Тайрсан мөчдийн судсаар Гистидин-триптофан-кетоглутаратын уусмалыг тарьж эрхтэн хадгалах бүтцийн өөрчлөлтийг судалсан дүн

ШиЖуан[1,2], ДуЛан[3], Ц.Ануужин[4], Л.Саямаа[1], О.Сэргэлэн[5], Э.Баярмаа[1]

[1]АШУҮИС, Био-АС, Эмгэг судлал, Шүүх эмнэлгийн тэнхим
[2]БНХАУ, ӨМӨЗО, Туняогийн Үндэстний Их Сургуулийн харьяа эмнэлэг
[3]БНХАУ, ӨМӨЗО, Минзу их сургууль
[4]АШУҮИС, Био-Анагаахын Хүрээлэн, Эмгэг судлалын лаборатори
[5]АШУҮИС, АУС, Мэс заслын тэнхим
Цахим шуудан: 15248396668@163.com, Утас: 99077847

Түлхүүр үг:

Эрхтэн хадгалах уусмал
Иммунохистохими
Тунел арга
Bax
Bcl-2
Апоптоз

Товч утга:

Үндэслэл: Одоогийн байдлаар эмнэлгийн нөхцөлд тасарсан мөчдийг хадгалах, нөхөн сэргээх зорилгоор тусгайлан хэрэглэдэг уусмал байдаггүй харин сүүлийн үед бөөр, элэг, зүрх зэрэг цуллаг эрхтэн шилжүүлэн суулгах технологи харьцангуй боловсронгуй болсоор байна. Эрхтэн шилжүүлэн суулгахаас өмнө донорын бөөрөнд UW шингэн болон донорын зүрхэнд HTK (Гистидин-триптофан-кетоглутарат буюу Histidine-tryptophan-ketoglutarate) уусмалыг перфузи хийх нь эрхтний үйл ажиллагааг хамгаалах нөлөөтэй болохыг олон улсад хүлээн зөвшөөрсөн. Иймд HTK уусмалын эрхтэн хадгалахад үзүүлэх нөлөөг судлах хэрэгцээ байгаа нь бидний судалгааны үндэслэл боллоо. **Зорилго:** HTK уусмалыг тайрсан мөчдийн судсаар тарьж, мөчдийн бүтцийг хамгаалж, эрхтэн шилжүүлэн суулгахад үзүүлэх нөлөөг судлах. **Арга, аргачлал:** Туршилтад Шинэ Зеландын эр цагаан туулайн тайрсан мөчийг HTK уусмал, энгийн давсны уусмалын, хөлдөөж хадгалах, хяналтын гэсэн 4 бүлэгт хуваж үр дүнг үнэлсэн. Хадгалж буй мөчдийн мэдрэл, судасны эдэд Bax, Bcl-2 уургийн илрэлийг иммуногистохимийн шинжилгээ, Тунелийн аргыг ашиглан апоптозыг үнэлэв. **Үр дүн:** Туршилтын бүлэг тус бүрийн мэдрэл, судасны иммуногистохимийн шинжилгээний үр дүнгээс үзвэл апоптозын эсрэг уургийн BCL-2 будагдсан эсийн тоо нь хугацаа уртсах тутам нэмэгдэж, харин бүлэг тус бүрд хугацаа уртсах тусам апоптозыг өдөөгч уураг BAX2 будагдсан эсийн тоо буурч байна. Тунелийн аргаар шинжлэхэд HTK шингэнд хадгалсан бүлгийн эд бусад туршилтын бүлгүүдтэй харьцуулахад апоптозын түвшин ач холбогдол бүхий бага байв. **Дүгнэлт:** Тайрсан мөчийг 4°C температурт HTK уусмалд хадгалах нь ишеми болон хүчилтөрөгчийн дутагдлаас үүдэлтэй эд эсийн гэмтэл үүсэх үйл явцыг бууруулж, хамгаалах үйлдэлтэй байна.

