

Kairiojo plaučio transplantacija žiurkei: eksperimentinio modelio paieška

Left lung transplantation in rat: search for the experimental model

Remigijus Sipavičius¹, Aleksejus Zorinas¹, Dalia Drobelytė², Rokas Šerpytis², Vytautas Sirvydis¹

¹ *Vilniaus universiteto Širdies ir kraujagyslių ligų klinikos Širdies chirurgijos centras, Santariškių g. 2, LT-08661 Vilnius*
El. paštas: remigijus.sipavicius@gmail.com

² *Vilniaus universiteto Medicinos fakultetas, M. K. Čiurlionio g. 21, LT-03101 Vilnius*

¹ *Vilnius University Clinic of Cardiovascular Diseases, Heart Surgery Centre, Santariškių str. 2, LT-08661 Vilnius, Lithuania*

² *Vilnius University Faculty of Medicine, M. K. Čiurlionio str. 21, LT-03101 Vilnius, Lithuania*
E-mail: remigijus.sipavicius@gmail.com

Tikslas

Sukurti ar pritaikyti esamus eksperimentinius modelius žiurkėms, tęsiant tyrinėjimus plaučių transplantacijos srityje.

Metodai

Žiurkėms atliekama kairiojo plaučio autotransplantacija arba ortotopinė transplantacija. Autotransplantacijos atveju atliekama kairiojo plaučio pulmoplegija, plautis paliekamas vietoje konservacijai norimam išemijos laikui. Jam praėjus atkuriamas plaučio kraujotaka. Transplantacijos atveju donorui atliekama abiejų plaučių pulmoplegija, jie konservuojami norimą išemijos laiką. Recipientui pašalinamas kairysis plautis. Praėjus išemijos laikui, donoro kairysis plautis persodinamas recipientui, atkuriamas plaučio kraujotaka.

Rezultatai

Atlikta 11 eksperimentų, penki iš jų – sėkmingai. Pagrindinės nesėkmių priežastys buvo broncho ar jo anastomozės plyšimas bei anestetikų perdozavimas.

Išvados

Esamus eksperimentinius modelius pavyko adaptuoti žiurkėms. Jie taikytini tolesnems plaučių transplantacijos tyrinėjimams.

Pagrindiniai žodžiai: plaučių transplantacija, eksperimentinis modelis

Objective

To design a new or to adapt the existing experimental models of rat lung transplantation.

Methods

Both left lung autotransplantation and orthotopic transplantation are implemented in rat. At autotransplantation, the left lung is left *in situ* after pulmoplegia. After a settled ischaemic time the lung perfusion is restored. At transplantation, pulmoplegia is performed in the donor. Lungs are separated and preserved for a settled ischaemic time. The recipient's left lung is removed and the donor's left lung transplantation is performed. The graft's perfusion is restored.

Results

Eleven experiments were carried out, 5 of them successfully. The main reasons for failure were bronchial anastomosis dehiscence or bronchial tear and anesthetic overdosage.

Conclusions

Existing experimental models were successfully adapted in rat, capacitating the further lung transplantation research.

Keywords: lung transplantation, experimental model.

Įvadas

Plaučių transplantacija yra ligonių, sergančių galutinės stadijos plaučių ligomis, vienas iš gydymo būdų. Viena iš priežasčių, bloginančių operacijos baigtį, yra išeminis reperfuzinis transplantato pažeidimas. Sukurta eksperimentinių modelių šiai problemai tirti. Tęsdami pradėtus plaučių transplantacijos tyrimus su šunimis, nutarėme sukurti ar pritaikyti esamą eksperimentinį modelį žiurkėms [1, 2].

Metodai

Tyrimams naudotos abiejų lyčių Wistar žiurkės, sveriančios 280–490 g (Vilniaus universiteto Biochemijos instituto vivariumas). Visi eksperimentai atlikti Vilniaus universiteto vivariumo Širdies ir kraujagyslių chirurgijos laboratorijoje. Atliekant eksperimentus vadovautasi Helsinkio deklaracijos principais.

Kairiojo plaučio autotransplantacijos, donoro ir recipiento anestezijos metodika. Gyvūnai užmigdomi eterio garais. Į pilvo ertmę sušvirkščinama 25 mg/kg kalipsolio ir 60 mg/kg tiopentalio tirpalų. Atliekama tracheostomija, gyvūnas intubuojamas tracheostomine kaniule ir ventiliuojamas 10 ml/kg įpūtimo tūriu, 80–100 kartų per minutę dažniu (Rodent Ventilator 7025, Ugo Basile Ventilators, Italy).

