

Universidad de A Coruña
Departamento de Medicina

TESIS DOCTORAL
OBTENCIÓN DE INJERTOS HEPÁTICOS
DE DONANTES EN ASISTOLIA

Gerardo Corbal Ramos
A Coruña, 2001



Universidad de A Coruña
Departamento de Medicina

TESIS DOCTORAL
OBTENCIÓN DE INJERTOS HEPÁTICOS
DE DONANTES EN ASISTOLIA

Memoria presentada por Don Gerardo Corbal Ramos
Para optar al grado de Doctor en Medicina

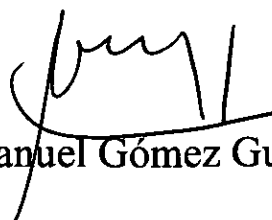
Directores: Dr. Manuel Gómez Gutiérrez
Dr. Javier Calleja Kempin

MANUEL GÓMEZ GUTIÉRREZ, Doctor en Medicina y Cirugía, Director del Programa de Trasplante Hepático del Complejo Hospitalario Juan Canalejo, JAVIER CALLEJA KEMPIN, Doctor en Medicina y Cirugía, Director del Equipo Quirúrgico del Hospital Gregorio Marañón de Madrid, como directores de la Tesis Doctoral.

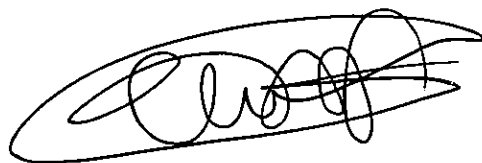
CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado **“Obtención de injertos hepáticos de donantes en asistolia”**, ha sido realizado por Gerardo Corbal Ramos bajo nuestra dirección y se encuentra en condiciones de ser leído y defendido como Tesis Doctoral en la Universidad de A Coruña.

Lo que firmamos para los efectos oportunos en A Coruña.



Fdo.: Manuel Gómez Gutiérrez. Fdo.: Javier Calleja Kempin.





Dr D F. Javier Cudeiro Mazaira, Catedrático de Fisiología de la Universidad de A Coruña, profesor del Departamento de Medicina

CERTIFICO:

Que he tutorizado a **Don Gerardo Corbal Ramos** en la realización del trabajo **“Obtención de injertos hepáticos de donantes en asistolia”**.

Dicho trabajo reúne las condiciones necesarias de originalidad y rigor científico para ser defendido públicamente y optar al grado de Doctor en Medicina.

F. Javier Cudeiro Mazaira

En A Coruña, a 11- junio de 2.001

A mi mujer Celia y a mis hijos Iago y Anton

Al Dr. Manuel Gómez Gutiérrez. Director de la Unidad de Trasplante Hepático del Hospital Juan Canalejo. Director de esta tesis, por su ejemplo y amistad sin su colaboración este trabajo no sería posible.

Al Dr. Javier Calleja Kempin co-director de esta tesis por sus consejos y por su colaboración en unos inicios del programa de trasplante hepático preñados de incertidumbres. Al Dr. Julio Pérez Ferreiroa que nos prestó su apoyo y esfuerzo en estos inicios.

A mis compañeros del equipo de trasplante hepático Carlos, Pepe y Javier por su participación en el momento de realizar la parte experimental y por el apoyo que continúan prestándome.

A los residentes que participaron activamente en la experimentación animal.

A las enfermeras que coordinadas por Covadonga (Meri, Oliva, Vicenta, Isabel y Beatriz) realizaron un importante esfuerzo con alegría y entusiasmo, sin olvidarnos de José Antonio siempre dispuesto a la colaboración.

Al Veterinario del experimental Alberto Centeno pieza fundamental en la anestesia y en el cuidado pre y post-operatorio de los animales.

A los coordinadores de trasplante Jacinto Ibáñez que participo como cirujano en la realización del experimento y Pepe Buitron que con su capacidad organizativa que hace posible que este experimento y otros muchos se puedan hacer en nuestro hospital.

Al Dr. Francisco Arnal Monreal. Jefe de Sección del Servicio de Anatomía Paológica del Hospital Juan Canalejo, por su inestimable colaboración a la hora de realizar los estudios anatomopatológicos.

Al Dr. Rafael Máñez Mendiluce. Director del programa de Xenotrasplante del Hospital Juan Canalejo sus consejos fueron muy importantes a la hora de planificar el estudio estadístico.

Al Servicio de Epidemiología Clínica del Hospital "Juan Canalejo" por el importante apoyo prestado sin cuya colaboración esta tesis no sería posible.

A Coren que colaboró aportando los animales que se utilizaron en el experimento.

Al Servicio de Informática del Hospital "Juan Canalejo" y en concreto a Cándido por su importante colaboración.

Índice

INDICE.....	1
INDICE DE ILUSTRACIONES.....	3
INDICE DE TABLAS.....	4
1- INTRODUCCIÓN	5
1-1-ENUNCIADO DEL PROBLEMA:.....	5
1-1-1-Donantes por muerte cerebral, criterios que se utilizan actualmente para su selección:.....	5
1-1-2-Actuaciones que permiten incrementar la disponibilidad de donantes y aumentar el número de injertos hepáticos.....	8
1-2-REVISIÓN DE LOS ANTECEDENTES:	13
1-2-1-Proceso quirúrgico.-	13
1-2-2-Proceso inmunológico.-	14
1-2-3-Proceso de preservación.-.....	14
1-2-4-Proceso de reconocimiento ético del proceso.-	14
1-2-5-Proceso legal.-	15
1-2-6-Proceso solidario y organizativo.-.....	16
1-3-DEFINICIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:.....	19
1-3-1- Concepto de donantes en parada.....	19
1-3-2-Tipos de donantes en parada	19
1-3-3-Medidas para preservar los órganos abdominales.....	21
1-4-ESTABLECIMIENTO DE UN MARCO TEÓRICO:.....	24
1-5-DEFINICIÓN OPERACIONAL DE TÉRMINOS CLAVE	25
1-5-1 Muerte cerebral.....	25
1-5-2 Muerte por parada cardio-respiratoria.	27
1-5-3 Proceso de Isquemia reperfusión:.....	29
1-5-4-Preservación hepática.....	36
1-5-4-Disfunción primaria del injerto.....	42
2 - JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	53
3-DEFINICIÓN DE OBJETIVOS DEL ESTUDIO:	55
3-1-HIPÓTESIS:.....	55
3-2-OBJETIVO PRINCIPAL:	55
4-MATERIAL Y METODOS	56
4-1-PERÍODO DE ESTUDIO.....	56
4-2-RECURSOS HUMANOS	56
4-3-INSTALACIONES Y EQUIPAMIENTO	56
4-4-PREPARACIÓN PREVIA AL ESTUDIO	56
4-5-ANIMALES DE ESTUDIO.....	57
4-6-JUSTIFICACIÓN DEL TAMAÑO MUESTRAL	57
4-7-CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:	57
4-8-GRUPOS DE INTERVENCIÓN.....	57
4-8-1-Grupo 1(G1):.....	57

4-8-2-Grupo2(G2):.....	59
4-9-ALEATORIZACIÓN.....	62
4-10-DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN	62
4-10-1-Actuaciones en el donante.....	62
4-10-2-Cirugía de banco.....	65
4-10-3-Trasplante hepático.....	67
4-11-SEGUIMIENTO DE LOS ANIMALES INCLUIDOS EN EL ESTUDIO	69
4-12-DURACIÓN DE CONTROL POST-OPERATORIO	70
4-13-MATERIAL QUIRÚRGICO	70
4-14-FÁRMACOS ADMINISTRADOS	70
4-15-PAUTAS DE ADMINISTRACIÓN.....	70
4-16 MATERIAL FUNGIBLE.....	70
4-17-VARIABLES ESTUDIADAS:	71
4-17-1-Variable objeto del estudio	71
4-17-2-Variables de respuesta:.....	71
4-18-ASPECTOS ÉTICO-LEGALES	76
4-19-ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	76
5-RESULTADOS	77
5-1 -ANÁLISIS DE LA SUPERVIVENCIA:	77
5-2 -CAUSAS DE MUERTE.....	78
5-2-1 -La causa técnica.....	78
5-2-2 -Las metabólicas:.....	79
5-2-3 -Fallo del injerto:	79
5-2-4 -El sacrificio:.....	79
5-3 -COMPLICACIONES	79
5-3-1-Las complicaciones arteriales.....	80
5-3-2 -La hemorragia postoperatoria.....	80
5-3-3 -Trombosis portal:.....	80
5-3-4 -Necrosis a nivel del parénquima hepático:	80
5-3-5 -Trombosis de la cava:.....	80
5-3-6 -El vólvulo intestinal	80
5-3-7 -Necrosis de la vía biliar:.....	81
5-3-8 -Otras complicaciones:	81
5-4 -VALORACIÓN DE LOS DISTINTOS PARÁMETROS ANALÍTICOS:.....	82
5-4-1 -Valoración analítica de la función del injerto.	82
5-4-2-Parámetros analíticos: evolución postoperatoria.....	82
5-5-ANATOMÍA PATOLÓGICA.....	104
5-5-1-Datos al finalizar la intervención (tiempo 0).....	104
5-5-1-1-La balonización de los hepatocitos:	104
5-5-1-2-Prolongaciones bullosas de los hepatocitos.	105
5-5-1-3-Necrosis central:.....	106
5-5-1-4- Necrosis difusa.....	106
5-5-1-5-La forma de las células endoteliales:	107
5-5-1-6-Adherencia de las células endoteliales:.....	108
5-5-1-7-Células de Kupffer:.....	109
5-5-1-8-Colestasis.....	110
5-5-1-9-Presencia de células inflamatorias:.....	110
5-5-2-Necropsia de los animales:	111
6-DISCUSIÓN	116

6-1-MODELO EXPERIMENTAL:	116
6-2-ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN	121
6-3-TÉCNICA QUIRÚRGICA:	121
6-4-ANÁLISIS DE LA SUPERVIVENCIA:.....	123
6-5-CAUSAS DE MUERTE:.....	125
6-6-COMPLICACIONES:.....	125
6-7-ANALÍTICAS:	126
6-8-ANATOMÍA PATOLÓGICA:.....	131
6-9-VALIDEZ INTERNA:	133
6-10-VALIDEZ EXTERNA DE LOS RESULTADOS:	134
6-11-CONSECUENCIAS TEÓRICAS DE LOS RESULTADOS:.....	134
6-12-POSIBLES MEJORAS EN LA INVESTIGACIÓN DEL TEMA:.....	135
6-13-LIMITACIONES DEL ESTUDIO:.....	138
8- CONCLUSIONES	140
9- BIBLIOGRAFÍA	141

Índice de Ilustraciones

Ilustración 1: Momento que se considera la parada cardiaca.....	59
Ilustración 2: Colocación del Fogarty a nivel diafragmático.	60
Ilustración 3:La flecha señala el emplazamiento del Fogarty en la aorta al nivel del diafragma, para facilitar la perfusión del injerto impidiendo la fuga hacia el tórax y la cabeza.	61
Ilustración 4:Estado del injerto tras la perfusión con Líquido de preservación a través de las femorales.	64
Ilustración 5: Extracción del bloque con: hígado, riñones, estómago, duodeno, páncreas y bazo.	65
Ilustración 6: Hígado con la preparación del banco concluida.....	66
Ilustración 7: Injerto hepático tras la reperfusión.	68
Ilustración 8: Supervivencia de los animales($p = 0,5614$).	77
Ilustración 9: Causa de muerte de los animales. $X^2 = 3,763$. $p = 0,439$	78
Ilustración 10: Complicaciones $X^2 = 12,31$ $p = 0,421$	81
Ilustración 11: Evolución de la Albúmina.....	83
Ilustración 12: Evolución de la amilasa.....	84
Ilustración 13: Evolución de la bilirrubina directa.	85
Ilustración 14: Evolución de la bilirrubina total.....	86
Ilustración 15: Evolución del calcio.....	87
Ilustración 16: Evolución del cloro.	88
Ilustración 17: Evolución de la CPK.	89
Ilustración 18: Evolución de la creatinina.	90

Ilustración 19: Evolución de la Fosfatasa alcalina.	91
Ilustración 20: Evolución del fósforo.....	92
Ilustración 21: Evolución de la GGT.....	93
Ilustración 22: Evolución de la Glucosa.....	94
Ilustración 23: Evolución de la GOT.....	95
Ilustración 24: Evolución de la GPT.....	96
Ilustración 25: Evolución de la LDH.....	97
Ilustración 26 Evolución de las plaquetas	98
Ilustración 27: Evolución del potasio.....	99
Ilustración 28: Evolución de las proteínas.....	100
Ilustración 29: Evolución del Sodio.....	101
Ilustración 30: Evolución de la urea.....	102
Ilustración 31: Balonización en el tiempo 0.....	104
Ilustración 32: Balonización leve hepática	105
Ilustración 33: Vacuolas y psedópodos	106
Ilustración 34: Necrosis central	106
Ilustración 35: Forma de las células endoteliales en el tiempo 0.....	107
Ilustración 36: Adherencia de las células endoteliales a la pared vascular.....	108
Ilustración 37: Células de Kupffer tiempo 0	109
Ilustración 38: Colestasis en tiempo 0.....	110
Ilustración 39: Inflamación aguda leve.....	111
Ilustración 40: Necrosis centrolobulillar	112
Ilustración 41: Células endoteliales prominentes.....	113
Ilustración 42: Tapones de bilis.....	114

Índice de tablas

Tabla 1: Momento de la toma de las distintas muestras de sangre.....	73
Tabla 2: Parámetros a valorar en los estudios de Anatomía patológica.....	75
Tabla 3: Valoración de la función del injerto en el postoperatorio, teniendo en cuenta los niveles de GOT en los tres primeros día. $X^2=0,420$. $p=0,811$..	82
Tabla 4: Media, Desviación típica de los parámetros que presentan valores con diferencias significativas.....	103
Tabla 5: Distribución de biopsias tiempo 0 según la presencia o no de prolongaciones bullosas.....	105
Tabla 6: Grado de necrosis difusa de los hepatocitos.....	107
Tabla 7: Presencia de células inflamatorias en el tiempo 0.....	111
Tabla 8: Estado de las Células de Kupffer a la muerte de los animales.....	113
Tabla 9: Presentación de células inflamatorias a la muerte del animal.....	115

1- INTRODUCCIÓN

1-1-ENUNCIADO DEL PROBLEMA:

La sustitución de un hígado que ha fracasado en su función, por otro sano que permita prolongar la supervivencia y mejorar la calidad de vida de los pacientes con hepatopatía crónica, es algo factible, es más, es hoy en día una técnica terapéutica incorporada a las prestaciones asistenciales del Sistema Nacional de Salud.

Dos son los aspectos a analizar como introducción del problema:

- ✓ *La muerte cerebral y los criterios* que se utilizan actualmente para seleccionar los donantes en los que la muerte se produce por daño cerebral irreparable.
- ✓ *La escasez de injertos*, principal factor que limita la utilización de esta alternativa terapéutica, en el año 1999 murieron un 7,6%¹ de los pacientes en lista de espera de trasplante hepático en España, lo que indica que ha de efectuarse una reflexión sobre las actuaciones que permiten incrementar la disponibilidad de donantes y de esta forma incrementar el número de injertos.

1-1-1-Donantes por muerte cerebral, criterios que se utilizan actualmente para su selección:

Los donantes utilizados habitualmente son aquellos en los que la muerte se produce por cese de la función cerebral de forma irreversible, pero en los que se mantiene una función cardio-respiratoria que permite una buena perfusión de los órganos hasta el momento de la extracción.

En estos últimos años asistimos a una modificación tanto de las características de los donantes, como de las causas de muerte, invirtiéndose la relación de los porcentajes de traumatismo craneo encefálico y procesos cerebro vasculares.²

Los criterios de aceptación / contraindicación de los donantes han variado, actualmente se basan en una valoración exhaustiva de parámetros clínicos y otros, que tiene como objetivo asegurar la viabilidad del injerto.

A. -Valoración clínica del donante.-

Una vez realizado el diagnóstico de muerte cerebral es necesario tener en cuenta una serie de condiciones clínicas como son:

- ✓ Causa de muerte.
- ✓ Patologías asociadas.
- ✓ Patología infecciosa.
- ✓ Posibles tumores que puedan causar secuelas letales en el receptor con la inmunodepresión.^{3,4}
- ✓ Presencia de enfermedades degenerativas o de posible origen viral como la esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, síndrome de Guillain-Barré y otras.

B. -Otras valoraciones sistemáticas:

En el proceso de donación se valora de forma sistemática la presencia en el donante de parámetros de normalidad y aceptación que están en relación con:

- ✓ Peso, talla, perímetro torácico del donante y del receptor.
- ✓ Analítica de sangre grupo sanguíneo, pruebas hepáticas, sistemático de sangre, estudio de coagulación.
- ✓ Gasometría arterial.
- ✓ Gonadotropina coriónica si es positivo el test del embarazo.
- ✓ Serología de lúes, toxoplasmosis, citomegalovirus, anticuerpos VIH, antígeno Australia, delta y antidelata si es positivo, anticuerpos de hepatitis C.
- ✓ Análisis de orina: Urocultivo, test embarazo, iones, osmolaridad, sedimento y proteinuria.
- ✓ Otras exploraciones complementarias: Rx tórax y abdomen, ecografía abdominal, tres hemocultivos con diferencias de 30 minutos, cultivo de aspirado traqueal.

La valoración de estos parámetros en el donante puede dar como resultado una contraindicación para ser utilizado, esta contraindicación puede ser absoluta o relativa

C. -Contraindicaciones absolutas, la presencia en el donante de algunas condiciones contraindica de forma absoluta la utilización del injerto hepático, éstas se enumeran a continuación:

- ✓ Neoplasias malignas, salvo tumores del SNC (gliomas, astrocitomas, meduloblastomas poco diferenciados y no manipulados), carcinoma in situ de útero y algunos tumores cutáneos (carcinoma basocelular).^{5,6}
- ✓ Infecciones víricas activas como la hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C (excepto en cirrosisVHC), citomegalovirus y herpes simple, al igual que Ac VIH positivo.
- ✓ Infección de origen bacteriano (sepsis sistémicas). Las infecciones del donante, cuando son localizadas, no suelen contraindicar la utilización del hígado, aunque no existen reglas fijas.⁷
- ✓ Cualquier signo de infección sistémica, como inestabilidad hemodinámica, perfusión tisular inadecuada o disfunción orgánica, contraindica la donación, salvo que el germen esté identificado, tratado adecuadamente y que responda al tratamiento favorablemente, ejemplo de esto es el caso de la *Nisseria meningitidis* y el *Hemófilus influenza* son gérmenes muy sensibles al tratamiento y se pueden utilizar los órganos por ellas infectados tras el tratamiento adecuado.⁸
- ✓ Otra contraindicación absoluta es la existencia de enfermedad sistémica con repercusión hepática.

D. -Contraindicaciones relativas, en el manejo del donante se efectúan una serie de valoraciones puntuales de edad y otras condiciones clínicas y epidemiológicas a tener en cuenta para hacer un uso apropiado de la técnica de trasplante:

- ✓ En los primeros tiempos del trasplante hepático la edad superior a los 50-55 años era una contraindicación para el trasplante hepático,⁹ actualmente se implantan órganos de 70-75 años, es por lo que una determinada edad no es una contraindicación absoluta para el trasplante hepático.
- ✓ El consumo crónico de fármacos hepatotóxicos (paracetamol, acetilsalicílico y algunos psicofármacos) pueden comprometer la utilización del injerto.^{10, 11}

- ✓ La presencia en el donante de diabetes mellitus, hipertensión arterial, o el alcoholismo crónico representan situaciones a valorar.
- ✓ La presencia de factores de riesgo de ser VIH positivo en donantes con antecedentes de hábitos personales poco recomendables como adicción a drogas, existencia de tatuajes recientes, antecedentes de promiscuidad sexual, estancia reciente en la cárcel, y otras condiciones higiénicas. En estos donantes es necesario realizar además de anticuerpo (Ac HIV), el antígeno (Ag HIV), por el período ventana entre la infección y la positividad de los anticuerpos.
- ✓ Adecuado manejo del donante, por la valoración hemodinámica se debe conocer el estado de perfusión y oxigenación del injerto, para ello es preciso tener en cuenta posibles paradas cardiorrespiratorias, el tiempo sin maniobras de resucitación, la efectividad de dichas maniobras, los períodos de hipotensión y oliguria, la administración de inotropos y su dosis, el tipo y duración de los tratamientos administrados, además de identificar aquellas situaciones en las que se pueden mantener la tensión arterial, pero con una mala perfusión de los tejidos.^{12, 13}

1-1-2-Actuaciones que permiten incrementar la disponibilidad de donantes y aumentar el número de injertos hepáticos

Disponemos actualmente de diversas propuestas con la intención de incrementar el número de donantes y evitar así que los pacientes con hepatopatía terminal mueran en lista de espera:

- A) Donantes marginales
- B) Donante vivo
- C) Hígado reducido
- D) Bipartición de injerto
- E) Xenotrasplante
- F) Trasplante de hepatocitos aislados
- G) Donantes en parada cardiorrespiratoria (PCR)

A. -Donantes marginales.-

Una posibilidad de aumentar el número de donantes es ampliar los criterios para la aceptación de injertos, esta posibilidad aboca a la utilización de donantes de alto riesgo pero potencialmente válidos,¹⁴ son los denominados *donantes marginales*.

Características de los donantes marginales.-

- ✓ Por edad: mayor de 60 o menor de 1 año
- ✓ Por antecedentes sociales: homosexualidad, prostitución, uso de drogas intravenosas (IV) o promiscuidad con serología de VIH negativa.
- ✓ Episodios de parada cardiaca por encima de 10 minutos o indeterminada.
- ✓ Inestabilidad hemodinámica.
- ✓ Obesidad mórbida.
- ✓ Historia de diabetes, diabetes insulín-dependiente o hipertensión mal controlada.
- ✓ Estancia en la UCI por encima de 7 días.
- ✓ Isquemia fría superior a 18 horas.
- ✓ Serología positiva a hepatitis B o C.
- ✓ Antecedentes de enfermedad maligna.
- ✓ Hipernatremia del donante por encima de 170 mEq/L.

B. -Donante vivo.-

Técnica consistente en la extracción de un segmento del hígado en un donante vivo y se realiza principalmente en niños. En niños se realiza a costa del segmento II y III, en adultos es necesario extraer los segmentos V, VI, VII y VIII.

Esta alternativa de donación se realizó por primera vez en Brasil por el grupo de Raia y col,¹⁵ experiencia que fué seguida por Bisbane en Australia¹⁶ y Broelsch en Chicago.¹⁷ En España fué realizada por primera vez por J. Vázquez en el Hospital Infantil La Paz¹⁸ en el año 1993, y recientemente por G. Valdecasas del Hospital Clínic de Barcelona, para receptor adulto.

. Esta donación tiene connotaciones éticas importantes pues se somete a una intervención quirúrgica mayor a una persona previamente sana,¹⁹ aunque su realización esta contemplada en la legislación española, Ley de Trasplantes de 1979, y desarrollada recientemente en Real Decreto 2070/1999 en donde se especifican los requisitos que se exigen en el proceso de donación.

C. - Hígado reducido.-

La utilización de hígado reducido se aplica cuando existe discrepancia entre el tamaño del injerto donante y el espacio físico disponible en el receptor. Es necesario aplicarla frecuentemente en el trasplante infantil lo cual no significa un aumento del número de donantes, sino la adecuación de los injertos a los receptores infantiles, generalmente con un peso inferior a 10 Kilos. Los receptores infantiles tienen dificultad para lograr donantes adecuados y se prolongan en las listas de espera con un deterioro progresivo, por lo que esta alternativa viene a solucionar situaciones terminales. Otra situación en la que se utiliza es como injerto auxiliar de forma heterotópica u ortotópica²⁰ principalmente en hepatitis fulminantes en espera de la recuperación del órgano nativo.

El primer trasplante utilizando un injerto reducido procedente de cadáver fue realizado por H. Bismuth en el año 1984.²¹

D. -Bipartición del injerto.-

También denominada "split-liver", es una técnica que se viene realizando por diversos grupos de trasplante,^{22,23} su aplicación incrementa de forma importante el número de injertos ya que de un donante se logran dos injertos. Generalmente al injerto derecho le corresponden los segmentos V al VIII y al izquierdo los segmentos II-III habitualmente para niños.

Es necesario valorar las alteraciones anatómicas que en muchas ocasiones impiden realizar la técnica o condicionan la forma en que se puede realizar la partición. El porcentaje de complicaciones también ha de ser valorado ya que es superior al que se produce con el hígado reducido, sus índices de supervivencia son del 66.5%, menores que en trasplantes reducidos que alcanza el 76.5%.²⁴

Para que esta técnica represente un incremento de la oferta de órganos para adultos es necesario desarrollar protocolos de actuación que permitan utilizar los dos injertos obtenidos del hígado donante en dos adultos, en este sentido Belghiti ha publicado recientemente el primer caso de un donante de 89 kg del que obtuvo dos injertos para pacientes de 70 kg y 56 kg, es de esperar que otros grupos continúen con este tipo de experiencias.²⁵

E. -Xenotrasplante.-

Consiste en la utilización de animales como fuente de injertos. La presencia de Xenoanticuerpos naturales preformados, principalmente anti Gal, (1,3) responsable del rechazo hiperagudo, dificulta la realización del xenotrasplante entre especies filogenéticamente distantes. Para superar esta dificultad, el cerdo que pertenece a esta categoría respecto a la especie humana, se modificó genéticamente con la intención de conseguir animales transgénicos parecidos inmunológicamente al hombre, el cerdo parece el animal más adecuado para ser utilizado,^{26, 27} sin embargo será necesario salvar problemas como:

- ✓ Zoonosis transmisibles a través del injerto.
- ✓ Rechazo hiperagudo y rechazo vascular agudo tanto humoral como celular.
- ✓ Retrovirus endógenos porcinos por el peligro de infectar al receptor, hacerse patógenos en él, transmitirse a sus congéneres o recombinarse con otros virus y producir retrovirus más patógenos.

Las primeras experiencias clínicas de xenotrasplante hepático fueron realizadas por Starzl en 1966 y 1974²⁸ utilizando como animal donante el chimpancé, en 1993 llevo a cabo otras dos experiencias con babuino consiguiendo supervivencias de 70 y 26 días.²⁹ Makowka en 1994 realiza un xenotrasplante con hígado de cerdo en un paciente con hepatitis fulminante que vivió 30 horas.³⁰

F. -Trasplante de hepatocitos aislados.-

Consiste en el implante de hepatocitos aislados para suplir la función celular hepática. El aislamiento de los hepatocitos se realiza mediante la técnica de digestión enzimática con colagenasa, obteniéndose 10^6 - 10^7 hepatocitos / gramo de hígado, esta población celular se puede situar a nivel del peritoneo, en el hígado a través de la porta o, lo que se considera la mejor técnica, mediante punción del parénquima del bazo. Clínicamente se realizó en enfermos con insuficiencia hepática aguda grave,^{31,32} en pacientes con cirrosis,³³ y en enfermos con metabopatías.³⁴

La obtención de hepatocitos está dificultada por la escasa disponibilidad de donantes para extraer estos hepatocitos, ya que los hígados existentes se utilizan para el trasplante de órgano entero o parcial. Sin embargo las células pueden obtenerse de segmentos hepáticos de donantes vivos o de situaciones distintas a la donación, como resecciones, traumatismos e incluso del mismo paciente.³³

Las ventajas de esta técnica vienen determinadas porque, además de que se puede congelar con la posibilidad de tener bancos de células, se puede realizar trasplante de hepatocitos autólogos lo que permite prescindir de los inmunosupresores.

G. -Donantes en parada cardiorrespiratoria (PCR) o donantes en asistolia.-

Existe un porcentaje de donantes cuya muerte se produce por causas distintas a las determinadas dentro de los criterios de muerte cerebral, generalmente por parada cardiorrespiratoria irrecuperable.^{35,36,37,38} Estos donantes se caracterizan porque presentan un tiempo de isquemia caliente, acontecimiento negativo producido porque la parada cardio-respiratoria implica la no-perfusión de los injertos y porque, además, la muerte suele acontecer fuera del centro hospitalario de forma impredecible.

Clínicamente hay que significar que los primeros trasplantes se realizaron con este tipo de donantes cuando aún no existía el concepto de muerte cerebral. Actualmente se utiliza en ocasiones para injertos hepáticos, y con profusión, por algunos grupos, para el trasplante renal.

En España se considera que el porcentaje de trasplantes renales que se realizan por este tipo de donación, en los centros que lo tienen estandarizado, es entre el 10% y el 20%.³⁹ Los programas de trasplante en Japón se surten prácticamente de este tipo de donante, pues el concepto de muerte cerebral no fue aceptado por su legislación⁴⁰ hasta fechas muy recientes.

1-2-REVISIÓN DE LOS ANTECEDENTES:

En la historia del trasplante existen unos hitos que marcan claramente el desarrollo del trasplante hepático, estos hechos destacados se producen en distintos aspectos del proceso trasplante y vienen a explicar los avances fundamentales que permiten la efectividad y la seguridad del procedimiento. En una exposición cronológica veremos los aspectos destacados del (1) proceso quirúrgico, del (2) proceso de preservación del injerto, los (3) aspectos inmunológicos (4) de reconocimiento ético y (5) reconocimiento normativo del problema.

1-2-1-Proceso quirúrgico.-

El progreso de la cirugía del trasplante hepático se asienta en los trabajos sobre suturas vasculares de Mathieu Jaboulay (1860-1913)⁴¹ de la École Lyonnaise, el cual inicia las suturas vasculares con eversión suturando endotelio a endotelio. Otro paso importante lo marcan los trabajos de Alexis Carrel (1875-1944)⁴² con la triangulación para la anastomosis termino-terminal. Con estas bases se inician una serie de experimentos que llevan primero a trasplantar miembros, luego riñones empezando en animales para luego realizar intentos con humanos

En los años cincuenta se comunican los primeros trasplantes hepáticos en animales, Jack Cannon en 1955, E.G. Goodrich en 1956, Claude Welch y Francis Moore en Boston y Thomas Starzl en Chicago, todos ellos ponen a punto el protocolo quirúrgico. En 1958 Thomas Starzl tiene montada una técnica experimental fiable en perros, realizando la perfusión del hígado a través de la vena porta con una solución de suero salino o Ringer lactado con la finalidad de refrigerarlo, y coloca un shunt venovenoso durante la fase anhepática para permitir el paso de sangre de la zona mesentérica al corazón durante el tiempo de la cirugía.⁴³

Es en el año 1963 el 1 de marzo, cuando T.E. Starzl realiza el primer trasplante en humano, el paciente un niño de 3 años afecto de una atresia biliar que muere a las 5 horas del trasplante. Dos meses después, el 5 de mayo, realiza el segundo, este será un éxito relativo, ya que el paciente muere a los 2 días de una embolia pulmonar con un hígado normal.⁴⁴ Es cuatro años más tarde, en 1967,

cuando tras realizar un trasplante en una niña afectada de un hepatocarcinoma, obtiene una supervivencia prolongada.⁴⁵

En Europa, Calne realiza el primer trasplante hepático en 1968 con una supervivencia de once semanas.⁴⁶ En España, es Margarit y Jaurieta en 1984, quienes realizan el primer trasplante hepático por un hepatocarcinoma en el Hospital de Bellvitge.

1-2-2-Proceso inmunológico.-

El descubrimiento de la ciclosporina por Borel en 1976,⁴⁷ que se muestra como un potente y selectivo inmunosupresor, permite con su incorporación a la práctica clínica contribuir de forma importante a la mejoría de los resultados. La ciclosporina está en prácticamente todos los protocolos de trasplante a partir de 1982.

1-2-3-Proceso de preservación.-

En los primeros trasplantes hepáticos el injerto era preservado en plasma sanguíneo o en suero fisiológico, posteriormente la solución de Eurocollins se mostró como más efectiva permitiendo hasta 8 horas de preservación,⁴⁸ esta solución mejora la desarrollada anteriormente por Collins para la preservación renal,^{49,50} su composición iónica es similar a la intracelular, ya que contiene una concentración alta en potasio y baja en sodio y calcio, además de una alta concentración de glucosa.

Belzer propone la Solución de la Universidad de Wisconsin (UW) que incrementa el tiempo de preservación hasta 24 horas.^{51,52} La composición iónica corresponde, como en el Eurocollins, a la intracelular, contando además con fosfato como buffer, adenosina para promover la formación de ATP, el almidón hidroxietil de alto peso molecular para evitar el edema celular, el glutatión, la rafinosa y el lactobionato, que reemplazan a la permeable glucosa.^{53,54}

1-2-4-Proceso de reconocimiento ético del proceso.-

En junio de 1983 el trasplante hepático se reconoce como una técnica de utilidad médica, esta es la fecha de la reunión de la **Conferencia de Consenso de Bethesda (Maryland)** por iniciativa del National Institutes of Health (NIH),⁵⁵ confirmando los

beneficios clínicos del trasplante hepático en los pacientes con enfermedades hepatobiliares progresivas e irreversibles.

Pero los antecedentes éticos de la donación, parten del concepto de *muerte cerebral*, más ampliamente del concepto de muerte, fue en el año 1959 cuando los neurofisiólogos franceses Mollaret y Goulon, describen el denominado "coma dépassé" caracterizado por apnea, flacidez y ausencia total de respuesta, que conduce a parada cardíaca siempre, a pesar de que sean tomadas todas las medidas para el soporte vital.⁵⁶ En 1965 Frykhollm, neurocirujano de Estocolmo, remite un proyecto al gobierno definiendo el concepto de *muerte cerebral*.

La Uniform Determinación of Death Act,⁵⁷ aprobada tanto por instituciones profesionales como legales en Estados Unidos, define la muerte como: "*cese irreversible de las funciones cardíaca y respiratoria o cese irreversible de todas las funciones cerebrales, incluido el tronco del encéfalo*".