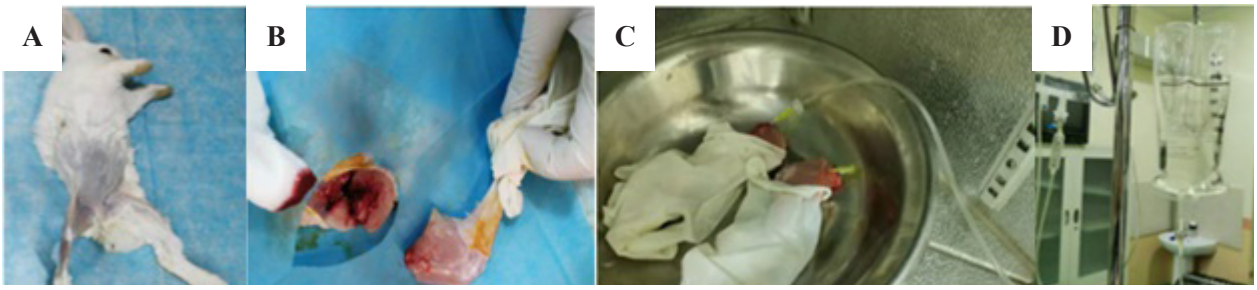
Үндэслэл: Гэмтлийн практикт тохиолдож буй тасарсан эрхтнийг залгах бичил мэс заслын техникийн түвшин сайжирсан ч тухайн эрхтнийг мэс заслын өмнө хэрхэн хадгалж байсан, үхжил гэмтлийн зэргээс хамаардаг байна[1]. Мэс заслын өмнө тасарсан мөчдийн эд эсийг тэжээлээр ханган зохистой, үр дүнтэй хадгалах, ишеми, хүчилтөрөгчийн дутагдлаас үүдэлтэй гэмтлийг бууруулах, бодисын солилцооны үйл явцыг удаашруулан эдэд хуримтлагдсан хорт бодисыг арилгах, эд эсийн үхжил, үйл ажиллагааны алдагдлыг удаашруулах олон аргуудыг нээж судалсаар байна[2]. Тайрсан мөчдөд ишеми-реперфузийн гэмтлийг бууруулах, буцааж залгахад зөв цагийг сонгох, мэс заслын дараа үйл ажиллагааны нөхөн сэргэлт, амьдрах чадварыг хангах энгийн бөгөөд өртөг багатай эрхтэн хадгалах арга шаардлагатай байна[3].

Одоогийн байдлаар эмнэлгийн нөхцөлд тасарсан мөчдийг хадгалах, нөхөн сэргээх зорилгоор тусгайлан хэрэглэдэг уусмал байдаггүй харин сүүлийн үед бөөр, элэг, зүрх зэрэг цуллаг эрхтэн шилжүүлэн суулгах технологи харьцангуй боловсронгуй болсоор байна. Эрхтэн шилжүүлэн суулгахаас өмнө донорын бөөрөнд UW шингэн[4] болон донорын зүрхэнд НТК уусмалыг перфузи хийх нь эрхтний үйл ажиллагааг хамгаалах нөлөөтэй болохыг олон улсад хүлээн зөвшөөрсөн ажээ[5]. Эд эрхтний ишеми ба гипоксид тэсвэрлэх чадвараас хамаарч перфузи хийх нь зүрхийг 24 цаг, элгийг ойролцоогоор 30 цаг, бөөрийг 72 цагийн турш хадгалах боломжтой[6,7]. Иймд НТК уусмалын эрхтэн хадгалахад үзүүлэх нөлөөг судлах хэрэгцээ байгаа нь бидний судалгааны үндэслэл боллоо.

Зорилго: Туршилтын амьтны тайрсан мөчдийн эд эсийн үйл ажиллагааны алдагдлыг удаашруулах, хэвийн үйл ажиллагааг хадгалах хугацааг уртасгах, ишеми, гипоксийн шалтгаант эд эсийн гэмтлийг багасгах, мөчдөд тохирсон эс хамгаалах аргыг олж тогтооход оршино.

Арга, аргачлал: Туршилтад Шинэ Зеландын нас бие гүйцсэн эрүүл 40 цагаан туулайг (эр, 2-2.5 кг) 1 долоо хоног дасан зохицсоны дараа санамсаргүй байдлаар бүлэг тус бүрд 10 туулай байхаар хяналтын, хөлдөөж хадгалах, энгийн давсны уусмал, НТК уусмалын гэсэн 4 бүлэгт хуваасан. Туршилтын туулайн чихний венийн судсаар 1.5% пентобарбитал натри (2 мл/кг) аажмаар тарьж, мэдээ алдуулалд тогтвортой болсны дараа хойд мөч, хэвлий, нурууны хэсгийн үсийг хусаж, мэс заслын ширээн дээр хэвтээ байрлалд бэхэлсэн. Мэс заслын талбайг иодофосоор халдваргүйжүүлж, ариутгасан нүхтэй даавуу тавьж, хоёр талын цавины муруй зүсэлтийн шугамаар арьс, арьсан доорх эдийг зүсэж, гуяны артери, вен, суудлын мэдрэлийг мэс заслын микроскопоор тусгаарлав.

Гуяны артери ба венийн судсыг тайрч, судасны хөндийг антикоагулянт уусмалаар угааж, трокараар цоолж, утсаар бэхэлсэн. Тасарсан суудлын мэдрэл, булчин болон бусад эдийг дараалан авч, гуяны 1/3-ээр цавины холбоосоор мөчийг хөрөө ашиглан тайрсан. Хоёр туйлт электронкоагуляцаар цус тогтоосны дараа тайрсан хэсгийн арьсыг 5-0 торгон утсаар оёж, шархыг боосон. Энгийн давсны уусмалд хийсэн хойд мөчийг хөргөгчид 4 хэмд хадгалж, гуяны артерийг автомат дуслын шахуургатай холбосон. Перфузийн уусмалыг гуяны артерийн судсаар тарьсан бөгөөд тайрсан хойд мөчний перфузийн даралт 100 см H_20 байв (Зураг 1).