Kairiojo plaučio autotransplantacijos metodika. Atlikus anesteziją ir taikant dirbtinę plaučių ventiliaciją per tracheostomą, kairiąją torakotomija ketvirtame tarpšonkauliniame tarpe atveriamas krūtinės ląsta. Ope-

racinis pjūvis išplečiamas dviem plėstuvais, nukerpamas kairiojo plaučio raištis. Šalia diafragminio nervo perkerpamas perikardas, išpreparuojama kairiojo plaučio arterija, vena ir bronchas. Dviem kraujagysliniais spaustukais kuo arčiau širdies užspaudžiama plaučio arterija ir vena. Virš spaustuko adata punktuojama plaučio arterija ir pradedama pulmoplegija tiriamuoju tirpalu. Įkerpama kairiojo plaučio vena skysčiui ištekėti. Pulmoplegijos metu kairiojo plaučio ventiliacija nenutraukiama. Ją baigus kraujagysliniu spaustuku užspaudžiama kairiojo plaučio šaknis, plautį paliekant įkvėpimo fazėje. Sumažinamas įpūtimo tūris. 9–0 *Ethilon* siūlėmis užsiuvami arterijos ir venos defektai. Apvyniotas drėgna skaryte, suvilgyta šaltame tirpale, kairysis plautis paliekamas norimam išemijos laikui. Jam pasibaigus nuo plaučio šaknies nuimamas kraujagyslinis spaustukas, atkuriamas kairiojo plaučio kraujotaka ir ventiliacija, taip pat ankstesnis įpūtimo tūris. Žiurkė stebima pasirinktą reperfuzijos laiką.

Donoro operacijos metodika. Atlikus anesteziją ir taikant dirbtinę plaučių ventiliaciją per tracheostomą, vidurine sternotomija atveriamas krūtinės ląsta. Operacinis pjūvis išplečiamas dviem plėstuvais. Į apatinę tuščiąją veną sušvirkščinama 1000 vv/kg heparino tirpalo. Išilgai perkerpamas perikardas. Per dešinįjį skilvelį, apsiūtą tabokine siūle, 20 G intraveniniu kateteriu punktuojama plaučių arterija, kateteris fiksuojamas siūlu. Pradedama pulmoplegija pasirinktu konservuojančiu tirpalu 100 ml/kg tūriu. Pulmoplegijos metu tęsiama dirbtinė plaučių ventiliacija. Tir-

palui leidžiama laisvai ištekėti pro nukirptą kairiojo prieširdžio ausytę. Išimamas širdies ir plaučių kompleksas. Širdis pašalinama, plaučiai panardinami į tos pačios sudėties pulmopleginį tirpalą konservavimui. Po konservacijos išpreparuojami kairiojo plaučio bronchas, arterija ir vena, kairysis plautis atskiriamas. Šios struktūros paruošiamos siuvimui ir pažymimos 8–0 *Ethilon* siūlu. Anastomozėi paliekama plaučių arterija (dešinėsios plaučių arterijos žiotys užsiuvas), trachėja (dešiniojo broncho žiotys užsiuvas) ir kairysis prieširdis (diafragminės skilties plaučių venos žiotys užsiuvas). Tai atliekama tam, kad transplantacijos metu būtų galima tiksliau šias struktūras nukirpti ir taip užtikrinti geriausią spindžių atitikimą.

Recipiento kairiojo plaučio ortotopinės transplantacijos metodika. Atlikus anesteziją ir taikant dirbtinę plaučių ventilaciją per tracheostomą, kairiąją torakotomiją ketvirtame tarpšonkauliniame tarpe atveriamas krūtinės ląsta. Operacinis pjūvis išplečiamas dviem plėstuvais, nukerpamas kairiojo plaučio raištis. Šalia diafragminio nervo perkerpamas perikardas, išpreparuojama kairiojo plaučio arterija, vena ir bronchas. Kuo arčiau širdies kraujagysliniu spaustuku užspaudžiama kairiojo plaučio šaknis, plautis pašalinamas. Sumažinamas įpūtimo tūris. Paruošiamos siuvimui ir pažymima 8–0 *Ethilon* siūlu jo arterija, vena ir bronchas. Atliekama kairiojo plaučio transplantacija, 8–0 *Ethilon* ištisine siūle susiuvant bronchą, 9–0 *Ethilon* ištisine siūle – arteriją ir veną. Kraujavimui stabdyti plautis tampnuojamas skarytėmis. Nuimamas kraujagyslinis spaustukas nuo plaučio šaknies, atkuriamas kairiojo plaučio kraujotaka ir ventilacija, taip pat ankstesnis įpūtimo tūris. Kraujavimui nurimus skarytės pašalinamos. Žiurkė stebima pasirinktą reperfuzijos laiką.

