0                 | 1,0                     | 0,042                            |
| 10        | 0,5                 | 1,8                     | 0,027                            |
| 11        | 0,7                 | 1,2                     | 0,049                            |
| 12        | 1,1                 | 0,9                     | 0,045                            |

bową oraz żyłę wrotną był 1 : 4. Ciśnienie w t. wątrobowej w pojemniku utrzymywało się w granicach 110/80 do 60/40 mm Hg, zaś w żyłę wrotnej od 15 do 5 mm Hg.

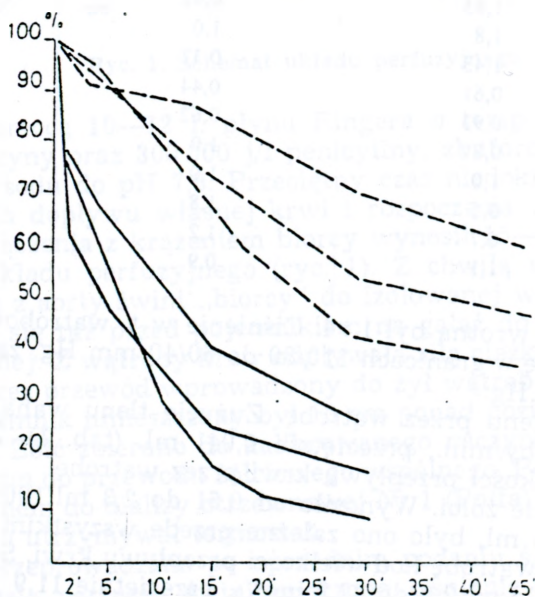
b) Zużycie tlenu przez wątrobę. Zużycie tlenu wahało się od 0,01 do 0,1 ml/g wątroby/min., przeciętnie 0,041 ml. (tab. 1). Zależne ono było zwykle od wielkości przepływu krwi przez wątrobę.

c) Wydzielanie żółci. Wynosiło od 0,61 do 2,3 ml/100 g wątroby/godz., przeciętnie 1,15 ml, było ono zależne przede wszystkim od stopnia zużycia tlenu przez wątrobę i od wielkości przepływu krwi. Stężenie bilirubiny w żółci wynosiło od 2,0 do 22,2 mg%, przeciętnie 11,9 mg%.

d) Oczyszczanie z amoniaku i BSP. Poziom amoniaku w krwi wracał do wartości wyjściowych w 15 min. po obciążeniu cytrynianem amoniaku (ryc. 2). Zatrzymanie BSP wynosiło po 30 min. od 11 do 33% (ryc. 3).



Ryc. 2. Poziom amoniaku we krwi żyłnej w pierwszych 45 min. po dożylnym obciążeniu 30 mg/kg cytrynianu amonu u 3 zwierząt z pozaustrojową wątroba (linia ciągła) i u 3 zwierząt grupy porównawczej (linia przerywana).

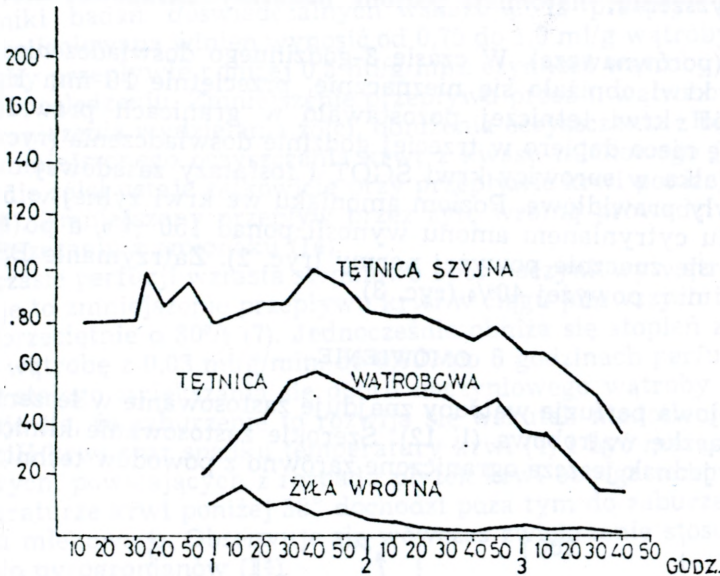


Ryc. 3. Odsetka zatrzymania BSP we krwi żyłnej w pierwszych 45 min. po dożylnym obciążeniu 5 mg/kg. Linia ciągłą oznaczono zwierzęta z pozaustrojową wątroba, linia przerywaną, zwierzęta grupy porównawczej.