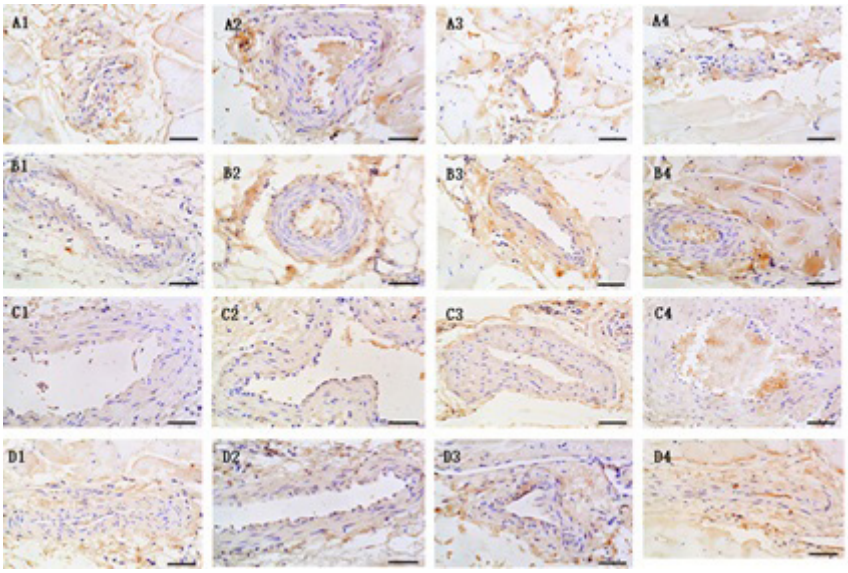


Зураг 1. Туулайн хойд мөчийг тайрах перфузийн бүдүүвч

A: Мэдээ алдуулалт, халдваргүйжүүлэх
B: Хойд мөчдийг тайрах
C: Тайрсан хойд мөчдийг НТК уусмалд хийв
D: НТК уусмалыг сэлбэж буй байдал.

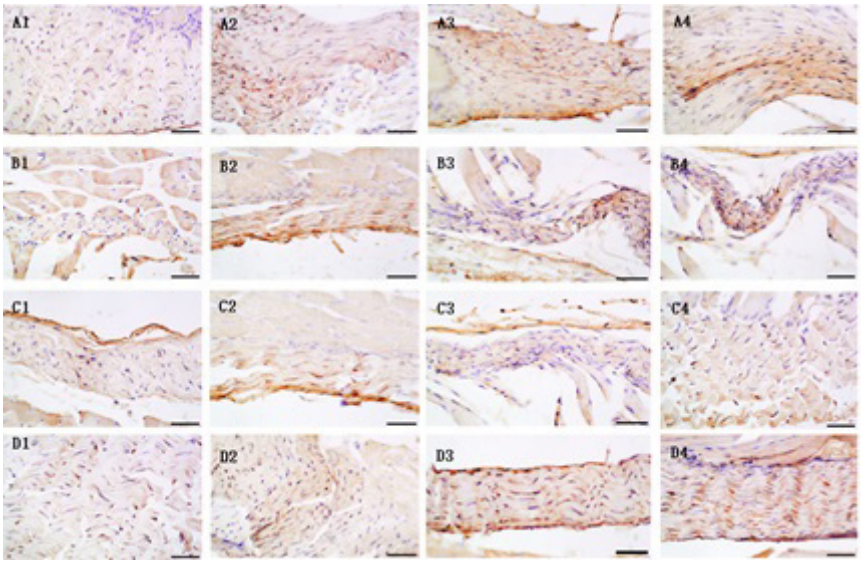
Мэдрэл, судасны эдэд апоптозыг Bax, Bcl-2 анхдагч эсрэг биеийг ашиглан иммуногистохимийн шинжилгээ, TUNEL аргаар үнэлэв. Статистик боловсруулалтыг SPSS22 программаар хийв. Энэхүү судалгааны ажлыг АШУҮИС-ийн Судалгааны Ёс Зүйн Хяналтын хорооны 2019 оны 12 сарын 20 өдрийн хурлаар (№2019/3-13) судалгаа хийх ёс зүйн зөвшөөрөл авч гүйцэтгэв.

