

Klinika transplantační chirurgie
Institut klinické a experimentální medicíny

I. Ovlivnění exokrinní sekrece štěpu pankreatu podáváním somatostatinu dárce a příjemci orgánu a jeho vliv na hojení operační rány po transplantaci a přežití štěpu pankreatu- prospektivní randomizovaná studie.

II. Zavedení a zhodnocení techniky transplantace pankreatu s drenáží zevní pankreatické sekrece na střevo v kombinaci s extraperitoneálním uložením štěpu- retrospektivní studie.

Autoreferát k disertační práci
Oborová rada: Experimentální chirurgie

MUDr. Libor Janoušek
Praha 2006

I. Ovlivnění exokrinní sekrece štěpu pankreatu podáváním somatostatinu dárce a příjemci orgánu a jeho vliv na hojení operační rány po transplantaci a přežití štěpu pankreatu- prospektivní randomizovaná studie.

Cíle studie:

Cílem naší prospektivní randomizované studie je prokázat příznivé působení somatostatinu během odběru a transplantace pankreatu. V našem klinickém experimentu jsme si stanovili tyto cíle:

1. Primární hypotéza:

Kontinuální infúze se somatostatinem dárce a příjemce sníží exokrinní sekreci pankreatu

2. Sekundární hypotéza:

Ovlivnění exokrinní sekrece pankreatu bude působit protektivně na okolní tkáň u příjemce, menší autodigestce okolí povede k lepšímu hojení rány.

3. Nulová hypotéza:

Infúze se somatostatinem nepovede ke snížení exokrinní sekrece

Metodika

Náš soubor se skládá z dárců a příjemců pankreatu transplantovaných na Klinice transplantační chirurgie, IKEM, Praha, mezi roky 2/2002 a 12/2003. Pacienti byli prospektivně a randomizovaně rozděleni do dvou skupin podle podání somatostatinu. Rozdělení bylo provedeno počítačově generovanými

náhodnými čísly. Výběr dárce štěpu pankreatu byl proveden na základě standardního protokolu našeho pracoviště

(anamnéza přidružených onemocnění, věk do 45 let, makroskopický nález na štěpu pankreatu). Příjemce byl vybrán z čekací listiny podle doby zařazení. Odběr štěpu byl proveden en block technikou spolu se slezinou a částí duodena, duodenum bylo propláchnuto perfúzním roztokem a ponecháno otevřené. Perfúzními roztoky byly Custodiol a University of Wisconsin (Viaspan).

Jednu hodinu před začátkem odběru jsme začali podávat dárci orgánů somatostatin v kontinuální infúzi 0,3 mg/ hod. Infúze somatostatinu byla přerušena se zahájením perfúze orgánů ochranným roztokem. Před začátkem odběru a před přerušením krevního odběru ve štěpu pankreatu byly u dárce měřeny hladiny sérových amyláz a lipáz. Štěp byl uchován v perfúzním roztoku a ledové tříšti do doby transplantace. Před transplantací jsme provedli úpravu štěpu a rekonstrukci tepenného zásobení štěpu.

Transplantace pankreatu byla provedena extraperitoneálně do jámy kyčelní s cévním napojením na zevní pánevní tepny a exokrinní drenáží pomocí duodenojejunostomie. Příjemci pankreatu jsme podávali somatostatin od začátku operace v kontinuální infúzi 0,3 mg/ hod. do celkové dávky 3 mg. Kontrolní skupinou byli pacienti, kterým byl transplantován štěp pankreatu odebraný bez podání somatostatinu. Infúze somatostatinu nebyla aplikovaná ani během transplantace.

Pooperačně byli pacienti léčeni různými imunosupresivními protokoly. Nejčastější byla indukce pomocí polyklonální nebo monoklonální antilymfocytární protilátky a následným podáváním cyklosporinu, kortikoidů a mycofenolát mofetilu nebo kortikoidů, mycofenolát mofetilu a tacrolimu.

Příjemci byla monitorovaná koncentrace amyláz a lipáz v séru a v odpadech z drénu 1 hodinu po reperfúzi a dále jednou denně. Pravidelně byly prováděné sonografické kontroly a laboratorní kontrola funkce štěpu pankreatu stanovením hladin glykémie. Rejekce byla diagnostikovaná biopticky. Statistické

zhodnocení bylo provedeno Mann-Whitney a chi kvadrát testem a T testem. Křivky přežívání byly generovány Kaplan Meierovou metodou. Ze studii byli vyřazeni pacienti s intraperitoneálním uložením štěpu a retransplantovaní příjemci.