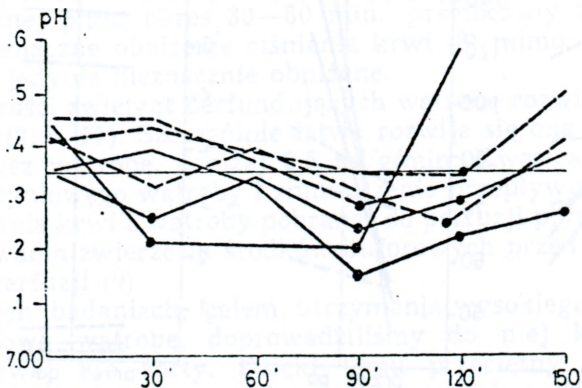
Oczyszczenie z amoniaku i BSP przebiegało we wszystkich doświadczeniach jednakowo szybko i nie było widocznie zależne od wielkości przepływu krwi oraz zużycia tlenu przez wątrobę.

B. Zmiany zachodzące u świni perfundującej pozaustrojowo wątrobę

a) Ciśnienie tętnicze krwi. W czasie trwania perfuzji ciśnienie krwi obniżało się przeciętnie o 15—20 mm Hg/godz. Spadkowi temu nie zapobiegało przetaczanie dużych ilości płynu Ringera lub 5% glukozy (ryc. 4).



Ryc. 4. Ciśnienie krwi w t. szyjnej (A) t. wątrobowej (B) i żyły wrotnej (C) u świni w czasie 3 godz. perfuzji. Widoczny stały spadek ciśnienia.



Ryc. 5. pH w krwi tętniczej świni perfundującej pozaustrojową wątrobą (linia ciągła) oraz zwierząt grupy porównawczej (linia przerywana). Kropkami oznaczono podanie dożylnie 30 ml 5% Natr. bicarbonicum.

b) Równowaga kwasowo-zasadowa. Już po 30 min. perfuzji pH krwi tętniczej obniżało się poniżej 7,3 przy ciśnieniu cząsteczkowym CO<sub>2</sub> 38—45 mm Hg. Wymagało to częstego dożylnego podawania dwuwęglanu sodu w ogólnej ilości 2,5—10 g (ryc. 5).



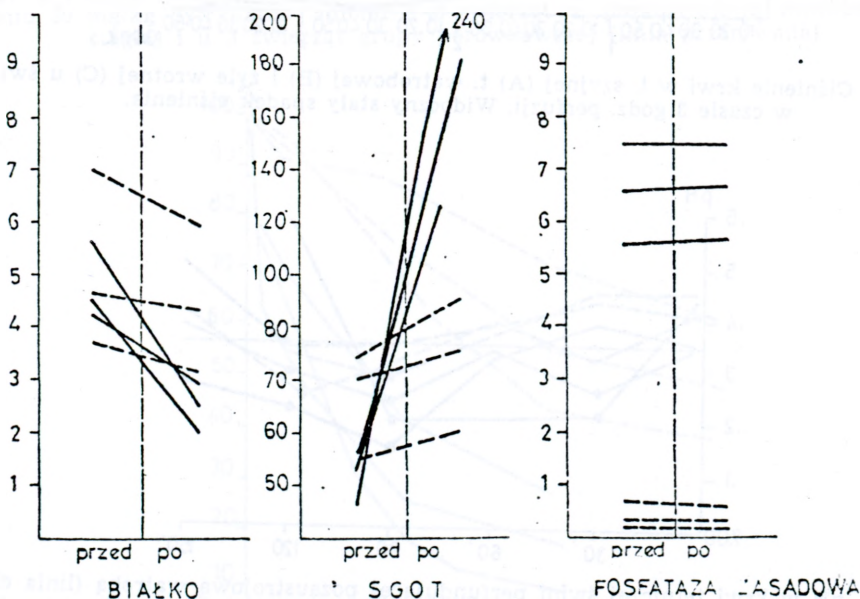
c) Hematokryt, białko surowicy, SGOT, SGPT i fosfataza zasadowa. W ciągu 2 $\frac{1}{2}$  godz. perfuzji hematokryt krwi żyłnej obniżał się o 3—6%. Poziom białka w surowicy obniżał się w tym samym czasie od 25—60% (ryc. 6). Poziom transaminazy szczawioowo- octowej we krwi ulegał znacznemu podwyższeniu, natomiast poziom fosfatazy zasadowej nie ulegał zmianie.