Үр дүн: Судалгаанд хамрагдсан туулайн мөчдийн морфологийн өөрчлөлтийг харьцуулахад хяналтын бүлэгт тайрсан мөч нь гадаргуу нь үрчлээ ихтэй, 2 хөл нь саарал ягаан өнгөтэй, хөлийн хуруунууд нарийхан, хоорондоо нийлсэн байв. Бага температуртай бүлэгт мөчдүүд нь бага зэрэг үрчлээстэй, хөлийн өнгө нь бага зэрэг саарал ягаан, хөлийн хуруу нь нарийхан, хоорондоо нийлсэн байв. 4 хэмийн температурт 24 цагийн турш хөргөсний дараа бүлэг тус бүрийн мөчдийн хавангийн илрэл нь өөр өөр, хөл нь ягаан цагаанаас цагаан өнгөтэй, хөлийн хуруунууд нээлттэй байв. Энгийн давсны уусмалд хийсэн бүлэгт мөчид хамгийн их хавагнасан байв. НТК уусмал тарьсан бүлгийн мөчдийн хаван нь энгийн давсны уусмалын бүлэгтэй харьцуулахад харьцангуй бага байсан бөгөөд хоёр бүлгийн хооронд тодорхой ялгаа илрээгүй. Туршилтын бүлэг тус бүрийн эдийг (мэдрэл, судас) иммуногистохимийн аргаар будахад эсийн цитоплазм цайвар шаргалаас бор шаргал өнгөөр будагдвал эерэг гэж үнэлсэн. НТК уусмалын бүлгийг хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад хадгалах хугацаа уртсах тусам апоптозын эсрэг BCL-2 будагдсан эсийн тоо нэмэгдэж, апоптозыг өдөөгч уураг BAX2 будагдсан эсийн тоо буурч байв. Хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад энгийн давсны уусмалд хийсэн бүлэгт апоптозын эсрэг BCL-2 уургаар будагдсан эсийн тоо нэмэгдэж, бүлэг тус бүрийн мэдрэл, судасны эдэд апоптозыг өдөөгч уураг BAX2 будагдсан эсийн тоо буурсан боловч статистик ач холбогдол бүхий ялгаа илрээгүй, зөвхөн өсөх эсвэл буурах хандлагатай байв (Зураг 2-5).



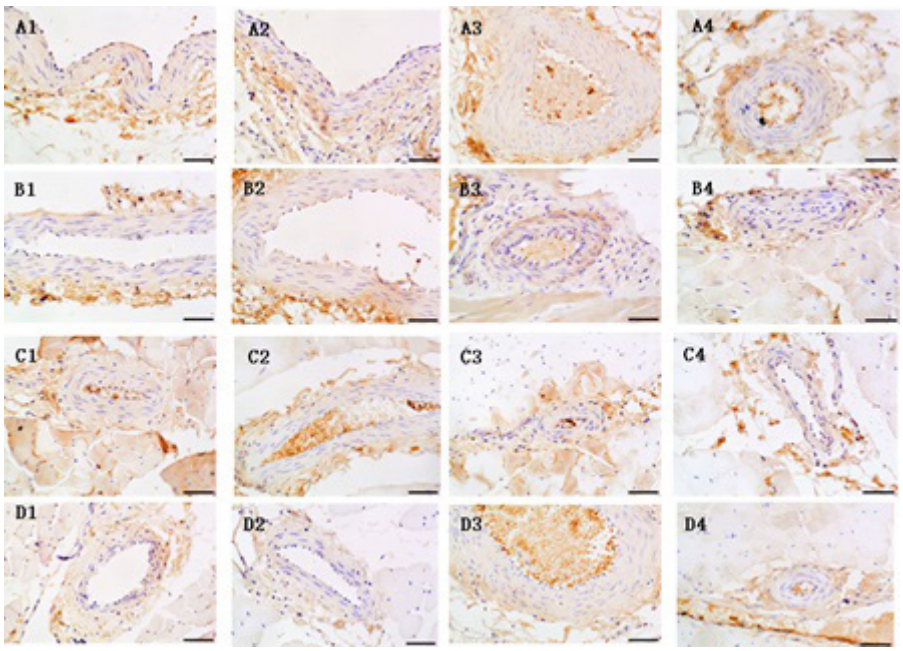
Зураг 2. Туулайн тайрсан хойд мөчний судсанд BAX уураг илрүүлэх дараалал (өсгөлт 400×)

A1. Энгийн давсны уусмалын бүлэг 6 цаг; A2. 12 цаг; A3.18 цаг; A4. 24 цаг; B1. Хөлдөөж хадгалах бүлэг 6 цаг; B2. 12 цаг; B3. 18 цаг; B4. 24 цаг, C1. HTK уусмалын бүлэг 6 цаг; C2.12 цаг; C3. 18 цаг; C4. 24 цаг; D1. Хяналтын бүлэг 6 цаг; D2. 12 цаг; D3. 18 цаг; D4. 24 цаг