Výsledky

V období od 2/2002 do 12/2003 jsme provedli 40 transplantací pankreatu. 34 transplantací bylo provedeno v kombinaci s transplantací ledviny. 6 (15%) pacientům jsme slinivku transplantovali izolovaně. V celém souboru bylo 16 žen a 24 mužů. 17ti dárčům a příjemcům štěpu pankreatu byl podán somatostatin (Skupina Somatostatin +). 23 štěpů pankreatu bylo odebráno bez podání somatostatinu (Skupina Somatostatin -). Mezi oběma skupinami nebyl rozdíl v průměrném věku a BMI dárce, studené ischemii štěpu pankreatu. V obou skupinách nebyl také statisticky významný rozdíl v BMI, věku, rozložení pohlaví, typu diabetu a trvání hemodialyzační léčby. Ve skupině dárců orgánů, u kterých byl podáván somatostatin jsme pozorovali nižší hodnoty sérových amyláz a lipáz odebraných před perfúzí štěpu pankreatu. Obě tato měření byla na hranici statistické významnosti ($p \leq 0,1$).

Skupina příjemců transplantovaných s podáváním somatostatinu i kontrolní skupina se statisticky nelišily v rozložení různých typů imunosupresivních protokolů. Kromě pacientů s pooperační trombózou vena portae došlo u všech příjemců k okamžitému rozvoji funkce štěpu pankreatu. Ve skupině příjemců, kterým jsme podávali somatostatin během transplantace jsme zachytili statisticky významně nižší koncentrace amyláz v odpadech z drénu 4-5 den ($p \leq 0,08$). U lipáz se vyskytly nižší koncentrace v drénu 5-6 den ($p \leq 0,05$). V koncentracích sérových amyláz a lipáz nebyl u obou skupin statisticky významný rozdíl. Ve skupině příjemců s aplikovaným somatostatinem jsme pozorovali méně rejekcí štěpu pankreatu (1 vs. 5). Tyto hodnoty jsou na

hranici statistické významnosti ($p \leq 0,1$). Mezi počtem rejekcí ledvinného štěpu nebyl rozdíl mezi oběma skupinami. Ve skupině pacientů se somatostatinem byla zachycena rejekce jednoho štěpu ledviny a v kontrolní skupině u dvou štěpů.

V celém souboru se vyskytlo 16 chirurgických komplikací. Reoperovali jsme 8 pacientů ve skupině se somatostatinem. U 5 pacientů jsme pozorovali poruchu hojení rány a 3 z nich reoperovali, u dvou pacientů byla rána infikovaná ve formě abscesu a 3 pacienty jsme revidovali pro krvácení z oblasti štěpu. Ve skupině pacientů bez somatostatinu se vyskytlo 13 chirurgických komplikací. 5 pacientů jsme reoperovali pro poruchu hojení rány a 8 pacientů pro krvácení. Explantovali jsme 4 štěpy pankreatu. Ve skupině příjemců se somatostatinem jsme explantovali 1 štěp pro trombózu vena portae. Ve druhé skupině jsme ztratili 2 štěpy pro trombozu vena portae a 1 pro chirurgicky neošetřitelné krvácení. Hemoragicko- nekrotická pankreatitida štěpu se vyskytla u jednoho pacienta z kontrolní skupiny a rovněž únik pankreatické šťávy z dehiscenční duodenojejunoanastomozy se vyskytl pouze v kontrolní skupině u jednoho příjemce. Nenašli jsme mezi skupinami statisticky významný rozdíl v přežití štěpů pankreatu a jejich příjemců.

Závěr

Podávání somatostatinu má mírný příznivý efekt na zmenšení exokrinní sekrece během odběru štěpu pankreatu. Zmenšení poškození parenchymu štěpu pankreatu během odběru je podle našich výsledků neprůkazné. Omezení zevní pankreatické sekrece během odběru a po transplantaci nemá vliv na zlepšení výsledků, ovlivnění hojení rány a výskyt dalších chirurgických komplikací v pooperačním období. V naší studii se nepotvrdil vasokonstrikční efekt somatostatinu, který by vedl v vyšším počtu trombotických komplikací. Na hranici statistické významnosti se vyskytl menší počet rejekčních epizod ve skupině příjemců se somatostatinem. To by mohlo být způsobeno protektivním účinkem somatostatinu vedoucím k menšímu ischemicko- reperfučnímu

poškození štěpu a menší imunogenicitě štěpu. V souladu se zahraničními autory nemůžeme doporučit podávání somatostatinu rutinně během transplantace pankreatu, ale pouze jako poslední možnost u štěpů marginální kvality s vyšším rizikem výkytu reperfuze pankreatitidy po operaci. Ověření některých slibných výsledků by vyžadovalo další zkoumání na větším souboru pacientů.