Visos operacijos procedūros atliekamos naudojant operacinį mikroskopą (Carl Zeiss, Germany), didinantį 5,5–16 kartų.

Rezultatai

Iš viso atlikta 11 eksperimentų, penki iš jų – sėkmingi (1 lentelė). Nesėkmių priežastys buvo įvairios. Pagrindinės jų – broncho ar jo anastomozės plyšimas manipuluojant kraujagysliniu spaustuku ar preparuojant bronchą, anestetikų perdozavimas, operacijos techninis sudėtingumas dėl mažų siuvamų struktūrų (2 lentelė).

1 lentelė. Eksperimentų pasiskirstymas

Eksperimento tipas	Sėkmingi eksperimentai	Nesėkmingi eksperimentai
Autotransplantacija	4	2
Ortotopinė transplantacija	1	4

Diskusija

Žiurkių eksperimentiniai modeliai vis labiau taikomi tyrinėjant plaučių transplantacijos problemas. Jie yra daug pigesni negu su anksčiau plačiai naudoti šunų ar kiaulių modeliai, todėl galima atlikti daugiau eksperimentų. Grauzikų naudojimas eksperimentams sukelia mažesnę visuomenės nepasitenkinimą nei aukštesniųjų žinduolių. Galimybė išvesti įvairias genetines linijas leidžia juos plačiai pasitelkti ne vien transplantacijos, bet ir vėžio, genetinių ligų bei kitų problemų tyrinėjimui. Tačiau dėl mažo šių gyvūnų dydžio sunku atlikti eksperimentą.

Plaučio autotransplantacijos eksperimentai yra techniškai paprastesni, jiems atlikti reikia mažiau eksperimentinių gyvūnų ir medžiagų. Pagrindinis jų pranašumas yra tas, kad transplantuotas organas neatmetamas. Tačiau šis eksperimentinis modelis nutolęs nuo klinikinės transplantacijos, jį taikant sunku užtikrinti kokybišką ir ilgalaikę šaltąją tiriamo plaučio išemiją.

Plaučių ortotopinės transplantacijos eksperimentai yra techniškai sudėtingi, reikalauja geros mikrochirurginės technikos ir užima daug laiko. Jei naudojamos skirtingos genetinės linijos, susiduriama su transplantuoto organo atmetimo problema, kylanti ir klinikinėje praktikoje. Tačiau šis eksperimentinis modelis yra artimas klinicinei plaučių transplantacijai, o įgijus daugiau patirties operacijų laikas trumpėja.

Daugumoje eksperimentinių žiurkės plaučių ortotopinės transplantacijos modelių kraujagyslės, o kartais ir bronchas sujungiami be siūlių, naudojant vamzdelius – pro juos iš vidaus prakišamas vienas iš jungiamųjų kraujagyslės galų ir išverčiamas vamzdelio išorėn („rankogalio“ technika). Anastomozė atliekama likusį kraujagyslės galą užmaunant ant šio „rankogalio“ ir užrišant siūlu. Tačiau anastomozes atlie-