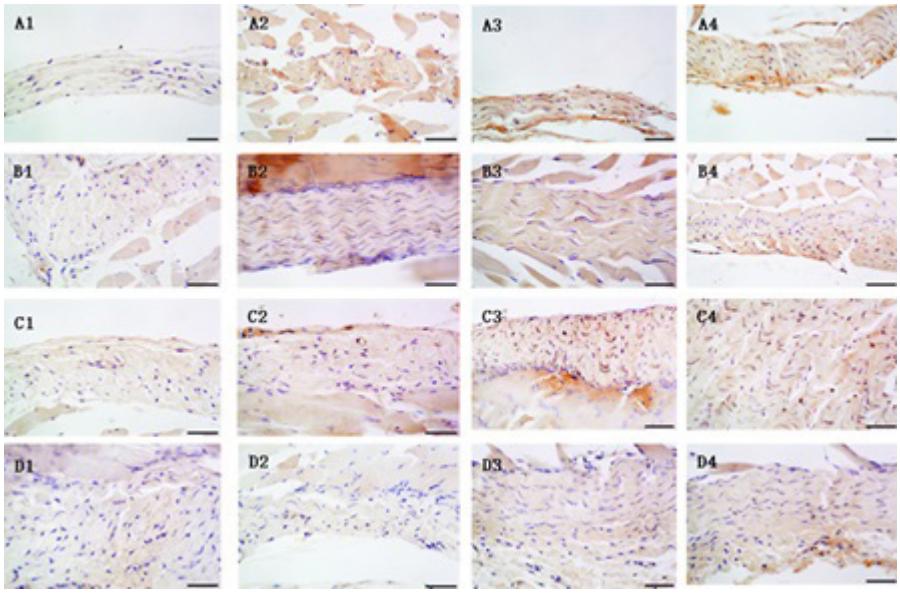
Зураг 3. Туулайн тайрсан хойд мөчний мэдрэлийн эдэд Bax уураг илрүүлэх дараалал (өсгөлт 400×)

A1. Энгийн давсны уусмал 6 цаг; A2. 12 цаг; A3. 18 цаг; A4. 24 цаг; B1. Хөлдөөж хадгалах бүлэг 6 цаг; B2. 12 цаг; B3. 18 цаг; B4. 24 цаг; C1. HTK уусмалын бүлэг 6 цаг; C2. 12 цаг; C3. 18 цаг; C4. 24 цаг; D1. Хяналтын бүлэг 6 цаг; D2. 12 цаг; D3. 18 цаг; D4. 24 цаг.



Зураг 4. Туулайн тайрсан хойд мөчний судсанд BCL-2 уураг илрүүлэх дараалал (өсгөлт 400×)

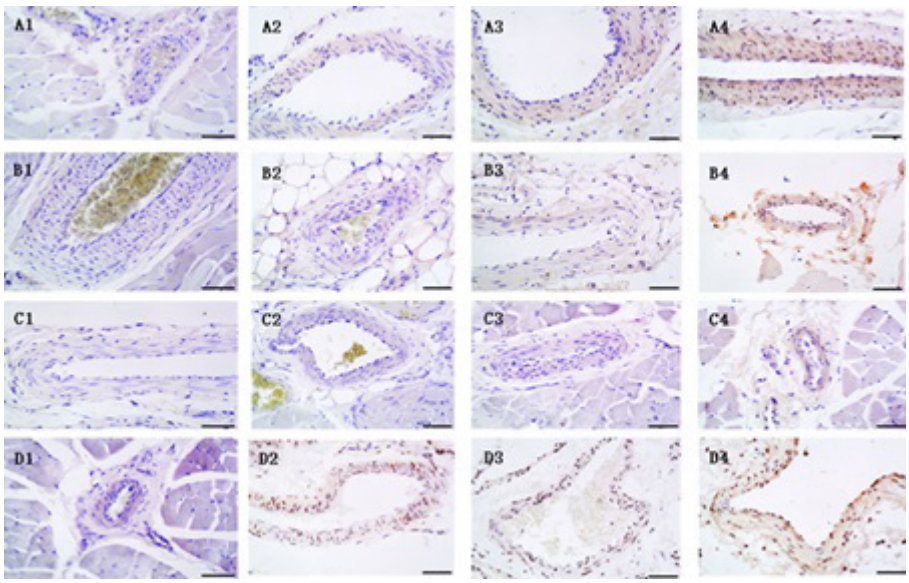
A1. Энгийн давсны уусмалын бүлэг 6 цаг; A2. 12 цаг; A3. 18 цаг; A4.24 цаг; B1.Хөлдөөж хадгалах бүлэг 6 цаг; B2. 12 цаг, B3. 18 цаг; B4. 24 цаг; C1. НТК уусмалын бүлэг 6 цаг; C2. 12 цаг; C3. г 18 цаг; C4. 24 цаг; D1. Хяналтын бүлэг 6 цаг; D2. 12 цаг; D3. 18 цаг; D4. 24 цаг.