La Sociedad Española de Neurología en 1993, a través de un comité de expertos, publica el Dictamen de Candanchu, donde propone que el diagnóstico de *muerte* sea único, definiéndolo como: "*la muerte puede ser secundaria a procesos que conduzcan a cese total e irreversible de la actividad cerebral, o procesos que arrastren irremisiblemente a parada cardiorrespiratoria -muerte por asistolia-*"⁵⁸

1-2-5-Proceso legal.-

En nuestra legislación la extracción y trasplante de órganos esta regulada por la Ley 30/1979, de 27 de octubre, en su artículo cinco, dice: "La extracción de órganos u otras piezas anatómicas de fallecidos podrá hacerse previa comprobación de la muerte...(sic) cuando dicha comprobación se base en la existencia de datos de irreversibilidad de las lesiones cerebrales" queda evidente que la Ley deja vía a otros posibles caminos además de la muerte cerebral.⁵⁹

El Reglamento que la desarrolla, aprobado por el Real Decreto 2070/1999, de 30 diciembre (BOE de 4 de enero 2000), incorpora importantes y cualitativos cambios de forma especial para la extracción de órganos cuando la muerte se produce por parada cardiorrespiratoria.

El art. 10.5 a) del Reglamento constituye una novedad al ser la primera vez que se contempla el procedimiento a seguir para obtener la autorización judicial cuando la muerte se produce por parada cardiorrespiratoria y no por muerte cerebral

“En los casos de muerte por parada cardiorrespiratoria, se realizarán por médico encargado de la extracción, las técnicas de preservación para asegurar la viabilidad de los órganos, previa comunicación al juzgado de instrucción competente, a fin que si lo estima necesario, pueda establecer cualquier limitación o indicación positiva para su práctica.

Transcurrido el tiempo establecido en los protocolos referidos en el anexo 1 desde la comunicación sin que el Juzgado haya formulado indicación alguna, se iniciaran las técnicas de preservación extrayendo previamente muestras de líquidos biológicos y cualquier otra muestra que pudiera considerarse oportuna en un futuro de acuerdo con los protocolos referidos en el anexo 1 de este Real Decreto.

Estos protocolos regulan también la cadena de custodia de las muestras depositadas en el hospital, a disposición del juez instructor que determinara su destino.”

El anexo 1, del reglamento, establece en 15 minutos el tiempo a esperar para iniciar las maniobras de preservación tras comunicarlo al Juzgado, pasados los cuales se podrán comenzar las maniobras de preservación si no existe comunicación en contra en este tiempo.

En el anexo 1 nos indica también las muestras de líquidos biológicos así como las cantidades a obtener antes de comenzar las maniobras de preservación: 20 cc de sangre, de orina y de jugos gástricos, poniéndolos a disposición del Juzgado competente de la investigación.

1-2-6-Proceso solidario y organizativo.-

En el proceso de trasplante se diferencian en el ámbito organizativo dos etapas claramente diferentes: la donación y el indicación/realización del trasplante, los datos cuantitativos que nos acercan a la efectividad organizativa del proceso son significativos. Se exponen a continuación en dos períodos, de 1991 a 1993 y datos más recientes de 1999:¹

- Período 1991-1993:

- ✓ **La tasa de donación:** la tasa de donación en España es históricamente la más elevada del mundo, 22,6 por millón de población (pmp). Aún así las

cifras de donaciones se mostraban insuficientes con la necesidad de trasplantar.

- ✓ **La tasa de indicación de trasplante**, se indicó trasplante hepático a 18 casos pmpp.
- ✓ **La tasa de realización de trasplantes hepáticos**, es de 12,9 pmp, cifra también elevada si la comparamos con los países de nuestro entorno, sin embargo el número de pacientes que fallecieron en lista de espera se situó en torno al 5% al año.
- ✓ **Desagregando por regiones**
 - Comunidades situadas en el percentil alto de indicación de trasplante presentaban tasas de 34; 31 y 30, pmp, eran Navarra, Madrid y Murcia, a las que les correspondían unas tasas de trasplante de 29,4; 18,20; 16,5, pmp respectivamente.
 - En comunidades como Aragón, Extremadura y La Rioja, situadas en el percentil bajo, se indicó la técnica en 3,4; 6,0 y 3,8, y se realizó el trasplante en 1,1; 3,5 y 2,6 por millón de población.

- Año 1999 -

- ✓ **La tasa de donación**, se incremento hasta un 33,6 pmp el numero de donantes en el año 1999.
- ✓ **La tasa de indicación de trasplante hepático es durante este año de 40,6 pmp**, lo que nos indica un numero de donantes insuficientes para las necesidades actuales.
- ✓ **La tasa de realización de trasplantes hepáticos es de 24,4 pmp**, siendo el numero realizado de 960 trasplantes hepáticos.
- ✓ **Desagregando por regiones** Las indicaciones de trasplante continúan mostrando diferencias, siendo los extremos de 67,9 pmp que corresponde a Murcia y de 15,4 pmp en La Rioja.

Comparar estas cifras con las de EE.UU. que son de 16,6 pmp, nos da una idea de la actividad trasplantadora en nuestro país.¹

El trasplante es un programa que se fundamenta en un acto solidario ya que es necesaria una donación previa para poder realizarlo, basándose en las tasas de nuestro país, se puede decir que el español es un programa solidario por el número de donaciones que se realizan.

La capacidad organizativa hay analizarla en la disposición de la red de oficinas de las cominidades autónomas, la coordinación de todas ellas con la Organización Nacional de Trasplantes, y en la figura del Coordinador de Trasplantes, un modelo organizativo que ha dado buenos resultados.

1-3-DEFINICIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:

Los injertos procedentes de donantes en parada, o en asistolia, tienen unas limitaciones en su manejo, seguridad y efectividad cuya superación constituye un reto histórico para todos los implicados en los resultados del programa de trasplante hepático. En los últimos años se lograron importantes avances para conseguir superar la isquemia caliente que sufren estos injertos, fundamentalmente con un buen manejo técnico del donante y la mejoría de los mecanismos para conseguir una efectiva isquemia fría.

El problema de investigación que se plantea gira entorno a los aspectos señalados de la idoneidad del *donante en parada*, también llamado en *asistolia o donante a corazón parado*, cuando es utilizado como fuente de injertos, más concretamente de injerto hepático.

Definir el donante en parada, exponer los tipos y repasar las medidas efectivas de preservación de los órganos abdominales de este tipo de donante, son los principales aspectos teóricos que se pretenden objetivar como problema de investigación objeto de esta tesis.

1-3-1- Concepto de donantes en parada

Se denomina *donante a corazón parado* aquel donante en el que el diagnóstico de muerte se realiza basándose en el cese de la función cardíaca de forma irreversible. El diagnóstico de muerte es realizado por el o los equipos que se encargan de atender al paciente y es en este momento, con el cese irreversible de la función cardíaca, cuando se considera el cadáver como donante potencial.^{60, 61}

La característica negativa de este tipo de donante es que tiene un período de isquemia caliente que puede dificultar la función del injerto, lo que justifica las medidas para preservar los órganos abdominales.

1-3-2-Tipos de donantes en parada

Las vías por las cuales se producen este tipo de donantes son variadas y dan lugar a diferentes categorías de donantes cuya clasificación depende del grupo que la realice, revisamos las de Kootstra y Pittsburgh por ser las más significativas.

A. -Clasificación de Kootstra⁶²

Propuesta por este autor en el año 1995 en el Workshop de Maastricht, se compone de cuatro grupos de donantes:

- Categoría I: Donantes que ingresan cadáveres y no reciben maniobras de resucitación, son donantes que se producen por accidentes fuera del hospital, Kootstra refiere dos grupos de donantes potenciales que pertenecen a este grupo uno son los accidentes de tráfico con rotura del cuello, y el otro son los suicidas. Esta categoría aunque potencialmente produciría importante cantidad de donantes, los resultados no son buenos y no es muy utilizada.
- Categoría II: Son donantes remitidos a urgencias en ambulancia donde se le realizan unas primeras maniobras de resucitación sin éxito. Una vez en el hospital el equipo de urgencias realiza todas las medidas encaminadas a la recuperación hasta el momento en que considera que estas son inútiles, iniciándose en este momento las maniobras encaminadas a la preservación de los órganos.
- Categoría III: Son donantes procedentes de pacientes con parada cardíaca controlada, son pacientes con lesiones cerebrales importantes sin posibilidades de recuperación, pero que no reúnen los criterios de muerte cerebral. Cuando a estos pacientes se les retira el soporte vital se produce la parada cardíaca, iniciando entonces la preservación de los órganos. Este grupo era el que en los inicios del trasplante, cuando el concepto de muerte cerebral no estaba bien definido, producía el mayor número de donantes.
- Categoría IV La parada cardíaca se produce en el proceso del diagnóstico de muerte cerebral o tras el diagnóstico de muerte cerebral pero antes de ser trasladado al quirófano.

Del Firts International Workshop on Non Heart-Beating Donors celebrado en Maastricht en Marzo del 1995 salió un documento de consenso⁶³ debatido ampliamente en nuestro país plasmando las conclusiones en un Documento de Consenso Español emitido por la Organización Nacional de Trasplantes en Noviembre de 1995.⁶⁴

B. -Clasificación del grupo de Pittsburgh

El grupo de Pittsburgh clasifica los donantes en parada únicamente en dos grupos.³⁸

- Grupo I: Son donantes en parada incontrolados, considerando de este grupo los donantes que no reunían todos los criterios o que estaban en estudio para el diagnóstico de muerte cerebral, produciéndose la parada cardíaca de forma repentina. El promedio de tiempo para iniciar la perfusión fría en estos pacientes fue de 37 ± 29 minutos

- Grupo II: Son donantes en parada controlados, estos son pacientes con daño neuronal irreversible pero sin todos los criterios de muerte cerebral, que a petición de la familia y/o del propio paciente se le retira el soporte vital y son trasladados al quirófano donde se les desconecta el respirador, iniciándose el proceso de preservación de los órganos. El tiempo de isquemia caliente en esta categoría es de $23,8 \pm 11$ minutos.

El tiempo de espera para iniciar las maniobras de preservación de los órganos difiere entre los grupos, el grupo de Kootstra espera 10 minutos tras la parada cardíaca. El grupo de Pittsburg espera solo dos minutos tras la parada, esta diferencia se explica por el grupo que defiende este protocolo por la importancia que tiene el tiempo para algún órgano como el páncreas.⁶⁵

1-3-3-Medidas para preservar los órganos abdominales

La efectividad del injerto hepático procedente de un donante en parada cardíaca está directamente relacionada con condiciones apropiadas de su obtención, una vez conseguidas, el paso siguiente es lograr que el período de isquemia caliente sea lo más corto posible. Este objetivo se puede lograr con dos actuaciones.⁶⁶

A. Maniobras de reanimación cardiopulmonar efectivas

B. Isquemia fría

A. -Maniobras de reanimación cardiopulmonar efectivas mediante compresión mecánica del tórax

Conseguir que los órganos estén sometidos a un tiempo corto de isquemia caliente es el objetivo prioritario, en ocasiones ante la imposibilidad de iniciar la isquemia fría se realizan maniobras de reanimación cardiopulmonar con la intención de retrasar el período de isquemia caliente.

En los primeros tiempos del trasplante ya se utilizaba esta técnica para mejorar la calidad de los riñones al mantenerlos perfundidos y oxigenados^{67, 68} esto se conseguía con masaje externo y respiración asistida.

B. –Maniobras para lograr una rápida y eficaz Isquemia fría:

Un enfriamiento rápido y adecuado de los órganos es el objetivo fundamental, pues implica un mejor funcionamiento posterior.

Los mecanismos para conseguirla son variados:

B.-1-Enfriamiento corporal total mediante Bypass cardiopulmonar**B.-2-Perfusión in situ****B.-3-La perfusión peritoneal****B.-4-Perfusión intra operatoria****B.-1-Enfriamiento corporal total mediante Bypass cardiopulmonar**

Esta técnica se realizó en los primeros trasplantes y consiste en conectar dos catéteres, uno a la arteria femoral y otro a la vena femoral. Por la vena se extrae sangre para oxigenar y enfriar mediante un oxigenador de burbuja, luego se impulsa mediante un rodillo nuevamente al torrente sanguíneo por la arteria femoral,⁶⁹ consiguiendo oxigenar y enfriar la sangre. Recientemente se utiliza el oxigenador de membrana.^{70,71,72,73,74,75} La oxigenación y perfusión con enfriamiento logra que los órganos se recuperen de la isquemia caliente, los trabajos experimentales de Hoshino plantean obtener hígados a corazón parado mediante bypass cardio pulmonar.^{71,76}

B.-2-Perfusión in situ

La finalidad de esta técnica es profundir con liquido frío los injertos abdominales, para lo cual se colocan dos catéteres: uno en la aorta abdominal canalizando la arteria femoral para perfundir y otro en la cava por la vena femoral con la finalidad de drenar. Se describen diversos tipos de catéteres para lograr una mejor perfusión de los injertos mediante el cierre de la aorta al nivel torácico e incluso en las iliacas.

Banowsky en 1971 realizó los primeros trabajos experimentales en cerdos para la preservación renal,⁷³ la técnica fue aplicada posteriormente por García Rinaldi clínicamente, para la obtención de riñones,⁷⁷ perfundiendo solución de Collins frío por catéteres de doble balón y de triple luz. La perfusión in situ es seguida en los años posteriores por una serie de autores,^{78,79,80} y se utilizan diversas modificaciones con la intención de mejorar los resultados.

B.-3-La perfusión peritoneal

Para lograr el enfriamiento superficial de los órganos se propone⁸¹ la perfusión líquido frío en la cavidad abdominal, a través de un catéter, la salida por gravedad se pasaría mediante una bomba de rodillos a un intercambiador de calor y posteriormente se procede a la reintroducción en el peritoneo.

B.-4-Perfusión intra operatoria

Descrita por el grupo de Pittsburgh⁸² para los donantes en parada controlada. Estos son trasladados al quirófano donde se le retiran las medidas de mantenimiento hasta el momento en que se produce la parada y es certificada la muerte por un médico no perteneciente al equipo de extracciones, comenzando en este momento la cirugía con la técnica llamada "súper rápida", con la que en cuatro minutos se comienza la perfusión desde que se inicia la intervención.

1-4-ESTABLECIMIENTO DE UN MARCO TEÓRICO:

Ante la necesidad de reproducir unas condiciones de isquemia caliente de treinta minutos en un injerto hepático es necesario utilizar animales de experimentación.

Los animales utilizados con mayor frecuencia en experimentación son ratas, ratones, coballas, hámsters, conejos, ranas, peces, gatos, perros, cerdos, primates no humanos.

El cerdo tiene unas características que lo hacen idóneo para la experimentación en este campo, es un animal que se reproduce con facilidad, se cria a nivel industrial, tiene unas características genéticas establecidas, fisiológica y anatómicamente el hígado se comporta de forma similar al humano.

La anatomía hepática del cerdo es fue revisada por Van Minh en un estudio con 25 animales en los cuales mediante la inyección de corrosivo analizó la estructura anatómica: el lóbulo izquierdo con dos segmentos II y III es similares al humano, el lóbulo medio compuesto por los segmentos IV y V, el segmento VIII se encuentra atrofiado, el lóbulo derecho al que corresponden los segmentos VI y el VII. El lóbulo caudado o segmento I es estrecho se encuentra situado tras la porta hepatis y envuelve la cava retrohepática lo que impide la realización de la técnica de piggy back en estos animales.⁸³

1-5-DEFINICIÓN OPERACIONAL DE TÉRMINOS CLAVE

Los términos clave utilizados en este trabajo se definen al objeto de estandarizar las referencias y su contenido, los términos fundamentales son:

- ✓ **Muerte cerebral**
- ✓ **Muerte en parada cardio-respiratoria**
- ✓ **Proceso isquemia/reperfusión**
- ✓ **Preservación hepática**
- ✓ **Disfunción Primaria del Injerto(DPI)**

La secuencia de los términos sigue las etapas del proceso donación-trasplante, en cada una de ellas se pretende establecer el concepto general, los criterios aceptados de diagnóstico y ético-legales que definen la muerte. En las etapas avanzadas del proceso con la presencia de la isquemia, la preservación y la disfunción del injerto, se señalan los efectos y su posible prevención al objeto de evitar el daño del injerto.

1-5-1 Muerte cerebral

Para que existan injertos para trasplantar es necesario tener donantes, las donaciones están sujetas, fundamentalmente, al diagnóstico de muerte cerebral y a las normas jurídicas que rigen en cada país. Actualmente el número mayor de donantes depende del diagnóstico de muerte cerebral.^{56,84}

A. - Definición de muerte cerebral

El diagnóstico de *muerte* a los efectos que nos ocupan se realiza cuando se confirma la *muerte cerebral*, este concepto está aceptado desde el punto de vista médico, legal, ético y religioso (por la mayoría de las religiones) propugnado por la President's Commission of the Study of Ethical Problems in Medicine and Biochemical Research⁵⁷.

Un individuo está muerto cuando le ha sobrevenido, bien el cese irreversible de las funciones respiratorias y circulatorias que conduce irremediablemente a la muerte cerebral, o bien el cese inquebrantable de todas las funciones cerebrales incluyendo el tronco cerebral. La determinación de muerte debe realizarse de acuerdo con los estándares médicos aceptados.

B. -Diagnostico de Muerte Cerebral

El diagnóstico de muerte cerebral se basa en la presencia de criterios clínicos determinados, la exploración clínica así como instrumental, además del diagnóstico legal.

Los criterios diagnósticos de muerte cerebral tienen tres premisas fundamentales:⁸⁵

- ✓ Presencia de una lesión estructural de etiología conocida,
- ✓ Constatación de estado o situación irreversible
- ✓ Ausencia de otras patologías que puedan simular la muerte cerebral como: Hipotermia severa, Shock de cualquier etiología, enfermedad metabólica, presencia de drogas depresoras del SNC.

Exploración clínica del cese completo de las funciones cerebrales y tronco encefálicas:

- ✓ Ausencia de funciones cerebrales: Coma profundo arreactivo, no-respuesta ni receptividad
- ✓ Ausencia de actividad del tronco cerebral:
- ✓ Ausencia de reflejo fotomotor
- ✓ Ausencia de reflejo corneal
- ✓ Ausencia de reflejos oculocefálicos
- ✓ Ausencia de reflejos oculovestibulares
- ✓ Ausencia de reflejo tusígeno y nauseoso
- ✓ Ausencia de respiración espontánea
- ✓ Test de atropina negativo

Exploraciones instrumentales confirmatorias

Exploraciones que evalúan la función neuronal:

- ✓ Potenciales evocados
- ✓ Electroencefalograma
- ✓ Espectroscopia por resonancia magnética del fósforo-31.

Exploraciones que evalúan el flujo sanguíneo intracerebral

- ✓ Angiografía cerebral con contraste.
- ✓ Angiografía cerebral isotópica.
- ✓ Sonografía doppler transcraneal.

- ✓ Tomografía computerizada con xenón.
- ✓ Medición de la presión intracraneal y de la presión de perfusión cerebral.
- ✓ Ultrasonografía craneal en tiempo real.
- ✓ Estudio de la onda de pulso de la arteria carótida común.
- ✓ Tomografía computerizada de secuencia rápida con análisis tiempo-densidad.
- ✓ Tomografía computerizada con bolo de contraste.
- ✓ Ecoencefalografía.
- ✓ Estudio del flujo sanguíneo de la arteria oftálmica.

Diagnostico legal de muerte cerebral

Teniendo en cuenta la gran cantidad de signos y pruebas diagnosticas existentes para confirmar la muerte cerebral, las legislaciones de los países marcan un mínimo de pruebas obligatorias para el diagnostico de muerte cerebral.⁸⁵

1-5-2 Muerte por parada cardio-respiratoria.

Se denomina donante a corazón parado aquel en el que la muerte se produce por una parada cardio-respiratoria irreversible que conduce de forma invariable a la muerte cerebral. El diagnóstico de donante por parada requiere la valoración de unos criterios reales para asegurar la irreversibilidad de la muerte y el comienzo de las maniobras de preservación. El camino seguido hasta aceptar de forma universal el donante en asistolia se explica detalladamente en el segundo punto, deteniéndose en que criterios marcan el inicio de la muerte para así poner en marcha las actuaciones que permitan acortar el tiempo de isquemia.

A. -Diagnostico de parada cardio-respiratoria irreversible

Los criterios para el diagnostico de muerte por parada cardio-respiratoria utilizados por el Hospital Lehigh Vallery de Pennsylvania son:

- ✓ Mayores de 12 años con traumatismo cerrado que reciben reanimación cardio-pulmonar efectiva durante un período superior a 5 minutos antes de llegar al hospital, encontrándose sin pulso en el momento del ingreso.
- ✓ Mayores de 12 años con traumatismo penetrante en abdomen, cabeza, cuello o ingle que reciben reanimación por mas de 5 minutos antes del ingreso, sin pulso cuando llegan al hospital.

- ✓ Mayores de 12 años con traumatismo torácico penetrante, reanimación superior a 15 minutos antes de la llegada al hospital, sin pulso al ingreso.
- ✓ En niños con cualquiera de las condiciones anteriores que reciben una reanimación de por lo menos 15 minutos.

En el estudio de Pascuale et al. se aplican estos criterios para analizar 106 pacientes que ingresan con traumatismos que producen parada cardiorespiratoria de los cuales sobreviven 3 de los que no reúnen los criterios, reúnen los criterios antes mencionados 86 ingresos de los cuales se realiza reanimación cardio-pulmonar intensiva a 70 no consiguiéndose supervivencia en ninguno de estos casos.⁸⁶

B. -Criterios actuales sobre el instante en que se produce la muerte tras la parada cardio-respiratoria irreversible:

Definir y aceptar estos criterios es fundamental porque marcan el inicio de las maniobras encaminadas a la preservación de los injertos.

La definición del concepto de *muerte cerebral* motivó que los criterios *de muerte* variasen, aceptándose de forma casi universal que la muerte se produce en el momento que cesa de forma irreversible toda función cerebral.

El tiempo transcurrido entre la parada cardíaca irreversible y la pérdida de la función cerebral es fijado por algunos grupos en diez minutos,⁶⁵ sin embargo la mayoría de los protocolos comienzan la perfusión de líquidos en un tiempo inferior a este. En el protocolo de Pittsburgh se comienza a los dos minutos las maniobras encaminadas a la preservación de los órganos, otros grupos no consideran necesario esperar y comienzan inmediatamente la colocación de las cánulas a través de la femoral a nivel de la aorta con la intención de perfundir líquidos fríos para interrumpir la isquemia caliente e iniciar la isquemia fría.^{66, 87}

En el Workshop on Non-Heart-Beating Donors celebrado en Maastricht en 1995⁸⁸ se marcaron unos criterios para manejar este tipo de donantes, si se realizan maniobras de resucitación avanzadas se considera necesario esperar para iniciar las maniobras encaminadas a preservar los órganos al menos 10 minutos, en los casos en que tras la parada cardíaca no se realizaron maniobras de resucitación no es necesario esperar estos diez minutos para asegurar la irreversibilidad de la muerte.

La muerte de un individuo no se puede determinar por la muerte de todas las células sino por la pérdida de la función que ellas realizan. El diagnóstico de muerte

tiene que ser al igual que en los donantes a corazón latiente realizado por unos médicos distintos que los que pertenecen al equipo encargado de conseguir donantes. Es fundamental que el equipo reanimador realice su trabajo sin interferencias hasta el momento en que llega a la conclusión que continuar con la reanimación es inútil, comenzando en este momento la labor del coordinador de trasplantes para procurar los permisos y las acciones encaminadas a la preservación de los órganos.

Los protocolos escritos parecen importantes y deben de estar aprobados por un Comité de Ética Medica del hospital, es un importante justificante de las maniobras realizadas para la preservación de los órganos antes de obtener los permisos familiares.

El comienzo de la preservación antes de obtener los permisos familiares parece lógico, hay que tener en cuenta que es mayor el número de familias que donan que el número de las que no lo hacen, y no es lógico privarles de ejercer el derecho a ser donantes, además en nuestra legislación se reconoce que todos somos donantes a priori⁸⁹ si no hay evidencia de oposición.

1-5-3 Proceso de Isquemia reperfusión:

El proceso de isquemia reperfusión consta de cuatro etapas, en la primera se marca la diferencia entre donantes en asistolia y donantes por muerte cerebral, las demás etapas son comunes para los dos tipos de donantes.

Etapas del proceso de isquemia-perfusión:

- ✓ Preperfusión o isquemia caliente
- ✓ Isquemia fría
- ✓ Isquemia semicaliente
- ✓ Reperfusión

La repercusión de las diversas etapas en las estructuras durante el proceso de preservación se repasan en otro apartado.

A. – Etapas que marcan la evolución del injerto desde la extracción en el donante y el implante en el receptor:

A.-1-Preperfusión o isquemia caliente para los donantes en asistolia.

Este proceso se desarrolla desde el momento del diagnóstico de muerte hasta el momento en que se perfunden los órganos con la intención de prolongar su viabilidad.

Es necesario valorar, para la seguridad del proceso, los episodios de hipotensión que se producen por inestabilidad cardíaca o pérdidas sanguíneas, ya que repercuten en la posterior función del injerto. En los donantes en parada este período es muy manifiesto ya que la preservación se inicia una vez que se produce la muerte por fallo cardio-respiratorio y existe un claro período de isquemia caliente que se extiende desde el momento en que se produce la parada cardíaca hasta que se inicia la perfusión de los órganos

A.-2 -Isquemia fría

La isquemia fría es el período que se extiende entre la preservación y el inicio del implante del injerto, se provoca con la intención para preservar los órganos en las mejores condiciones. En la isquemia fría se produce una gran bajada del ATP siendo este el principal acontecimiento bioquímico en esta etapa de hipotermia sin oxígeno, ahora las necesidades de energía es necesario satisfacerlas a través de la glucólisis con el consiguiente aumento del ácido láctico⁹⁰. La membrana plasmática depende del ATP para mantener en funcionamiento la bomba de iones, la disminución de éste conduce al acumulo de iones y liquido intracelular⁹¹. La estructura formada por las células endoteliales es particularmente sensible a la isquemia fría produciéndose cambios en su forma y estructura.

A.-3 -Recalentamiento o isquemia semicaliente:

Se produce en el momento en el que se inician las maniobras para preparar el injerto para su implante. Existen dos etapas, la primera cuando se trabaja en el banco para su preparación definitiva si se trabaja en condiciones óptimas con el injerto sumergido en liquido de perfusión y rodeado de hielo, el recalentamiento en esta etapa se minimiza, la segunda etapa es cuando con el injerto en el campo quirúrgico, se inicia el implante. El recalentamiento del injerto se produce principalmente en el momento de realizar las anastomosis vasculares. La energía requerida en este momento aumenta con respecto a la consumida durante la isquemia fría, si la energía es escasa y este período se prolonga, el funcionamiento del injerto es más comprometido.⁹²

A.-4 -Reperusión

La reperusión viene marcada por el momento en que se inicia la entrada de sangre a través de la vena porta, en un principio se clampa la cava superior para que la sangre comience a circular por el injerto, drenando por la cava infrahepática posteriormente se desclampa la cava suprahepática para que se complete el drenaje sanguíneo del injerto

hacia la circulación sistémica. La reperfusión desempeña un papel importante en el desarrollo del fallo del injerto tras un tiempo de isquemia prolongado.

Durante la preservación se producen acontecimientos como el hinchado y formación de bullas en el hepatocito, pero parece que es la reperfusión quien induce la baja viabilidad de las células endoteliales, así como la activación de las células de Kupffer, acontecimientos que marcan el porvenir del injerto.⁹³

Durante la reperfusión se produce una amplificación de las lesiones que habían iniciado en las etapas anteriores por la restauración del flujo sanguíneo con la oxigenación de las células y aumento de la temperatura a la fisiológica.⁹⁴

El aporte de sangre oxigenada induce a una serie de eventos:

- ✓ Reanudación de la fosforilización oxidativa
- ✓ Eliminación de productos metabolizados deficientemente por falta de oxígeno
- ✓ Utilización de los productos resultantes del metabolismo anaeróbico
- ✓ Formación de radicales libres de oxígeno como superóxido, peróxido, hidroxilo y ácido hipocloroso que es el efecto más perjudicial para el injerto.^{95,96}

B. -Repercusión de las diversas etapas del período de isquemia-reperfusión en el injerto hepático.

El injerto hepático transplantado sufre una serie de modificaciones entre el momento en que se produce la muerte del donante y el inicio de su funcionamiento del órgano en el receptor, tanto fisiopatológicas como estructurales al nivel celular. La muerte cerebral provoca unos cambios fisiológicos que da lugar a hipoxia, modificaciones en el funcionamiento de las mitocondrias, disminución de los depósitos de glucógeno, daño en el endotelio vascular y acumulo de neutrófilos y puede iniciar la producción de radicales libres de oxígeno⁹⁷

Estos acontecimientos que se inician con la muerte del donante, se desarrollan durante el período de isquemia caliente y isquemia fría pero se manifiestan de una forma más pronunciada después de la reperfusión. Parece aceptado por la mayoría de los autores que la isquemia fría repercute primero afectando al manto de las células endoteliales de la microvasculatura sinusoidal, mientras que la isquemia caliente lo primero que afecta es a las células parénquimales.^{98,99,100,101} Las

estructuras que se afectan por los acontecimientos desarrollados por el proceso de preservación-reperusión son principalmente,^{93,102} los hepatocitos, las células endoteliales y las células de Kupffer. La afectación de la microcirculación parece importante para algunos autores en el desarrollo de fallo primario del injerto puesto que repercute al nivel de los hepatocitos^{101,103,104}

B.- 1 -Modificaciones fisiopatológicas.

La falta de aporte sanguíneo al hígado provoca una serie de acontecimientos bioquímicos que marca la posterior evolución del injerto.

La causa principal de estas modificaciones es el déficit energético y las alteraciones que se producen con la formación de radicales libres de oxígeno.

B.- 1 -1-Déficit energético

Normalmente los fosfatos de alta energía, en forma principalmente de ATP, son los encargados de proporcionar energía a la célula y se generan mediante metabolismo aeróbico, la falta de oxígeno fuerza el metabolismo anaerobio y provoca un incremento de la concentración basal de ácido láctico, estos acontecimientos condicionan una acidosis que altera la cinética normal de las enzimas y condiciona también que se creen menos enlaces de alta energía, privando a la célula de la energía necesaria para mantener la homeostasis. Esta falta de energía provoca:

Alteraciones en el balance de los iones sodio y calcio al nivel de la membrana plasmática. El sodio entra en la célula arrastrado agua, el potasio sale al intersticio y la sobrecarga de calcio provoca alteraciones funcionales de la membrana mitocondrial.¹⁰⁵

Agrupamiento de la cromatina y picnosis nuclear.

Acidosis con shock osmótico.¹⁰⁶

Formación de radicales libres de oxígeno durante la reperusión por la destrucción de fosfatos de alta energía, en el paso de Hipoxantina a Xantina a través de la enzima Xantinooxidasa.^{107,108}

Durante la reperusión estos radicales desencadenan acontecimientos encaminados a producir lesiones tisulares.^{109,110,111} El superóxido es un producto del metabolismo celular normal y es el precursor del peróxido de hidrógeno y de los radicales de hidroxilo que parece ser el mayor responsable de la lesión celular^{112,113}.

B.- 1 -2 -Los efectos causados por la generación de los radicales libres de oxígeno son de dos tipos¹¹²:

- ✓ Los causados directamente por los radicales:

La peroxidación de los lípidos¹¹⁴ puede producir la destrucción de la membrana celular y la lisis de las organelas intracelulares, parece responsable también de la formación de gránulos de lipofucsina que son depósito de lípidos peroxidados insolubles y proteínas.

El radical hidróxilo es un poderoso oxidante de ciertos residuos de aminoácidos, purinas y pirimidinas, bases de las proteínas y ácidos nucleicos, causando inactivación enzimática y rotura de cadenas de ADN.

- ✓ Los efectos indirectos de los radicales libres del oxígeno, afectando la redistribución del calcio:

En condiciones fisiológicas el calcio se distribuye dentro de la célula en el retículo endoplásmico, en las mitocondrias y en el citosol donde su concentración es menor. La concentración del calcio extracelular es cuatro veces superior al intracelular. Para mantener estos gradientes, existe una bomba de Ca^{2+} ATPasa dependiente que actúa al nivel de la membrana celular y a nivel del retículo endoplásmico, sin embargo en las mitocondrias el calcio es retenido mediante un sistema electrogénico localizado en el interior de la membrana mitocondrial y conducido por fuerzas de protones generada por el sistema de fosforilación oxidativa. Los radicales libres de oxígeno afectan a la membrana celular y a la concentración de calcio en el citosol. El incremento del calcio citosólico produce:

Una activación de las proteasas citosólicas Ca dependientes, una de esas proteasas provoca una rotura del cito esqueleto, otra de estas proteasas provoca la activación de la Xantinoxidasa a partir de la Xantinodeshidrogenasa.

La activación de la Fosfolipasa A_2 es otra consecuencia del incremento del calcio citosólico, como consecuencia se libera ácido Araquidónico desde los Fosfolípidos, sintetizando prostaglandinas, Leucotrienos y Tromboxanos.^{115,116} Los productos del metabolismo del Ácido Araquidónico inducen lesión directamente a nivel del endotelio sin y con la participación de los neutrófilos, también induce la adhesión de los neutrófilos al endotelio. El Leucotrieno B_4 y Tromboxano A_2 son potentes quimiotácticos^{117,118} y activan a los neutrófilos para producir radicales de oxígeno.^{119,120} Los Leucotrienos y Tromboxanos actúan en la microvasculatura, afectando al flujo sanguíneo y estimulando la adherencia de los leucocitos al endotelio.

B.- 2 -Modificaciones estructurales a nivel celular.

B.- 2 -1- Hepatocitos

Los hepatocitos durante el período de isquemia reperfusión sufre una serie de transformaciones de su estudio sacamos datos de cómo será el comportamiento del injerto, fundamentalmente dos cambios en la balonización y la necrosis.

