

## MODELLI SPERIMENTALI DI TRAPIANTO D'ORGANO NEL MAIALE

*E. Zitelli, F. Fayer, S. Zonta, F. Abbiati, P.F. Piccioni, A. Venetis, M. Viola,  
L. Cobianchi, C. Zampaglione, B. Burroni, I. Kordopati, A. Deho,  
M. Balestreri\*, M. Alessiani, A. Zonta*

*CHIRURGIA GENERALE A, DIPARTIMENTO DI CHIRURGIA,  
\*ANESTESIA E RIANIMAZIONE 2, UNIVERSITÀ DEGLI STUDI  
E IRCCS POLICLINICO SAN MATTEO, PAVIA*

### INTRODUZIONE

Gli studi sperimentali su animali di grossa taglia sono utili per superare le difficoltà tecniche, immunologiche e funzionali che possono minare i risultati del trapianto di intestino. In questo lavoro vengono descritte le diverse tecniche del trapianto di intestino nel suino. Introducendo poche variazioni alla procedura, abbiamo realizzato tre differenti modelli, che possono essere utilizzati alternativamente in accordo con il tipo di studio necessario. Inoltre, vengono presentati due modelli pre-clinici di trapianto di rene, il primo con prelievo dell'organo da donatore vivente con metodica laparoscopica transaddominale, il secondo con prelievo laparotomico tradizionale.

### METODI

#### Trapianto di Intestino

Sono stati utilizzati suini di razza Large-White. Due differenti graft possono essere prelevati dal suino donatore: (1) piccolo intestino, e (2) piccolo e grosso intestino "en bloc". Non vi sono differenze nella tecnica di isolamento e sezione dei peduncoli vascolari (arteria e vena mesenterica superiore) e nella perfusione con soluzione fredda del graft attraverso l'aorta. Nel prelievo del solo piccolo intestino, la resezione distale avviene in corrispondenza dell'ultima ansa ileale. Nel prelievo "en bloc" di piccolo e grosso intestino la resezione viene praticata sul colon trasverso.

Le maggiori differenze tra i tre differenti modelli di trapianto intestinale sono mostrate nella tabella I.

#### *Prelievo di intestino in toto e trapianto del solo piccolo intestino (Gruppo I)*

Il prelievo consiste nel rimuovere piccolo e grosso intestino "en bloc".

**Tabella I**

<b>Procedura</b>	<b>Gruppo 1</b>	<b>Gruppo 2</b>	<b>Gruppo 3</b>
Intestino prelevato	Piccolo + Grosso	Piccolo	Piccolo + Grosso
Intestino Trapiantato	Piccolo	Piccolo	Piccolo + Grosso
Stomia	Digiunale	Digiunale	Ileale
Anastomosi distale	Ileo-colica	Ileo-ileale	Colo-colica
Valvola ileo-cecale	No	si	si

Diversamente dai donatori degli altri gruppi, il peduncolo vascolare viene sezionato più distalmente per preservare le collaterali pancreatiche e duodenali. Il successivo trapianto dell'intestino tenue avviene mediante anastomosi termino-terminali con AMS e con VMS; la continuità intestinale prossimale viene ripristinata mediante anastomosi latero-laterale tra il duodeno nativo e la prima ansa digiunale del graft; la continuità intestinale distale è ottenuta mediante anastomosi termino-terminale tra l'ileo del graft ed il colon trasverso del ricevente; il confezionamento di una digiunostomia permette il monitoraggio con biopsie del graft.

*Prelievo e trapianto di intestino tenue (Gruppo 2)*

Viene prelevato l'intero piccolo intestino. L'arteria e la vena colica devono essere conservate. La sezione del peduncolo vascolare deve essere praticata distalmente ai vasi colici. Il graft di piccolo intestino viene trapiantato: le anastomosi vascolari e l'anastomosi intestinale prossimali sono identiche a quelle del gruppo 1; la continuità intestinale distale è ripristinata tramite anastomosi termino-terminale tra l'ileo del graft e gli ultimi cinque centimetri dell'ileo nativo.