Grupa II (porównawcza). W czasie 3-godzinnego doświadczenia ciśnienie tętnicze krwi obniżało się nieznacznie, przeciętnie 10 mm Hg/godz. Natomiast pH krwi tętniczej pozostawało w granicach prawidłowych i obniżało się nieco dopiero w trzeciej godzinie doświadczenia (ryc. 5).

Poziom białka w surowicy krwi SGOT i fosfatazy zasadowej oraz hematokryt były prawidłowe. Poziom amoniaku we krwi żyłnej w 5 minut po obciążeniu cytrynianem amonu wynosił ponad 150  $\gamma$ %, a po 45 min. utrzymywał się znacznie powyżej normy (ryc. 2). Zatrzymanie BSP wynosiło po 45 min. powyżej 40% (ryc. 3).

#### OMÓWIENIE

Pozaustrojowa perfuzja wątroby znajduje zastosowanie w leczeniu chorych na śpiączkę wątrobową (1, 12). Szerokie zastosowanie kliniczne tej metody jest jednak jeszcze ograniczone zarówno z powodów technicznych,



Ryc. 6. Poziom białka w surowicy SGOT i fosfatazy zasadowej przed i po perfuzji wątroby. Linia przerywaną oznaczono zwierzęta grupy porównawczej.

jak i występujących w czasie zabiegu zaburzeń hemodynamicznych. Należą do nich: 1) zwiększający się stopniowo opór naczyńowy wątroby a co za tym idzie, mały odpływ żylny, 2) konieczność utrzymania stałej temperatury wątroby i krwi przez nią przepływającej, 3) jak największe skrócenie czasu niedokrwienia wątroby w czasie jej pobierania, 4) występu-

jący u osobnika perfundującego wątrobę spadek ciśnienia tętniczego i kwasica metaboliczna.

Wyniki badań doświadczalnych wskazują, iż przepływ krwi przez wątrobę izolowaną winien wynosić od 0,75 do 1,0 ml/g wątroby/min. (4, 13, 14). Przy przepływie poniżej 0,5 ml/g/min. czynność wątroby ulega znacznemu upośledzeniu. Zmniejszenie przepływu przez t. wątrobową prowadzi do ograniczenia wydzielania żółci, obniżenia oczyszczania z bilirubiny (14) oraz zmniejszonego oczyszczania krwi z kwasu mlekowego (14, 15). Wydzielanie żółci ustaje całkowicie przy przepływie krwi poniżej 0,2 ml/min. (10, 14). Zmniejszony przepływ przez żyłę wrotną prowadzi do zaburzeń w oczyszczaniu z amoniaku (14).

W czasie perfuzji wzrasta stopniowo opór naczyniowy wątroby (10). Powoduje to zmniejszenie przepływu krwi w ciągu pierwszych 5 godzin perfuzji przeciętnie o 30% (7). Jednocześnie obniża się stopień zużycia tlenu przez wątrobę z 0,03 ml/g/min. do 0,007 po 6 godzinach perfuzji (7). Przyczyny stałego zwiększania się oporu naczyniowego wątroby nie są jasne. Wydaje się, że zaburzenie to rozwija się wskutek niedotlenienia, obniżonego pH krwi oraz spadku temperatury krwi (4) i być może z ciał obkurczających, powstających z rozpadu płytek krwi obcogatunkowej (2). Przy temperaturze krwi poniżej 38° dochodzi poza tym do zaburzeń przemiany kwasu mlekowego. Obserwuje się wówczas zwiększenie stosunku mleczanów do pyrogronianów (14).

Przyczyny spadku ciśnienia tętniczego u zwierzęcia perfundującego wątrobę nie są wyjaśnione (3). Przetaczanie dużej ilości krwi lub płynów krwiozastępczych jak również płynów buforowych nie zapobiega temu spadkowi (8). Stwierdzono, iż płyn wypływający z izolowanej wątroby niedokrwionej przez okres 30—60 min., przetoczony innemu zwierzęciu powoduje znaczne obniżenie ciśnienia krwi (8) mimo, że jest on jałowy a jego pH jedynie nieznacznie obniżone.