Balonización

Durante la isquemia fría los hepatocitos hinchan y se forman en su superficie protusiones bullosas,^{121,122} estas protusiones se forman en la superficie subsinusoidal de los hepatocitos y se prolongan a través de fenestraciones en el endotelio en los sinusoides.¹²³ La membrana plasmática que reviste las protusiones parece tener su origen en los microvilli los cuales desaparecen. La combinación de la balonización del hepatocito y la formación de las bullas producen la obstrucción de los sinusoides. La isquemia fría prolongada (16 horas en solución de Euro-Collins) provoca una degeneración hidrópica severa que se asocia con el desarrollo de no-función primaria del injerto.¹²¹

Un patrón similar se desarrolla durante la isquemia caliente pero el proceso aparece mucho más rápido.¹²⁴

Necrosis de los hepatocitos

La necrosis de los hepatocitos se puede producir de forma aislada, de forma panlobular, o de forma pericentral, tanto una como otra se relaciona en algunos estudios con el desarrollo del posterior fallo del injerto.¹²² Para otros autores las células del parénquima hepático no son las que inducen el fallo primario del injerto, esto se pone de manifiesto en preservaciones del injerto de hasta 96 horas en Euro-Collins, con escasa mortalidad celular, consumo de oxígeno y metabolismo de carbohidratos prácticamente normal.^{100,124,125} Los estudios realizados por McKeown et al., comparando en ratas la isquemia fría con la isquemia caliente, encontró que en la isquemia caliente predominaba la afectación de los hepatocitos a nivel de las mitocondrias y posteriormente en los núcleos aparecen vacuolas frecuentemente.

Las largas prolongaciones bullosas se proyectan en la luz de los sinusoides, en ocasiones pueden ser vistos en la luz de la vena central, el manto endotelial se encuentra ocasionalmente hinchado pero permanece en la periferia de los sinusoides.¹²⁶

B.- 2 -2 - Células endoteliales:

Las células endoteliales forman una capa recubriendo la superficie subsinusoidal de los hepatocitos, durante la preservación estas células se retraen tomando una forma redondeada. Cuando el tiempo de isquemia es corto las células pueden recuperar totalmente su forma original, con períodos de preservación superiores a 24 horas durante la reperfusión se produce la destrucción de la capa sinusoidal.¹²⁴⁻¹²⁶

En estudios realizados en ratas por el grupo de North Carolina vieron que con ocho horas en solución de Euro-Collins o dieciséis en solución de UW, la reperfusión produce unas alteraciones al nivel de las células endoteliales que conducen a una vacuolización de la membrana nuclear, hinchado de las mitocondrias y lisis, rotura de la membrana plasmática y condensación nuclear. Todo ello origina la sensibilidad de las células a teñirse por "TRYPAN BLUE", lo que marca la muerte celular.^{102,124,125}

B.- 2 -3 - Activación de las células de Kupffer

Estas células se encuentran localizadas en la pared de los sinusoides, en estado de reposo la mayoría muestran una pared lisa con escasos microvillis, otras se encuentran redondeadas y con una forma irregular.¹²⁴ Cuando estas células se activan sufren una serie de transformaciones que se caracterizan por:

- ✓ En el citoplasma aparecen vacuolas y partículas de fagocitosis.
- ✓ Se forman densidades alargadas y granulaciones.
- ✓ La superficie celular se ve arrugada.
- ✓ Liberación de enzimas hidrolíticas y radicales libres de oxígeno.

In Vitro mediante cultivo de células de Kupffer sometidas a anoxia y posterior reoxigenación se apreció un incremento de radicales libres de oxígeno.¹²⁷

Los niveles en sangre del factor de necrosis tumoral (TNF) se incrementan tras la reperfusión en hígados sometidos a isquemia caliente, las células de Kupffer parecen las responsables de este aumento que induce edema intersticial pulmonar¹²⁸

Estos acontecimientos tienen lugar pocos minutos después de la reperfusión,^{124,129,130} la isquemia caliente fuerza la activación de las células de Kupffer.^{131,132}

B.- 2-4 - Células inflamatorias

La aparición de células inflamatorias es otro parámetro a valorar en estos injertos, el grado de inflamación aumenta con la revascularización y es paralelo al grado de necrosis de los hepatocitos, los patrones de inflamación que suelen aparecer son, neutrófilos o neutrófilos mezclados con linfocitos y restos celulares en los sinusoides.⁹⁸

1-5-4-Preservación hepática.

Las bases de la preservación hepática se fundamentan en impedir los efectos de la isquemia-reperfusión, para ello se realizan una serie de maniobras primarias encaminadas a conseguir la limpieza, enfriamiento del órgano, además de utilizar las sustancias que previenen la acidosis intracelular, la expansión del espacio intracelular, las lesiones de radicales libres de oxígeno, y el degrado celular. Estas actuaciones se llevan a cabo mediante los líquidos de preservación que se describen posteriormente.

A.- Bases para la preservación.

- ✓ A.-1 - Lavado del órgano
- ✓ A.-2 - Forzar la hipotermia.
- ✓ A.-3 - Prevenir la acidosis intracelular.
- ✓ A.- 4 - Prevenir la expansión del espacio intersticial.
- ✓ A.- 5 - Prevenir de las lesiones que se producen por radicales libres de O₂.
- ✓ A.- 6 - Proporcionando sustratos para la regeneración de componentes de fosfato de alta energía durante la reperfusión.

A.- 1 -Lavado del órgano.

Con la finalidad de conseguir el arrastre de elementos formes, Isoaglutininas y factores de coagulación, se perfunde el injerto mediante líquido a una presión hidrostática baja dentro del árbol vascular, tanto a través de la arteria hepática como por el sistema porta.

Un lavado defectuoso compromete la posterior función del injerto, pues persisten microagregados principalmente a nivel de la microcirculación dificultando la posterior perfusión.¹³³

Existen estudios en los cuales se trata de valorar la cantidad de líquido necesaria para conseguir el equilibrio hidrostático entre los distintos espacios del injerto: vascular, extracelular y tubular, estos estudios fueron realizados sobre riñones de perro, pero se calcula que para el hígado es necesaria una cantidad de líquido de aproximadamente seis veces el peso del órgano.¹³⁴

A. - 2 -Forzar la hipotermia.

La finalidad de conseguir una hipotermia rápida y efectiva es disminuir la actividad enzimática celular, retrasando la muerte celular. La hipotermia se logra también mediante la perfusión con líquido a 4°C por el árbol vascular del órgano. La mayoría de los órganos pueden permanecer en isquemia caliente sin perder su función por un período de unos 30-60 minutos. El metabolismo celular disminuye con la bajada de la temperatura, según la ley de Vant Hoff, cada 10°C de descenso de la temperatura se produce 1,5-2 veces de descenso en el metabolismo enzimático. Por consiguiente simplemente bajando la temperatura de los injertos a 0°C supondría una viabilidad de 12-13 horas, esto es válido para el riñón pero, para los demás órganos, tanto el hígado como en el páncreas o para el corazón, esta norma no se cumple.⁵¹

A. - 3-Prevenir la acidosis intracelular.

La isquemia y el frío estimulan la glucólisis y la glucógeno lisis, aumentando la producción de ácido láctico e hidrógeno. Esta acidosis activa las enzimas lisosómicas y altera las propiedades de las mitocondrias, en el hígado esta actividad es muy manifiesta pues la cantidad de glucosa almacenada es mayor que en otros órganos, su capacidad para transformarla también es muy superior a otros órganos. El hígado no presenta un mecanismo de la inhibición de la fosforilación de la glucosa, lo que provoca un paso constante desde el espacio extracelular según se produzca una disminución intracelular. Las soluciones de preservación hepática que contienen glucosa estimulan la acidosis, pero son impermeabilizantes. Las soluciones alcalinas y la adición de buffer con fosfato disminuyen la acidosis y mejoran el funcionamiento del hígado.¹³⁵

A. - 4-Prevenir la expansión del espacio intersticial.

La composición intracelular es rica en potasio, mientras que las células se encuentran en un medio rico en sodio y bajo en potasio, estas diferencias son

mantenidas mediante la bomba de sodio,¹³⁶ para lo cual es necesaria energía que proviene del ATP. Durante la preservación se produce una hipotermia y una anaerobiosis induciendo una pérdida de la actividad de esta bomba, el sodio no es expulsado del espacio intracelular, con lo que aumenta la entrada de líquido es lo que se denomina balonización o hinchado de las células.

La forma de prevenir este efecto es:

- ✓ Composición del líquido de preservación baja en sodio, la composición de la mayoría de los líquidos de preservación tienen una composición semejante al compartimiento intracelular, con baja concentración de sodio y alta concentración de potasio, la finalidad es minimizar las consecuencias de la anulación de la bomba Na/K.
- ✓ Sustancias impermeabilizantes celulares en las soluciones de preservación,⁵¹ con capacidad osmótica y relativamente impermeables al paso por las membranas celulares, contribuyendo a que los líquidos no penetre en el espacio intracelular. La glucosa (PM 180) utilizada en un principio se manifiesta como un buen impermeabilizante en el riñón,¹³⁷ es el impermeabilizante que contiene el líquido de Eurocollins,¹³⁸ sin embargo en hígado y páncreas penetra en las células metabolizándose en lactato e hidrógeno. La sucrosa (PM 342) fue utilizada como impermeabilizante en un líquido de preservación de tipo extracelular, con buenos resultados.¹³⁹ El manitol es utilizado para prevenir las lesiones por isquemia caliente en riñones,¹⁴⁰ también es un buen impermeabilizante. En la solución de Belzer como impermeabilizantes se utiliza lactobionato (anión de 358 Daltons de masa molecular) y rafinosa (sacárido de 594 Daltons) asociados con fosfato.¹⁴¹ Los coloides (albúmina y almidón) no parecen importantes en la preservación hepática, aunque si parece aconsejable su uso en la preservación pancreática y cardiaca.

A.- 5-Prevenir de las lesiones que se producen por radicales libres de O₂.

Con la finalidad de evitar las lesiones que causan los radicales libres de oxígeno se estudiaron diversas sustancias con un efecto supuestamente protector, con la intención de utilizarlos junto con los líquidos de preservación.

Viendo como las lesiones por preservación se producían principalmente en el momento de reoxigenación de los tejidos, se pensó en la posibilidad de que estas lesiones se encontrasen mediadas por los metabolitos reactivas del oxígeno.¹⁴²

Muchas células utilizan el potencial oxidativo del oxígeno a nivel del citocromo para generar ATP, produciendo su reducción completa a agua. Este proceso se denomina glicólisis aeróbica.¹⁰⁹

Los radicales libres se caracterizan por tener un número impar de electrones y son: Superóxido (O_2^-) Peróxido (H_2O_2) e Hidroxilo ($-HO$). Pueden contribuir al trastorno de la función y necrosis celular que acompaña a la reperusión de los tejidos isquémicos.^{109,143,144,145}

Para proteger al organismo de los radicales libres de oxígeno existen diversos mecanismos:

A.- 5 -1 -Sustancias que previenen el grado celular

Clorpromacina treinta minutos antes de la inducción de la isquemia, reduce el acumulo intracelular de iones de calcio. Parece que previene la degradación de Fosfolípidos de la membrana.¹⁴⁶

Somatostatina tiene también un efecto citoprotector¹⁴⁷ aumentando selectivamente el PGI_2 Prostanoides plaquetario,^{147,148} en estudios con ratas no se aprecian modificaciones en las concentraciones plasmáticas de Arginina tras la administración de Somatostatina 14.¹⁴⁹

A.- 5 -2 - Sustancias con efecto depredador de los radicales:

Coenzima Q_{10} administra previamente a la isquemia parece preservar la función mitocondrial, su efecto parece ser como depredador de radicales libre de oxígeno previniendo la peroxidación de los lípidos de la membrana celular^{108,150,151}

Alfa tocoferol^{108,152} tiene también un efecto de depredador de radicales.

Glutación (GSH), administrado 24 horas antes de la isquemia acelera la formación de ATP en ratas y disminuye la peroxidación.^{108,150,153} Su efecto parece corresponder a un importante depredador de radicales.

Alopurinol inhibidor de la Xantinaoxidasa que actúa disminuyendo la producción de radicales libres durante la reperfusión.^{151,154}

A.- 5 -3 -Mecanismos protectores contra lesiones por reoxigenación:.

Metilprednisolona. Actúa al parecer como estabilizador de la membrana de los lisosomas.^{151,155}

La superóxido dismutasa(SOD), entra dentro de los mecanismos enzimáticos, se encuentra en mitocondrias y citosol, es la encargada de eliminar el radical libre superóxido.

Para destruir el peróxido actúan: **Catalasas, varias Peroxidasa y Glutatión Reductasa.**

Hidroxi-peróxido Glutatión Peroxidasa, parece actuar en la destoxicación de los fosfolípidos de la membrana peroxidados.

La Fosfolipasa A₂, parece tener una acción similar al anterior.

Similar a estos mecanismos parece que existen otros reparadores de las lesiones oxidativas del DNA y las proteínas.¹¹²

Existen otros mecanismos protectores no enzimáticos contra los radicales libres de oxígeno como son: Alfa-tocoferol, beta-caroteno, Retinol, Ácido Ascórbico, Bilirrubina, Ácido Úrico, Ubiquinona, La DT Diaforasa y otros.

A.- 6 -Proporcionando sustratos para la regeneración de componentes de fosfato de alta energía durante la reperfusión.

Durante la isquemia fría el ATP se degrada rápidamente en adenosina, inosina e hipoxantina. La reperfusión del órgano precisa energía para que funcione la bomba de sodio y otros procesos metabólicos.⁵¹ La adenosina y la adenina-ribosa se utilizan como sustrato para la formación de ATP.¹⁵⁶

B.- Líquidos de preservación:

La finalidad de utilizar líquidos de preservación es conseguir que el órgano se deteriore lo menos posible por el proceso de isquemia reperfusión y su composición se fundamenta en las bases de la preservación.

Estos líquidos fueron evolucionando a lo largo de los años.

En los comienzos de trasplante hepático el injerto era preservado en *plasma sanguíneo o en suero fisiológico*, posteriormente la *solución de Eurocollins* se mostró como más efectiva, permitiendo hasta ocho horas de preservación,¹⁵⁷ esta solución

derivaba de la desarrollada por Collins para la preservación renal,^{137,158} presenta alta concentración en potasio y baja concentración de sodio y calcio, tiene también una alta concentración de glucosa.

La solución de la *universidad de Wisconsin (UW)* que Belzer propone supuso un aumento del tiempo de preservación, siendo la mas utilizada actualmente. Con esta solución es posible preservar el injerto hasta veinte cuatro horas^{51,52} La composición corresponde como en el Eurocollins a la intracelular, con un potasio y un magnesio altos, con un calcio y un sodio bajo, asociado el fosfato como principal buffer. La adenosina es la encargada de promover la formación de ATP, su contribución a la importancia del liquido de UW en la preservación de los injertos está respaldada por algunos estudios,^{110,159} sin embargo otros no muestran diferencias significativas en la mejora de los resultados.¹⁶⁰ Lo que es necesario tener en cuenta durante la reperfusión es que la adenosina puede causar extrasístoles transitorias.¹⁶¹ El almidón hidroxietil de alto peso molecular para el edema es el compuesto mas caro del liquido de preservación, en diversos estudios realizados su importancia para la preservación de los injertos es controvertida.^{52,160,162,163,164} En donde no parece haber dudas sobre su eficacia es en la preservación pancreática y cardiaca.^{165,166} El glutatión (GSH) se manifiesta como importante en la preservación hepática,^{160,166} el glutatión usado en el liquido de preservación de la UW es el GSH pero rápidamente se oxida a GSSG, es más efectivo el GSH que el GSSG para la preservación hepática,¹⁶⁷ algunos grupos añaden el glutatión en polvo inmediatamente antes de la preservación del injerto. La rafinosa y el lactobionato reemplazan a la permeable glucosa para prevenir el edema durante la preservación, en estudios se comprobó que el lactobionato es uno de los compuestos más importantes en el líquido de preservación mientras que la rafinosa no se muestra como indispensable.^{54,160}

Otros líquidos de preservación que son utilizados por algunos grupos con resultados favorables son:

Solución de Histidina, Triptófano y Ketoglutarato (HTK). Esta solución se caracteriza por tener una alta capacidad buffer¹⁶⁸ y su capacidad de preservación de injertos hepáticos es buena hasta las veinticuatro horas, después de cuarenta y ocho horas de preservación la de UW es superior.^{160,169,170}

Solución SLS, contiene Lactobionato, Sucrosa, Clorpromacina, con sodio alto, existen estudios controvertidos comparándola con la solución de la UW.^{171,172,173}

Solución de la Universidad de Carolina del Norte para el aclarado de injerto. Esta solución que contiene antioxidantes (Glutación, Desferrosamina, Alopurinol), precursores del ATP (fructosa, glucosa, insulina, adenosina), bloqueantes de los canales del calcio(nicardipina), soporte osmótico con coloides(Hidroxietil almidón).⁹³ Esta solución se muestra efectiva como enjuague del injerto antes de la reperfusión y utilizada a temperatura ambiente parece para disminuir las resistencias vasculares.¹⁷⁴ Los mecanismos por los cuales mejoran los resultados en los injertos enjuagados con suero de Carolina son diversos y en estudio, la supresión de las citokinas producidas por las células de Kupffer parece uno de los mecanismos importantes.^{175,176} el aporte de la adenosina en cantidades reducidas parece importante.^{177,178} Esta solución pierde eficacia si no tiene los antioxidantes (Glutación, Desferrosamina y Alopurinol) o cuando el pH es superior a 7,4.¹⁷⁹

1-5-4-Disfunción primaria del injerto.

A. -Conceptos para definir el funcionamiento del injerto en el postoperatorio inmediato:

Con la intención de valorar el comportamiento futuro del hígado trasplantado, algunos autores trataron de conceptualizar su comportamiento en relación con datos obtenidos en los primeros días del trasplante, los conceptos manejados con mayor frecuencia en la literatura son, Disfunción Primaria del Injerto”DPI”en relación con los injertos que presentan una función irregular en los primeros días del postoperatorio, cuando estas disfunción conduce a la muerte del paciente si no se retrasplanta se le llama No Función primaria (Primary non Función”PNF”), cuando la DPI se fundamenta en alteraciones en el función del injerto pero no necesita retrasplante la literatura lo cataloga como Inicial Pobre Función (Initial Poor Function “IPF”) esta la mayoría de los autores la catalogan por el patrón bioquímico, para lo cual definiremos el patrón bioquímico Normal.

A.- 1 -Patrón bioquímico normal

Se puede considerar como patrón bioquímico normal en el postoperatorio inmediato el que, mantiene unas cifras de transaminasas alrededor de 1000U/L. durante los tres primeros días, luego los niveles bajan progresivamente durante las dos primeras semanas. La función de síntesis conservada con una actividad de la protrombina por encima del 50%. La GGT y la FA descienden paralelamente manteniendo cifras

normales hasta la segunda semana momento en que se elevan acompañadas del aumento de la colemia, en relación con la aparición del primer episodio de rechazo.²⁰⁴

A.- 2 -Disfunción Primaria de Injerto(DPI)

Se utilice para definir todos los injertos con una función deficiente en el postoperatorio. Algunos autores tratan de precisar que no todas las DPI con fallo primario del injerto se producen en la primera semana, ni todas las muertes que se producen en la primera semana son causadas por el fallo del injerto, sino que existen otras causas como hemorragias, sepsis, patología cerebral, infartos de miocardio, oclusiones arteriales que no pueden ser consideradas como fallos primarios del injerto sin serlo.⁹⁰ Estudios que analizan lo que ocurre con los pacientes que presentan (DPI) muestran un aumento de perdidas de injertos en los primeros tres meses.¹⁸⁰ También parece existir un incremento del rechazo en el postoperatorio.¹⁸⁴

A.- 3 -No Función Primaria (Primary Non Función: "PNF").

El primero en utilizar este concepto fue Shaw¹⁸¹ pero sin una definición clara, Ploeg aplica este termino a los pacientes trasplantados que durante la primera semana mueren o necesitan un retrasplante El patrón clínico de la Disfunción Primaria del Injerto(DPI) que conduce a PNF se caracteriza por hipoglucemia, coagulopatía, ausencia o escaso flujo de bilis, transaminasas altas y aumentando en el suero, coma, fallo renal y shock cardiogénico. Sin retrasplante el paciente muere generalmente en la primera semana del postoperatorio,¹⁸⁰ otros autores incluyen muerte y retrasplante hasta dos semanas. El porcentaje de PNF en los diversos estudios es bastante similar: 6,9 para Makowka et al.,¹⁸² 2,7 para More et al.¹⁸³ y de 6,2 para Ploeg et al.¹⁸⁰

A.- 4 - Pobre Función Inicial (Initial poor function "IPF").

Se denomina IPF cuando el injerto manifiesta un grado de lesión importante en el postoperatorio pero mantiene una función suficiente para la vida. Inicialmente definida por Makowka et al. Como AST mas de 3500 UI/L o ALT superior a 2500 UI/L en el postoperatorio inmediato.¹⁸² Mor et al. la definen como AST mas 2000UI/L en el primer día del postoperatorio.¹⁸³ Howard et al lo definen como AST superior a 2000 UI/L (Severo daño de preservación).¹⁸⁴ En la definición de Greig et al. AST superior a 2500UI/L con una producción de bilis escasa y una coagulación empeorando.¹⁸⁵ Ploeg lo define como AST por encima de 2000UI/L, tiempo de protrombina superior a 16

segundos y los niveles de amoniaco superior a 50 $\mu\text{mol/L}$ en los días entre el segundo y el séptimo.¹⁸⁰ Para Strasberg et al. hay que considerar la primera semana y valora AST superior a 1500UI/L asociada a un tiempo de protrombina superior a 20 segundos.¹⁸⁶ En estos estudios a pesar de ser diferentes los parámetros utilizados para el diagnostico de pobre función inicial los diversos estudios obtienen resultados similares.15% para Makowka, 13,2% para Mor, de 16,4% para Ploeg y 20% para Strasberg.

B.- Factores que influyen en el funcionamiento del injerto:

Existen factores potenciales que indican riesgo para la función inicial del órgano¹⁸⁶

B.- 1 -Los factores del donante

Hígado Graso: Las causas que inducen a Hígado graso son: alcoholismo, obesidad, malnutrición y la edad,^{121, 187} los cambios grasos de grano grueso pueden ser apreciados macroscópicamente durante la cirugía, su apreciación es más fácil tras la reperusión mediante compresión del órgano, sin embargo la infiltración grasa es valorada mediante la microscopia óptica con tinción de hematoxilina y eoxina. Teniendo en cuenta el porcentaje de hepatocitos que contienen grasa:

Infiltración grasa presente en mas del 66% de los hepatocitos, parece ser un factor absoluto de riesgo.¹²¹

Cuando la infiltración grasa es (<60%), se denomina moderada si es el único factor de riesgo los resultados parecen ser buenos pero si se asocia a otros factores de riesgo relativo los resultados son mucho peores.¹⁸⁷

Edad: Con la edad parece apreciarse un riesgo relativo pero no se comporta como un riesgo absoluto, Es aconsejable la utilización de estos injertos pero es necesario tener en cuenta la asociación con otros riesgos relativos, pues en estos casos los riesgos parecen aumentar.^{186,188}

Días de estancia en UCI: Algunos estudios encuentran relación entre los días de estancia en UCI y el comportamiento posterior del injerto sin embargo en otros estudios esta relación no se aprecia.^{180,183}

Bioquímica del donante: Los resultados aquí también son contradictorios algunos autores encuentran relación entre el comportamiento del injerto con los aumentos en el donante de Bilirrubina,¹⁸⁵ transaminasas y sodio.¹⁸⁹ Una razón por la que este test de

función hepática puede ser insensible para valorar el posterior comportamiento del injerto puede ser que lo que valoran principalmente es la función del hepatocito mientras que lo que daña principalmente la preservación es la microcirculación.⁹⁰

Uso de vasopresores en el donante: La dopamina a dosis bajas no parece afectar al injerto, cuando se asocia con otros vasopresores parece empeorar los resultados a corto plazo,¹⁹⁰ cuando la dopamina se utiliza por encima de 15µg/kg/min, y se asocia a hipotensión y el comportamiento del injerto es peor.

Los otros factores del donante no parecen mostrar relación con el comportamiento temprano del injerto.⁹⁸

B.- 2 -Factores del receptor con probable relación con la evolución inicial del injerto

Retrasplante: Ploeg ve una correlación entre IPF con el retrasplante.¹⁸⁰

Estadio clínico: en algunos estudios se encuentra diferencias entre los pacientes en según su estadio clínico¹⁹⁰ mientras que otros estudios no confirman esta correlación.¹⁸⁰

Fallo renal: Ploeg¹⁸⁰ lo relaciona con IPF, los criterios utilizados son creatinina superior a 2,5mg/dl y producción de orina menor de 500ml/24hr

Los demás factores del receptor no mostraron clara relación con el fallo inicial del injerto.

B.-3 - Factores perioperatorios.

Isquemia caliente: Los estudios sobre isquemia caliente realizados en pacientes que se le clampa el flujo al hígado en intervenciones de cirugía hepática, demuestran que si el clampaje se prolonga mas de una hora se asocia con fallo hepático.¹⁹¹ Estos datos son compatibles con los estudios experimentales,^{152,192,193} los picos de transaminasas que se producen tras períodos de isquemia caliente parecen beneficiarse con glucosa intraportal.¹⁹⁴

Isquemia fría, el daño que se produce en la microcirculación se puede retrasar cuando la preservación se realiza con liquido de UW,^{90,195} el tiempo de preservación por encima de las 12 horas es un factor relativo de inicial pobre función,^{180,196} por encima de las 34 horas es un factor absoluto de IPF.¹⁹⁷

Reducción del injerto hepático: Esta técnica parece asociarse con inicial pobre función según los estudios de Ploeg et al, pero hay que tener en cuenta que la preparación del injerto puede llevar entre 2-3 horas y posiblemente el mantenimiento de la temperatura no sea él optimo.¹⁸⁰

La cantidad de sangre utilizada durante el trasplante parece no tener relación con el temprano funcionamiento del injerto.¹⁸⁰

Otros factores no parecen tener relación con el funcionamiento del injerto como son: tiempo de anestesia, tiempo de cirugía, tiempo con bypass ni con tiempo de las anastomosis.

C.- Valoración temprana de la función del injerto.

Tratar de buscar datos objetivos tempranos que nos indiquen si un injerto hepático va a funcionar correctamente es un objetivo de todos los grupos de trabajo, los datos que parecen importantes para predecir la buena o mala función del injerto son:

C.-1 -Aspecto macroscópico

El aspecto macroscópico nos permite de forma precoz formarnos una opinión de su comportamiento futuro, son tres los momentos importantes para estudiar detenidamente el aspecto macroscópico:

En el donante, un porcentaje alto de hígados es rechazado por el aspecto macroscópico en el momento de realizar la laparotomía en el donante, siendo valorable en este momento el color, la forma, la consistencia.

Tras la perfusión con líquidos de preservación la esteatosis se manifiesta con mayor claridad manifestando una coloración amarillenta del injerto

En el momento de la reperfusión y posteriormente el hígado nos proporciona datos que pueden incitar a pensar en su evolución futura, el grado de congestión nos indica la función de la anastomosis de las suprahepáticas con la vena cava, en este momento se valora también la producción de bilis y su aspecto.¹⁹⁸

C.-2 -Valoración clínica

La valoración clínica del paciente trasplantado en sus fases iniciales nos permite pensar en el comportamiento del injerto y en la necesidad de realizar otro tipo de exploraciones. Es necesario valorar el estado mental, hemodinámico y metabólico.

C.-3 -Valoraciones analíticas:

✓ Bilirrubina

La bilirrubina se compone de un tetrapirrol lineal, derivado del hem de la hemoglobina y otras proteínas que contienen hem como catalasas y citocromos. Desde

que Van den Bergh y Muller en 1916 encontraron dos tipos de bilirrubina, y Malloy y Evelyn en 1937 lograron cuantificar en el plasma una bilirrubina con reacción directa y otra indirecta, la bilirrubina se utiliza como prueba diagnóstica del funcionamiento hepático.¹⁹⁹

La bilirrubina puede elevarse por causas: Hepáticas ya sea por causas hepatocelulares con aumento de bilirrubina indirecta, o por causas que producen colestasis intrahepática generalmente por medicamentos. Otra causa que induce el aumento de la bilirrubina es por problemas obstructivos o posthepáticos,²⁰⁰ este tipo es el que se suele observar en el postoperatorio del trasplante hepático y se produce por estenosis u obstrucción de la vía biliar.

Entre la cantidad de bilirrubina en el preoperatorio fue significativamente mayor en los pacientes que fallecen respecto a los supervivientes (28,8 mg/100ml, 14,1 mg/100ml).²⁰⁰ Durante el postoperatorio inmediato las cifras de bilirrubina también se manifiestan superiores en los pacientes que presentan complicaciones respecto a los que no las presentan (23,7 mg/100ml, 10,4 mg/100ml).²⁰¹

Para evaluar la bilirrubina durante el postoperatorio es preciso tener en cuenta el grado de bilirrubina del paciente en el preoperatorio, las causas más frecuentes del aumento de la bilirrubina durante el postoperatorio inmediato son: lesión isquémica, obstrucción biliar, sepsis, rechazo, hepatitis.²⁰²

✓ Aminotransferasa de aspartato (AST)

En 1955 De Ritis y cols. encontraron elevaciones de amino transferasa de aspartato sérica en pacientes con hepatitis vírica, anteriormente se conocía como transaminasa glutámico-oxaloacética (GOT).¹⁹⁹ Esta enzima se encuentra en concentraciones elevadas en hígado, en músculo cardíaco, en músculo esquelético, en riñón, en páncreas y en los hematíes. Al lesionarse estos tejidos se libera a la sangre aumentando sus niveles séricos.²⁰³ Elevaciones por debajo de 10 veces su concentración normal se encuentra en cirrosis hepática, hepatitis alcohólica, hepatitis crónica activa, en el hígado metastático también se presentan elevaciones moderadas.

Elevaciones de 10 veces su valor normal se produce en ictericia obstructiva y en colestasis intrahepática.

Elevaciones de 100-200 veces su valor se produce en necrosis hepática aguda. En el transplantado hepático en el postoperatorio es de esperar unos niveles de sobre 1000U/L en los tres primeros días, como consecuencia de la liberada de los hepatocitos

lesionados en el trasplante para posteriormente descender con tendencia a normalizarse pasadas las dos primeras semanas.²⁰⁴

✓ La Aminotransferasa de alanina (ALT).

Con anterioridad llamada transaminasa glutámico-pirúvica(GPT), la ALT existe principalmente en el hígado, existiendo en bajas concentraciones en los demás tejidos. Su comportamiento en las hepatitis víricas, en las necrosis hepáticas, en las colestasis tanto obstructivas como intrahepáticas, los niveles de ALT se elevan de forma paralela a la AST. Estas elevaciones son menos manifiestas en cirrosis e hígados metastáticos. Sus elevaciones parecen reflejar mas específicamente las enfermedades hepáticas.²⁰³

En el trasplante hepático sus elevaciones normales también se producen durante los tres primeros días para bajar posteriormente de forma progresiva.

Los procesos patológicos que producen aumento de las transaminasas en el postoperatorio del trasplante hepático son:

Fallo primario del injerto

Lesión de isquemia

Rechazo agudo con elevaciones importantes de hasta 2000UI

Rechazo crónico

Hepatitis víricas

Complicaciones biliares.²⁰⁵

Generalmente AST y ALT tienen valores paralelos, salvo en la hepatitis alcohólica en la que la proporción AST/ALT puede ser mayor de 2 por la deficiencia del cofactor 5-fosfato de piridoxina.¹⁹⁹

✓ Fosfatasa Alcalina (FA)

Enzima derivada de la membrana plasmática, que hidroliza ésteres sintéticos de fosfato, su origen tiene lugar en hueso, intestino, hígado y placenta. En el hígado se encuentra en las microvellosidades de los conductillos biliares y en la superficie sinusoidal de los hepatocitos.

Su aumento en ausencia de embarazo y enfermedad ósea suele indicar trastorno funcional de las vías biliares, aumentos ligeros o moderados suelen indicar trastornos

del parénquima hepático, si los aumentos son entre 3 y 10 veces su valor indica ictericia obstructiva sea intra o extrahepática.¹⁹⁹

En los pacientes trasplantados aparece elevada en rechazo agudo, crónico, toxicidad por CyA y obstrucción biliar.²⁰⁵

✓ Gamma-glutamyltranspeptidasa (GGT)

Enzima que cataliza la transferencia del grupo gamma-glutamil de pépticos como el glutatión a otros aminoácidos, y puede participar en transporte de aminoácidos. En las hepatopatías guarda relación con las cifras de (FA), es un indicador muy sensible de enfermedad de vías biliares. Se encuentra elevada en afecciones pancreáticas, cardíacas, renales y pulmonares, se propuso como marcador del alcoholismo pero es poco específica, en la diabetes se encuentra elevada.¹⁹⁹ El nivel de GGT, el de FA y el de la bilirrubina en ocasiones, se encuentra francamente elevado en el rechazo crónico.²⁰⁵

La GGT y la FA tienen un curso paralelo descendiendo hasta la segunda semana donde se produce un pico por rechazo, coincidiendo con un aumento de la bilirrubina.²⁰⁴ Este puede ser considerado como un patrón bioquímico de comportamiento normal dentro del trasplante hepático.

✓ Lactato-deshidrogenasa(LDH)

Las elevaciones de la LDH y de sus isoenzimas son poco específicas para las enfermedades hepáticas, encontrándose con elevaciones moderadas en las primeras fases de la hepatitis vírica, en los procesos hepáticos malignos, en la enfermedad metastásica.¹⁹⁹

✓ Tiempo de protrombina (TP).

