

University of Groningen

The Groningen hypothermic liver perfusion system for improved preservation in organ transplantation

Plaats, Arjan van der

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2005

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Plaats, A. V. D. (2005). *The Groningen hypothermic liver perfusion system for improved preservation in organ transplantation*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Samenvatting

Orgaantransplantatie is een effectieve behandeling van leverziekten in een gevorderd stadium. De transplantatie-procedure (**hoofdstuk 1**) omvat het uitnemen van de lever bij de donor, het transport van de lever van donor naar ontvanger en het transplanteren van de lever in de ontvanger. Om de tijdsduur tussen de uitname-procedure en het implanteren in de ontvanger te overbruggen, moet de lever optimaal bewaard en gepreserveerd worden om het orgaan zo levensvatbaar mogelijk te houden.

Vandaag de dag is de conventionele manier van conserveren de "cold storage" (CS) preservatie methode. CS omvat het eenmalig spoelen van de lever in het lichaam met een ijskoude preservatie-vloeistof om al het resterende bloed uit te wassen en het orgaan zo snel mogelijk te koelen. Vervolgens wordt de lever bewaard in een plastic zak gevuld met koude preservatie-vloeistof en getransporteerd in een koelbox gevuld met smeltend ijs om de verlaagde stofwisseling als gevolg van onderkoeling (0-4°C) te waarborgen. De "University of Wisconsin cold storage" (UW-CS) vloeistof is de huidige gouden standaard in preservatie-vloeistoffen. Hoewel CS-preservedaten uitstekende resultaten geeft voor het conserveren van levers van hersendode donoren, organen afkomstig van donoren waarbij de circulatie nog in stand is, vergt uitbreiding van het aantal potentiële donoren met de zogenaamde "non-heart-beating" donoren (NHBDs), organen afkomstig van donoren waarbij het hart al stil staat, betere preservatie methoden.

Hypotherme machinale preservatie (HMP) is een dynamische preservatie-methode die de lever actief perfundeert. HMP zorgt voor een constante toevoer van voedingsstoffen en afvoer van afvalstoffen, hetgeen bevorderlijk is voor de kwaliteit van preservatie. Vooral NHBD levers hebben voordeel bij HMP en kunnen hierdoor gebruikt worden voor transplantatie. Bestaande HMP machines zijn voor preservatie van donornieren ontwikkeld. Voor leverperfusie bestaan nog eigenlijk geen HMP systemen.

Samenvatting

Het doel van dit proefschrift was het ontwikkelen van een draagbaar hypotherm machinaal perfusie-systeem dat in staat is om donorlevers op een dynamische manier optimaal te conserveren.

In **hoofdstuk 2** is de anatomie en fysiologie van de lever beschreven, waarbij veel aandacht besteed wordt aan de aanvoerende bloedvaten: vena portae en arteria hepatica. De vena portae voorziet de lever van bloed afkomstig van het darmbed. Dit bloed vol voedingsstoffen komt in de lever met een lage bloeddruk (12 mmHg) en hoge flow (± 1000 ml/min). De arteria hepatica daarentegen is een zijtak van de aorta en voorziet de lever van zuurstofrijk bloed met een hoge pulserende bloeddruk (120/80 mmHg) maar lagere flow (± 500 ml/min). Beide bloedstromen komen in de sinusoiden bij elkaar. Hier vindt fysiologische interactie met de levercellen plaats, wat de lever in staat stelt zijn vele functies te vervullen. Voor een optimale preservatie is het van het grootste belang ischemische periodes van verstoorde bloedtoevoer zo kort mogelijk te houden.