Зураг 5. Туулайн тасарсан хойд мөчний мэдрэлийн эдэд BCL-2 уураг илрүүлэх дараалал (өсгөлт 400×)

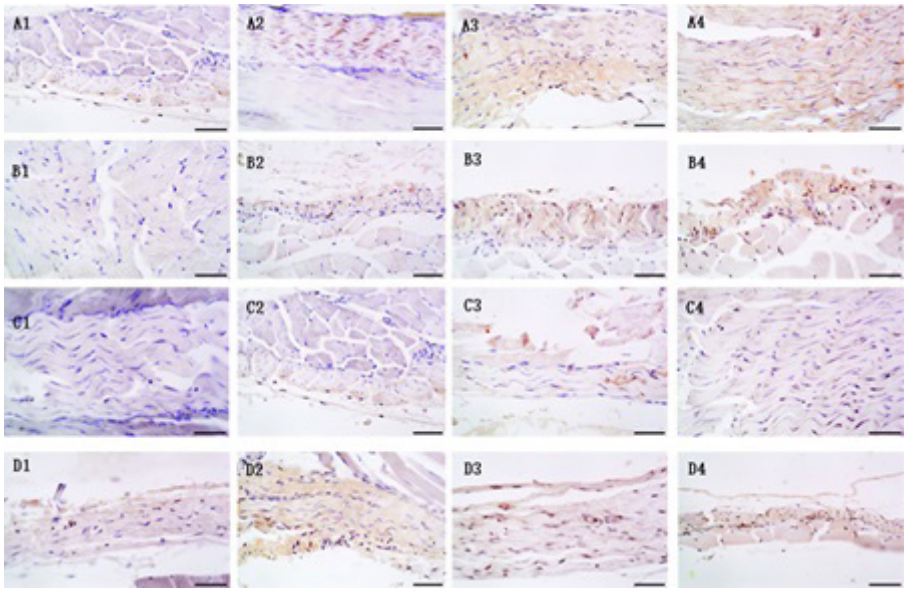
A1.Энгийн давсны уусмалын бүлэг 6 цаг; A2. 12 цаг; A3. 18 цаг; A4. 24 цаг; B1.Хөлдөөж хадгалах бүлэг 6 цаг; B2. 12 цаг; B3. 18 цаг; B4. 24 цаг; C1. НТК уусмалын бүлэг 6 цаг; C2. 12 цаг; C3. 18 цаг; C4. 24 цаг; D1. Хяналтын бүлэг 6 цаг; D2. 12 цаг; D3. 18 цаг; D4. 24 цаг

Тунел аргаар эсийн апоптозыг үнэлэхэд хадгалах хугацаа уртсах тусам хяналтын бүлгийн апоптозын түвшин нэмэгдсэн. Харин НТК уусмалын бүлгийн апоптоз болсон судасны эндотель эс хадгалах хугацаа уртсах тусам буурсан хэдий ч мэдрэлийн эдэд хугацаа уртсах тусам ихэссэн өөрчлөлт илэрсэн бөгөөд энэ бүлгийг туршилтын бусад бүлэгтэй харьцуулахад апоптозын түвшин статистик ач холбогдол бүхий буурсан байна. Энгийн давсны уусмалд хадгалсан болон хөлдөөж хадгалсан бүлгийг хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад судасны апоптоз болсон эсийн тоо статистик ач холбогдол бүхий ялгаа илрээгүй ч мэдрэлийн эд дэх апоптоз болсон эсийн тоо буурч байв (Зураг 6-7). Энэхүү туршилтаар тайрсан мөчдийг хадгалах хугацаа уртсах тусам эд эсийн гэмтэл аажмаар хүндэрч байгаа нь бүлэг бүрд өөр өөр байв.



Зураг 6. Тунелийн аргаар (400×) илрүүлсэн туулайн тасарсан хойд мөчний судасны эндотелийн эсийн апоптоз

A1. Энгийн давсны уусмалын бүлэг 6 цаг; A2. 12 цаг; A3.18 цаг; A4. 24 цаг; B1. Хөлдөөж хадгалах бүлэг 6 цаг; B2. 12 цаг; B3. 18 цаг; B4. 24 цаг; C1. НТК уусмалын бүлэг 6 цаг; C2. 12 цаг; C3. 18 цаг; C4. 24 цаг; D1. Хяналтын бүлэг 6 цаг; D2. 12 цаг; D3. 18 цаг; D4. 24 цаг.