U większości zwierząt perfundujących wątrobę rozwija się kwasica metaboliczna (2, 5, 11). Szczególnie łatwo rozwija się ona przy małym przepływie przez wątrobę, poniżej 0,5 ml/g/min. Kwasica powoduje wzrost oporu naczyniowego wątroby i zmniejszenie przepływu krwi. Wymaga to wypłukiwania krwi z wątroby pobranej do perfuzji płynem o pH około 8,0 oraz podawania zwierzęciu środków buforowych przed rozpoczęciem oraz w czasie perfuzji (9).

W naszych badaniach, celem utrzymania wysokiego przepływu przez pozaustrojową wątrobę, doprowadziliśmy do niej krew bezpośrednio z t. biodrowej lub aorty. Dzięki temu przeciętny przepływ wynosił 0,9 ml/g/min. Przepływ przez t. wątrobową z pojemnikiem zależny był od wielkości ciśnienia tętniczego. W mniejszym stopniu dotyczyło to przepływu wrotnego. W większości przypadków nawet przy przepływie powyżej 1 ml/g/min., obwodowe części wątroby były niedokrwione i przybierały stopniowo sino-czerwone zabarwienie. Zużycie tlenu przez wątrobę było proporcjonalne do wielkości przepływu, przy przepływach w granicach 0,5—1,0 ml/g/min. Wydzielanie żółci było proporcjonalne do stopnia zużycia tlenu oraz wielkości przepływu krwi. Natomiast całkowite oczyszczanie z amoniaku następowało w 15 min., nawet przy bardzo niskich przepływach. Podobnie szybko usuwana była z krwi bromsulftaleina. U wszystkich zwierząt obserwowano w czasie perfuzji stały spadek ciśnienia krwi. Pierwszy kilkuminutowy spadek występował po rozpoczęciu perfuzji. W drugiej i trzeciej godzinie perfuzji następował drugi powolny



spadek ciśnienia krwi oraz pojawiały się objawy kwasicy metabolicznej. Przetaczanie dużych ilości krwi i płynów krwiozastępczych oraz dwuwęglan sodu nie zapobiegało spadkowi ciśnienia. Zarówno obniżenie ciśnienia jak i kwasica występowały przede wszystkim u zwierząt z przepływem wątrobowym poniżej 0,5 ml/g/min. W tych przypadkach wątroba miała zabarwienie sino-czerwone, marmurkowane, a brzegi jej po przecięciu nie krwawiły. Tego rodzaju zmiany obserwowano, jeśli czas niedokrwienia wątroby przed perfuzją przekraczał 30—40 min.

#### WNIOSKI

1. Wydzielanie żółci, zużycie tlenu i przepływ krwi przez izolowaną wątrobę świni perfundowanej krwią tętniczą zbliżone są w pierwszych 3 godzinach perfuzji do przyjętych powszechnie wartości prawidłowych.
2. Pełne oczyszczenie krwi z egzogenego amoniaku następuje po 30 min., zatrzymanie zaś BSP po 20 min. nie przekracza 30%. Szybkość oczyszczania z amoniaku i BSP nie zależy od wielkości przepływu krwi.
3. U zwierzęcia perfundującego obniżało się stopniowo ciśnienie tętnicze krwi i rozwijała się kwasica metaboliczna. Następowo to zwykle przy przepływie krwi poniżej 0,5 ml/g/min. i zużyciu tlenu poniżej 0,03 ml/g/min. Jednocześnie obniżał się poziom białek w surowicy krwi i podwyższał poziom SGOT i SGPT.

Я. Нелюбович, В. Ольшевский, В. Ровинский, Д. Буллен, И. Грухальский, З. Маховский, Е. Маызнер, И. Полянский, С. Плюцинский, С. Соколовский, М. Скольскевич, И. Шмидт

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНИ

##### Содержание

Авторы произвели экстракорпоральную перфузию печени у свиньи с острой недостаточностью собственной печени. В течение 3 часов перфузии выделение желчи, потребление кислорода и кровотока через изолированную печень были приближены к физиологическому состоянию. Очистка от аммиака и бромсульфалеина происходила в течение 20—30 минут. У животного перфундирующего печень снижалось однако постепенно кровяное давление и развивался метаболический ацидоз.