In **hoofdstuk 3** worden flow- en drukprofielen in de lever in meer detail geanalyseerd met behulp van een numeriek simulatiemodel van de levercirculatie. Een dergelijk model kan erg behulpzaam zijn in het vinden van de optimale pompinstellingen van het HMP systeem. De hemodynamica in de stromingsgebieden van de arteria hepatica, vena portae en vena hepatica van het levervaatstelsel is gemodelleerd met behulp van een elektrisch analogon. De berekende druk- en flowprofielen in de lever kwamen overeen met de fysiologische profielen in de lichaamscirculatie zoals die in de literatuur vermeld staan. Berekende flowwaarden waren niet in overeenstemming met deze normale controle waarden, wat kan worden verklaard door onnauwkeurige invoerwaarden van bijv. lengte en diameter van de kleine levervaten. Totdat preciezere methoden voor het bepalen van vaatdimensies beschikbaar komen kan, door middel van herdefiniëren van vaatdiameters, het simulatiemodel geschikt worden gemaakt om mogelijk invloeden van temperatuur en/of viscositeit op de hemodynamica in de lever te voorspellen. In conventionele CS orgaanpreservatie wordt het donor-orgaan gespoeld met 0-4°C UW-vloeistof. Dit initiële spoelen zorgt voor het uitwassen van bloedcomponenten uit de microcirculatie. De hydroxyethyl starch (HES)-component van de UW, een zetmeelproduct nodig voor handhaving van het osmotisch evenwicht, veroorzaakt de hoge viscositeit van UW en bevordert mogelijk rode bloedcel (RBC)-aggregatie. Het doel van **hoofdstuk 4** was te onderzoeken wat de invloed van de HES-component is op de viscositeit van UW en het aggregatie-gedrag van bloed gedurende het spoelen. De experimenten zijn uitgevoerd met rattenbloed

en mengsels van rattenbloed met UW-vloeistof of UW-vloeistof zonder HES (UWmod) bij 4°C. De gemeten viscositeit van bloed was bij 4°C 2 keer zo hoog als bij 37°C, het UW/bloed mengsel bij 4°C was 1.3 keer zo viskeus als bloed bij 37°C; het 4°C UWmod/bloed mengsel was even viskeus als 37°C bloed. Het UW/bloed mengsel had een 9 keer zo hoge aggregatie als bloed. Een mengsel van bloed met UWmod had een lagere aggregatie dan bloed. Behalve een hogere viscositeit veroorzaakt HES in UW ook een verhoogde RBC-aggregatie. De dimensies van de gevormde aggregaten zijn groter dan de diameter van de sinusoiden.

In **hoofdstuk 5** is vervolgens de aggregatie en vervorming van humane RBCs in vitro onderzocht bij 4°C. De analyse van RBC-aggregatie door toevoegen van laag-moleculair-gewicht HES aan een mengsel van hoog-moleculair-gewicht HES en bloed, en vice versa, gaf een indicatie over de aard van HES-RBC interacties. Lichtmicroscopie en 'atomic force'-microscopie zijn gebruikt om grootte en vorm van de aggregaten morfologisch te karakteriseren. Hoog-moleculair-gewicht HES en UW-vloeistof hadden een hyperaggregerend effect op RBC; laag-moleculair-gewicht HES had een hypoaggregerend effect. De aggregaten waren groot en hadden een hoge weerstand tegen het uiteenvallen door flow-geïnduceerde schuifspanning. Onze in vitro experimenten hebben aangetoond dat de fysiologische functie van RBCs om aggregaten te vormen significant beïnvloed wordt door de aanwezigheid van HES. Het gebruik van hoog-moleculair-gewicht HES in UW-vloeistof zorgt voor een verhoogde en versnelde aggregatie van RBCs, wat stagnatie van de bloedstroom en een incomplete uitwas van bloed uit donororganen voor transplantatie kan veroorzaken.

Na bestudering van het initiële spoelen tijdens de donor-operatie, kon het onderzoek toegespitst worden op de eigenlijke preservatie-fase. In HMP van de lever als een dynamische preservatie-methode worden drie belangrijke aspecten onderscheiden: Gebruikte preservatie-vloeistof, flow- en drukprofielen van het pompsysteem, en de zuurstofvoorziening. Uit de literatuurstudie naar hypotherme machinale leverperfusie-experimenten in **hoofdstuk 6**, is gebleken dat de UW-MP-vloeistof de meest gebruikte preservatie-vloeistof in machinale orgaanperfusie-systemen is. Ook is gebleken dat een conclusie over optimale perfusie-karakteristieken niet getrokken kan worden, omdat in de verschillende publicaties alleen óf perfusiedruk óf perfusieflow vermeld wordt. Besloten werd dat leverperfusie op een fysiologische manier optimaal is: pulsatiele perfusie door de arterie en continue perfusie door de vena portae. Als gevolg van de hypothermie moeten de toegepaste drukken lager gekozen worden dan de fysiologische drukken om mogelijke schade aan de endotheelcellen te voorkomen.