Зураг 7. Тунелийн аргаар (400×) илрүүлсэн туулайн тайрсан хойд мөчний мэдрэлийн эндотелийн эсийн апоптоз

A1. Энгийн давсны уусмалын бүлэг 6 цаг; A2. 12 цаг; A3. 18 цаг; A4. 24 цаг; B1. Хөлдөөж хадгалах бүлэг 6 цаг; B2. 12 цаг; B3. 18 цаг; B4. 24 цаг; C1. НТК уусмалын бүлэг 6 цаг; C2.12 цаг; C3. 18 цаг; C4. 24 цаг; D1. Хяналтын бүлэг 6 цаг; D2. 12 цаг, D3. 18 цаг, D4. 24 цаг.

Морфологи өөрчлөлтөөр НТК уусмал тарьсан бүлгийн тайрсан мөчний эд нь чийглэг байсан бол хавангийн илрэл туршилтын бүлэг бүрд өөр өөр байсан, ялангуяа энгийн давсны уусмалын бүлэгт илүү ажиглагдсан. Харин хяналтын бүлэгт хаван үүсээгүй. Судалгааны үр дүнд НТК уусмал нь тайрсан мөчдийн эд эсийг хамгаалах үүрэг гүйцэтгэж, эд эсийн амьдрах хугацааг уртасгадаг бөгөөд энгийн давсны уусмалд эсвэл хөлдөөж хадгалахаас илүү үр дүнтэй арга байв. НТК уусмалыг хэрэглэх нь өртөг өндөртэй тул хязгаарлагдмал байдал үүсгэж байгаа хэдий ч, энэ нь тайрсан мөчний эд эсийн үйл ажиллагааг уртасгах болон бусад үйл ажиллагааны алдагдлаас хамгаалах нөлөө үзүүлдэг, тиймээс энэхүү арга хөлдөөж хадгалах аргыг орлох боломжтой юм.

Хэлцэмж: Тайрсан эрхтнийг хурдан хугацаанд буцааж залгахгүй удах тутам эд эсийн гэмтэл аажмаар хүндэрч байгааг туршилтаар илрүүлсэн билээ. Hachida (2000) нарын судалснаар бага температурт эрхтэн хадгалах уусмал нь эсийн хаванг багасгах; исэлдэн ангижрах урвал ихсэх, гликогений задралаас үүссэн сүүн хүчил, H+ зэрэг хүчиллэг бодисын хуримтлалыг багасгах; эс доторх орчныг тогтворжуулж, эерэг ба сөрөг ионуудын эс хоорондын шилжилтийг багасгах; хүчилтөрөгчийн чөлөөт радикалын гэмтэл, түүнээс урьдчилан

сэргийлэх, кальцийн хэт ачаалал гэх мэтээс үүдэлтэй ишеми-реперфузийн гэмтлийг бууруулах; гипоксийн улмаас үүссэн глюкозын солилцоог бууруулж, эсийн доторх АТР түвшинг хадгалах үүрэгтэйг тодорхойлсон байна[8]. Бид энэхүү аргачлалын хүрээнд хяналт, бага температурт хөлдөөх, давсны уусмалд хадгалах болон НТК уусмалыг артериар шахаж угааж хөргөгчид хадгалан 6, 12, 18, 24 цагуудад эдэд илрэх өөрчлөлтийг эд судлалын аргаар тодорхойлсон. Судас мэдрэлд илрэх эсийн гэмтлийг Туннелын арга болон ИХХ-ийн шинжилгээгээр үнэлсэн.НТК уусмалыг тайрсан мөчдийн артерийн судсаар 1 удаа угаах аргаар шахаж, 4 градусын хөргөгчид 3-5 цаг хадгалсан бөгөөд туршилтын бусад бүлэгтэй харьцуулахад амьдрах чадвар өндөр байв. НТК уусмалаар угаасан туршилтын бүлгийн амьд үлдэх хувь 60% (6/10), хяналтын бүлгийн амьд үлдэх хувь ердөө 30% (3/10) байсан бөгөөд хяналтын бүлгийнхээс хоёр дахин их байв.

Мөн Guha M (2006) судлаачдын үр дүнгээс үзбэл эрхтэн шилжүүлэн суулгах олон төвүүд донор эрхтнийг хадгалахын тулд 4 хэмд энгийн давсны уусмалд хадгалдаг бөгөөд энэ нь богино хугацаанд (<4 цаг) сайн үр нөлөөтэй[9]. Энгийн давсны хүчил (pH 4.5-4.6), осмос даралт (280 мОсм/л) бага, эсийн мембраныг тэнцвэржүүлэх өндөр молекул жинтэй коллоид бүрэлдэхүүн хэсгүүд байхгүй тул удаан хугацаанд эрхтэнг хадгалах нь үр дүн муутай байсан бөгөөд НТК уусмал нь эрхтэн хадгалахад илүү тохиромжтой гэсэн судалгааны үр дүнтэй нийцэж байна.