II. Zavedení a zhodnocení techniky transplantace pankreatu s drenáží zevní pankreatické sekrece na střevo v kombinaci s extraperitoneálním uložením štěpu- retrospektivní studie.

Cíl studie

Cílem klinické studie je zavedení a ověření techniky extraperitoneálního uložení štěpu v kombinaci se střevní drenáží zevní pankreatické sekrece.

1. Primární hypotéza:

Extraperitoneálním uložením štěpu v kombinaci s fyziologickou drenáží sekretu pankreatu dojde k příznivému ovlivnění perioperační mortality příjemců. Mortalita se nebude statisticky významně lišit mezi příjemci s a bez operační revize

1. Nulová hypotéza:

Nová operační technika nebude mít vliv na mortalitu příjemců pankreatu. Počet vynucených explantací štěpu pankreatu bude stejný u pacientů s relaparotomií ve srovnání s pacienty bez chirurgické revize.

Metodika

V naší studii retrospektivně hodnotíme soubor pacientů transplantovaných v období 3/2001 do 10/2006. Do studie byli zařazeni pacienti transplantovaní technikou drenáže zevní pankreatické sekrece na střevo a uloženým štěpem extraperitoneálně.

Ze studie byli vyloučeni pacienti s močovou drenáží a intraperitoneálním uložením štěpu. Štěp byl odebrán a alokován podle pravidel Transplantcentra

IKEM (anamnéza přidružených onemocnění, věk do 45 let, makroskopický nález na štěpu pankreatu). Odběr štěpu byl proveden en block technikou spolu se slezinou a částí duodena. Duodenum bylo propláchnuto perfúzním roztokem a ponecháno otevřené. Perfúzními roztoky byly Custodiol a University of Wisconsin (Viaspan). Štěp byl uchován v perfúzním roztoku a ledové tříšti do doby transplantace.

Před transplantací jsme provedli úpravu štěpu a rekonstrukci tepenného zásobení štěpu pomocí odebraného štěpu a. iliaca communis s bifurkací. Příjemce byl vybrán z čekací listiny podle doby zařazení a negativní křížové zkoušky (cross match). Transplantace pankreatu byla provedena extraperitoneálně do jámy kyčelní s cévním napojením na zevní pánevní tepny a exokrinní drenáží pomocí duodenojejunostomie.

Kličky tenkého střeva byly vytaženy skrze otvor v peritoneu ke štěpu pankreatu a segment duodena byl našit end to side (Obr. 1,2). Po zhotovení duodenojejunostomie byly kličky střevní zanořeny do dutiny břišní a místo anastomózy bylo extraperitonealizováno fixací peritonea na segment duodena. Pravidelně jsme prováděli sonografické a laboratorní kontroly funkce štěpu pankreatu stanovením hladin glykémie. Rejekce byla diagnostikovaná biopticky. Statistické zhodnocení bylo provedeno Mann- Whitney a chi kvadrát testem a T testem. Křivky přežívání byly generovány Kaplan- Meierovou metodou.

Pacienti byli rozděleni do dvou skupin podle výskytu chirurgické komplikace a operační revize. Skupina S 1 obsahuje pacienty s chirurgickou komplikací vyžadující operační revizi a skupina S 2 zahrnuje pacienty s nekomplikovaným pooperačním průběhem. V dalším hodnocení je skupina S1 rozdělena na podskupinu obsahující pacienty s chirurgickou komplikací vzniklou v perioperačním období. Toto období končí dimisí pacienta. Pro hodnocení mortality a morbidit jsme z obou skupin vyřadili pacienty s časnou trombózou cévní stopky štěpu pankreatu, která vyžadovala explantaci štěpu do 3 dnů. Průměrná doba sledování byla 29 měsíců (1- 68 měsíců). Obě skupiny

retrospektivně hodnotíme. Sledovali jsme vliv chirurgické komplikace na osud štěpu a pacienta. Sledovanou skupinou byli pacienti s minimálně jednou chirurgickou komplikací vyžadující laparotomii. Kontrolní skupinou byli pacienti s nekomplikovaným pooperačním průběhem.