El tiempo de protrombina mide la conversión de protrombina a trombina en presencia de tromboplastina y calcio. Para que la formación de trombina sea normal requiere una síntesis hepática normal y una buena absorción de vitamina K. Una lesión grave aguda o crónica del parénquima hepático puede prolongar el tiempo de protrombina por síntesis defectuosa de los factores de la coagulación. Como estas proteínas tienen una vida media más corta que la albúmina, el tiempo de protrombina suele ser un marcador de daño hepático grave más precoz que la albúmina.¹⁹⁹

✓ **Albúmina**

El hígado es el único lugar de síntesis de esta proteína, donde se producen sobre 15g/día, su vida media es sobre 20 días. Los niveles bajos de albúmina son frecuentes en pacientes con enfermedad hepática crónica posiblemente a consecuencia de síntesis defectuosa. Cuando el déficit se asocia con ascitis es necesario valorar el aumento del volumen plasmático. La vida media de esta proteína disminuye a 7 días cuando se producen traumatismos o fiebre.¹⁹⁹

Las diversas patologías hepáticas pueden afectar al nivel de albúmina de diversas maneras, en las hepatopatías crónicas la correlación es directa entre gravedad de la hepatopatía y el grado de hipoalbuminemia. En la necrosis hepática subaguda, la hipoalbuminemia suele ser de moderada a intensa. En las hepatitis la albúmina se suele modificar poco.²⁰³

La mortalidad postrasplante inmediata (menos de 30 días) no parece correlacionarse con la hipoalbuminemia operatoria, sin embargo esta parece relacionarse con la mortalidad tardía.²⁰⁶ Otros autores no encuentran relación ni temprana ni tardía con la hipoalbuminemia.²⁰⁰

C.- 4 -Nuevos métodos para predecir el funcionamiento del injerto:

Niveles de Adenina en el injerto: Trabajos realizados por Lanir y col. en 1988, que consistían en medir las concentraciones de ATP y la carga energética en los injertos hepáticos al final de la preservación, comprobando una relación entre niveles bajos de ATP con el desarrollo de dificultades en el postoperatorio o no función primaria del injerto.²⁰⁷ Otros estudios aportan resultados similares.²⁰⁸

✓ **AKBR(Arterial Ketone Body Ratio):** Consiste en medir el potencial redox de las mitocondrias hepáticas, que se correlaciona con la carga energética hepática. La disminución de KBR es indicativa de progresiva reducción en las mitocondrias de NAD⁺/NADH.²⁰⁹ Estudios realizados en donantes en muerte cerebral comprobaron una relación entre los niveles de AKBR bajos y el desarrollo de fallo primario del injerto,²¹⁰

son necesarios estudios para comprobar la relación entre esta determinación y la posibilidad de desarrollar inicial pobre función del injerto.

✓ MEGX: Es un metabolito de la lidocaina el cual se produce en el hepatocito y su formación esta mediada por el citocromo P-450. Niveles altos significan buena función del hepatocito. A los 15 minutos de inyectar lidocaina los niveles deben de estar por encima de 80-90 $\mu\text{g/L}$, trabajos realizados por Oellerich et al. con 171 donantes, encontrando que los que tenían menos de 90 $\mu\text{g/L}$ tenían una supervivencia menor a los 90 días,²¹¹ cuando los niveles bajaban de 50 $\mu\text{g/L}$, en 13 de 19 trasplantes realizados en estas condiciones murieron en las tres primeras semanas. sin embargo la efectividad como pronostico para el funcionamiento inicial del injerto parece dudoso. En los estudios realizados por Reading en 1993 no encuentra correlación entre los niveles de MEGX con fallo primario del injerto ni con inicial pobre función. Los resultados de los pacientes con niveles por encima de 80 $\mu\text{g/L}$ tenían resultados similares a los que tenían los niveles por debajo de 80 $\mu\text{g/L}$.²¹²

✓ (Lecitín colesterol Acil Transferasa) LCAT es una glucoproteína producida en el hígado para salir al plasma donde cataliza la esterificación del colesterol y parece existir una correlación entre la actividad de LCAT y la función del injerto en el postoperatorio, Shimada y col. saca sangre de la porta inmediatamente antes del clampaje en el donante, vio que cuando los niveles de LCAT eran bajos el comportamiento del injerto era peor.²¹³

✓ Glutación-S Transferasa (GST) Son enzimas destoxicantes que se encuentran ampliamente distribuidas, en el hígado se encuentra en forma catiónica B en forma de proteína para la unión con la bilirrubina (ligandina), tiene interés como índice altamente sensible de la integridad celular. Aparece elevada en Hepatitis de origen vírico y medicamentoso con valores 5-10 veces superiores a los de las transaminasas.¹⁹⁹

Todos estos métodos están diseñados para valorar el hígado en el donante con muerte cerebral, ninguno de ellos ha sido validado en el estudio de la viabilidad hepática en el donante en asistolia, que es el que nos interesa en nuestro estudio.

2 - JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Actualmente continúan muriendo pacientes en la lista de espera de trasplante hepático por falta de donantes, lo que justifica que tratemos de buscar la forma de aumentar el número de injertos disponibles. Los donantes en parada cardio-respiratoria parecen una vía importante para incrementar el número de donantes tanto en cantidad como en calidad de los injertos que actualmente está siendo utilizada solo por algunos grupos con dispar comportamiento de estos injertos

A pesar de que la tasa de donación en España es la más elevada del mundo y que las cifras de donación se incrementa en los últimos años, las indicaciones de trasplante hepático aumentan de forma más pronunciada lo que implica un incremento de las muertes en lista de espera pasando de 6,7% pacientes por millón de población en los últimos 10 años a 7,6% pmp en 1999.¹ Los donantes en parada nos parecen una vía apropiada para incrementar el número de injertos, este incremento podría cifrarse entre un 10 y un 20% si tenemos en cuenta los datos de los grupos que aprovechan clínicamente este tipo de donaciones.³⁹

Se calcula que en los Estados Unidos se producen unas 360000 muertes o incapacidad permanente en un lapso de pocas horas del ingreso y otras 180000 sufren un riesgo inmediato.²¹⁴

Donald Turkey hace referencia a la distribución trimodal de las muertes por traumatismo, agrupando en un primer pico las "muertes inmediatas" que corresponden a las personas que mueren muy pronto tras la lesión estas generalmente se producen por laceraciones del cerebro, tallo cerebral, porción superior de la medula espinal, corazón o algunos grandes vasos. El segundo pico "muertes tempranas" corresponde a los pacientes que mueren en las primeras horas de la lesión, la mayor parte de estos fenecen por hemorragias internas graves o múltiples lesiones menores que causan pérdidas de sangre. El tercer grupo "muerte tardía" corresponde a personas que mueren varios días o semanas después del accidente casi siempre por infección o fallo orgánico múltiple.²¹⁵ Incrementar el número de donantes a costa de las muertes en los primeros momentos generalmente por sangrado activo parece una forma efectiva de incrementar el número de donantes.

Es por ello que la realización de este estudio tiene intención de poder contribuir al conocimiento de este tipo de injertos.

3-DEFINICIÓN DE OBJETIVOS DEL ESTUDIO:

3-1-Hipótesis:

La supervivencia, complicaciones y perfil analítico en el trasplante hepático son similares en cerdos que han recibido injertos de donantes en parada en comparación con donantes a corazón latiente.

3-2-Objetivo principal:

Cuantificar la supervivencia, complicaciones, y perfil analítico del trasplante hepático en cerdos que han recibido injertos de donantes en parada comparado con donantes en corazón latiente.

4-MATERIAL Y METODOS

4-1-Periodo de estudio

El estudio se realiza entre Diciembre del año 1993 y Febrero de 1995. Este periodo corresponde al que utilizó el equipo de trasplante hepático del hospital Juan Canalejo para ultimar su entrenamiento e iniciar el trasplante clínico.

4-2-Recursos humanos

El personal para la realización de este trabajo de experimentación animal, es el mismo que el que realiza el trasplante clínico en el Hospital Juan Canalejo en su parte quirúrgica. Dicho equipo está formado por médicos, enfermeras; con la colaboración del personal del quirófano experimental que está compuesto por: veterinario, enfermeras y personal auxiliar

4-3-Instalaciones y equipamiento

Las instalaciones utilizadas para la realización del experimento son las del Quirófano experimental del Hospital Juan Canalejo, que esta pertrechado con los siguientes aparatos:

- ✓ Respirador volumétrico con mezcla de gases: Sulla 800V de la casa Drägerwerk AG Lübeck
- ✓ Monitor que permita el control de pulso y dos presiones: UM 3.1 de Drägerwerk AG Lübeck
- ✓ Capnógrafo: MM206CN de Artema

4-4-Preparación previa al estudio

Antes del inicio del estudio se realizan 26 trasplantes sin pretender la supervivencia de los animales, con la intención de conseguir la destreza apropiada para la realización de la técnica. Los animales y resultados de este periodo de entrenamiento no se incluyen en el estudio posterior

4-5-Animales de estudio

En el estudio se utilizaron 76 cerdos de la raza Large-White con pesos comprendidos entre 20-25 Kg. de los cuales 38 se utilizan como donantes y 38 como receptores. Estos animales pertenecían todos a una misma granja(Coren) y fueron donados para la realización del estudio.

4-6-Justificación del tamaño muestral

En este estudio se realizan 38 trasplantes de los cuales:

En el grupo de muerte con corazón latiendo (G1) se incluyen 22 animales, siendo $n = 22$

En el otro grupo de muerte con corazón parado (G2), se incluyen 16 animales, siendo $n = 13$

Dicho tamaño muestral, permite detectar diferencias de un 45% entre los dos grupos (55% vs 10%), para un riesgo alfa de 0.05 y un poder estadístico del 80%, para un planteamiento bilateral.

Para evitar posibles sesgos de selección e interpretación en el estudio los análisis de supervivencia fueron realizada con todos los animales intervenidos.

4-7-Criterios de exclusión:

Tras al asignación al grupo de intervención no se ha excluido a ningún animal

4-8-Grupos de intervención

Se realizan 38 trasplantes. Los cerdos manipulados como donantes se dividen en dos grupos:

4-8-1-Grupo1(G1):

La extracción del injerto se realiza tras la anestesia del animal manteniendo en todo momento el corazón latiendo, a este grupo control se le asignan 22 cerdos.

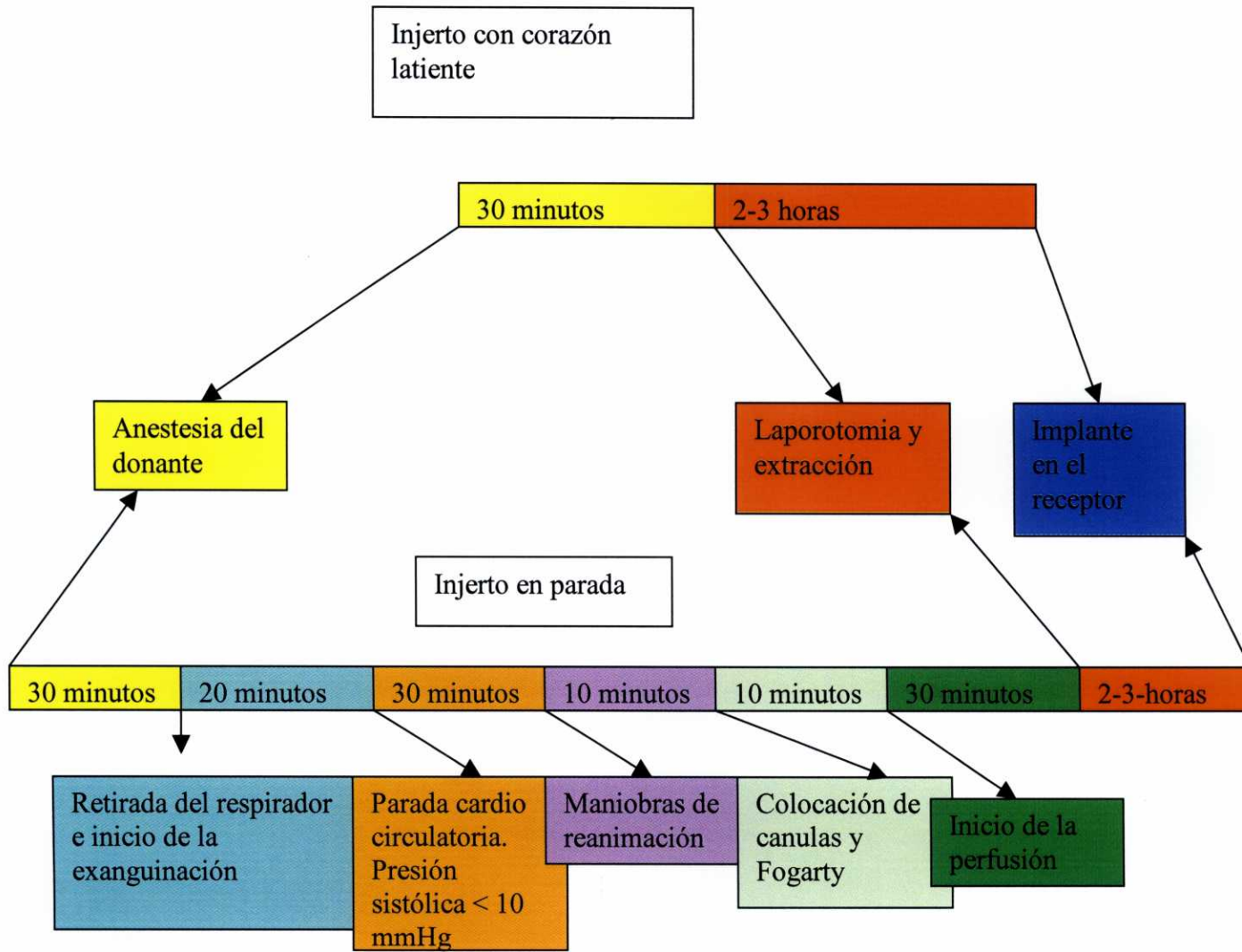


Diagrama de representación de los tiempos de isquemia de los dos tipos de injertos.

4-8-2-Grupo2(G2):

En este grupo la extracción se realiza tras mantener al animal sin latido cardiaco por un periodo de treinta minutos y un tiempo añadido empleado en reanimar al animal(10 minutos) y en canalizar la otra arteria femoral. La muerte se produce por desangrado. Tras la anestesia del animal, se retira el respirador, se inyectan bloqueantes musculares y se canaliza una arteria femoral por donde se extrae sangre hasta el momento en que el animal deja de latir o la tensión arterial sistólica esta por debajo de 10mHg, parada cardiocirculatoria, esta situación se mantiene durante un periodo de treinta minutos. Ilustración 1.

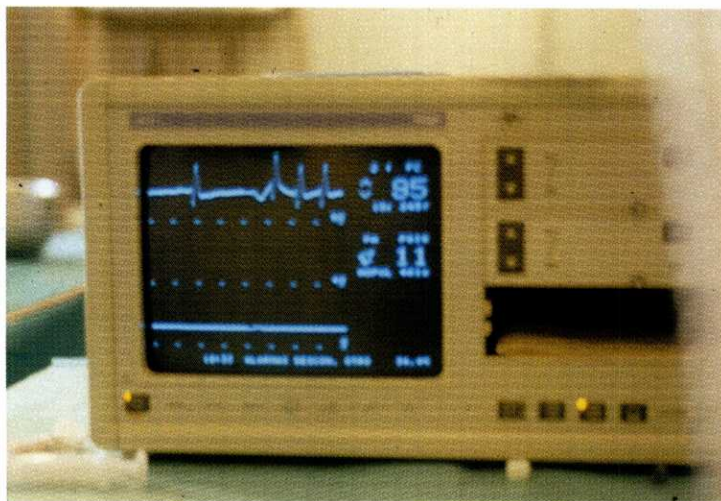


Ilustración 1: Momento que se considera la parada cardiaca

Tras una parada de 30 minutos se inician maniobras de reanimación durante un periodo de 10 minutos, posteriormente se canaliza la arteria femoral del otro lado para la introducción del Fogarty, así como una vena femoral para el drenaje del liquido de perfusión, comenzando la perfusión con liquido frío por la cánula arterial. Por la otra arteria se coloca al nivel diafragmático un Fogarty con la intención de impedir la perdida de liquido de perfusión al nivel torácico. Ilustración 2, Ilustración 3

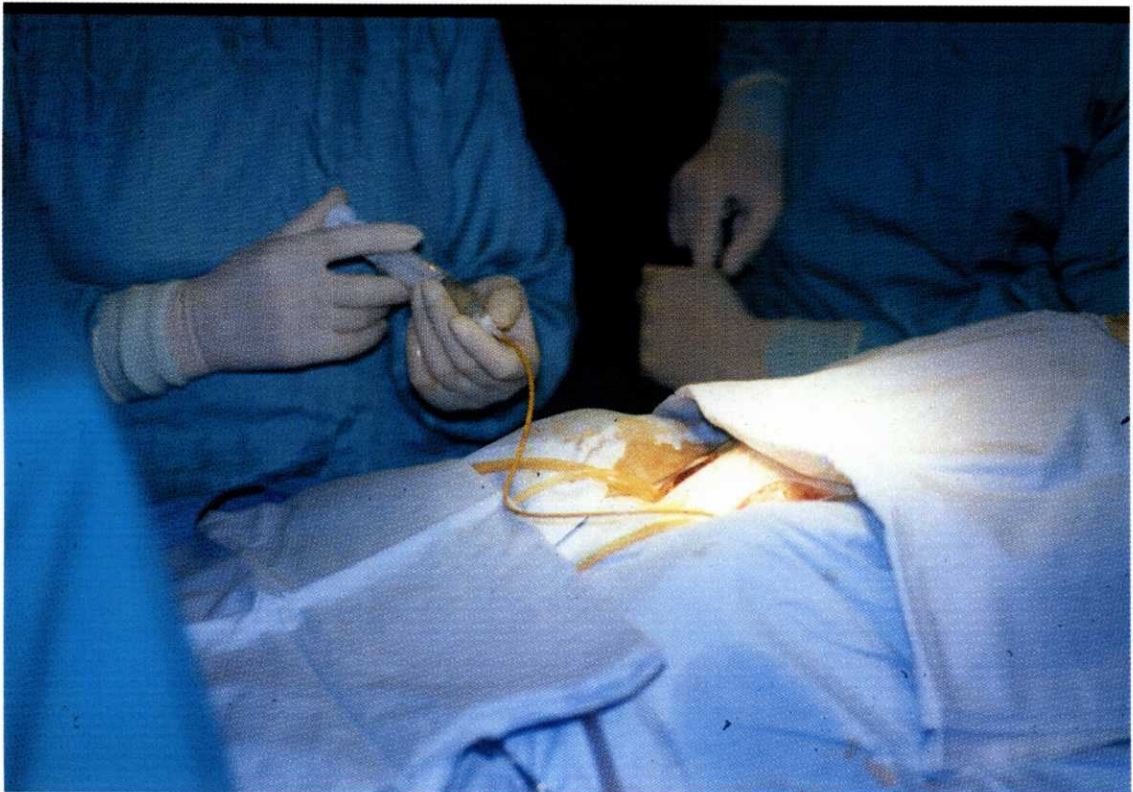


Ilustración 2: Colocación del Fogarty a nivel diafragmático.



Ilustración 3:La flecha señala el emplazamiento del Fogarty en la aorta al nivel del diafragma, para facilitar la perfusión del injerto impidiendo la fuga hacia el tórax y la cabeza.

La perfusión se mantiene hasta el momento en que por el drenaje colocado en la vena cava sale líquido de perfusión claro, esta maniobra se realiza por un periodo de tiempo que abarca entre 10 y 15 minutos, a partir de este momento se inicia la intervención quirúrgica para la extracción de los órganos abdominales que es similar en ambos grupos, en este grupo comprende 16.(N=16).

4-9-Aleatorización

En este estudio no se ha realizado ningún proceso de aleatorización. La asignación a un grupo no ha seguido ningún criterio preestablecido. Los animales de uno y otro grupo eran similares en peso, raza y origen. El equipo quirúrgico se mantuvo constante durante el estudio.

4-10-Descripción de la intervención

4-10 1-Actuaciones en el donante

A. Preparación del animal

- ✓ Animal en ayunas durante la noche anterior. No precisa medicación previa a la intervención.
- ✓ Monitorización, EKG, presión arterial en carótida continua
- ✓ Tranquilizar e inducción: Ketamina(10mg/kg), Midazolam (0,1 mg/Kg) via IV.
- ✓ Gases anestésicos para el mantenimiento: Isoflurane 1-1,5%.
- ✓ Analgesia: Fentanilo 45-90 microgr./kg/h.
- ✓ Relajantes musculares: Atracurio 0,5-2,5 mg/kg

B. Técnica quirúrgica:

B-1 Donante a corazón latiente:

- ✓ Incisión: Laparotomía y Esternotomía media con ampliación en cruz.
- ✓ Disección de aorta y cava infrarenal colocando cánulas de 20F y control con seda N° 1
- ✓ Disección de la vena mesentérica superior cánula de 18F y control con seda N° 1.
- ✓ Extracción de 1000 cc de sangre por un catéter situado en aorta abdominal, para reposición sanguínea del receptor, y perfusión simultánea de 500 cc de hemocé y 500 cc de Rínger calientes para evitar la hipotensión.

- ✓ Administración de 3 mg/kg. de Heparina Na IV.
- ✓ Se introducen cánulas en aorta, vena mesentérica superior y cava inferior con 12-16-20 F
- ✓ Apertura de diafragma izquierdo y clampaje de aorta torácica.
- ✓ Se clampa aorta torácica y se comienza la perfusión de Collins a 4°C por las cánulas de, aorta y mesentérica superior, 1-2 l por cada una hasta obtener un hígado uniformemente perfundido.
- ✓ Simultáneamente se drena el hígado mediante apertura de cava infrahepática y supradiafragmática al nivel de la aurícula, se rellena el abdomen con solución salina semi congelada, para acelerar el enfriamiento de los órganos abdominales.
- ✓ Tras la perfusión comenzamos el aislamiento del hígado, riñones, estomago, duodeno, bazo y páncreas que posteriormente extraeremos formando un bloque junto con la aorta y la cava.
- ✓ Sección del epiplón gastrocólico y de las gotieras paracólicas para el aislamiento del colon
- ✓ Sección mecánica el intestino delgado a 10 cm del ángulo de Treitz, eviscerando todo el intestino delgado y grueso.
- ✓ Se procede entonces a la sección mecánica del esófago en su porción final intra torácica.
- ✓ Sección de los uréteres.
- ✓ Sección del diafragma aislando el bloque de la musculatura prelumbar.
- ✓ Sección de la aorta y de la cava por encima de la bifurcación de las iliacas.
- ✓ Extracción del bloque a una batea.

B-2 Donante a corazón parado

En los donantes a corazón parado prescindimos de los primeros pasos de la intervención, encaminados a la preservación de los órganos, ya que en estos la preservación se realiza antes de la apertura del abdomen Ilustración 4. El aislamiento del bloque y la evisceración se realiza de forma similar en ambos casos Ilustración 5.

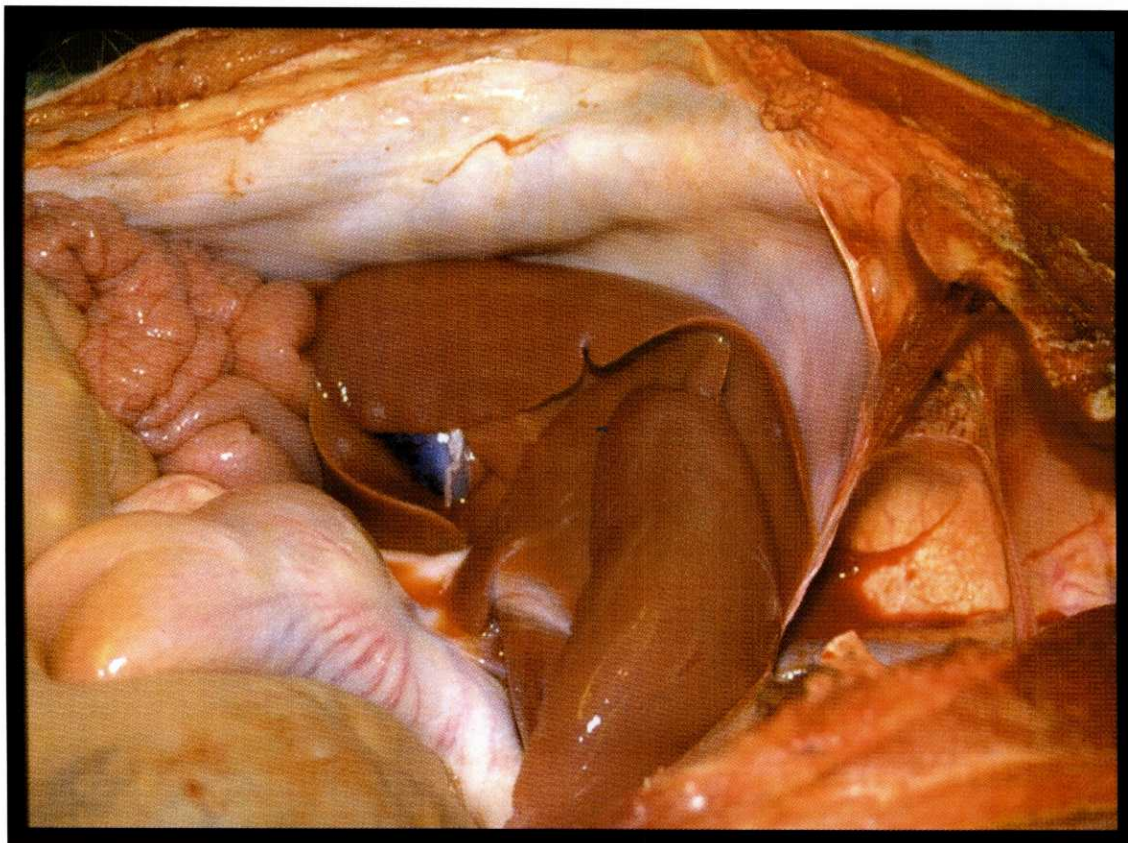


Ilustración 4: Estado del injerto tras la perfusión con Líquido de preservación a través de las femorales.

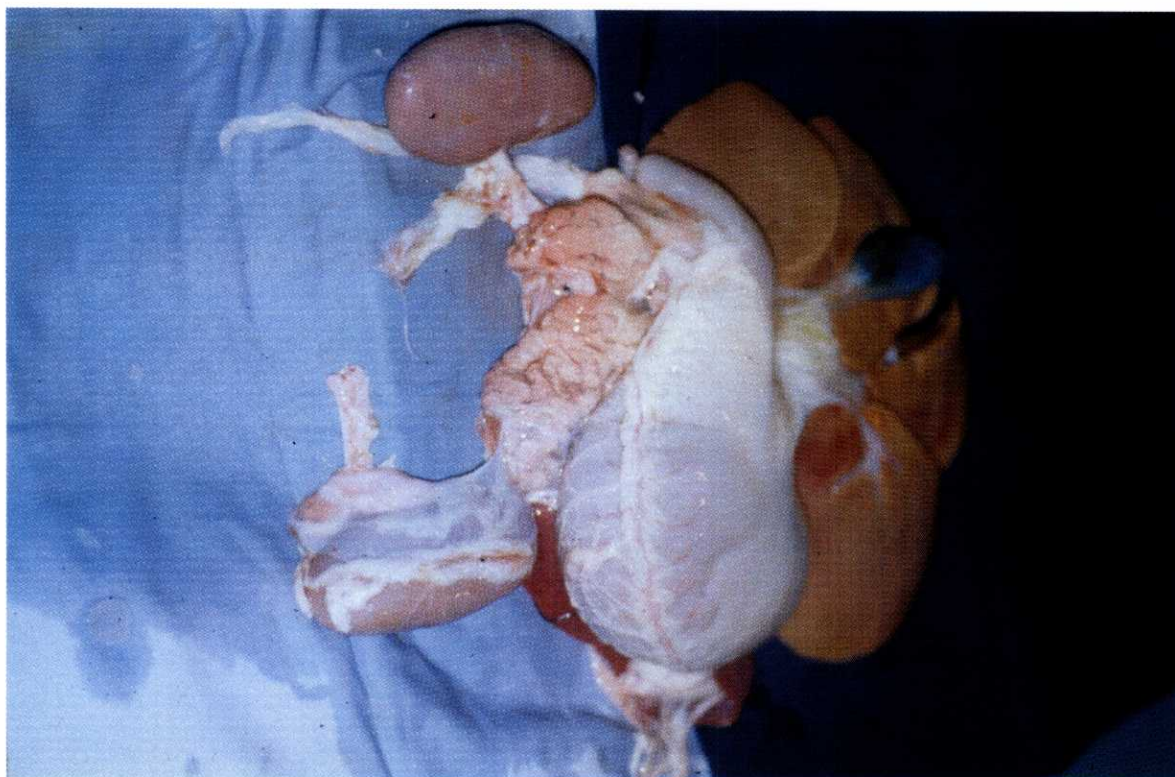


Ilustración 5: Extracción del bloque con: hígado, riñones, estomago, duodeno, páncreas y bazo.

4-10-2-Cirugía de banco

- ✓ En una batea con suero salino y hielo se aísla el hígado de las otras vísceras para lo cual realizamos los siguientes pasos:
- ✓ Apertura posterior de la aorta abdominal
- ✓ Sección por encima de las arterias renales aislando la arteria Mesentérica Superior y disecándola hasta un nivel suficientemente alto para descartar cualquier rama hepática con origen a este nivel.
- ✓ Aislamos los riñones de sus adherencias hepáticas y diafragmáticas procediendo a la sección de la cava inmediatamente por encima de la salida de la vena renal derecha cortando la suprarrenal izquierda. Terminamos de aislar los riñones de sus adherencias al bazo, suprarrenal derecha y duodeno.
- ✓ Aislamos el Tronco Celiaco prosiguiendo su disección hasta ligar la Arteria Esplénica y ver el inicio de la arteria gástrica.

- ✓ Dando la vuelta a la pieza comprobamos que no exista ninguna rama hepática izquierda de la gástrica para lo cual seccionamos cuidadosamente el epiplón menor hasta la zona esofágica.
- ✓ Sección de la vía biliar en su zona suprapancreática.
- ✓ Sección y sutura de la gastroduodenal y la pilórica.
- ✓ Aislamiento y sección de la vena porta en su zona retropancreática.
- ✓ Tras visualizar el Tronco celiaco se libera el hígado de las ultimas adherencias viscerales y diafragmáticas.
- ✓ Tras la liberación del injerto del bloque se coloca dentro de una bolsa de plástico en una batea con hielo y se perfunde con Collins de forma individual por la Porta y por la arteria.
- ✓ Preparación de la arteria hepática con ligadura de la esplénica, la gástrica y la gastroduodenal, si no se ligaron antes Ilustración 6.

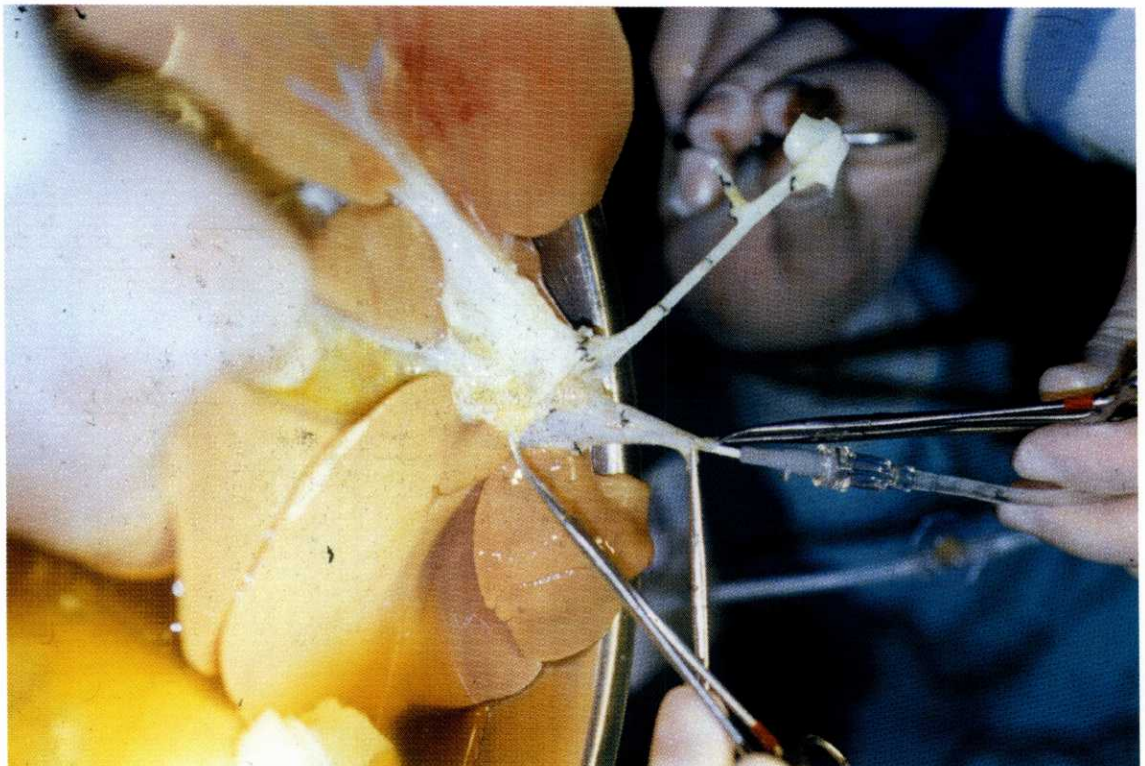


Ilustración 6: Hígado con la preparación del banco concluida.

- ✓ Preparación de la vena porta con la ligadura de la vena esplénica, la disección se prolonga hasta ver claramente la bifurcación de sus dos ramas, acto que luego nos favorece la orientación de la anastomosis.
- ✓ La vía biliar se secciona por encima del páncreas procurando no realizar una disección muy amplia para evitar su posterior isquemia.
- ✓ La cava se prepara en su porción infra y suprahepática ligando sus ramas diafragmáticas y la rama de la suprarrenal derecha.
- ✓ Se comprueban todos los vasos con perfusión a presión de suero con la intención de evitar posteriores sangrados.