Дүгнэлт: НТК уусмал нь өртөг өндөртэй тул хязгаарлагдмал байдал үүсгэж байгаа хэдий ч, тайрсан мөчдийн эд эсийн үйл ажиллагааны алдагдлаас хамгаалах, удаан хугацаанд амьдрах чадвартай, хөлдөөж хадгалах аргыг орлох боломжтой байна. НТК уусмалыг тарьж, сэрүүн нөхцөлд хадгалсны дараа тайрсан мөчдийн эд эсийн нөхөн сэргэх явц сайжирч, хадгалалтын хугацаа уртасч, ишеми, хүчилтөрөгчийн дутагдлаас үүдэлтэй эд эсийн гэмтэл үүсэх нь буурч байна.

Ном зүй:

1. *Krezdorn N, Sakthivel D, Turk M, et al. Reduced Hypoxia-Related Genes in Porcine Limbs in Ex Vivo Hypothermic Perfusion Versus Cold Storage. J Surg Res. 2018;232:137-145.*
2. *Kueckelhaus M, Dermietzel A, Alhefzi M, et al. Acellular Hypothermic Extracorporeal Perfusion Extends Allowable Ischemia Time in a Porcine Whole Limb Replantation Model. Plast Reconstr Surg. 2017;139(4):922e-932e.*
3. *Ozer K. Advances in Limb Preservation: From Replantation to Transplantation. J Hand Surg Am. 2020;45(7):626-637.e625.*
4. *Lindell SL, Compagnon P, Mangino MJ, Southard JH. UW solution for hypothermic machine perfusion of warm ischemic kidneys. Transplantation. 2005;79(10):1358-1361.*
5. *Wei J, Chang CY, Chuang YC, et al. Successful heart transplantation after 13 hours of donor heart ischemia with the use of HTK solution: a case report. Transplant Proc. 2005;37(5):2253-2254.*
6. *Wilson CH, Brook NR, Talbot D. Preservation solutions for solid organ transplantation. Mini Rev Med Chem. 2006;6(10):1081-1090.*
7. *Jamieson RW, Friend PJ. Organ reperfusion and preservation. Front Biosci. 2008;13:221-235.*
8. *Hachida M, Lu H, Ohkado A, et al. Effect of ATP-potassium channel opener nicorandil on long-term cardiac preservation. J Cardiovasc Surg (Torino). 2000;41(4):533-539.*
9. *Guha M, Kumar S, Choubey V, Maity P, Bandyopadhyay U. Apoptosis in liver during malaria: role of oxidative stress and implication of mitochondrial pathway. Faseb j. 2006;20(8):1224-1226.*

The study of organ preservation morphological changes to the intravenous injection of an Histidine-tryptophan-ketoglutarate solution into amputated limbs

ShiZhuang[1,2], DuLan[3], Anujin Ts[4], Sayamaa L[1], Sergelen O[5], Bayarmaa E[1]

[1]Department of Pathology and Forensic medicine, School of Biomedicine, MNUMS
[2]Affiliated Hospital Of Inner Mongolia University For The Nationalities, Tongliao
[3]Inner Mongolia Minzu University, Tongliao
[4]Pathology of laboratory, Institute of Biomedical Sciences, MNUMS
[5]Department of Surgery, School of Medicine, MNUMS
E-mail: 15248396668@163.com, Tel: +976-99077847

Background: Currently, there is no liquid specially used for the preservation and perfusion of the limb in clinics. Nowadays, the transplantation technology of solid organs such as kidney, liver and heart has been relatively mature. Before transplantation, UW fluid perfusion of donor kidney and HTK fluid perfusion of donor heart can achieve good functional protection, which has become an international consensus. Therefore, the need to study the effect of HTK solution on organs is the basis of our research.
Aim: To investigate the effect of HTK infusion on the protection and replantation of amputated limb.
Materials and Methods: In experiment the amputated limbs of male New Zealand white rabbits were preserved by different preservation methods, including low-temperature HTK solution perfusion group, low-temperature normal saline perfusion group, low-temperature preservation group and non-perfusion group at normal temperature. Bax, Bcl-2 protein immunohistochemical staining and Tunel method were used to detect apoptosis in nerve and vascular tissues.
Results: Immunohistochemical staining of tissues (nerve and blood vessel) in each group showed that the number of cells stained by anti-apoptotic protein BCL-2 in each group significantly increased with the extension of time, while the number of cells stained by pro-apoptotic protein BAX2 in each group significantly decreased. Tunel test showed that compared with other treatment groups, the apoptosis rate of HTK liquid group was significantly decreased.
Conclusion: Perfusion preservation of severed limbs at 4℃ can effectively reduce tissue damage caused by ischemia and hypoxia, and the effect is stronger than direct preservation. HTK solution and normal saline were used for one-time perfusion of the severed limbs of rabbits, and the preservation effect of HTK solution was the best.

Keywords: Organ preservation solution, Immunohistochemistry, TUNEL assay, Bax, Bcl-2, Apoptosis