Samenvatting

Het toedienen van zuurstof is nodig om de laag-metabole lever van voldoende zuurstof te voorzien. Het integreren van bovenstaande eigenschappen in een draagbaar systeem dat gebaseerd is op bestaande chirurgische technieken en orgaanuitwisselings-procedures en dat bovendien 24 uur 'stand alone' kan werken en niet zwaarder is dan 23 kg, moet het mogelijk maken deze techniek toe te passen voor preservatie en transport van donorlevers.

Omdat het van belang is gebleken om extra zuurstof tijdens preservatie toe te dienen, worden in **hoofdstuk 7** vier miniatuur holle vezel membraan-oxygenatoren getest op hun vermogen om de UW-MP vloeistof onder hypotherme condities voldoende te oxygeneren. De HILITE en Baby-RX oxygenatoren lieten een vergelijkbare oxygenatie-capaciteit zien, welke hoger was dan die van de FiberFlo en de MiniModule. In het geschatte flow-werkgebied was de capaciteit van de FiberFlo en de MiniModule kritisch, waar die van de HILITE en de Baby-RX voldoende was. De drukval over de oxygenator was het laagst bij de HILITE en de Baby-RX, voor de FiberFlo en de MiniModule was deze zeven keer hoger. Uitgaande van de lage drukval, die nodig is om de pomp zo efficiënt mogelijk te laten werken, is de HILITE geselecteerd voor toepassing in het HMP systeem.

De resterende componenten van het HMP systeem zijn geselecteerd in **hoofdstuk 8**. Twee centrifugaal-pompen, welke commercieel verkrijgbaar zijn, zijn gekozen op basis van hun mogelijkheid om zowel continu als pulsatieel te kunnen pompen. Tests met ijskoude UW-MP vloeistof hebben aangetoond dat de pompen in staat zijn de lever door de vena portae en de arteria hepatica te perfunderen met respectievelijk een continue druk van 4 mmHg en een pulsatiele druk van 30/20 mmHg. Sensoren zorgen voor meting van druk en temperatuur, en de flow wordt afgeleid van de rotatie-snelheid van de pompmotoren. De perfusiedruk wordt constant gehouden door een proportionele integrerende (PI) controller, met een reactietijd op drukveranderingen korter dan een minuut. Al deze componenten zijn geïntegreerd in een ontwerp dat bestaat uit een disposable deel en een electro-mechanisch deel. Het disposable deel bestaat uit een orgaankamer, oxygenator, twee pompkopjes, druk- en temperatuursensoren, slangen en canules, en een koelbox. Het electro-mechanische deel omvat twee electromotoren, zuurstof cilinder, electronica, pocket PC en een batterij. In het kort: De preservatie-vloeistof wordt pulserend van het reservoir, door de oxygenator naar de arteria hepatica van de ondergedompelde lever in de orgaankamer gepompt. De andere pomp perfundeert de vena portae in een continue modus, zonder extra toegevoegde zuurstof. Het disposable deel is in de koelbox omgeven door smeltend ijs, waardoor in het reservoir een temperatuur van 0-4°C heerst. Bijzonderheden van dit ontwerp zijn

o.a. een back-up door middel van de CS-methode bij een totaal disfunctioneren, de mogelijkheid om ook bij normotherme condities te perfunderen door het gebruik van een warmtewisselaar en bloedcompatibele disposable componenten, de mogelijkheid om ook nieren te perfunderen door het gebruik van enkel de pulsatiele pomp, en tot slot een toegevoegd gewicht in vergelijking tot cold storage van 5.3 kg.