*Prelievo e trapianto di intestino in toto (Gruppo 3)*

Il prelievo dell'intestino "en bloc" viene attuato similmente alla procedura del gruppo 1. Diversamente, però, sia il piccolo che il grosso intestino vengono trapiantati. L'arteria e la vena mesenterica vengono anastomizzate in termino-laterale; l'anastomosi digiunale è simile a quella praticata negli altri due gruppi; non viene eseguita la digiunostomia di controllo; l'anastomosi distale si confeziona termino-terminalmente tra il colon trasverso del graft e quello nativo; infine un'ansa ileale distale viene esteriorizzata secondo il metodo di Bishop-Koop.

## Trapianto di rene

Sono stati utilizzati, anche in questo caso, suini di razza Large-White suddivisi in due gruppi in base alla metodica di prelievo renale adottata nei donatori: Gruppo 1 (n=4) tecnica laparoscopica con donatore vivente; Gruppo 2 (n=2) metodica convenzionale laparotomica da donatore cadavere. In entrambe i gruppi si ottenuta l'immunosoppressione con FK 506 e MMF.

### *Prelievo di rene per via laparoscopica da donatore vivente e trapianto laparotomico*

Posizionato l'animale donatore in decubito laterale ed ottenuto il pneumoperitoneo, si inseriscono i trocar: il primo periombelicale (per la telecamera ottica), il secondo lungo la linea mammaria in regione sovrapubica ed il terzo a livello sottocostale. Si procede, quindi, alla mobilizzazione del colon ed apertura della fascia di Gerota a sinistra; isolamento e sezione dell'uretere e del peduncolo vascolare; si estrae l'organo attraverso una minilaparotomia mediana seguita da perfusione ipotermica del graft su banco.

Vista la brevità dei capi vascolari del rene prelevato con questa metodica, si trapianta il graft in sede ortotopica; l'uretere viene impiantato in vescica secondo la tecnica di Politano-Leadbetter in due casi e per impianto diretto nei rimanenti animali; l'intervento viene completato dalla nefrectomia del rene nativo controlaterale.

### *Prelievo di rene per via laparotomica da donatore cadavere e trapianto laparotomico*

La metodica, utilizzata anche sull'umano, prevede l'isolamento dei peduncoli vascolari, la perfusione ipotermica "in situ" dei reni attraverso l'aorta.

Dopo prelievo da donatore cadavere, il rene viene trapiantato in sede eterotopica, prossimale alla biforcazione di aorta e cava; l'anastomosi uretro-vescicale è effettuata mediante metodica diretta; si esegue, quindi, la nefrectomia bilaterale dei reni nativi.

## RISULTATI

### Trapianto di intestino

Nove suini fanno parte del gruppo 1, 39 del gruppo 2 e 12 del gruppo 3. La mortalità operatoria più bassa è occorsa nel gruppo 2 (28%), seguita dagli animali del gruppo 3 (58%) e del gruppo 1 (78%). L'alto tasso di mortalità del gruppo 1 è stato influenzato dalla nostra "learning curve" nelle metodiche chi-

rurgiche ed anestesilogiche. Non si sono registrate differenze significative, tra i 3 gruppi, nei tempi di ischemia o di intervento chirurgico. L'aggiunta del colon nel garft trapiantato ha portato ad un profilo emodinamicamente più critico alla riperfusione d'organo. [ 1 ]

### Trapianto di rene

In tutti i quattro donatori viventi il prelievo per via laparoscopica è stato eseguito con successo. L'intervento ha avuto una durata media di 68 minuti, con un tempo medio d'ischemia calda di 13 minuti. In nessun donatore si sono verificate complicanze di tipo tecnico od infettivo, tutti gli animali hanno mostrato un normale incremento ponderale post-operatorio e sono sopravvissuti indefinitamente sino al momento del sacrificio. Anche la funzionalità renale si è mantenuta nella norma.