Výsledky

V období 3/2001 do 10/2006 jsme provedli 114 transplantací pankreatu. 21 (18,5 %) transplantací bylo provedeno izolovaně. 8 (7,01%) pacientů jsme vyřadili ze sledování pro časnou explantaci štěpu pankreatu. Náš soubor pacientů byl rozdělen na dvě skupiny podle výskytu chirurgické komplikace vyžadující operační revizi (S 1 je skupina příjemců s chirurgickou komplikací, S 2 je kontrolní skupina bez komplikací). Demografická data příjemců, dárců a typ použitého ochranného roztoku pro obě skupiny ukazuje tabulka 1. Obě skupiny se statisticky významně nelišily ve věku dárce orgánů, studené ischemii štěpu pankreatu a typu použitého ochranného roztoku. Nezachytili jsme statisticky významný rozdíl v rozložení diabetu mellitu a počtu dialyzovaných příjemců. Opět jsme nezachytili statisticky významný rozdíl ve výskytu a rozložení imunosupresivních protokolů mezi oběma skupinami. Ve skupině S 2 se vyskytly tyto chirurgické komplikace. Minimálně 1 relaparotomii mělo 30 pacientů z celkového počtu 114 (26,31%). Krvácení vyžadující krevní převody jsme zachytili u 17 pacientů, 9 (52,94%) pacientů jsme museli revidovat a krvácení ošetřit na operačním sále. V jednom případě chirurgicky neošetřitelného krvácení jsme museli štěp pankreatu explantovat. Absces operační rány měli 2 pacienti, sekreci z operační rány s negativní mikrobiologickou kultivací 20 pacientů, dehiscenci duodenojejunoanastomózy měl 1 pacient. Statisticky významný rozdíl jsme našli u výskytu syndromu diabetické nohy v pooperačním období. Vyšší riziko vzniku této komplikace měli pacienti s chirurgickou komplikací a statistický rozdíl proti kontrolní skupině byl $p \leq 0,001$.

Mezi oběma skupinami po zhodnocení přežití štěpu pankreatu byl statistický rozdíl na hranici významnosti. Ve skupině S1 došlo k explantaci 5 štěpů pankreatu (16,66%). Příčinou byla v jednom případě dehiscence duodenojejunoanastomózy, ve třech případech došlo ke ztrátě štěpu z důvodu chronické rejekce a v jednom případě to bylo chirurgicky neošetřitelné krvácení. Chronická rejekce byla u dvou příjemců komplikovaná trombózou v. portae. Příčinou ztráty jednoho štěpu ve skupině S2 byla chronická rejekce (1,19%). Statistický rozdíl mezi sledovanou a kontrolní skupinou byl $p \leq 0,05$. Ve sledovaném období zemřel ve skupině S1 jeden pacient a ve skupině S2 5 pacientů. Příčinou smrti byla ve skupině S1 urosepse. V kontrolní skupině 3 pacienti zemřeli v septickém stavu při pneumonii. Ve dvou případech byla příčina pneumonie atypická- Aspergilová infekce. Jeden pacient zemřel na urosepsi a příčinou úmrtí jednoho pacienta byl septický stav komplikující sy. diabetické nohy a infekci mitrální chlopně. Mezi oběma skupinami nebyl statisticky významný rozdíl.

Závěr:

Výskyt chirurgické komplikace po transplantaci pankreatu statisticky významně zvyšuje riziko explantace štěpu a je rizikovým faktorem progresu syndromu diabetické nohy u příjemců štěpu. Naše modifikovaná technika transplantace pankreatu nesnižuje riziko explantace štěpu. Příjemci transplantovaného orgánu nejsou ohroženi vyšší mortalitou v důsledku vzniklé chirurgické komplikace.

Summary I:**Background:**

Pancreas transplantation is a routine method for the treatment of diabetes mellitus. One of the main challenges of this type of transplantation with extraperitoneal placement of the pancreatic graft is impaired recipient wound healing, caused by massive amylase and lipase secretion in pancreatic graft-produced edematous fluid.

Methods:

From February 2002 through November 2003, we performed 40 pancreatic transplant procedures. We divided the patients prospectively and randomly into two groups. 17 organ donors were given somatostatin in continuous infusion, the same dose was given to recipients during transplantation. 23 grafts were harvested and transplanted without somatostatin infusion.

Results:

In both groups, there was not significant difference in mean donor and recipient ages, weight and immunosuppressive protocols. Both groups likewise did not differ statistically in serum amylase and lipase levels and drain output until days 4-6. Transplant recipients given somatostatin showed significantly lower lipase and amylase levels in drain output on postoperative day 4-6. We also observed fewer rejection episodes in the group of recipients with somatostatin (1 versus 5); however, the difference was statistically non-significant.