4-10-3-Trasplante hepático

A -Preparación del animal

- ✓ Animal en ayunas durante la noche anterior
- ✓ Monitorización: EKG, Registro continuo de presión arterial en carótida
- ✓ Vías venosas: 2 catéteres en yugular externa, uno útil para el registro de presión venosa central
- ✓ Analíticas: al iniciar la intervención, en la reperfusión, al iniciar el cierre de la pared.
- ✓ Antibioterapia: Cefotaxima 1gr.
- ✓ Tranquilizar e inducción: Ketamina(10mg/kg), Midazolán (0,1 mg/Kg) via IV.
- ✓ Gases anestésicos para el mantenimiento: Isoflurane 1-1,5%.
- ✓ Analgesia: Fentanilo 45-90 microgr./kg/h.
- ✓ Relajantes musculares: Atracurio 0,5-2,5 mg/kg

B -Técnica quirúrgica.

- ✓ Incisión: Laparotomía media con ampliación en cruz.
- ✓ Sección de los ligamentos que unen el hígado al diafragma y a la pared posterior del abdomen así como el epiplón menor
- ✓ Ligadura y sección de arteria hepática y colédoco, clampaje y sección de la porta.
- ✓ Clampaje y sección de la cava a su nivel infra y suprahepático
- ✓ Extirpación del hígado nativo del receptor.

- ✓ Inicio del implante del injerto con la anastomosis T-T de la cava suprahepática con prolene 4/0.
- ✓ Anastomosis T-T de la porta con (prolene 5/0
- ✓ En este momento se inicia la reperfusión del injerto con sangre del territorio esplánico que circula por la porta al injerto y sale a la circulación por la cava suprahepática. La primera sangre se drena por la cava infrahepática para prevenir el síndrome de reperfusión.
- ✓ Anastomosis T-T de la cava infrahepática con (prolene 4/0
- ✓ Anastomosis T-T de la arteria hepática tras la ligadura de la gastroduodenal con prolene 7/0.
- ✓ Anastomosis-T del colédoco Vicryl 5/0 o Catgu 5/0. Ilustración 7.



Ilustración 7: Injerto hepático tras la reperfusión.

- ✓ Comprobada la viabilidad del injerto, cierre por planos (seda 0).
Tunelización del catéter de yugular a parte posterior del cuello y heparinización para su posterior utilización como vía de recogida de muestras sanguíneas y administración de medicación

4-11-Seguimiento de los animales incluidos en el estudio

Mantenimiento aislado y a temperatura adecuada.

Antibioterapia:

Cefotaxima 1 gramo IV/12 horas hasta completar 3 dosis

Inmunosupresión :

Días 1° y 2° :

Ciclosporina 2 mg/kg./24 horas en 500 cc de suero salino IV

Inmurel 3 mg /kg./24 horas IV.

Metilprednisona 2mg/12 horas IV

Días posteriores: si tolera dieta oral:

Ciclosporina 10mg/kg./24 horas V.O.

Prednisona 20mg/24 horas V.O.

Inmurel 2 mg/kg./24 horas V.O.

Sueroterapia y cuidados generales:

Primer día del postoperatorio.

Dieta absoluta

1000 cc de glucosado al 5%

1000 cc de salino fisiológico

Segundo día del postoperatorio:

Igual al primer día

Tercer 3° día del postoperatorio:

Libre acceso al agua

500 cc de salino fisiológico

500 cc de glucosado al 5%

Cuarto a sexto día del postoperatorio:

Dieta normal

4-12-Duración de control post-operatorio

El fin es mantener al animal hasta el 6° día, el cual se trasladara al quirófano para realizar biopsia hepática, y sacrificarle, realizando necroscopia.

4-13-Material quirúrgico

Material quirúrgico:

Bisturí eléctrico

Caja de laparotomía con clan vascular para la cirugía en el donante

Caja la laparotomía con material de microcirugía para la realización de la cirugía de banco

Batea grande para la realización de la cirugía de banco

Caja de laparotomía con instrumental vascular para el receptor

4-14-Fármacos administrados

Fármacos: Anestésicos: Fentanilo, Atropina, Atracurio.

Antibióticos: Cefotaxima

Corticoides: Metilprednisolona, prednisona

Líquidos de preservación: Collins

Immunosupresores: Ciclosporina, Imurel

Heparina Na

Sueros: Hemocé, salino, glucosalino, glucosado.

4-15-Pautas de administración

Según se refiere en el seguimiento postoperatorio de los animales.

4-16 Material fungible

Cánulas de calibres comprendidos entre 12F y 28F.

Sonda de Fogarty vascular

Suturas de seda entre 4/0 y el numero 2

Suturas vasculares de monofilamento comprendidas entre 7/0 al 2/0

4-17-VARIABLES estudiadas:

Variable objeto del estudio

Tipo de donante:

Donante en parada cardiorrespiratoria

Donante cuya extracción se realiza con el corazón latiendo.

Variables de respuesta:

A. -Supervivencia en horas, se considera la máxima supervivencia 144 horas.

B. -Complicaciones operatorias controlando si existe:

- ✓ **Vólvulo intestinal**
- ✓ **Reconstrucción arterial**
- ✓ **Reconstrucción portal**
- ✓ **Reconstrucción de la cava.**
- ✓ **Hemorragia.**
- ✓ **Otros.**

C. -Complicaciones postoperatorias:

- ✓ **Vólvulo intestinal**
- ✓ **Trombosis arteria**
- ✓ **Trombosis portal**
- ✓ **Trombosis cava**
- ✓ **Necrosis hepática**
- ✓ **Necrosis biliar**
- ✓ **Otros.**

D. -Causas de muerte.

- ✓ **Técnica.**
- ✓ **Metabólica.**
- ✓ **Fallo injerto.**
- ✓ **Sacrificio.**

E. -Analítica

- ✓ **Albúmina** medida en G/DL con unos rangos (3,5-5)
- ✓ **GPT o ALT** medida en UI/L con rangos entre (1-45)
- ✓ **GOT o AST** medida en UI/L con rangos entre (1-40)
- ✓ **Fofatasa Alcalina** medida en UI/L con rangos entre (91-258)
- ✓ **Amilasa** medida en UI/L con rangos entre (1-220)
- ✓ **Bilirrubina directa** medida en MG/DL con rangos entre (0-0.25)
- ✓ **Bilirrubina total** medida en MG/DL con rangos entre (0.1-1.3)
- ✓ **Calcio** medido en MG/DL con rangos entre (8.1-10.4)
- ✓ **CPK** medida en UI/L con rangos entre (1-195)
- ✓ **Cloro** medido en mEq/l con rangos entre (98-106)
- ✓ **Creatinina** medida en MG/DL con rangos entre (0.6-1.2)
- ✓ **GGT** medida en UI/L con rangos entre (7-65)
- ✓ **Glucosa** medida en MG/DL con rangos entre (70-110)
- ✓ **Potasio** medido en mEq/l con rangos entre (3,5-5)
- ✓ **LDH** medida en UI/L con rangos entre (219-439)
- ✓ **Sodio** medido en mEq/l con rangos entre (135-145)
- ✓ **Fósforo** medido en mEq/l con rangos entre (2,5-5)
- ✓ **Plaquetas** medido en $10^3/\text{mm}^3$.
- ✓ **Proteínas totales** medida en G/DL con unos rangos (6-8)
- ✓ **Urea** medida en MG/DL con rangos entre (10-50)

Las medidas en el tiempo se realizan según tabla adjunta. Tabla 1

Numero de la Momento de la toma
toma

1	Inducción anestésica
2	Reperfusion
3	Final de la intervención
4	6 Horas
5	12 Horas
6	24 Horas
7	36 Horas
8	48 Horas
9	60 Horas
10	72 Horas
11	84 Horas
12	96 Horas
13	108 Horas
14	120 Horas
15	132 Horas
16	144 Horas

Tabla 1: Momento de la toma de las distintas muestras de sangre.

F.- Anatomía patológica:

Por problemas de tipo técnico solamente se analizaron muestras de 12 animales, en todos estos animales el transplante se realizo con hígados procedentes de donantes en parada. Tratamos de analizar los siguientes parámetros: Tabla 2

<i>Biopsias realizadas en tiempo 0:</i>	
Hepatocitos: Balonización	
	Ausente
	Mínima
	Moderada
	Importante
<i>Prolongaciones bullosas</i>	
	Ausentes
	Mínimas
	Moderadas
	Importantes
Necrosis central	
	Ausente
	Mínima
	Moderada
	Importante
Necrosis difusa	
	Ausente
	Mímica
	Moderada
	Importante
Células endoteliales	
	Forma: alargada
	Redondeada
	Adheridas a la pared

	No adheridas
Células de Kupffer	
	Grado de activación
	Ausente
	Mínimo
	Moderado
	Importante
Colestasis	
	Ausente
	Mínima
	Moderada
	Importante.
La presencia de células inflamatorias:	
	Ausente de 0-1 células por campo.
	Mínimo 2-5
	Media 6-10
	Moderada 10-20
	Severa mas de 20
Biopsia al sacrificio o muerte	:
	Las anteriores
	Otras alteraciones:

Tabla 2: Parámetros a valorar en los estudios de Anatomía patológica.

4-18-Aspectos ético-legales

Este estudio se realizo respetando la Legislación Española desarrollada en el Real Decreto 223/1988, del 14 de marzo y con el conocimiento y la aprobación de los comités de Ética y de Calidad existentes en el hospital en el momento de su realización.

4-19-Análisis estadístico

Se realizó un estudio descriptivo de todas las covariables incluidas en el estudio, según el grupo quirúrgico y según el momento de la determinación. La comparación de medias se realizó por medio de la t-student de datos independiente, comprobando la igual o no de las varianzas con el test de Levene.

Previamente se determinó la normalidad o no de las variables estudiadas con el test de Kolmogorov-Smirnov. En caso de no presentar una distribución normal, la comparación de medias se realizó con el test de Mann Whitney.

La asociación de variables cualitativas se estudió por medio de la chi- cuadrado

La supervivencia actuarial se realizó con la metodología de Kaplan-Meier. La comparación de las curvas de supervivencia según estuviesen asignados los animales de experimentación a uno u otro grupo se realizó con el test de Log-Rank

Se ha considerado estadísticamente significativos valores de $p < 0,05$. Los test estadísticos utilizados han sido bilaterales.

5-RESULTADOS

5-1 -Análisis de la supervivencia:

La supervivencia de los animales cuyo trasplante se realizó con un injerto procedente de un donante con corazón latiente(G1) es ligeramente superior que la de los animales cuyo trasplante se realizó con un hígado obtenido de un donante del grupo de asistolia(G2) . A los seis días la supervivencia fue de un 31,25% para (G1) frente a un 45,45% para los (G2) sin embargo no encontramos diferencias significativas mediante el test estadístico de Log-Rank para la igualdad de la distribución de la supervivencia (0,5614). Ilustración 8.

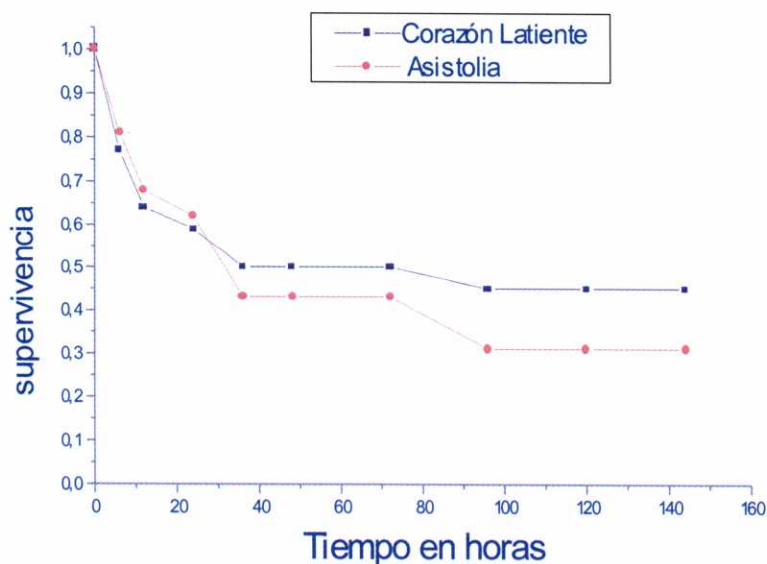


Ilustración 8: Supervivencia de los animales($p = 0,5614$).

5-2 -Causas de muerte

La distribución de las causas de muerte es bastante similar en ambos grupos:

5-2-1 -La causa técnica

Se engloba dentro de este grupo todas las causas que producen la muerte y no están relacionadas con fallo del injerto o con causas metabólicas, abarca causas tan dispares como: parada cardíaca, vólvulos intestinales, hemotórax así como las propiamente técnicas. Por causas técnicas se murieron ocho animales trasplantados con hígado obtenido en asistolia, y 11 de los que el hígado se obtuvo de animales con corazón latiente, en ambos casos representa el 50%. Ilustración 9.

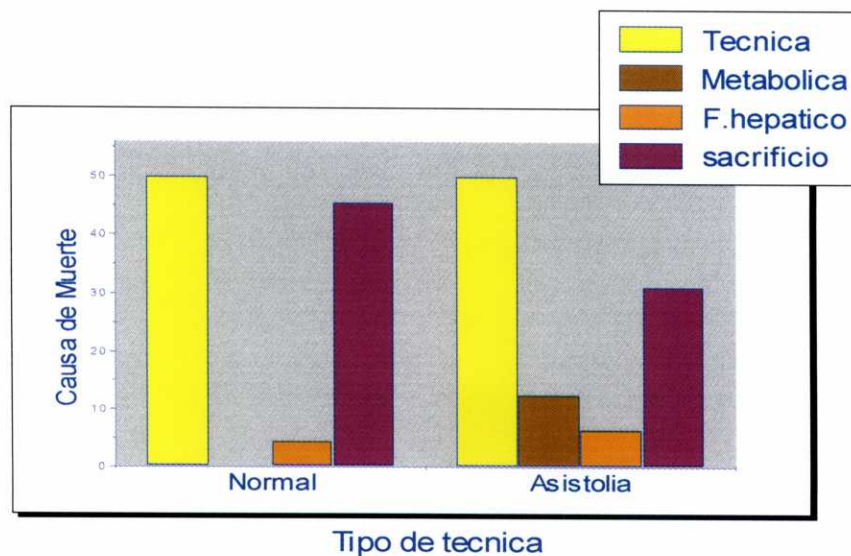


Ilustración 9: Causa de muerte de los animales. $X^2 = 3,763$. $p = 0,439$.

5-2-2 -Las metabólicas:

Esta causa de muerte se presenta en dos casos que se producen en animales con hígados procedentes de asistolia: en un caso por fracaso renal y en el otro por una hipoglucemia. No existiendo diferencias significativas entre ambos grupos.

5-2-3 -Fallo del injerto:

Se le achaca la muerte al fallo primario del injerto en un caso por grupo cursando en ambos casos con importante incremento de enzimas, en la Anatomía Patológica se aprecia necrosis del injerto. No existiendo diferencias significativas entre ambos grupos.

5-2-4 -El sacrificio:

El sacrificio se realiza a los 6 días y corresponde con la supervivencia. Se realiza en 11 casos 45,5% en(G1) y en 5 casos 31,3%. de (G2). No existiendo diferencias significativas entre ambos grupos

5-3 -Complicaciones

Las complicaciones que se producen en ambos grupos son muy similares. Tabla 3, Ilustración 10

	G1		G2	
	N	%	N	%
Complicaciones				
Arteriales	5	22,7	2	12,5
Hemorragicas	2	9,1	1	6,3
Volvulo	5	22,7	4	25
C. Portales	2	9,1	1	6,3
C. Biliares	2	9,1	0	0
Necrosis hepatica	2	9,1	1	6,3
Otras	6	27,2	7	43,7

Tabla 3: Complicaciones $X^2=12,31$ $p=0,421$.

Las complicaciones arteriales

La complicación arterial apreciada con mas frecuencia es la trombosis arterial. Se encuentran en 5 casos en G1 y en 2 casos en G2 representando un 22,7% y un 12,5% de los casos respectivamente. No existiendo diferencias significativas entre ambos grupos ($X^2= 1,216$, $p =0,270$).

La hemorragia postoperatoria

Se produce en 2 casos en G1 y en un caso en G2 (9,1% y 6,3%). No existiendo diferencias significativas entre ambos grupos ($X^2= 0,000$, $p =1$).

Trombosis portal:

Se produce en 2 casos en G1 y en un caso en G2 (9,1% y 6,3%). No existiendo diferencias significativas entre ambos grupos ($X^2= 0,00$, $p =1$).

Necrosis a nivel del parénquima hepático:

Se produce en 2 casos en G1 y en un caso en G2 (9,1% y 6,3%). No existiendo diferencias significativas entre ambos grupos ($X^2= 0,103$, $p =0,748$).

Trombosis de la cava:

Un caso de G1 que curso con importante ascitis y derrame pleural. No existiendo diferencias significativas entre ambos grupos.

El vólvulo intestinal

Es la causa más frecuente en ambos grupos, esto es propiciado por la gran longitud del meso intestinal en el cerdo que dificulta la acomodación intestinal, apareciendo en 5 ocasiones en G1 y en 4 en G2 que representa un 22,7% y 25% respectivamente. No existiendo diferencias significativas entre ambos grupos ($X^2= 0.259$, $p =0,6,11$).

Necrosis de la vía biliar:

Aparece en dos ocasiones en G1, la posible causa es la excesiva longitud del colédoco del donante. No existiendo diferencias significativas entre ambos grupos ($X^2=1,53$, $p=0,215$).

Otras complicaciones:

Dentro de otras se engloban complicaciones tan dispares como problemas con las vías, derrames pleurales, parada cardiaca, alteraciones metabólicas, problemas técnicos, etc. No se encuentran diferencias significativas entre los dos grupos ($X^2=12,31$, $p=0,421$).

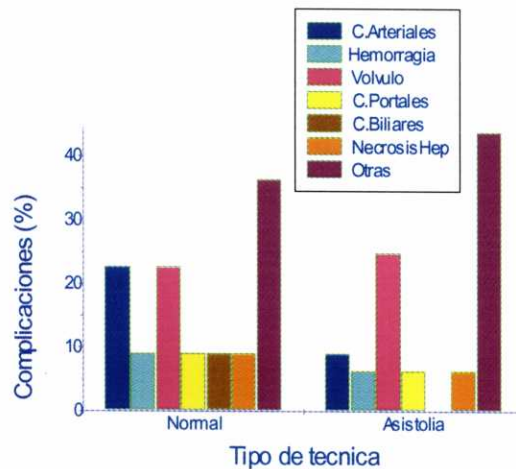


Ilustración 10: : Complicaciones según la tecnica

5-4 -Valoración de los distintos parámetros analíticos:

5-4-1 -Valoración analítica de la función del injerto.

Para valorar la función del injerto se tiene en cuenta los niveles de GOT en los tres primeros días considerando *buena función* si los niveles no alcanzan 1000UI/L, *moderada función* si los niveles alcanzan cifras entre 1000-2000UI/L y *pobre función* si alcanza niveles superiores a 2000UI/L. Tabla 4.

	Función del injerto según el tipo de técnica			
	G1		G2	
	N	%	N	%
Buena función	6	31,6%	3	21,4%
Moderada función	7	36,8%	6	42,9%
Pobre función	6	31,6%	5	35,7%

Tabla 4: Valoración de la función del injerto en el postoperatorio, teniendo en cuenta los niveles de GOT en los tres primeros día. $X^2=0,420$. $p=0,811$.

5-4-2-Parámetros analíticos: evolución postoperatoria.

Las tomas de sangre para la valoración analítica se realizan periódicamente como se recoge en la tabla 1 de Material y Métodos

La albúmina presenta unos valores de la media paralelos para ambos grupos no encontrándose diferencias significativas la Ilustración 10 muestra la evolución de las medias de la albúmina con su respectivo intervalo de confianza para la media. La media global de la albúmina es de 2,68 G/DL para los del grupo(G1) y de 2,61 G/DL para (G2) con un rango respectivamente de 3,8 y 3,2.

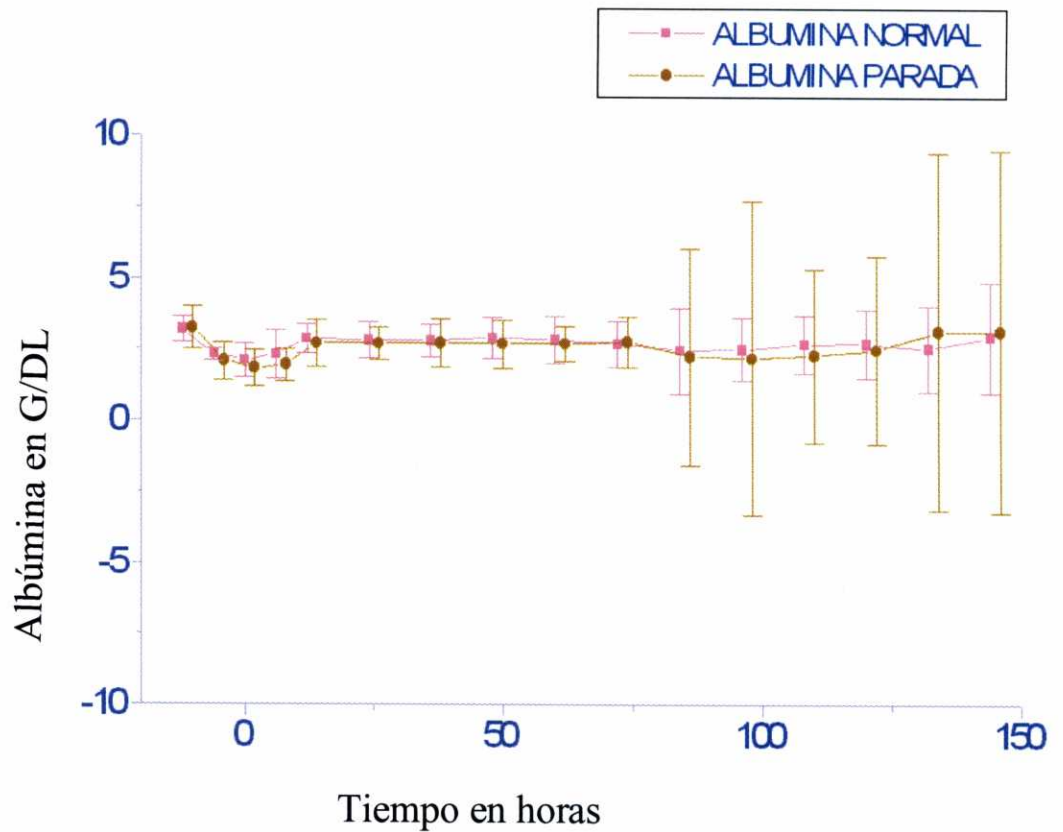


Ilustración 10: Evolución de la Albúmina.

La amilasa muestra también una evolución paralela y sin diferencias significativas en ninguna de las tomas Ilustración 11. La media global de la amilasa es de 7019,34 UI/L para los del grupo(G1) y de 7640,40 UI/L para (G2) con un rango respectivamente de 32164,00 y 32169,00.

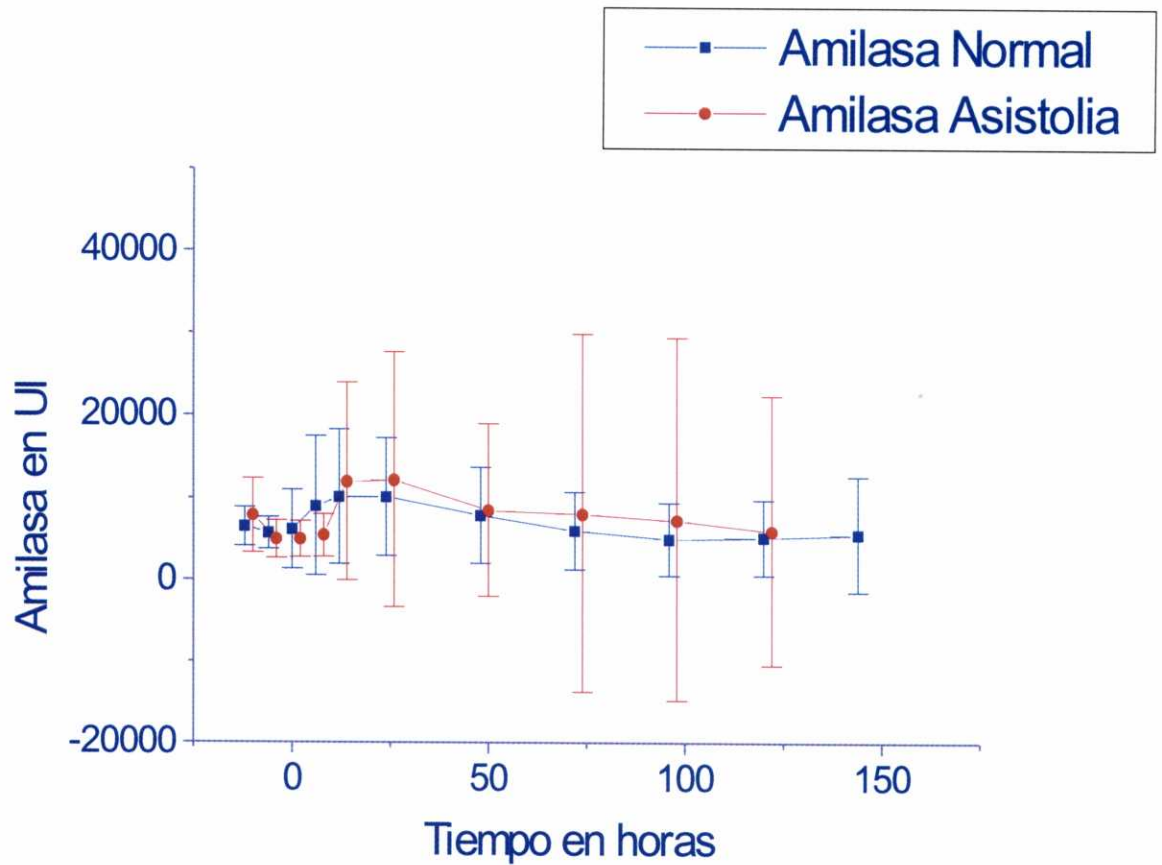


Ilustración 11: Evolución de la amilasa.

Bilirrubina directa: El estudio estadístico de la comparación de las medias de la Bilirrubina Directa muestra diferencias para una significación de $\alpha= 0,05$ en el valor obtenido a las 12 horas del trasplante con un aumento de la bilirrubina en los cerdos con hígado obtenido en asistolia. En los demás valores no se aprecian diferencias significativas. La media global de la bilirrubina directa es de 0,27 MG/DL para los del grupo(G1) y de 0,49 MG/DL para (G2) con un rango respectivamente de 4,47 y 3,95. Ilustración 12, Tabla.

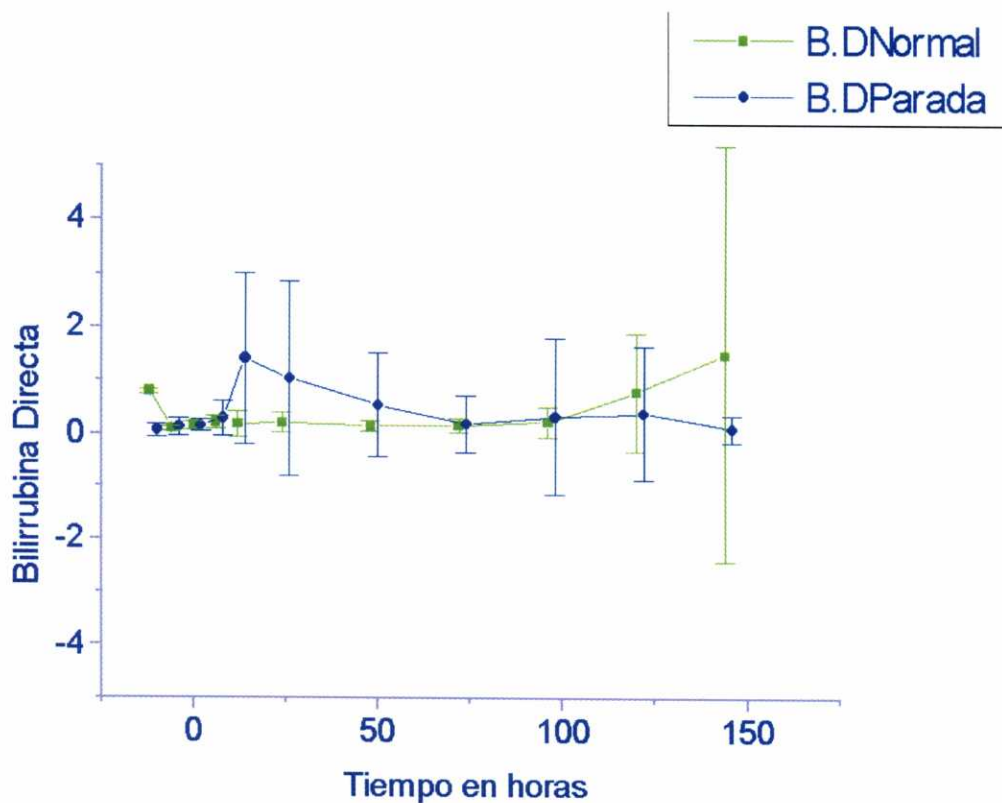


Ilustración 12: Evolución de la bilirrubina directa.

La Bilirrubina Total muestra diferencias para una significación de $\alpha= 0,05$ en el valor obtenido a las 12 horas del trasplante con un aumento de la bilirrubina en los cerdos con hígado obtenido en asistolia. En los demás valores no se aprecian diferencias significativas, aunque hay valores en las primeras horas que se aproximan a este grado de significación. La media global de la bilirrubina total es de 0,43 MG/DL para los del grupo(G1) y de 0,49 MG/DL para (G2) con un rango respectivamente de 4,47 y 4,68. Ilustración 13, Tabla

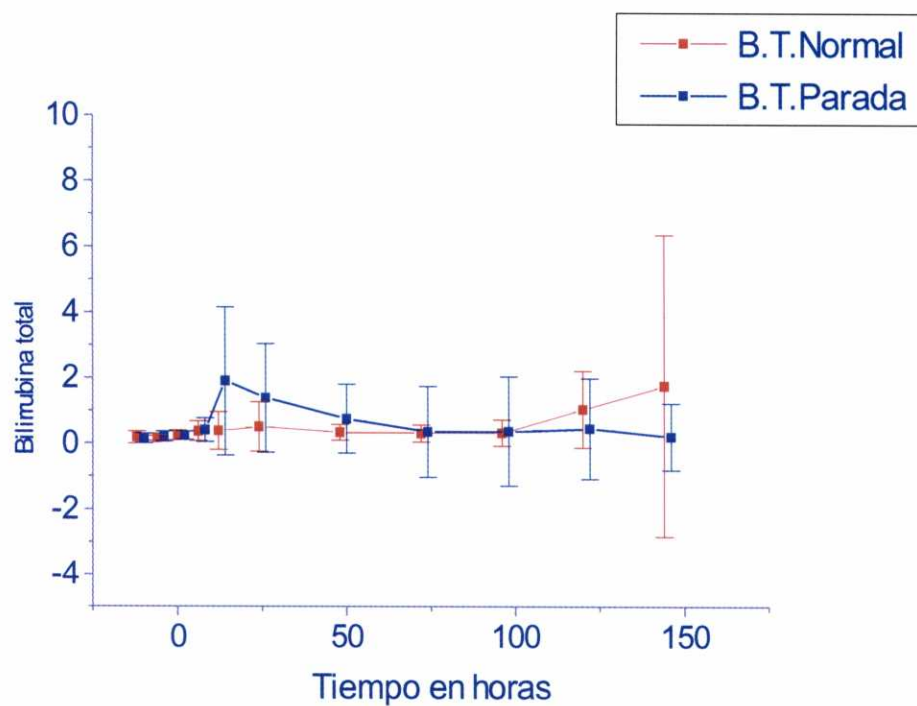


Ilustración 13: Evolución de la bilirrubina total

El Calcio muestra una evolución paralela y sin diferencias significativas en ninguna de las tomas. La media global de la calcio es de 9,80 MG/DL para los del grupo(G1) y de 9,92 MG/DL para (G2) con un rango respectivamente de 8,30 y 23,5. Ilustración 14.

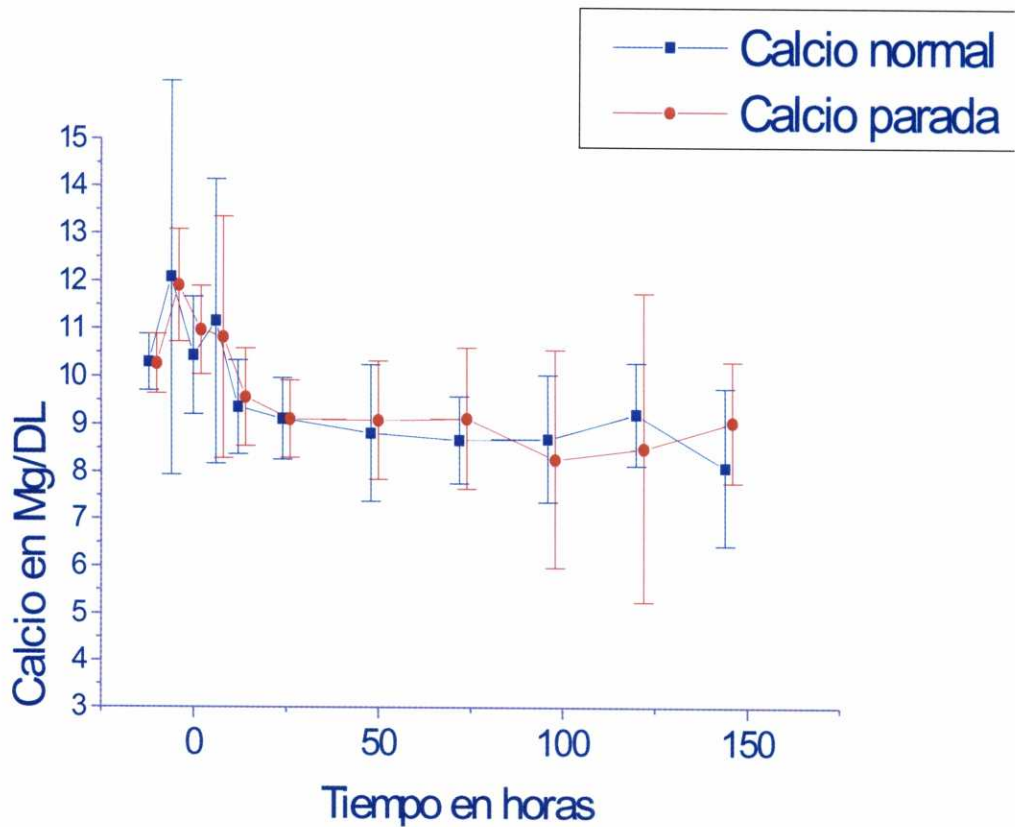


Ilustración 14: Evolución del calcio.