2 lentelė. Nesėkmių priežastys

Nesėkmių priežastis	Eksperto tipas	Ekspertų skaičius	Eksperto baigtis
Ekspertinio gyvūno nugaišimas dėl anestetikų perdozavimo premedikuojant ir nepavykus laiku atlikti tracheostomijos	Autotransplantacija	1	Atlikus tracheostomiją, kairiojo plaučio nebuvo galima ventiliuoti, nebuvo širdies veiklos. Išsiaiškinta, kad trachėja buvo pradurta tracheostomine kaniule. Atkūrus plaučio ventiliaciją, eksperimentas atliktas su gaišena
Ekspertinio gyvūno nugaišimas dėl anestetikų perdozavimo premedikuojant	Autotransplantacija	1	Atlikus torakotomiją pastebėta, kad nėra širdies veiklos. Nepavykus jos atkurti, eksperimentas atliktas su gaišena
Broncho pažeidimas dėl manipuliacijos kraujagysliniu spaustuku, preparuojant ar įkerpant plaučių veną	Autotransplantacija	3	Ekspertai atlikti užsiuvus defektą
Plaučių venos pažeidimas įkerpant angą pulmoplegijos tirpalui išleisti	Autotransplantacija	1	Ekspertas atliktas susiuvus plaučių veną
Pulmoplegijos metu manipuluojant adata tirpalui sušvirkšti, pažeista plaučių arterija	Ortotopinė transplantacija	1	Išimtas širdies ir plaučių kompleksas, kairysis plautis paruoštas transplantacijai
Broncho anastomozės plyšimas pradėjus siūti arteriją (dėl neatsargaus manipuliavimo kraujagysliniu spaustuku)	Ortotopinė transplantacija	1	Ekspertas nutrauktas nepavykus susiūti plyšimo
Maži ekspertiniai gyvūnai. Techniškai labai sudėtinga transplantacija	Ortotopinė transplantacija	1	Išimtas širdies ir plaučių kompleksas, kairysis plautis paruoštas transplantacijai
Operuota be asistento. Techniškai sunku tęsti eksperimentą	Ortotopinė transplantacija	1	Išimtas širdies ir plaučių kompleksas, kairysis plautis paruoštas transplantacijai

kant siūlėmis, galima geriau adaptuoti vidinį kraujagyslės sluoksnį, išsaugomas kraujagyslės elastingumas. Atlikus eksperimentą anastomozė auga kartu su gyvūnu, išvengiama reakcijos į svetimkūnį, pasitaikančios naudojant „rankogalio“ techniką. Be to, šis būdas yra artimesnis klinicinei chirurginei technikai.

Ekspertai leido sėkmingai atlikti kairiojo plaučio autotransplantaciją ir ortotopinę transplantaciją žiurkėms.

LITERATŪRA

1. Sipavičius R, Misevičius K, Dukštaitė A. Ekspertinis kairiojo plaučio transplantacijos šunims modelis. Medicinos teorija ir praktika 2003; 1: 14–19.
2. Sipavičius R, Gražienė V, Žurauskas E, Šalkus G, Laurinavičius A, Sirvydis V. Medicinos teorija ir praktika 2003; 1: 18–20.
3. Nawata S, Abolhoda A, Ross HM, Brooks A, Burt ME. Sequential bilateral isolated lung perfusion in the rat: an exper-

Išvados

Ekspertinius ortotopinės plaučių transplantacijos ar autotransplantacijos modelius pavyko pritaikyti tolesniems plaučių transplantacijos problemų tyrinėjimams. Pasielkiant šiuos žiurkės ekspertinius modelius galima tęsti transplantato išeminio reperfuzinio pažeidimo ir kitų plaučių transplantacijos problemų tyrimus.

Dėkojame ekspertą parėmusiai kompanijai „Johnson & Johnson“.

perimental model. Ann Thorac Surg 1997; 63: 796–799.

4. Mizuta T, Kawaguchi A, Nakahara K, Kawashima Y. Simplified rat lung transplantation using a cuff technique. J Thorac Cardiovasc Surg 1989; 97: 578–581.

5. Kawaguchi AT, Mizuta T, Shirai M, Ishibashi-Ueda H, Machida H, Kawashima Y. Right lung transplantation followed by left pneumonectomy in the rat. Eur J Cardio-thorac Surg 1996; 10: 1011–1014.

6. Rodriguez NS, Barrasa JLM, Garcia AL, Suarez PR, Gonzalez MP, Gilart JF. Lung transplantation in rats: a viable experimental model. *Arch Bronconeumol* 2004; 40(10): 438–442.

7. Belperio JA, Keane MP, Burdick MD, Lynch III JP, Zisman DA, Xue YY, Li K, Ardehali A, Ross DJ, Strieter RM. Role of CXCL9/CXCR3 chemokine biology during pathogenesis of

acute allograft rejection. *J Immunol* 2003; 171: 4844–4852.

8. Goto T, Ishizaka A, Kobayashi F, Kohno M, Sawafuji M, Tasaka S, Ikeda E, Okada Y, Maruyama I, Kobayashi K. Importance of tumor necrosis factor- α cleavage process in post-transplantation lung injury in rats. *Am J Resp Crit Care Med* 2004; 170: 1239–1246.

Gauta: 2006-08-01

Priimta spaudai: 2006-10-01