Een prototype van dit ontwerp is gebouwd en geëvalueerd op functionaliteit in **hoofdstuk 9**. Evaluatie-criteria waren: adequate druk-gecontroleerde perfusie, voldoende oxygenatie, verzekerde temperatuur van 0-4°C en verzekerde steriele condities, dit alles gedurende 24 uur. Zes varkenslevers werden machinaal geperfundeerd met respectievelijk 4 mmHg (continu, vena portae) en 30/20 mmHg, 60 BPM (pulsatief, arteria hepatica). Gedurende 24 uur preservatie werden druk, flow en temperatuur continu gemeten en opgeslagen. Op de tijdpunten t=0, 2, 4, 8, 12 en 24 uur werden monsters van de UW-MP vloeistof genomen voor het bepalen van de partiële zuurstofspanning (pO₂) en lactaat dehydrogenase (LDH) als maat voor celbeschadiging. Biopsies uit elke leverlob werden afgenomen voor histologie en elektronen-microscopie; monsters van het ijs, preservatie-vloeistof, leveroppervlak en gal zijn gekweekt om steriliteit aan te tonen. De resultaten lieten zien dat de temperatuur tussen 0-4°C gehandhaafd bleef; de ingestelde perfusiedruk bleef op 4 mmHg en 30/20 mmHg voor vena portae en arteria hepatica, respectievelijk. De resulterende flow was ongeveer 350 ml/min en 80 ml/min, respectievelijk, maar daalde voornamelijk in de vena portae, waarschijnlijk als gevolg van oedeem-vorming. De arteriële pO₂ bleef 100 kPa. Histologie liet een complete perfusie van de lever zien met geen noemenswaardige schade aan levercellen, galwegen en niet-parenchym-cellen.

Concluderend heeft dit onderzoek aangetoond dat het ontwikkelde prototype voldoet aan het gedefiniëerde eisenpakket. Het prototype van de Groningen hypotherme leverperfusiepomp is in staat gebleken de lever duaal, zowel pulsatief (arteria hepatica) als continu (vena portae), te perfunderen gedurende 24 uur. Het systeem handhaafde flow met een gecontroleerde druk. Hoewel er een toename van de weerstand van de lever werd gezien, zorgde dit niet voor noemenswaardige schade aan endotheel- of levercellen. De holle vezel oxygenator bracht voldoende zuurstof in de arteriële lijn en voorzag zelfs de veneuze lijn van een toereikende hoeveelheid zuurstof. Smeltend niet-steriel ijs hield de temperatuur van het disposable deel, met daarin het reservoir, oxygenator, pompkopjes en lever, beneden 4°C gedurende 24 uur en veroorzaakte geen contaminatie van de UW-

Samenvatting

vloeistof en het orgaan. Het complete systeem weegt 17.3 kg, 5.3 kg meer dan cold storage bij gebruik van dezelfde koelbox, en blijft dus binnen de normen voor draagbaarheid. Het gebruiksgemak moet nog verbeterd worden voordat transplantatie-experimenten uitgevoerd kunnen worden om aan te tonen dat HMP superieur is ten opzichte van cold storage, met de nadruk op het gebruik van non-heart-beating donors in de donorpool. Bij de evaluatie van het Groningen HMP systeem werd de steriele disposable module door een steriel persoon ter plekke van de operatie geassembleerd, inclusief het maken van de slangverbindingen en sensoren, fixatie met tie-wraps, vullen van het reservoir en luchtbel-vrij primen. Deze procedure in het prototype was onhandig en moet worden versimpeld.

Om van het Groningen HMP systeem een gebruiksvriendelijk preservatie-systeem te maken, is het als eerste van belang dat de chirurg zo weinig mogelijk (extra) handelingen in verhouding met de cold storage moet verrichten om het orgaan op de machine aan te sluiten. Een klaar-voor-gebruik steriele disposable module, dat gevuld kan worden met UW-MP zonder het reservoir te openen, zou een grote verbetering zijn. Hierdoor blijft de binnenkant van het reservoir steriel en kan het geheel gevuld en ontluicht worden met behulp van de centrifugaalpompen. In de bestaande situatie wordt de module geprimed door middel van de zwaartekracht, wat een tijdrovende en onhandige situatie is. Een consequentie van het actieve primen mbv de pompen is dat de pompen hiervoor onder de UW-MP vloeistofspiegel geplaatst moeten worden in plaats van, de huidige locatie, in het deksel.