I tempi medi di confezione delle anastomosi vascolari, per l'arteria e la vena rispettivamente, sono stati di 10 e 12 minuti nel gruppo 1, di 15 e 18 minuti nel gruppo 2. La durata media totale dell'intervento è stata di 3 ore e 20 min. nel gruppo 1 e di 3 ore e 50 min. nel gruppo 2. La tabella II riporta i dati della creatininemia media dei due gruppi. Non vi sono differenze statisticamente significative, tuttavia si notano valori più elevati durante la prima settimana postoperatoria nei riceventi del gruppo 1.

**Tabella II**

	1 <sup>a</sup> giornata	3 <sup>a</sup> giornata	7 <sup>a</sup> giornata	14 <sup>a</sup> giornata	21 <sup>a</sup> giornata	28 <sup>a</sup> giornata
Gruppo 1	3.28±1.0	5.82±1.24	3.21±1.37	1.84±0.26	1.41±0.23	2.28±0.40
Gruppo 2	3.44±0.54	4.7±3.15	1.81±0.44	2.43±0.91	1.82±0.43	1.49±0.23

### DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Dal primo studio emerge che tre differenti modelli sperimentali sono possibili nel suino. Le principali linee guida sulla tecnica adottata sono simili a quelle in uso per gli umani. In particolare l'intestino trapiantato è stato sempre messo in continuità con quello nativo. Il sangue venoso proveniente dal graft intestinale viene drenato sempre nella vena porta, con anastomosi venosa sulla vena mesenterica superiore [2, 3]. L'importanza dell'utilizzo di un più fisiologico drenaggio portale invece di quello cavale nel trapianto di intestino tenue è stato ben dimostrato da numerosi studi sperimentali e clinici [4].

Per quel che riguarda la seconda problematica affrontata, un modello sperimentale di prelievo di rene da donatore vivente mediante metodica laparoscopica, possiamo notare come la questa tecnica sia risultata di semplice esecuzione, relativamente breve e priva di complicanze per il donatore vivente. Il rene prelevato, una volta trapiantato ha mostrato una buona e rapida ripresa funzio-

nale. La creatininemia dei riceventi del gruppo 1 evidenzia come il periodo di ischemia calda, conseguente al prelievo laparoscopico, generi un rialzo non statisticamente significativo nell'immediato postoperatorio, mentre a lungo termine i valori sono assimilabili a quelli del gruppo 2. Va, inoltre, sottolineato il fatto che in questo studio preclinico sul suino, sia i donatori viventi sia quelli cadavere, erano altamente incompatibili con i rispettivi riceventi, come dimostrato dalle colture miste linfocitarie eseguite. I potenziali vantaggi derivanti dall'utilizzo di donatori viventi più compatibili, come avviene a livello umano, saranno analizzati in una fase successiva dello studio.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Spada M, Alessiani M, Noli S, et al.: *Differences in hemodynamic stability at reperfusion during intestinal transplantation with and without colon in pigs*. Transplant Proc 1996; 28: 2711-12.
2. Tzakis AG, Todo S, Reyes J, Nour B, Fung JJ, Starzl TE: *Piggyback orthotopic intestinal transplantation*. Surg Gynecol Obstet 1993; 176: 297-8
3. Todo S, Tzakis AG, Reyes J, et al: *Small intestinal transplantation in humans with or without the colon*. Transplantation 1994; 57:840-8
4. Starzl TE, Todo S, Tzakis AG, et al: *The many faces of multivisceral transplantation*. Surg Gynecol Obstet 1991; 172: 335-44
5. Schraut WH, Abraham VS, Lee KW: *Portal versus caval venous drainage of small bowel allografts: technical and metabolic consequences*. Surgery 1986; 99:193-8