El cloro no muestra diferencias para una significación de $\alpha = 0,05$. La media global del cloro es de 100,33 mEq/l para los del grupo(G1) y de 102,03 mEq/l para (G2) con un rango respectivamente de 47,00 y 111,00. Ilustración 15.

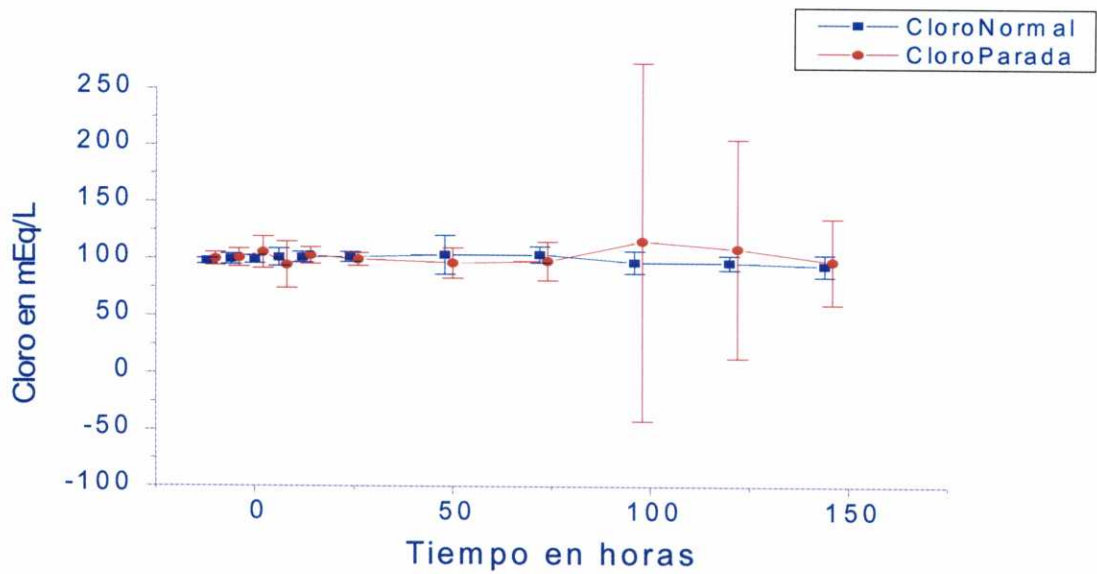


Ilustración 15: Evolución del cloro.

La CPK no muestra diferencias para una significación de $\alpha= 0,05$. La media global del CPK es de 5827,38 UI/L para los del grupo(G1) y de 8045,42 UI/L para (G2) con un rango respectivamente de 66141,00 y 91320,00. Ilustración 16.

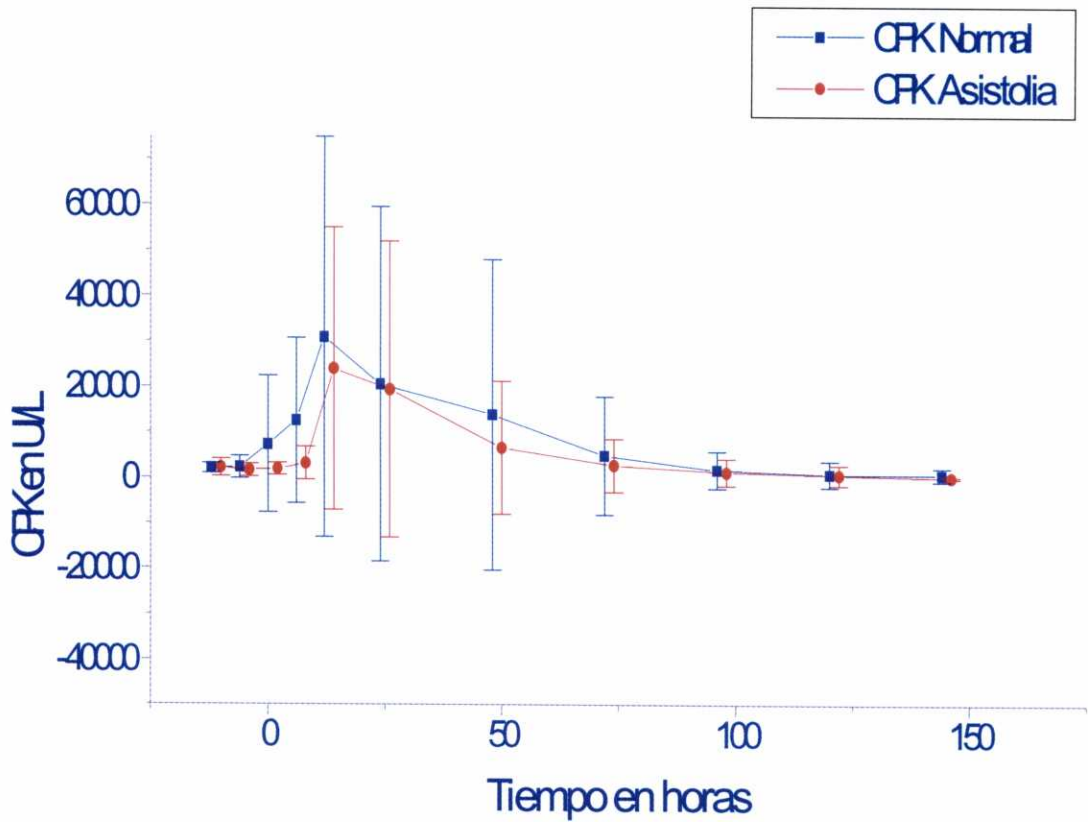


Ilustración 16: Evolución de la CPK.

La creatinina no muestra diferencias significativas siguiendo un curso paralelo ambas medias.. La media global de la creatinina es de 1,43 MG/DL para los del grupo(G1) y de 1,38 MG/DL para (G2) con un rango respectivamente de 5,12 y 4,77. Ilustración 17

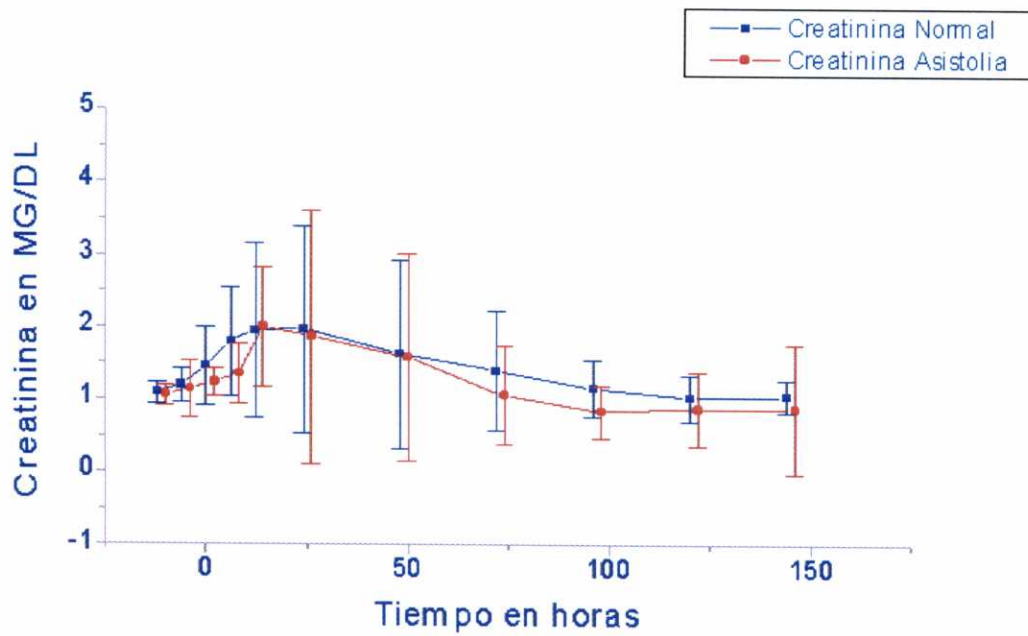


Ilustración 17: Evolución de la creatinina.

La Fosfatasa Alcalina muestra diferencias para una significación de $\alpha= 0,05$ en los valores obtenidos entre las 12 y las 36 horas del postoperatorio, mostrando unos valores superiores de Fosfatasa alcalina en los trasplantados con hígados en asistolia. La media global de la Fosfatasa es de 425,16 UI/L para los del grupo(G1) y de 532,15 UI/L para (G2) con un rango respectivamente de 1020,00 y 1387,00. Ilustración 18, Tabla.

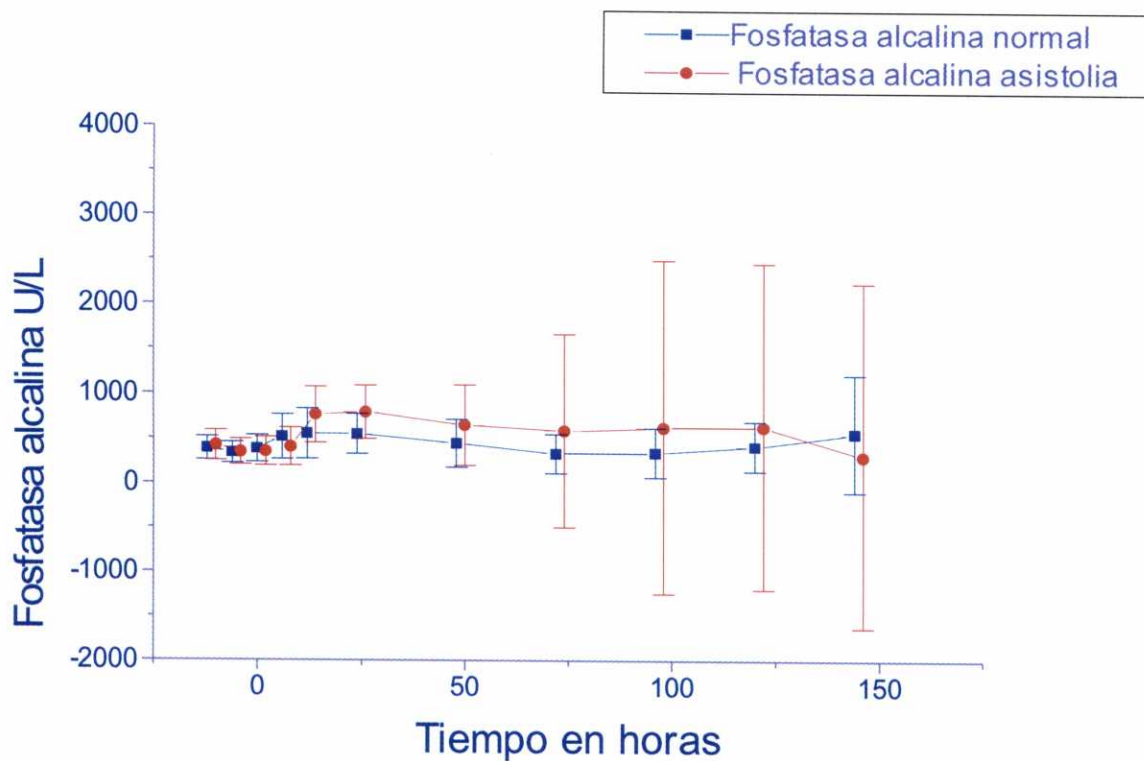


Ilustración 18: Evolución de la Fosfatasa alcalina.

El fósforo no muestra diferencias significativas. La media global del fósforo es de 18,79 mEq/l para los del grupo(G1) y de 20,58 mEq/l para (G2) con un rango respectivamente de 386,36 y 312,10. Ilustración 19

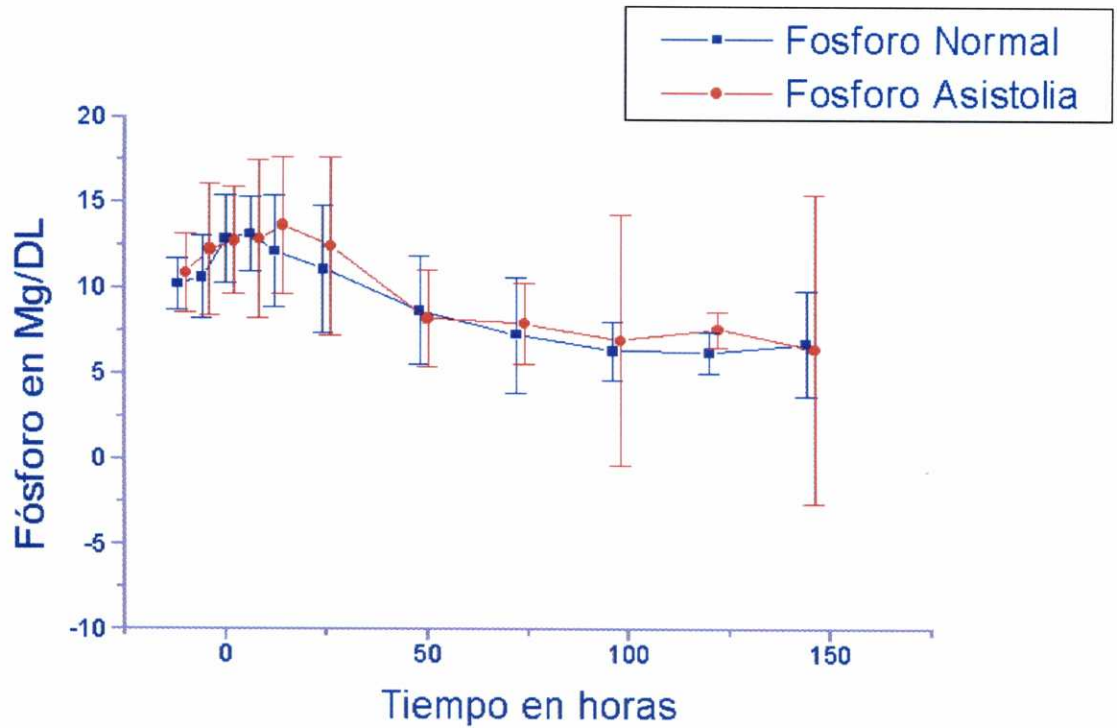


Ilustración 19: Evolución del fósforo.

La GGT muestra diferencias para una significación de $\alpha= 0,05$ en un valor obtenido a las 72 horas del trasplante con un aumento de la GGT en los cerdos cuyo trasplante se realizó con hígado obtenido de donantes en asistolia. La media global de la GGT es de 23,60 UI/L para los del grupo(G1) y de 26,88 UI/L para (G2) con un rango respectivamente de 99,00 y 82,00. Ilustración 20, Tabla 5

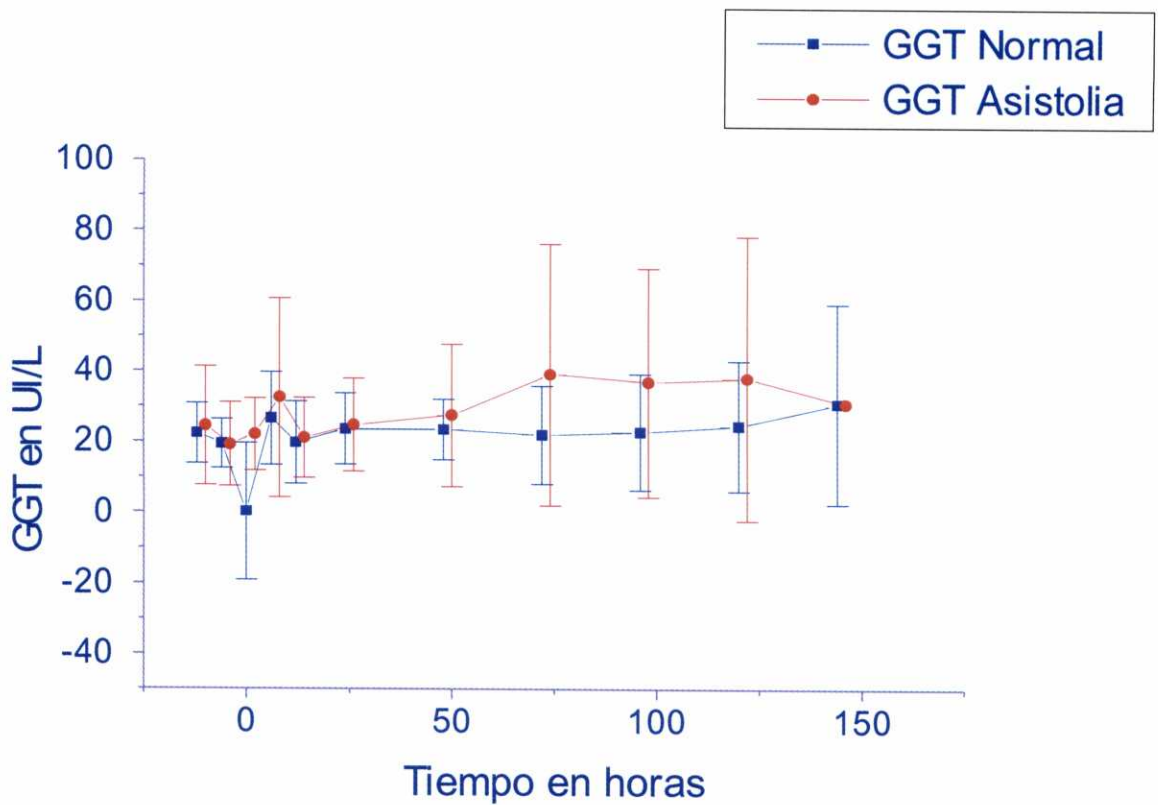


Ilustración 20: Evolución de la GGT.

La Glucosa muestra diferencias para una significación de $\alpha= 0,05$ en un valor obtenido a las 84 horas del trasplante manifestando una hipoglucemia en los cerdos cuyo trasplante se realizo con hígado obtenido de donantes en asistolia. La media global de la glucosa es de 96,17 MG/DL para los del grupo(G1) y de 109,43 MG/DL para (G2) con un rango respectivamente de 328,00 y 446,00.. Ilustración 21, Tabla 5

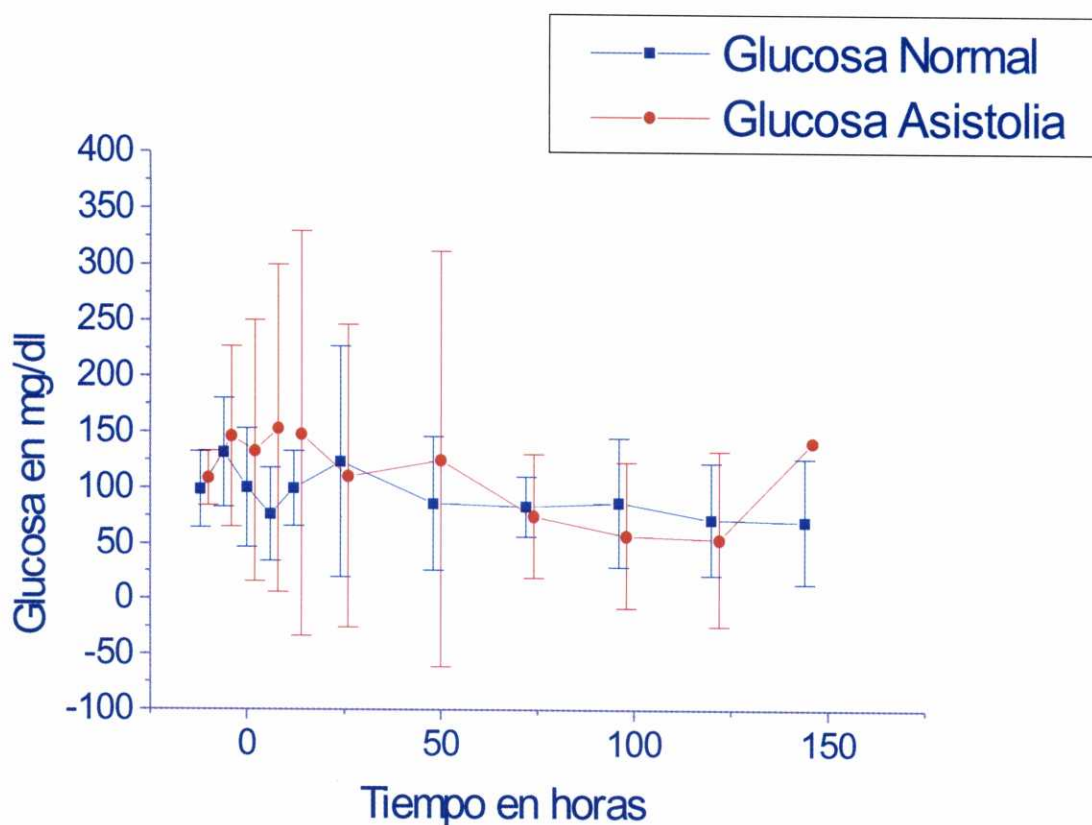


Ilustración 21: Evolución de la Glucosa.

La GOT no muestra diferencias significativas para una significación de $\alpha=0,05$. La media global de la GOT es de 845,55 UI/L para los del grupo(G1) y de 827,61UI/L para (G2) con un rango respectivamente de 5829,00 y 3605,00. Ilustración 22.

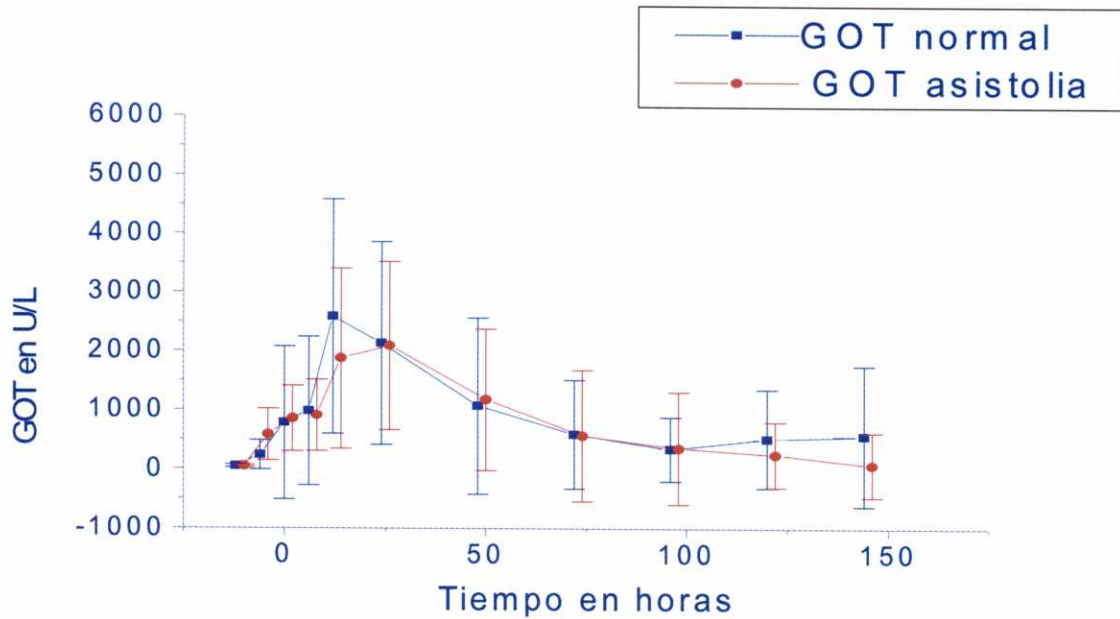


Ilustración 22: Evolución de la GOT.

El estudio estadístico de la GPT no revela diferencias entre las medias para una significación de $\alpha=0,05$. La media global de la GPT es de 63,61 UI/L para los del grupo(G1) y de 57,40 UI/L para (G2) con un rango respectivamente de 186,00 y 127,00. Ilustración 23.

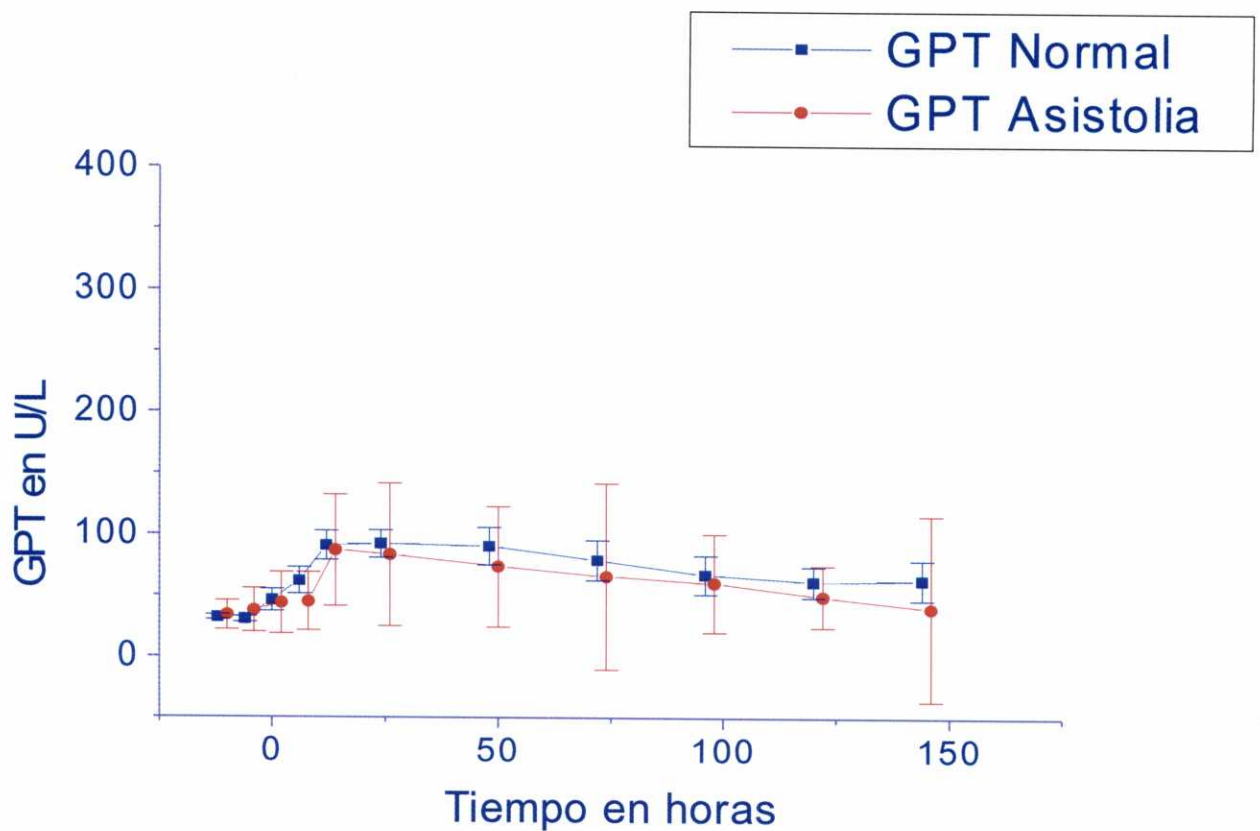


Ilustración 23: Evolución de la GPT.

El estudio estadístico de la LDH no revela diferencias entre las medias para una significación de $\alpha=0,05$. La media global de la LDH es de 3865,76 UI/L para los del grupo(G1) y de 3535,35 UI/L para (G2) con un rango respectivamente de 24474,90 y 20864,00. Ilustración 24.

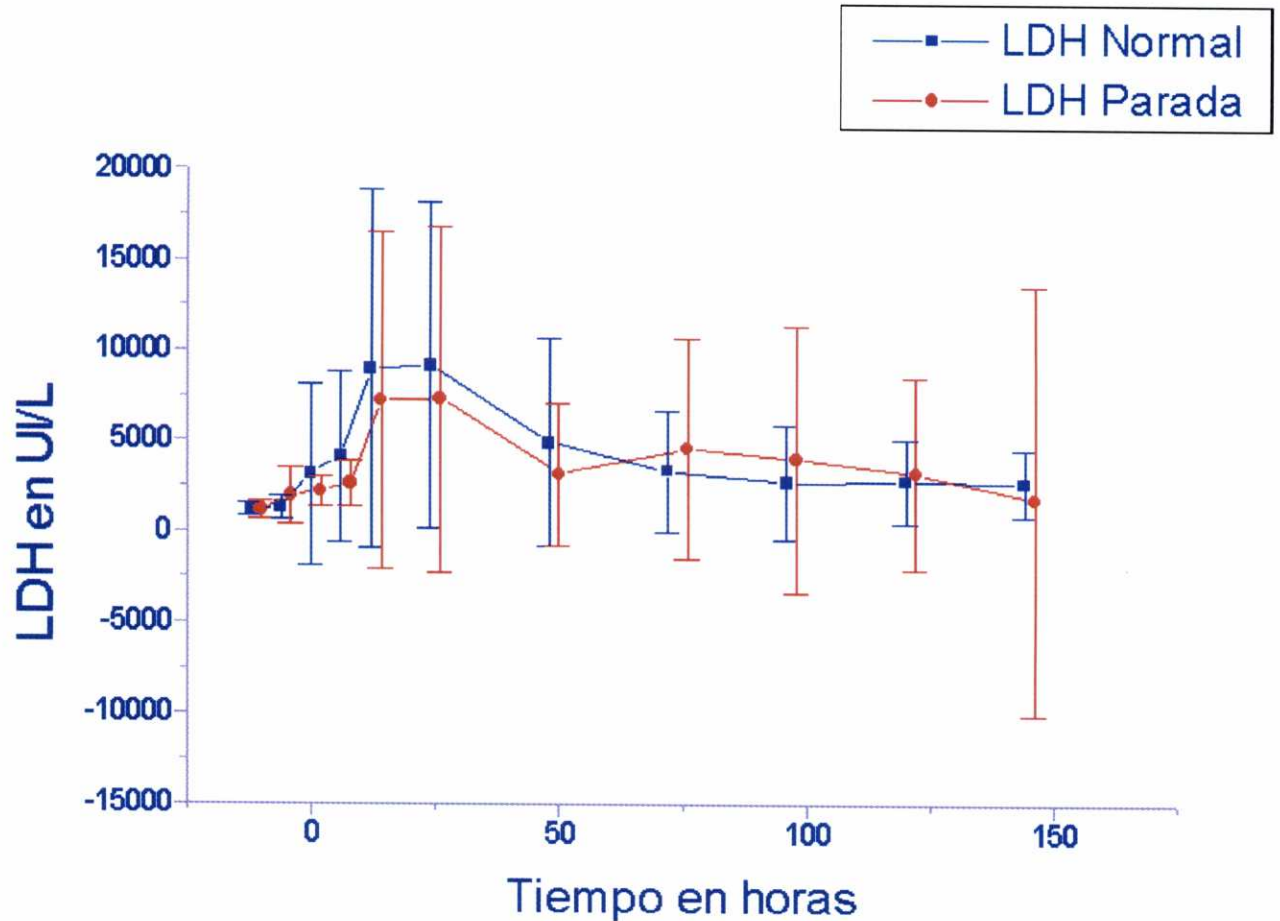


Ilustración 24: Evolución de la LDH

El estudio estadístico de las plaquetas no revela diferencias entre las medias para una significación de $\alpha=0,05$. La media global de las plaquetas es de $274,79 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ para los del grupo(G1) y de $310,56 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ para (G2) con un rango respectivamente de 632,32 y 699,0. Ilustración 25.

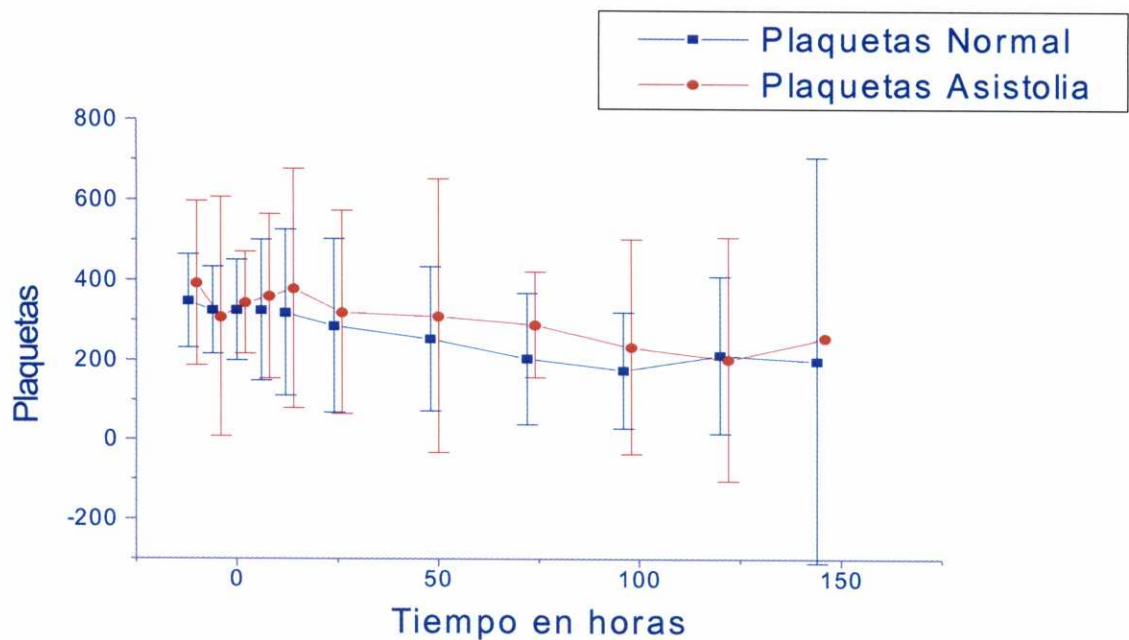


Ilustración 25 Evolución de las plaquetas

El estudio estadístico del potasio no revela diferencias entre las medias para una significación de $\alpha=0,05$. La media global de la potasio es de 5,34 mEq/l para los del grupo(G1) y de 5,61 mEq/l para (G2) con un rango respectivamente de 13,30 y 13,60. Ilustración 26.

