

Abstrakt

Perfluorocarbyny (PFC) jsou uhlovodíky, ve kterých jsou všechny nebo některé z atomů vodíku nahrazeny atomy fluoru. PFC mají velmi vysokou kapacitu pro rozpouštění kyslíku. Jsou chemicky a biologicky inertní. Nejúspěšnější klinická aplikace PFC je tzv. "two-layer method" (TLM) určená pro konzervaci pankreatu před izolací Langerhansových ostrůvků (LO). TLM je metoda konzervace založená na kombinaci okysličeného PFC a UW roztoku, kterým je PFC převrstvený. V experimentu byla TLM úspěšně použita při transplantaci srdce a střeva. V našich experimentech na syngenních potkanech jsme testovali vliv dlouhodobé studené konzervace pomocí perfluorocarbonu na prevenci tkáňového poškození a zlepšení výsledků transplantace ledviny, pankreatu a LO. U transplantace ledviny a LO jsme použili jako metodu konzervace TLM. V případě transplantace pankreatu jsme pracovali s perfluorohexyloctanem patřícím do nové generace méně lipofilních PFC.

1. Ledviny byly konzervovány po dobu 24 hodin buď v UW roztoku ($n = 16$), pomocí TLM ($n = 16$), nebo byly transplantovány ihned (kontrolní skupina, $n = 12$). U poloviny zvířat z každé skupiny bylo hodnoceno přežívání, u ostatních byly odebrány štěpy k semikvantitativnímu histologickému hodnocení a měření výskytu apoptózy 24 hodin po transplantaci. Dlouhodobé přežívání v UW, TLM a kontrolní skupině bylo 12,5, 62,5 a 100% (UW vs TLM, $p < 0,01$). Mediány hladin kreatininu 24 h po transplantaci byly 381, 299 a 121 $\mu\text{mol/l}$ (UW vs TLM, $p < 0,02$). Histologické vyšetření ukázalo rozsáhlejší poškození tkáně ve skupině UW ve srovnání se skupinou TLM ($p < 0,05$). Apoptóza byla častější ve skupině UW oproti skupině TLM ($p < 0,05$). Tímto experimentem jsme prokázali, že konzervace pomocí PFC jako součásti TLM výrazně zlepšuje výsledky transplantace ledvin u potkana.

2. V dalším experimentu jsme testovali vliv TLM na izolaci a transplantaci LO. Pankreaty byly konzervovány po dobu 24 hodin v UW roztoku ($n = 39$), pomocí TLM ($n = 35$), nebo byly použity k izolaci LO bez předchozí konzervace ($n = 10$). Ve srovnání s konzervací pomocí UW roztoku jsme prokázali signifikantně vyšší výtěžnost a lepší výsledky následně transplantovaných LO po použití TLM.

3. Na modelu orgánové transplantace pankreatu jsme hodnotili význam perfluorohexyloctanu (PFH) pro dlouhodobou studenou konzervaci orgánu. Heterotopická transplantace pankreatu probíhala u syngenních potkanů kmene Brown-Norway. Odebrané orgány byly konzervovány po dobu 18 hodin v okysličeném PFH ($n = 8$), nebo v UW roztoku ($n = 8$), nebo byly transplantovány okamžitě v kontrolní skupině ($n = 8$). Dvě hodiny po reperfuzi jsme odebrali krev a vzorky tkáně pankreatu pro biochemické vyšetření a genovou analýzu (real-time PCR).

Významný rozdíl mezi UW a PFH skupinou byl zaznamenán u genu pro TNF β a endotelin 1, který byl exprimován více než dvojnásobně ve skupině s UW roztokem. Skupina UW ve srovnání se skupinou PFH vykazovala významně vyšší hodnoty pankreatické amylázy a lipázy ($94,2 \pm 25,2$ vs $67,7 \pm 13,4$ $\mu\text{kat/l}$ a $5,5 \pm 2,8$ vs $3 \pm 0,7$ $\mu\text{kat/l}$, $p < 0,05$). Tato zjištění naznačují nižší míru ischemicko-reperfuzního poškození ve skupině PFH.

V našich experimentech jsme prokázali lepší výsledky transplantace po dlouhodobé studené konzervaci pomocí PFC ve srovnání s konvenční metodou konzervace pomocí UW roztoku pro ledvinu, pankreas a LO.