Conclusion:

Somatostatin administration decreases external pancreatic secretion during harvesting. Additionally, it leads to a reduction in post-transplant external pancreatic secretion. The result is a decrease in the risk of developing edematous

pancreatitis. Wound healing and the rates of other surgical complications are not affected by somatostatin administration. Our study did not confirm a vasoconstrictor effect of somatostatin resulting in increased thrombotic complication rates. The number of rejection episodes in the group of somatostatin-treated recipients was at the limit of significance. This might be due to the protective effect of somatostatin resulting in smaller ischemia-reperfusion graft injury.

Summary II:

Background:

While intraperitoneal graft placement is associated with better wound healing, the surgical complication requiring repeat laparotomy has a more serious impact on the patient. This is supported by the study conducted by Troppman showing a 32% incidence of re-laparotomies. The main complications resulting in re-laparotomy include intra-abdominal infection and graft pancreatitis (38%), vascular stem thrombosis (27%), and dehiscence of the anastomosis to the urinary bladder (15%). Graft loss occurred significantly more often in patients with re-laparotomy compared with those not undergoing this procedure (80% vs.

41%). Likewise, mortality was significantly higher in patients requiring revision (21 vs. 6%).

Methods:

Our study was designed to retrospectively assess a group of patients undergoing transplantation from March 2001 through October 2006. The study included patients with transplantation using the technique of external pancreatic secretion draining to the intestine and those with extraperitoneal graft placement.

Excluded from the study were patients with urinary draining and intraperitoneal graft placement. Ultrasound examinations and laboratory tests to determine glycemia were performed on a regular basis to monitor pancreatic graft function. Rejection was diagnosed by biopsy. Statistical evaluation was performed using the Mann-Whitney and χ square tests. Kaplan-Meier survival curves were obtained.

Patients were divided into two groups by presence/absence of surgical complications and need for surgical revision. The S1 group includes patients with surgical complication requiring operative revision while the S2 group comprises those with an uneventful postoperative course. The patients evaluated included those with at least one surgical complications requiring laparotomy. A control group comprised those with an uneventful postoperative course.

Results:

In the period from March 2001 through October 2006, we performed a total of 114 pancreas transplantation procedures. Twenty-one (18.5%) transplantation procedures were isolated procedures. Eight (7.01%) patients were excluded from follow-up because of early pancreatic graft explantation. Our series was divided into two groups by the presence/absence of surgical complications requiring surgical revision (S 1 is a group of recipients developing surgical complications, S2 is a control group without complications). The groups did not differ significantly in organ donor age, cold pancreatic graft ischemia, and the type of the protective solution. The following surgical complications developed in the

S2 group: at least one re-laparotomy was required by 30 patients of the total of 114 (26.31%). Bleeding requiring blood transfusion occurred in 17 patients, revision was necessary in 9 (52.94%) patients with bleeding managed in the operating room. In one case of surgically unmanageable bleeding, the pancreatic graft had to be explanted. Surgical wound abscess developed in 2 patients; secretion from the surgical wound with a negative microbiological culture occurred in 20, and 1 patients developed duodenojejunoanastomosis dehiscence. A significant difference was seen in the presence of the diabetic foot in the postoperative period. Those at higher risk for developing this complication included patients with surgical complications, with a statistically significant difference vs. the control group at $p \leq 0.001$.

After analysis of pancreatic graft survival, the difference between both groups was at the limit of significance. In the S1 group, 5 pancreatic grafts had to be explanted (16.66%). The reasons for explantation included duodenojejunoanastomosis dehiscence, chronic rejection in three, and surgically unmanageable bleeding in one case. In two recipients, chronic rejection was complicated by portal vein thrombosis. The reason for loss of one graft in the S2 group was chronic rejection (1.19%). The statistical difference between the study group and controls was $p \leq 0.05$. Over the study period, there was one death in the S1 group, and 5 deaths in the S2 group. The cause of death in the S1 group was urosepsis. In the control group, 3 patients died in the septic state in the presence of pneumonia. In two cases, the cause of pneumonia was atypical, aspergillosis infection. One patient died from urosepsis, and the cause of death of another patient was a septic state complicating the diabetic foot and mitral valve infection. There was no significant difference between the two groups.

Conclusion:

A surgical complication after pancreas transplantation statistically significantly raises the risk for graft explantation and is a risk factor for progression of diabetic foot in graft recipients. Our modified technique of pancreas

transplantation does not reduce the risk for graft explantation. The surgical complication does not increase the mortality rate of pancreas graft recipients.