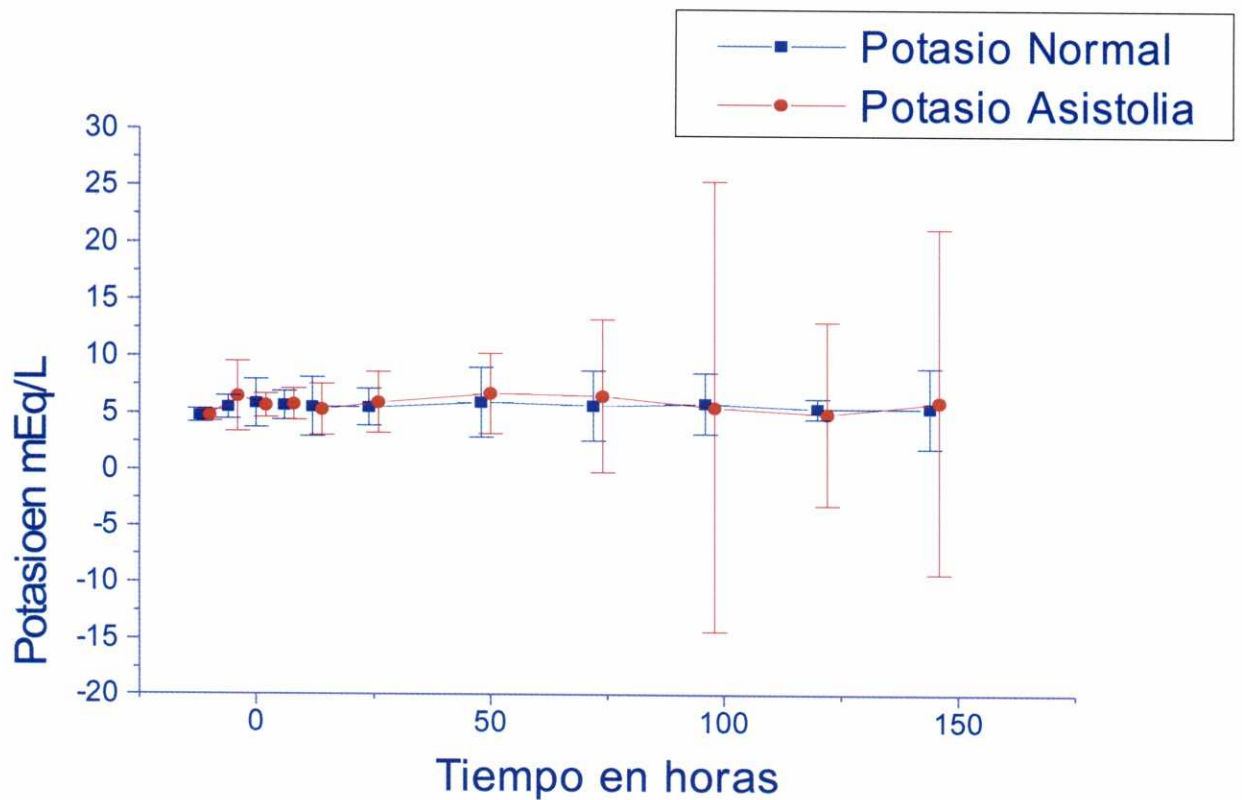


Ilustración 26: Evolución del potasio.

El estudio estadístico de las proteínas totales no revela diferencias entre las medias para una significación de $\alpha=0,05$. La media global de las proteínas totales es de 4,54 G/DL para los del grupo(G1) y de 4,17 G/DL para (G2) con un rango respectivamente de 6,80 y 6,30. Ilustración 27

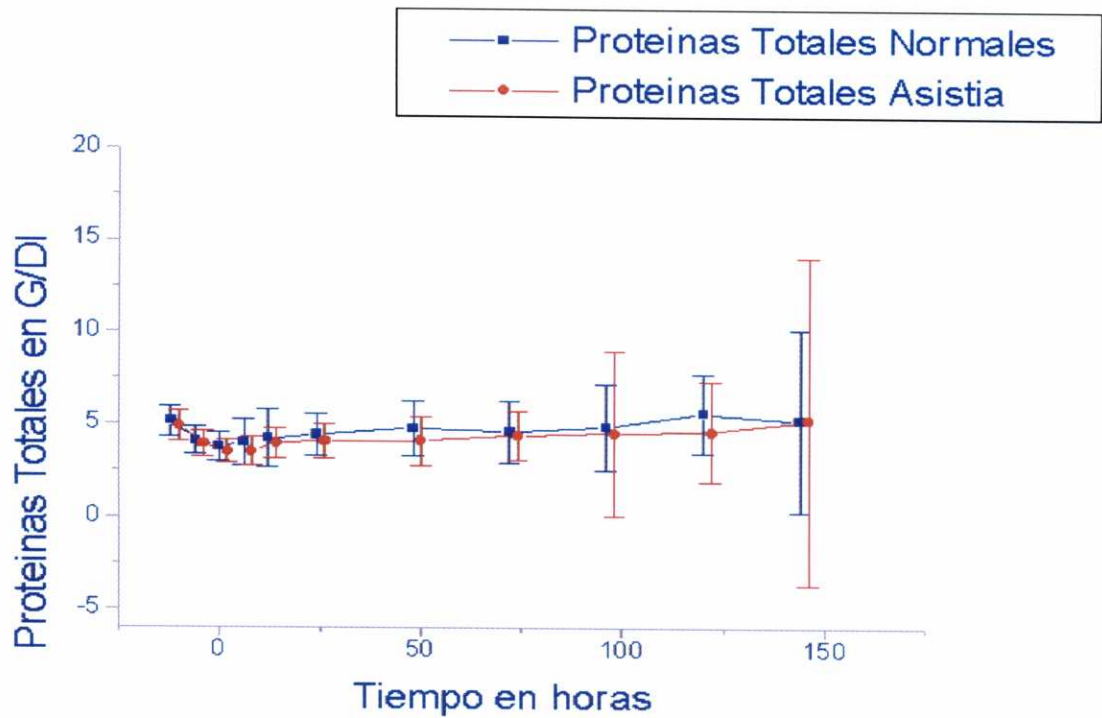


Ilustración 27: Evolución de las proteínas.

El sodio muestra diferencias para una significación de $\alpha=0,05$ en un valor obtenido al finalizar la intervención y otro a las 24 horas del trasplante con un aumento del sodio en los cerdos cuyo trasplante se realizó utilizando hígados obtenidos de donantes con corazón latiente. La media global del sodio es de 142,15 mEq/l para los del grupo(G1) y de 141,88 mEq/l para (G2) con un rango respectivamente de 156,40 y 48,00. Ilustración 28, Tabla 5

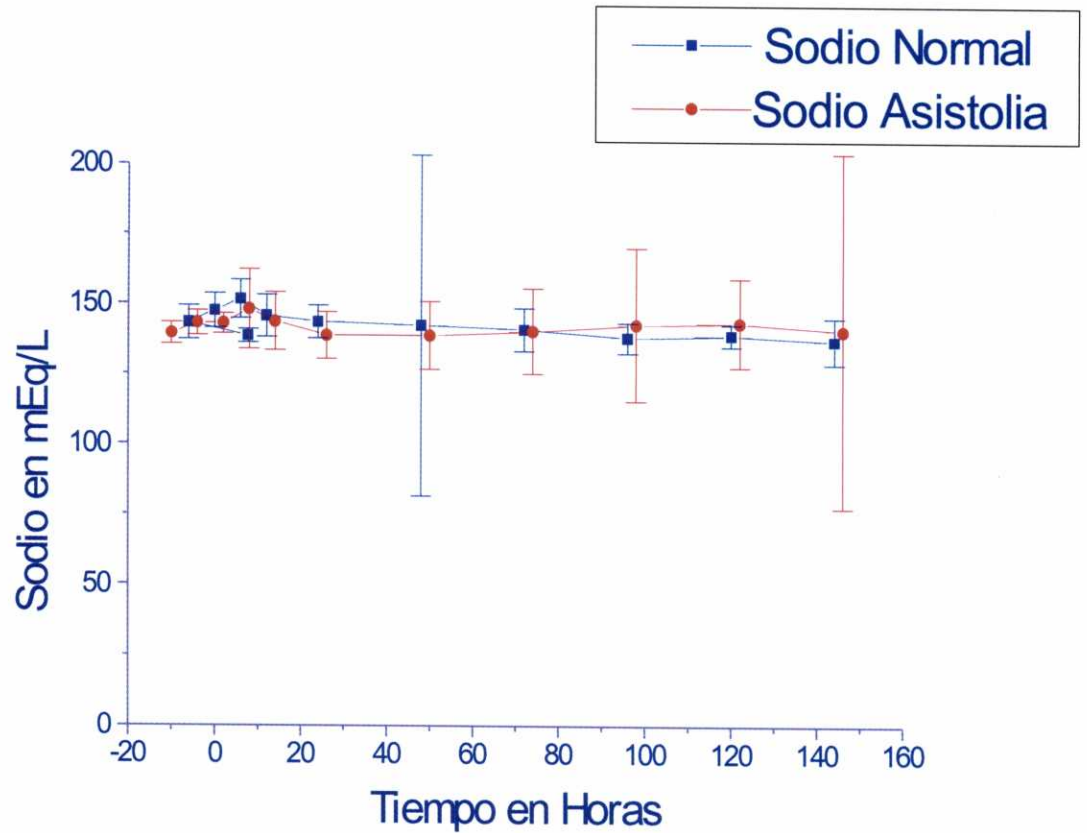


Ilustración 28: Evolución del Sodio.

El estudio estadístico de la urea no revela diferencias 4 entre las medias para una significación de $\alpha=0,05$. La media global de la GOT es de 44,20 MG/DL para los del grupo(G1) y de 44,99 MG/DL para (G2) con un rango respectivamente de 193,67 y 252,00. Ilustración 29.

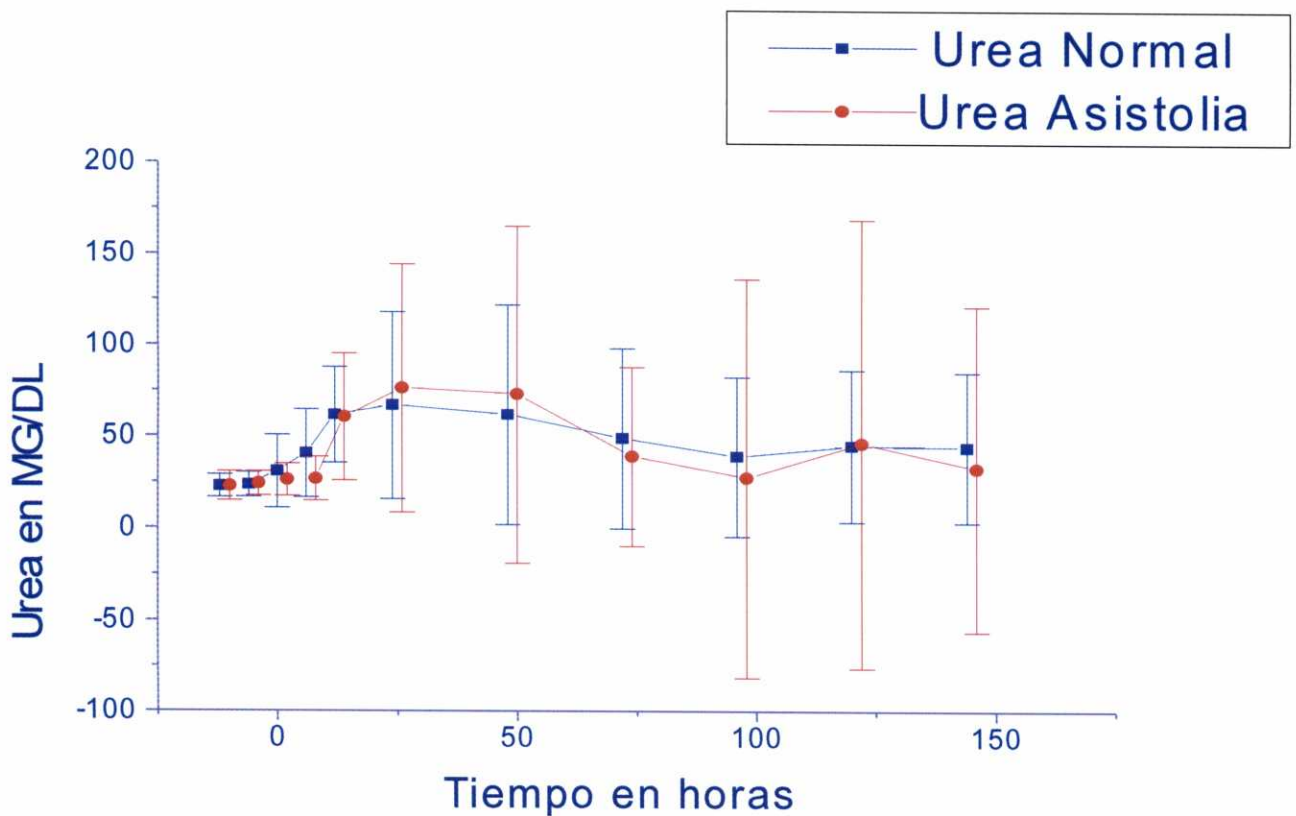


Ilustración 29: Evolución de la urea.

Variable	NORMAL(G1)			ASISTOLIA(G2)		
	n	Media	D.T	N	Media	D.T.
B.D. 12h	13	0,19	0,19	9	1,41	0,19
B.T.12h	13	0,36	0,47	9	1,90	1,47
F.A.12h	13	550,30	230,30	9	762,11	202,02
F.A.24h	12	545,25	173,01	9	790,22	192,33
F.A.36h	12	509,75	206,03	9	728,88	256,13
GGT72h	10	22,0	9,67	4	39,25	11,70
Glucosa 84 h	9	91,33	19,44	4	47,00	14,99
Sodio final in.	19	147,47	6,38	14	142,98	3,1
Sodio 24 h	12	143,50	4,64	9	138,66	5,45

D.T.= Desviación típica. T.Q.= Técnica Quirúrgica, B.D.= Bilirrubina directa, B.T.= Bilirrubina total, F.A.= Fosfatasa Alcalina.

Tabla 4: Media, Desviación típica de los parámetros que presentan valores con diferencias significativas.

5-5-Anatomía Patológica

5-5-1-Datos al finalizar la intervención (tiempo 0)

5-5-1-1-La balonización de los hepatocitos:

La balonización en el tiempo se manifiesta predominantemente de forma leve que se da en 7 casos que representa un 58,3%.(n=12) Ilustración 30, Ilustración 31.

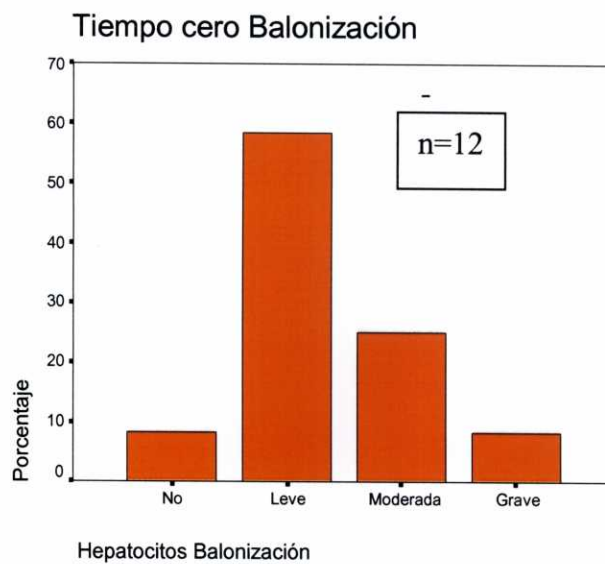


Ilustración 30: Balonización en el tiempo 0

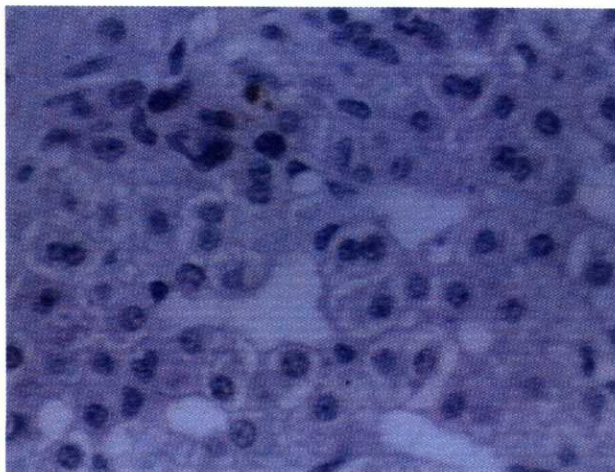


Ilustración 31: Balonización leve hepática

5-5-1-2-Prolongaciones bullosas de los hepatocitos.

Las prolongaciones bullosas son apreciadas en 2 de las 12 muestras analizadas.(n=12) Ilustración 32, Tabla.

Prolongaciones tiempo 0	bullosas	
SÍ		6,7
No	0	3,3

Tabla 5: Distribución de biopsias tiempo 0 según la presencia o no de prolongaciones bullosas

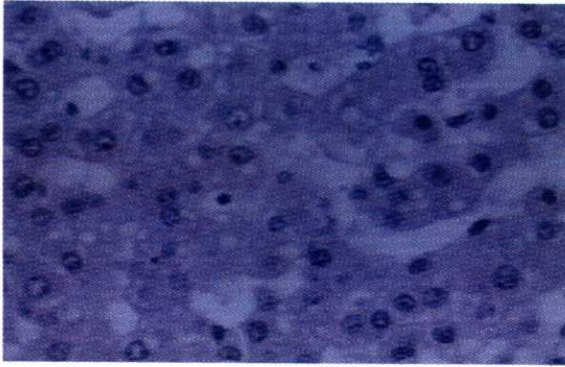


Ilustración 32: Vacuolas y psedópodos

5-5-1-3-Necrosis central:

Se aprecia en 3 casos de forma leve y en 1 caso de forma moderada(n=12).

Ilustración 33.

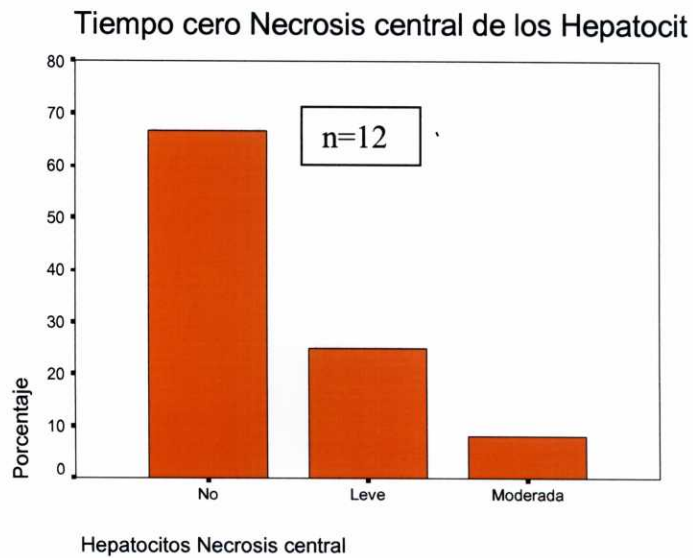


Ilustración 33: Necrosis central

5-5-1-4- Necrosis difusa.

Su distribución se aprecia en Tabla(n=11)

Necrosis difusa	n	%
No	7	63,6
Leve	3	27,3
Moderada	1	9,1

Tabla 6: Grado de necrosis difusa de los hepatocitos.

5-5-1-5-La forma de las células endoteliales:

Muestra un aspecto redondeado en un 25% de los casos analizados y una forma alargada en un 75%. (n=12). Ilustración 34

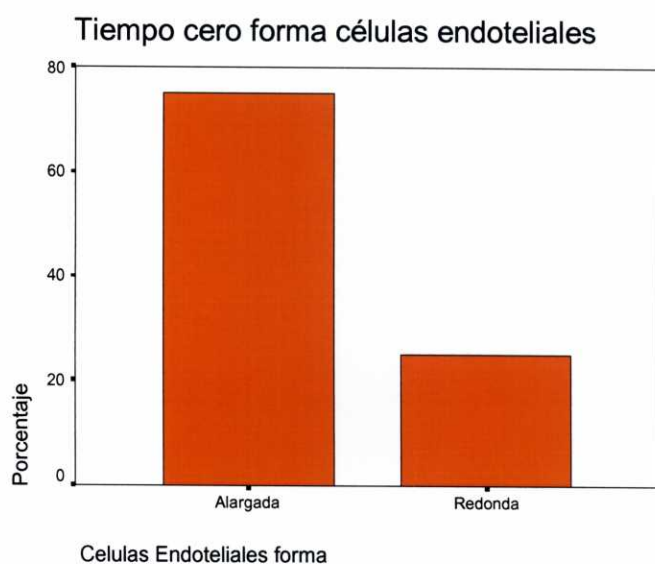


Ilustración 34: Forma de las células endoteliales en el tiempo 0

5-5-1-6-Adherencia de las células endoteliales:

Se presentan las células adheridas en un 54,5%, apreciándose desprendimiento en un 45,5%.(n=11). Ilustración 35

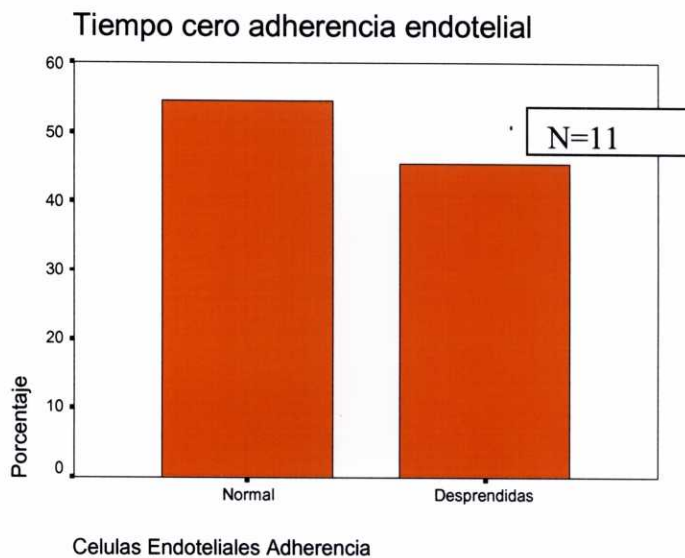


Ilustración 35: Adherencia de las células endoteliales a la pared vascular.

5-5-1-7-Células de Kupffer:

Aparecen activadas en 3 casos que corresponde a un 25% (n=12). Ilustración 36

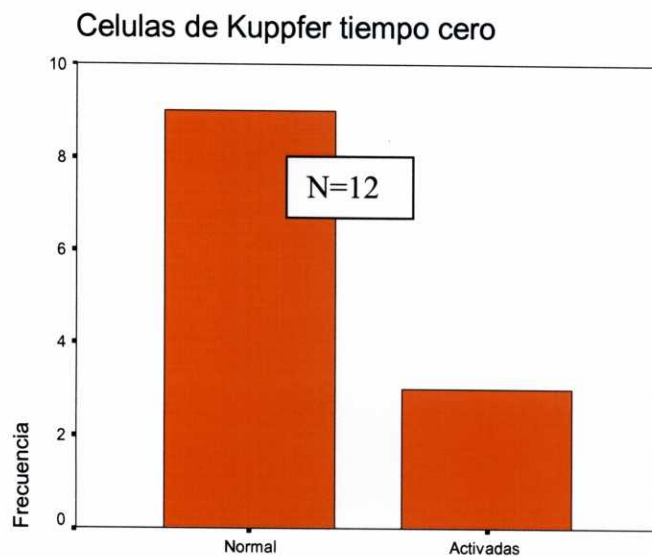


Ilustración 36: Células de Kupffer tiempo 0

5-5-1-8-Colestasis

En el tiempo 0 no se aprecia colestasis en ningún caso. N=12. Ilustración 37

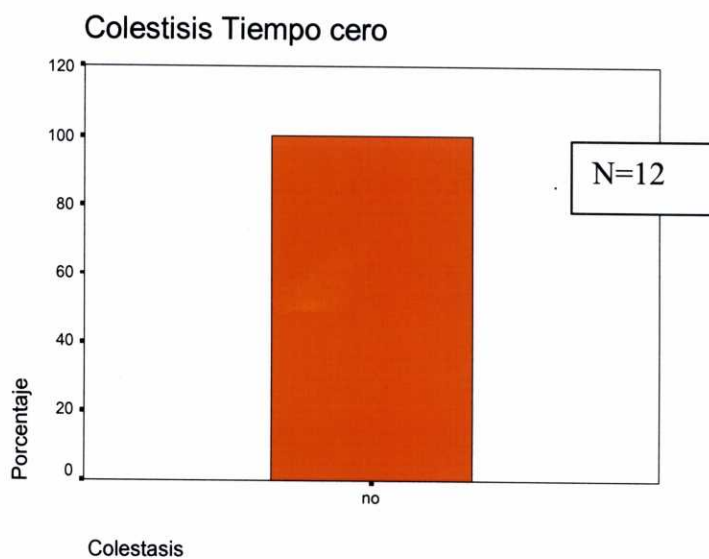


Ilustración 37: Colestasis en tiempo 0

5-5-1-9-Presencia de células inflamatorias:

Encontramos inflamación leve en 5 casos, moderada en 1 caso y severa en otro caso(n=12). Ilustración 38, Tabla 7

Células inflamatorias	n	%
No	5	41,7
Leve	5	41,7
Moderada	1	8,3
Severa	1	8,3

Tabla 7: Presencia de células inflamatorias en el tiempo 0

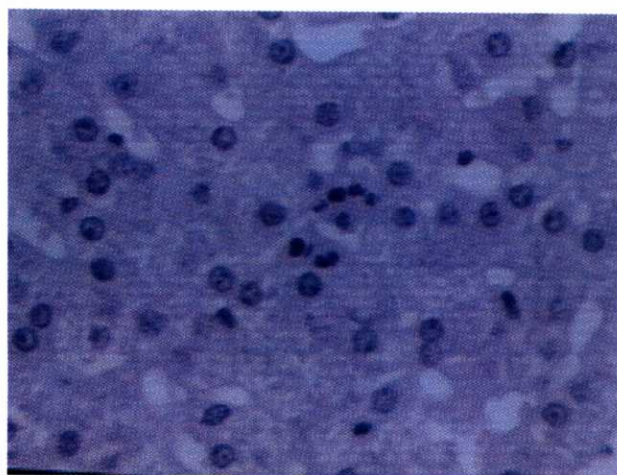


Ilustración 38: Inflamación aguda leve

5-5-2-Necropsia de los animales:

5-5-2-1-Balonización:

Presenta una balonización leve solamente un caso a la muerte del animal. Los otros 6 casos analizados a la muerte del animal no presentaron balonización.(n=7)

5-5-2-2-Prolongaciones bullosas:

No se aprecian en ninguno de los casos analizados, a la muerte del animal(n=4)

5-5-2-3-Necrosis central:

Se encuentra un caso de necrosis grave (n=7). Ilustración 39

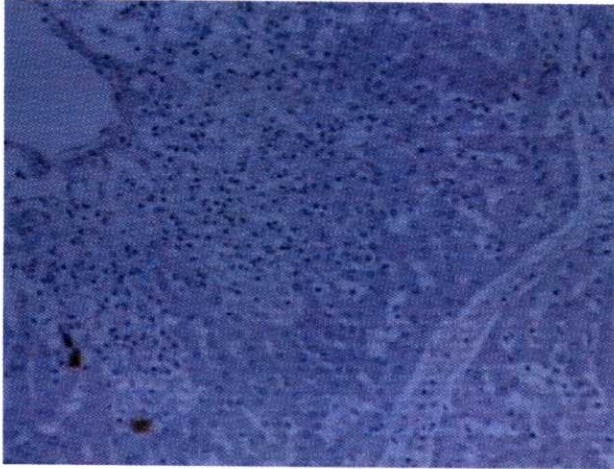


Ilustración 39: Necrosis centrolobulillar

5-5-2-4- Necrosis difusa:

No se aprecia en ningún caso (n=7)

.

5-5-2-5-La forma de las células endoteliales:

Se encuentra redondeada en una ocasión (16,7%) (n=6). Ilustración 40

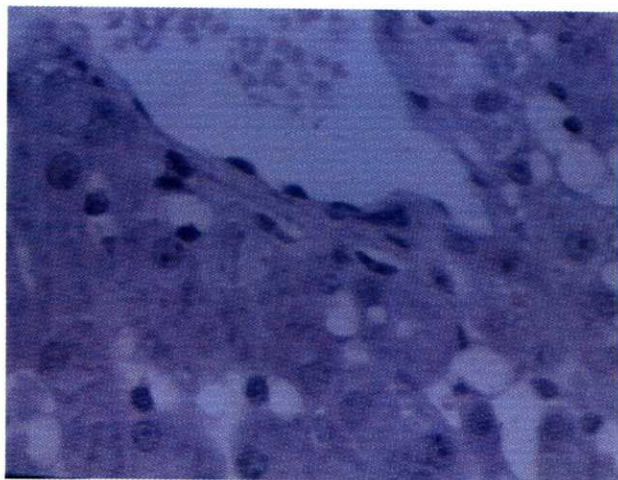


Ilustración 40: Células endoteliales prominentes

5-5-2-6-La adherencia de las células endoteliales:

En cuatro casos explorados todos presentaban las células bien adheridas a la pared.(n=4)

5-5-2-7-Células de Kupffer:

La activación de las células de Kupffer se apreció en 3 ocasiones que supone un 42,9% de las muestras analizadas (n=7). Tabla

Células de Kupffer	n	%
Normales	4	57,1
Activadas	3	42,9

Tabla 8: Estado de las Células de Kupffer a la muerte de los animales.

5-5-2-8-Colestasis:

Se aprecia colestasis en un caso (n=7) Ilustración 41.

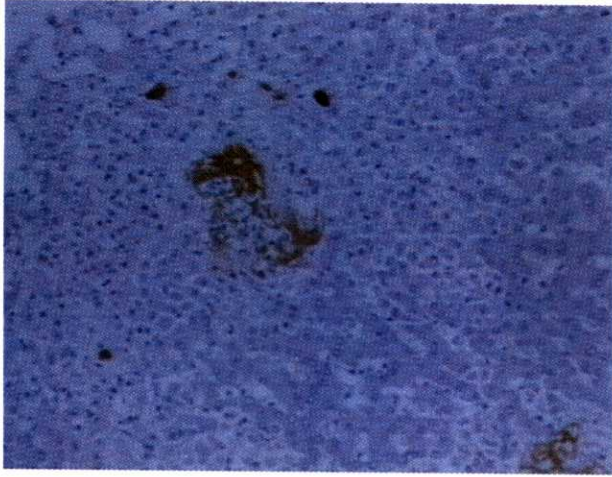


Ilustración 41: Tapones de bilis

5-5-2-9-Presencia de células inflamatorias:

La aparición de células inflamatorias a la muerte del animal aparecen distribuidas de forma muy dispar. En dos casos no se apreciaron células inflamatorias, en 2 ocasiones aparecen de forma leve, en un caso aparecen células moderadamente y en dos casos grave(n=8).Tabla 9.

Presencia de células inflamatorias a la muerte del animal	n	%
No	2	28,6
Leve	2	28,6
moderado	1	14,3
Grave	2	28,6

Tabla 9: Presentación de células inflamatorias a la muerte del animal.

6-DISCUSIÓN

6-1-Modelo experimental:

El trasplante hepático esta reconocido como el tratamiento de elección para los pacientes con enfermedades hepáticas terminales tanto agudas como crónicas.

Los buenos resultados obtenidos mediante esta técnica, hacen que se produzca un progresivo incremento del numero de indicaciones de trasplante hepático condicionando un aumento de muertes, en de pacientes con hepatopatía pendientes de tratamiento, por falta de injertos. En el año 1999 murieron un 7,6%¹ de los pacientes en lista de espera de trasplante hepático en España, esta cifra es más elevada que la cifra promedio de los últimos 10 años. El incremento de indicaciones provoca un desequilibrio entre el numero de pacientes en lista de espera y el numero de injertos disponibles para cubrir la demanda.

España con una tasa de 24,2 trasplantes por millón de población (pmp), con esta cifra se sitúa a la cabeza mundial de trasplantes hepático. El segundo país es EE.UU. con una tasa de 16 pmp, siendo el nivel medio de los países europeos de un 10 pmp.¹ Esta situación nos hace ver la necesidad clara de incrementar el numero de donantes, pues si España no tiene sus necesidades cubiertas con el numero de donantes del que disponemos los demás países con menores tasa de donación la situación empeora.

El modelo experimental que planteamos para reproducir una situación clínica, seria aplicable a sujetos previamente sanos, que acceden cadáveres al hospital tras un accidente mortal, en los que la causa de muerte se produce por sangrado e hipoxia. La muerte se produce en el trayecto o bien recién llegados al centro hospitalario, que tras un período de reanimación, se les diagnostica la muerte por parada cardio-respiratoria, el tiempo transcurrido entre la muerte y el inicio de las maniobras de reanimación es inferior a 30 minutos. Se adaptan mejor al modelo cuando existe un corto periodo de tiempo entre el traumatismo y la muerte ya que consideramos que agonías prolongadas condicionan la aparición del vaso espasmo arterial que dificultaría la perfusión del órgano.²¹⁶ Estos donantes se englobarían dentro del tipo I y II de las Categorías de

Maastricht preconizadas por Kootstra⁸⁸ y del grupo 1 o donantes en parada no controlados del grupo de Pittsburgh.³⁸

Los donantes a corazón parado fueron los utilizados inicialmente en los programas de trasplante, pero con unos resultados mediocres. La aparición del diagnóstico de muerte cerebral, los buenos resultados que acompañaron a los trasplantes realizados mediante donaciones a corazón latiente, determinaron que estos donantes fueran descartados.