J. Nielubowicz, W. Olszewski, W. Rowiński, D. Bulien, J. Gruchalski, Z. Machowski, E. Mayzner, J. Polański, S. Pluciński, J. Sokołowski, M. Skośkiewicz, J. Szmidt

#### EXPERIMENTAL STUDIES ON EXTRACORPOREAL PERFUSION OF THE LIVER

##### Summary

The authors carried out extracorporeal liver perfusion on pigs subjected to acute insufficiency of their own livers. During a 3-hour perfusion bile secretion, oxygen uptake and blood flow through the isolated liver approximated to physiological values. Ammonia and bromsulphthalein clearance took place during 20—30 minutes. It was, however, found that in the animal subjected to the extracorporeal liver perfusion the arterial pressure gradually dropped and metabolic acidosis developed.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Alichniewicz A., Martin J., Zalech H., Joss A., Dziewaltowska D.: Badania doświadczalne nad pozaustrojową perfuzją wątroby. *Pol. Tyg. Lek.*, 1967, 22, 170.
2. Bibler D. D., Condon R. E., Nyhus L. M.: Temporary Use of Ex-vivo Heterodo-



gous Liver for Hepatic Insufficiency — Metabolic Effects and Sencitivity to Perfused Protein in Dogs. *Ann. Surg.*, 1966, 164, 61. — 3. *Bukberg G., Oro H., Tokornal J. A., O'Connell Th., Wilkerson J. A., Lonomire W. P.*: Results following hypothermic asanguineous liver perfusion in dogs. *Ann. Surg.*, 1968, 167, 51. — 4. *Cuello-Mainardi W., Vauques-Quintana E., Gutierrez V. S., Raffucci-Arce F. W.*: Determinations of the Optimum flow during ex-vivo liver perfusion. *Surg. Forum*, 1965, 16, 249. — 5. *Drapanas T., Zemel R., Vang J. O.*: Hemodynamics of the isolated perfused pig liver metabolism accoring to routes of perfusions and Rates of flow. *Ann. Surg.*, 1966, 164, 522. — 6. *Eiseman B., Knipe P., Koh Y., Normell W., Spencer F. C.*: Factors affecting hepatic vascular resistance in the perfused liver. *Ann. Surg.*, 1961, 157, 532. — 7. *Eiseman R., Liem D. S., Raffucci F.*: Heterolognous liver perfusion in treatment of hepatic failure. *Ann. Surg.*, 1965, 162, 329. — 8. *Joseph W. L., Fonkalsrud E. W., Longmire W. P.*: Hypotension induced by infusion of venous effluent following dog liver homotransplantation. *Surg. Forum*, 1967, 18, 379. — 9. *Norman J. C., Brown M. E., Afroyd F. W., Mc Dermott W. V.*: Effect of increasing outflow occlusion on the rate and of ascites formation by the isolated perfused ex vivo porcine liver. *Surg. Forum*, 1965, 16, 276. — 10. *Norman J. C., Brown M. E., Acroyd F. E., Mc Dermott W. V.*: Perfusion techniques in temporary human-isolated ex-vivo porcine liver cross circulation. *J. Surg. Res.*, 1966, 6, 221.

11. *Norman J. C., Covelli V. H., Hardison W. G., Mc Dermott W. V.*: Experimental studies related do Clinical xenogeneic liver perfusions. *Transplantation*, 1967, 2, 5, 869. — 12. *Paliwoda T., Romański A., Romańska K., Gołab W., Czyżewski K., Pietrzyk M., Gliński M.*: Perfuzja wątroby u chorego w śpiączce wątrobowej. *Pol. Przeg. Chir.*, 1968, 39, 1281. — 13. *Tait J. B., Wyk J., Ekseman B.*: Optimal hepatic function at low flow perfusion. *Surg. Forum*, 1965, 16, 294. — 14. *Tait J. B., Eiseman B.*: Perfusion dynamics for extracorporeal hepatic assist. *Arch. Surg.*, 1966, 93, 131. — 15. *Vang J. O., Drapanas T.*: Metabolism of lactic acid and keto acids by the isolated perfused calf liver. (Evaluation of perfusion via portal vein and hepatic artery). *Ann. Surg.*, 1966, 163, 545.

Pracę nadesłano: 23. V. 1968 r.

Adres autora: Warszawa, ul. Nowogrodzka 59, I Klinika Chirurgiczna AM.