Een tweede verbetering ligt in de canulatie van de vena porta en de arteria hepatica. Beide canules werden nu in de bloedvaten geschoven, maar het is erg belangrijk voor het succes na transplantatie om de vaten niet te beschadigen. Hiervoor moet een speciale canulatietechniek worden ontwikkeld dat minimale schade aan de vaten toebrengt.

Tenslotte wordt aanbevolen aandacht te besteden aan verbetering van het gebruiksgemak tijdens het verwijderen van de lever uit het reservoir na preservatie. In het prototype wordt de enige barriere tussen niet-steriel ijs en steriele binnenkant van het reservoir gevormd door de deksel. Na preservatie was deze deksel niet meer steriel en was het moeilijk om de lever uit het reservoir te verwijderen zonder de steriliteit te verbreken. Dit probleem kan worden opgelost door een of meer steriele plastic zakken of afdekdoeken aan de module te bevestigen, waardoor de lever in het reservoir geplaatst kan worden en het deksel steriel gesloten en geopend kan worden.

Het implementeren van deze maatregelen in de 'next generation' Groningen HMP systeem (Figuur 10.1) zal resulteren in een verbeterd ontwerp dat aan alle

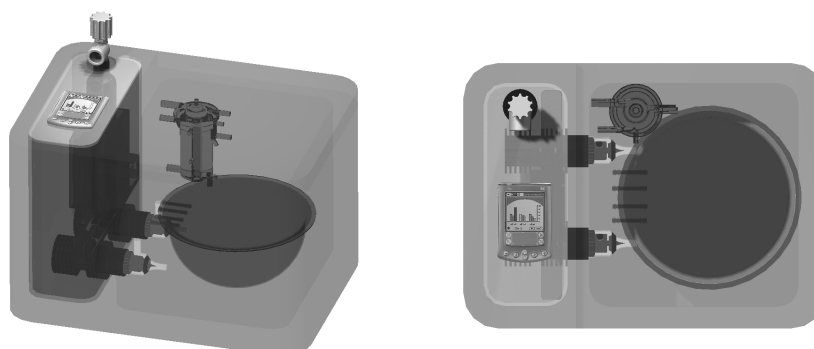


Figure 9.10: Concept van de 'next generation' Groningen HMP system, met de electromechanische module en de disposable module in afzonderlijke polystyreen koelboxcompartimenten (isometrisch en bovenaanzicht).

functionele eisen voldoet en gebruiksvriendelijk is. Het Groningen HMP systeem is gebaseerd op de bestaande cold storage techniek en procedure, met als toevoeging een duaal pompsysteem dat in staat is de lever met een constante druk van 4 mmHg en 30/20 mmHg door respectievelijk de vena porta en arteria hepatica te perfunderen. Temperatuur van de lever en de geoxygeneerde UW-MP vloeistof kan door ijs op 0-4°C gehouden worden in een disposable koelbox. Een prototype van het systeem is positief getest met betrekking tot functionaliteit en de 'proof of concept' zal worden aangetoond in een groot-proefdier-transplantatiemodel. Vervolgens moet het 'universitaire' prototype omgezet worden in een industrieel product. Na CE-certificering kan het systeem voor humane transplantatie op de markt gebracht worden. Verbeterde preservatie met het HMP systeem zal resulteren in verbeterde viabiliteit van het orgaan na transplantatie ondanks langere preservatietijden. Hierdoor wordt transplantatie een semi-emergency procedure welke beter ingepast kan worden in de dagelijkse planning van operatieschema's en klinische logistiek. Doordat 'delayed graft function' en 'primary non-function' zal afnemen wordt het mogelijk marginale, oudere en non-heart-beating donoren frequenter te gebruiken voor transplantatie en het systeem zal dus bijdragen aan het terugdringen van het donortekort.