Por otra parte la posibilidad de incrementar el número de injertos mediante este tipo de donantes parece interesante, no sólo desde el punto de vista del número de injertos que proporcionaría, sino también desde la perspectiva de la calidad del proceso ya que generalmente son donantes jóvenes cuya muerte se produce estando previamente sanos.

Es de destacar el desarrollo de los módulos de atención inmediata como, 061, 112, SAMUR, que desarrollan su actividad en las áreas metropolitanas. Se observa cada día con más frecuencia que en el lugar del accidente, un periodo de 15-30 minutos, aparece un equipo de médicos que en muchos casos lo único que puede hacer es certificar la muerte del accidentado por la irreversibilidad de las lesiones producidas.

Cualquier órgano extraído sufre constantes agresiones desde el momento en que se produce la muerte del donante hasta su implante en el receptor, en los donantes a corazón parado se le añade a este proceso la agresión del periodo de isquemia caliente que acentúa el daño del injerto, producida durante la reperfusión.

La búsqueda de soluciones a los problemas ocasionados por los órganos procedentes de donantes en parada es la preocupación de muchos grupos de trabajo y las soluciones propuestas se fundamentan en tres premisas:

La primera se fundamenta en prevenir o recuperar en lo posible el injerto del daño causado por la isquemia caliente.

La segunda se basa en conseguir un tiempo de isquemia caliente lo mas corto posible.

La tercera, es buscar parámetros que puedan predecir el comportamiento futuro del injerto para poder implantarlo con las máximas garantías en el receptor. En el momento actual contamos con escasos parámetros que nos muestren el estado del injerto antes de indicar el trasplante, una decisión equivocada implica un riesgo para el paciente trasplantado en ocasiones muy grave.

Las formas de actuar sobre la primera premisa están dificultadas por la imposibilidad de tratar al donante antes de que se produzca la isquemia caliente. La efectividad de la mayor parte de las sustancias estudiadas para proteger el injerto de la isquemia caliente, esta determinada por el uso previo a que esta se produzca. Los mecanismos de actuación de estas sustancias son diversos así la Clorpromacina previene la degradación de Fosfolípidos de la membrana,¹⁴⁶ la Somatostatina tiene un efecto citoprotector,¹⁴⁷ la Coenzima Q₁₀ preserva la función mitocondrial,^{150, 217} el Alfa tocoferol¹⁵⁰ es depreador de radicales, el Glutión (GSH) acelera la formación de ATP y disminuye la peroxidación,^{106, 218} el Alopurinol disminuye la formación de radicales libres durante la reperfusión,¹⁵⁴ la Metilprednisolona se utiliza para estabilizar la membrana de los lisosomas.^{154, 219} La superóxido dismutasa (SOD), las Catalasas, varias Peroxidasa y Glutión Reductasa también se le encontraron propiedades preventivas utilizados previos a la isquemia caliente.

Recientemente y de forma experimental el grupo de Takada utilizando antagonistas de la endotelina y antagonista del activador de las plaquetas, en cerdos con isquemia caliente de 45 minutos, lograron incrementar la supervivencia a los 7 días, que pasa 17% al 100%. Lo más interesante de este experimento es que estas sustancias fueron aplicadas en el momento de la reperfusión en el receptor, después de haber soportado el periodo de isquemia caliente.²²⁰

Otros resultados prometedores en la recuperación del injerto y la mejora de la supervivencia.^{221, 222} Son los efectos del bypass cardiopulmonar con perfusión oxigenada a 37°C, usado antes de iniciar la isquemia fría.

Las acciones propuestas en la literatura para acortar el tiempo de isquemia caliente son múltiples y se fundamentan en, prolongar la oxigenación del injerto mediante maniobras de reanimación cardiopulmonar efectivas⁶⁶ y por otro lado, en iniciar la isquemia fría lo más precoz posible.

El comportamiento de la *isquemia caliente* se analizó por diversos autores en pacientes sometidos a intervenciones quirúrgicas hepáticas clampando su flujo por períodos más o menos largos, concluyendo que si el clampaje se prolonga más de una hora se asocia con fallo hepático.²²³ En modelo experimental animal la ratas tampoco toleran isquemias calientes superiores a los 60 minutos,^{152, 224} sin embargo parece que los cerdos toleran isquemia caliente por más tiempo.²²⁵ En estudios parece demostrado que los picos de transaminasas que se producen tras periodos de isquemia caliente pueden beneficiarse si se aplica glucosa intraportal.²²⁶

Es necesario tener en cuenta los acontecimientos que se producen en el momento que se inicia *la reperfusión* de sangre hacia el injerto, marcada por la oxigenación de las células e incremento de la temperatura a la fisiológica,²²⁷ entonces se acentúan los daños que se iniciaron en las etapas anteriores afectando principalmente a las células endoteliales y activando las células de Kupffer.⁹³ Durante la reperfusión el aporte de sangre oxigenada induce la formación de radicales libres de oxígeno: superóxido, peróxido, hidroxilo y ácido hipocloroso.^{228, 229}

En el trasplante se hace preciso valorar además las agresiones que se producen al injerto durante el tiempo de preservación y en el periodo de preparación e implante que proporciona una isquemia semicaliente. Este periodo es más prolongado en los donantes en asistolia ya que es más difícil lograr el enfriamiento rápido de estos órganos.²²⁷

La perfusión de los órganos tiene que ser lo más rápida y eficaz posible como ya queda dicho con la finalidad de interrumpir la isquemia caliente. Nosotros proponemos un modelo con la perfusión *in situ* lo cual no quiere decir que clínicamente para mejorar los resultados no se pueda completar con otros métodos, valorando circunstancias concretas. Es importante manifestar a la vista de los datos, que donantes que sufren una parada cardiorrespiratoria con menos de 30 minutos de isquemia caliente, que aplicando medios mínimos como la perfusión *in situ*, permite comenzar el enfriamiento de los órganos con unas garantías de posterior utilización clínica

En nuestro modelo estudiamos isquemias calientes de 30 minutos, con un tiempo para la reanimación, más el tiempo que nos lleva canalizar la arteria femoral para poder colocar el Fogarty al nivel de la aorta. Es un modelo experimental para estudiar la preservación hepática y se basa en el procedimiento utilizado por Anaise para los riñones, con algunas modificaciones. La muerte del animal donante se provoca tras la anestesia, por shock hemorrágico.^{230, 231} La perfusión del hígado se realiza por la arteria femoral, previamente colocamos un Fogarty a nivel diafragmático para impedir la fuga de líquido de preservación hacia el tórax.

La perfusión *in situ* que comenzó a utilizarla Banowsky y García Rinaldi para la obtención de riñones,^{73,74} más tarde fue realizada por otros autores.^{78,79,80} Los trabajos de Anaise^{232, 233} que con un catéter con múltiples salidas y con un balón al nivel de la aorta torácica consigue mediante una presión a 70 mmHg en el catéter disminuir la temperatura del injerto a 15° C en menos de 5 minutos. El enfriamiento rápido evita la liberación de renina-angiotensina que aumentarían las resistencias vasculares renales y con ello la perfusión sería peor. La forma de perfundir los líquidos también se fue

variando por los diversos grupos, Garcia Rinaldi proponía en un principio la caída libre,⁷⁴ posteriores equipos proponen la introducción a presión mediante maquinas de perfusión como la bomba de rodillos que mete el líquido a un ritmo fijo⁶¹ y a presión pulsátil.²³⁴

En nuestro modelo animal perfundimos el injerto primero con Ringer lactato y luego con Collins, ya que la isquemia fría era corta y la baja viscosidad facilita la perfusión al nivel de la microcirculación.²³⁵

El grupo de Pittsburgh realiza la perfusión intra operatoria para los donantes controlados. La posibilidad de disponer de quirófano en el momento de la parada permite realizar una laparotomía y canalizando la aorta de forma rápida, pero esta técnica se adapta en escasas ocasiones al tipo de donantes que nosotros pretendemos representar en este modelo animal.^{38, 236}

La propuesta de perfusión peritoneal logra el enfriamiento superficial de los órganos⁸¹ pero no enfría adecuadamente la microcirculación hepática que es en realidad el sistema a preservar.

La prolongación de las maniobras de reanimación cardiopulmonar²³⁷ propuesta por el grupo de Pittsburgh para los donantes en parada no controlada, retrasando la perfusión hasta la apertura de la cavidad abdominal.²³⁸ En el Hospital Juan Canalejo de La Coruña se realizaron 3 casos con esta técnica asociada a compresión abdominal manual y con controles de presión arterial, P_aO_2 y pH, con buenos resultados.²³⁹ Para que estas maniobras sean efectivas y se mantenga una presión adecuada en los órganos es necesario que el sistema vascular este integro. En los donantes cadáveres por perdida de sangre nos parece más efectivo comenzar con la menor perdida de tiempo la perfusión in situ.

El enfriamiento corporal total mediante By-pass cardiopulmonar para lograr la oxigenación y perfusión con enfriamiento con lo cual se preservan e incluso se pueden mejorar las condiciones del injerto.^{71, 240} La dificultad de esta técnica estriba en la complejidad de montaje y que en politraumatizados con rotura del sistema vascular es difícil lograr un buen retorno venoso para solucionar este evento se puede añadir solución al reservorio²⁴¹ o puede ser necesario pasar a la perfusión in situ.³⁵

Otras propuestas a tener en cuenta a la hora de acortar el tiempo de isquemia caliente, para poder utilizar de forma clínica los órganos obtenidos en asistolia, se basan en un diagnostico de muerte por parada cardiorrespiratoria rápido y de total garantía, con unos protocolos claros y eficaces que permitan actuar con criterio adecuado en los

momentos delicados en que se produce la muerte, como los que utiliza el Hospital Lehigh Valley de Pennsylvania⁸⁶ y una legislación que regule actuaciones con la intención de preservar los injertos e impedir que estos se deterioren hasta un punto en que su utilización sea inviable, en este sentido el Real Decreto 2070/1999, de 30 diciembre (BOE de 4 de enero 2000) que desarrolla la Ley de 30/1979, de 27 de octubre, vino a cubrir un vacío legal que existía para este tipo de actuaciones, y manifiesta claramente la intención del legislador de facilitar la utilización de este tipo de injertos.

6-2-Animal de experimentación

Existen diversos modelos animales para el estudio de la isquemia del injerto hepático. La rata es el animal que se utiliza con mayor frecuencia, por razones claras, es barata, fácil de conseguir, fácil de mantener, y su manejo no precisa de grandes medios, pero presentan aspectos negativos como que sus estructuras vasculares y biliares son finas y las anastomosis es necesario realizarlas con microcirugía o mediante Cuff.

Los perros como modelo animal se adapta para poder realizar las anastomosis, pero son caros y difíciles de conseguir. Cuando se realizan experimentos es necesario utilizar un modelo uniforme, pues en caso contrario la variabilidad entre los modelos, puede interferir en los resultados.

La adaptación del cerdo al modelo experimental es buena, por una parte nos proporciona la posibilidad de realizar las anastomosis como en el humano, además, se cría de modo industrial lo que implica facilidad para conseguirlo, la variabilidad genética es baja ya que se trabaja con razas establecidas y anatómicamente es similar al humano.

6-3-Técnica quirúrgica:

La técnica quirúrgica que realizamos en los animales donantes se fundamenta en la desarrollada por Nakazato en el año 1989²⁴² y posteriormente desplegada en España por el grupo del Hospital Clinic de Barcelona.²⁴³

Esta técnica se basa en disminuir al máximo el trabajo en el donante, limitándose a la inserción de cánulas para la perfusión de los líquidos de preservación y la disección de los diferentes órganos a extraerse realiza en el banco “ex vivo”. Consideramos que esta técnica quirúrgica que se fundamenta en la sencillez, la escasa manipulación del órgano y la rapidez, representa una clara ayuda a la hora de preparar los órganos

abdominales. Los beneficios que reporta esta rapidez y escasa manipulación se manifiesta de forma clara en un hígado que previamente estuvo sometido a un tiempo de isquemia caliente.

La **técnica de extracción multiorgánica clásica** propuesta por Starzl en 1984, se fundamenta en la disección de todos los pedículos vasculares antes de iniciar la perfusión de los órganos.²⁴⁴ Posteriormente se desarrolló la denominada **técnica estándar** con la que se propone una menor disección del pedículo hepático, pero necesita un tiempo de preparación para iniciar la perfusión de aproximadamente de 45 minutos a una hora.²⁴⁵

Con la intención de conseguir órganos procedentes de donantes que se encuentran inestables o en parada cardiaca, Starzl propone en 1987 la **técnica de perfusión rápida**, se canaliza la aorta y la porta a través de la mesentérica inferior. Con esta practica consigue perfundir los órganos abdominales entre 5 y 15 minutos, la disección del hilio biliar se realiza posteriormente a la perfusión.²⁴⁶

En nuestros animales en los donantes en que se provoca la parada iniciamos la perfusión de los líquidos por la femoral, utilizamos en principio Ringer lactato con la intención de iniciar el enfriado del órgano y la limpieza por arrastre de los detritos presentes en la microcirculación. Posteriormente utilizamos Collins para mejorar la preservación del injerto. Tras la apertura abdominal se canaliza la vena mesentérica superior para perfundir Collins por el sistema portal.

Después de perfundidos los órganos abdominales iniciamos la extracción en bloque según la técnica de Nakazato y descrita en el apartado correspondiente de "Material y Métodos"

En los animales receptores se preservó la circulación portal hasta el momento de la extracción hepática. Realizando durante el implante la anastomosis de la suprahepática y la porta con cierta premura ya que en ningún animal del estudio se realizó By-pass, con la intención de descomprimir el territorio esplácnico durante el trasplante y facilitar el retorno venoso al corazón.

Sistemáticamente lavamos el injerto, después de su preparación en el banco y antes del implante, con Ringer lactato frío para limpiar la microcirculación y retirar el Collins utilizado durante la preservación. Con la misma intención, una vez implantado el injerto, utilizamos la primera sangre portal para calentar y arrastrar posibles restos de la microcirculación, esta sangre se drena a continuación por la vena cava infrahepática. Después de salir 100-200 CC de sangre por la cava infrahepática, clampamos esta y

desclampamos la cava suprahepática comunicando el territorio esplácnico con el corazón a través del nuevo injerto implantado.

El implante lo iniciamos con la anastomosis de la cava suprahepática con una anastomosis T-T, seguidamente realizamos la anastomosis de la porta T-T e iniciamos la reperusión, tras la cual realizamos la anastomosis de la cava infrahepática T-T. En ningún caso realizamos la técnica de Pigg-back ya que en el cerdo la cava inferior se encuentra totalmente rodeada por el segmento 1 del hígado, lo que hace muy difícil su aislamiento.

La anastomosis arterial se realiza T-T, entre el tronco celiaco del donante y la arteria hepática del receptor tras ligar sistemáticamente la gastroduodenal. No fue preciso el uso de microcirugía ni la realización de cuff para llevar a cavo la anastomosis arterial, en ningún caso se realizó la anastomosis a nivel aórtico.

6-4-Análisis de la supervivencia:

Un parámetro de efectividad en la investigación con donantes en corazón parado es la supervivencia de los animales, su análisis permite aplicar los resultados en la situación real, para que estos estudios puedan tener una repercusión clínica.

En los animales estudiados por nosotros encontramos una supervivencia para el grupo cuyos injertos procedían de donantes con corazón latiendo del 45,45%. Cuando manteníamos al animal donante a una parada cardiorrespiratoria de 30 minutos, comenzando entonces maniobras de reanimación cardiopulmonar y posteriormente a canalizar la arteria femoral con la intención de emprender la perfusión, lo que hace un tiempo aproximado de parada real de unos 50-60 minutos, la supervivencia en este caso bajaba hasta un 31,25%. Estas diferencias no llegan a ser significativas.

Si comparamos nuestros resultados con el estudio de Takada, que obtienen una supervivencia de un 17% para tiempos de isquemia caliente de 45 minutos, en los animales sin tratamiento mientras que cuando tratan a los animales con antagonista del factor endotelial y antagonista del factor activador de las plaquetas la supervivencia se eleva al 100%. En nuestro experimento con los animales sin tratamiento y con unos tiempos de isquemia caliente similares la supervivencia es ligeramente superior. Hay

que señalar que una de las diferencias apreciables con este grupo es la forma de producir la muerte de los animales donantes, en el grupo de Takada²²⁰ la muerte se produce mediante la retirada de respirador manteniendo un órgano con sangre estancada, mientras que en nuestros animales la muerte se produce por sangrado teniendo un órgano exangüe.

Estas diferencias parecen confirmarse con los estudios del Hospital Clinic de Barcelona²⁴⁷ que no logran supervivencias de los animales con asistolias de 20 minutos, la muerte a estos animales se le provoca mediante la inyección intravenosa de 20-30 mEq de ClK, sin embargo cuando realizan un periodo de circulación extracorpórea a 37°C durante 30 minutos a través de la bomba de bypass cardiopulmonar, con posterior enfriamiento corporal total y perfusión "in situ" con solución de Wisconsin, la supervivencia es del 100% para este periodo de isquemia caliente, un 70% para tiempos de 30 minutos y de un 50% para tiempos de 40 minutos de isquemia caliente.

En otros estudios realizados por Takada²⁴⁸ con tiempos de isquemia de 60 y 30 minutos, refiere una muerte en el grupo de animales trasplantado con un injerto sometido a una isquemia caliente de 60 minutos, no teniendo mortalidad con una isquemia caliente de 30 minutos.

El modelo del Hospital Clínico de la Universidad de Navarra para el estudio citoprotector de la N-Acetil cisteína, con tiempos de isquemia caliente de 30 minutos, la isquemia la realizan clammando arteria hepática y la vena porta así como la arteria esplénica para evitar la congestión, la cantidad de sangre dentro del injerto durante la isquemia caliente es la que mantiene la presión de la cava. La supervivencia de los animales es de un 20% en el grupo sin N-Acetil cisteína y de un 40% en el grupo tratado.²⁴⁹

El modelo experimental con cerdos utilizado por Matsuno para valorar la importancia del flujo portal, la muerte se provoca por pérdida sanguínea y el grupo que se mantiene en parada cardiocirculatoria durante 60-90 minutos, sobrevive un 25% de los animales.²⁵⁰

6-5-Causas de muerte:

En nuestro modelo experimental las causas de muerte de los animales trasplantados las dividimos en cuatro clases, técnicas, fallo primario del injerto, alteraciones metabólicas y sacrificio del animal al sexto día.

Las causas técnicas son las más frecuentes tanto en el grupo de asistolia (G2) como en el grupo en el que el trasplante se realiza con el corazón latiendo (G1) en ambos grupos el porcentaje muertes por esta causa es del 50%

El fallo primario del injerto tampoco muestra diferencias entre ambos grupos (G1 y G2) apareciendo una muerte en cada grupo por esta causa, lo que manifiesta que en nuestro estudio la isquemia caliente de 30 minutos no condiciona un incremento de fallo primario del injerto.

Las alteraciones metabólicas son la causa de dos muertes en los animales trasplantados con hígados procedentes de donantes en asistolia, en un caso por fracaso renal y otro caso por una hipoglucemia. Estos resultados coinciden con la serie de Takada en la cual también dos de las causas de muerte del grupo de asistolia es acidosis metabólica que conduce al fracaso multiorgánico en las primeras doce horas.²²⁰

En conjunto no encontramos diferencias entre los dos grupos cuando analizamos las causas de muerte.

6-6-Complicaciones:

Durante la intervención así como en el postoperatorio se producen similares complicaciones en los dos grupos de animales. Las complicaciones arteriales se presentan en forma de trombosis y hemorragia y se dan en un 25,3% de los animales trasplantados no existiendo diferencias significativas entre los animales trasplantados con hígado procedente de asistolia y los que se trasplantan con injertos procedentes de animales con corazón latiente. La trombosis arterial es la complicación arterial más frecuente hay que tener en cuenta que las anastomosis se realizan sin microcirugía y se produce en un 12,5% de los animales trasplantados con injertos procedentes de asistolia. La trombosis portal se da en tres casos, dos casos en G1 y un caso en G2. La trombosis de la cava se da en un caso del grupo G1 y cursa con importante ascitis y derrame pleural.

En el postoperatorio se aprecia necrosis de hepatocitos tres casos dos en G1 y 1 en G2.

La disposición del meso en los cerdos propicia que con cierta frecuencia se presenten problemas de asentamiento de las asas intestinales causando frecuentes vólvulos intestinales apareciendo en 5 ocasiones en G1 y en 4 en G2 que representa un 22,7% y 25% respectivamente.

La isquemia del colédoco por exceso de longitud a la hora del implante es posiblemente la causa de dos casos de necrosis de la vía biliar los dos casos se dan en el grupo G1.

Es de destacar que no existen diferencias significativas en las complicaciones de los dos grupos de animales. (para $\alpha = 0,5$)

6-7-Analíticas:

La lesión de los hepatocitos con necrosis hepatocelular se manifiesta con la elevación de los niveles en sangre de las transaminasas GOT y GPT, que en los primeros tres días del postoperatorio aparezcan elevaciones de estas enzimas parece un buen parámetro para valorar el daño que se produce a escala celular por la preservación del injerto,²⁵¹

Algunos autores han intentado definir el daño de preservación a través de estos parámetros para predecir el comportamiento del futuro del injerto. Los criterios en que se fundamentan para precisar el daño de preservación varían según los autores tanto en los parámetros utilizados como en los valores dados como patológicos. Generalmente se utilizan las cifras de AST, hasta 1000U/L como patrón normal.²⁵²

Según Makowka et al consideran inicial pobre función cuando se encuentra un $AST > 3500 \text{ UI/L}$ o ALT superior a 2500 UI/L En sus estudios esta situación se diagnostica en el ámbito clínico con una frecuencia del 15%.¹⁸²

Aplicando estos criterios analíticos a los animales de nuestro estudio encontramos una inicial pobre función en 4 casos (18,2%) para los cerdos que se le pone un injerto normal y un caso (6,2%) cuando el trasplante se realiza con un injerto obtenido en asistolia.

Si consideramos los criterios de Mor et al el cual la define como AST superior a 2000 UI/L en el primer día del postoperatorio y obtiene un 13,2% de diagnósticos

clínicos, aplicado a nuestros animales encontramos con 7 casos un 31,8% para los de corazón latiendo y de 3 casos un 18,8% para los de asistolia.

La comparación estadística de estos datos en ningún caso da diferencias significativas.

En nuestro experimento la comparación de las cifras de las transaminasas en las distintas tomas realizadas según protocolo a lo largo del seguimiento postoperatorio tampoco muestra diferencias significativas entre los dos grupos de animales, presentándose unas cifras prácticamente paralelas.

Estos datos coinciden con los obtenidos por Kamachi²⁵³ en un modelo de trasplante hepático en cerdos con unos tiempos de isquemia caliente de 30 y 60 minutos, Hickman²⁵⁴ y col. también en cerdos con tiempos de isquemia caliente de 60 y 120 minutos y los de Walsh²⁵⁵ en ratas con tiempos de 30, 60, 90 minutos de isquemia.

Comportamiento colestático del injerto. Al estudiarlo en nuestros animales encontramos un patrón obstructivo mas marcado en los que se trasplantaron con injertos procedentes de donantes en parada que en los que recibieron un injerto de un animal cuya extracción se realizo con el corazón latiendo. El patrón obstructivo se manifiesta con un aumento de la bilirrubina directa, bilirrubina total, Fosfatasa alcalina y la gamma-glutamyltranspeptidasa(GGT).

La bilirrubina se utiliza como prueba diagnostica del funcionamiento hepático,¹⁹⁹ puede elevarse por causas hepatocelulares con aumento de bilirrubina indirecta, o por problemas obstructivos o posthepáticos dando un incremento de la bilirrubina directa,²⁰⁰ este tipo es el que se suele observar en el postoperatorio del trasplante hepático y se produce por estenosis u obstrucción de la vía biliar.

En nuestros resultados la bilirrubina directa aparece elevada en los animales que se trasplantaron con injertos procedentes de parada respecto a los animales trasplantados con injertos procedentes de animales con corazón latiente. La bilirrubina obtenida a las 12 horas del trasplante se significativamente mas alta ($\alpha= 0,05$), estos valores se mantienen más elevados durante los tres primeros días.

La Fosfatasa alcalina es una enzima que deriva de la membrana plasmática, su origen tiene lugar en hueso, intestino, hígado y placenta. En el hígado se encuentra en las microvellosidades de los conductillos biliares y en la superficie sinusoidal de los hepatocitos. Su aumento en ausencia de embarazo y enfermedad ósea, suele indicar trastorno funcional de las vías biliares, aumentos ligeros o moderados suelen indicar trastornos del parénquima hepático y si los aumentos son más importantes (3 a 10 veces

su valor) indica ictericia obstructiva sea intra o extrahepática.¹⁹⁹ En los pacientes trasplantados aparece elevada en rechazo agudo, crónico, toxicidad por CyA y obstrucción biliar.²⁵⁶

En nuestro modelo la Fosfatasa alcalina mostró valores más altos durante los primeros cinco días para los animales cuyos injertos procedían de donantes con un tiempo de isquemia caliente, siendo significativamente más elevados ($\alpha = 0,05$) los procedentes de las tomas realizadas a las 12, 24, 36 horas.

La gamma-glutamyltranspeptidasa (GGT) es una glucoproteína en relación con la membrana, cataliza la transferencia del grupo gamma-glutamil de péptidos como el glutatión a otros aminoácidos y puede participar en transporte de aminoácidos. En las hepatopatías guarda relación con la con las cifras de Fosfatasa alcalina, es el indicador más sensible de enfermedad de vías biliares.²⁰⁰ Se encuentra elevada en afecciones pancreáticas, cardíacas, renales, pulmonares y se propuso como marcador del alcoholismo, pero es poco específica. El nivel de GGT, el de FA y el de la bilirrubina en ocasiones, se encuentra francamente elevado en el rechazo crónico.²⁰⁰ En nuestros animales se manifiesta elevada de forma constante para los animales con trasplante realizado con injerto procedente de asistolia siendo significativo ($\alpha = 0,05$) el valor de la toma realizada a las 72 horas.

En estudios clínicos se vio que el curso de los valores de la GGT y la FA son paralelos descendiendo hasta la segunda semana momento en que se produce un pico por rechazo, coincidiendo con un aumento de la bilirrubina.²⁰⁴ Este puede ser considerado como un patrón bioquímico de comportamiento normal dentro del trasplante hepático.

Por el comportamiento de estos parámetros en nuestro estudio parece corresponder claramente a un patrón obstructivo, que posiblemente se relacione con el edema celular, la hinchazón y la formación de bullas celulares. Cuando analizamos dentro de los animales en asistolia si existen diferencias entre las medias de estos parámetros a las 12 horas y el grado de edema estimado mediante anatomía patológica al final de la intervención, encontramos que en un 60% existe una balonización leve, en un 25% moderada y en un 6% grave. Es posible que este edema de las células continúe desarrollándose en las primeras horas y sea la causa de este aumento del patrón obstructivo.

Según los trabajos de Lemasters y de Caldwell-Kenkel durante la isquemia caliente los hepatocitos hinchan, desarrollando protusiones en su superficie de tipo

bulloso que pueden llegar a obstruir la luz del sinusoides, sin embargo tras la reperfusión estas alteraciones son rápidamente reversibles y pueden indicar un patrón obstructivo a nivel de los sinusoides y de los canaliculos intra hepáticos.^{123, 125}

Los trabajos realizados por Kamachi en la Universidad de Hokkaido,²⁵³ comparando tres grupos de cerdos con, 0, 30, 60 minutos de isquemia caliente, la GOT para valorar el daño de los hepatocitos y el ácido hialurónico para medir la función de las células endoteliales de los sinusoides, encuentran que la monitorización de la excreción de bilirrubina es un óptimo indicador para evaluar el grado de daño por isquemia, así como para predecir el funcionamiento del injerto. Esto parece coincidir con nuestros resultados al analizar el patrón obstructivo que encontramos en el postoperatorio inmediato.

El sodio aparece con unos valores mas elevados en los animales cuyo trasplante se realizo con un injerto procedente de un donante con corazón latiente, siendo significativo para ($\alpha= 0,05$) el valor de la toma realizada al finalizar la intervención y muy próximo a la significación el de las 24 horas, mientras que el valor de las 12 horas postrasplante es igual para los dos grupos de animales.

El metabolismo aeróbico repone los enlaces de fosfato de alta energía que se precisan para la función celular normal, cuando falta oxígeno se induce el metabolismo anaeróbico lo que produce un aumento de ácido láctico, creándose menos enlaces de alta energía y una acidosis. La falta de energía junto con la acidosis y los demás procesos desencadenados por la isquemia inducen alteraciones de la membrana celular con una perdida del balance de los iones sodio calcio, seguida de acidosis, shock osmótico, agrupamiento de la cromatina y picnosis nuclear.²⁵⁷ En este proceso el sodio entra en la célula y el potasio sale hacia el espacio intersticial.²⁵⁸

En nuestro experimento el valor del sodio prácticamente igual para los dos grupos de animales a las 6 y a las 12 horas postrasplante y que el incremento tendría que darse en los injertos mas dañados al retornar mas sodio al torrente sanguíneo, en nuestro caso se da a la inversa, parece indicarnos el carácter casual de los valores del final de la intervención y del de las 24 horas. Los resultados que encontramos en nuestros animales no parecen corresponder con alteración en la membrana celular hepática, parece un resultado casual sin significación clínica.

La glucosa muestra una evolución dispar en el tiempo para lo dos grupos, en las primeras horas del postoperatorio se encuentra mas alta en los animales con injerto

procedente de asistolia, a las 72 horas se invierte el sentido mostrando un valor con diferencias significativas en la toma realizada a las 84 horas.

Según los trabajos de Leatherdale la glucosa a parece perturbada en las hepatopatías por, el estado nutricional de paciente, las cifras de potasio, disminución de la masa parenquimatosa hepática, distorsión de la arquitectura hepática, disminución de la capacidad de síntesis de glucógeno, derivación portosistémica, y las alteraciones de la insulina ya sea en su formación, insensibilidad hística o en la existencia de hormonas que interfieren en su función.²⁵⁹

En los animales de nuestro estudio el **estado nutricional** preoperatorio es similar en ambos grupos, no encontrando diferencias cuando analizamos las proteínas totales ni la albúmina.

Las **cifras de potasio** no muestran correlación con las de la glucosa ni analizadas individualmente ni cuando se analizan controladas mediante el tipo de técnica aplicada a los animales.

La **perdida de masa parenquimatosa hepática** que se produce en las necrosis hepáticas, y se manifiesta con un incremento de las transaminasas GOT y GPT, en nuestros animales no se encuentra elevación de estas enzimas, en las tomas realizadas a las 84 horas, lo cual indica que un existe daño en los hepatocitos.

Las alteraciones de la **arquitectura hepática** esta más en relación con la hepatopatía crónica que induce a la cirrosis hepática.

El hígado normal realiza una importante función para mantener una glucemia normal mediante, la retirada de glucosa cuando existe exceso y la **almacena como glucógeno**, este glucógeno acumulado en los hepatocitos puede suponer un 5 a un 8% del peso del hígado, el organismo lo utiliza como reservorio de glucosa. Cuando se necesita glucosa y no existe aporte externo se recurre a la glucogenolisis que consiste en movilizar el glucógeno hepático mediante la enzima fosforilasa que se activa por la acción de la epinefrina y el glucagón.²⁶⁰ La hipoglucemia que se produce a las 84 horas en nuestros animales parece en relación con una alteración en la denominada función tampón del hígado por el agotamiento de los depósitos de glucógeno. La evolución de las glucemias parece indicar que los animales con hígado procedente de asistolia los depósitos de glucógeno se liberan y agotan antes que los de los animales con trasplantes realizados con hígados a corazón latiente.

La **derivación porto sistémica** claramente no existe en estos casos y las **alteraciones de la insulina** no podemos comprobarla ya que no tenemos valoraciones de su evolución.

6-8-Anatomía patológica:

En nuestro experimento estudiamos la repercusión morfológica del daño de preservación mediante microscopia óptica y se analiza en los injertos procedentes de animales en parada. **La biopsia que se realiza en el tiempo 0**, se toma al finalizar la intervención antes de cerrar al animal.

Conocemos de los estudios publicados que la preservación reperfusion afecta principalmente a los hepatocitos, las células endoteliales y las células de Kupffer.^{93,102:}

En los hepatocitos se produce una balonización y la formación de prolongaciones bullosas que son manifestaciones del hinchado de la célula por la entrada de sodio y agua en el citoplasma debido a la falta de energía para mantener en funcionamiento la bomba de Na.^{121,261} Según trabajos de Caldwell-Kenkel la isquemia caliente puede acelerar este proceso.¹²⁴ El hinchado celular repercute principalmente a dos niveles en primer lugar a nivel de los sinusoides hepáticos, el hinchado y la formación de prolongaciones bullosas se proyectan directamente dentro de los sinusoides lo que implica un taponamiento parcial o total de estos. En segundo lugar la pared de los hepatocitos da asiento al conductillo biliar que con sentido inverso a los sinusoides drena la bilis en los colangiolas a través del conducto de Hering que marca la transición de pared formada por hepatocitos a pared con epitelio biliar. Esto puede justificar en parte el patrón colestático de los animales con injerto procedente de animal en asistolia.

En nuestros animales de aparece en un 60% una balonización leve en un 25% aparece una balonización moderada y en un 6% aparece de forma grave. Las prolongaciones bullosas las encontramos en dos de los doce casos analizados de los injertos obtenidos en parada.

Otra manifestación de la isquemia que tratamos de analizar es a nivel de los hepatocitos la necrosis que puede provocar un patrón de tipo central

o de tipo difuso, existen controversias del significado de estos hallazgos en el comportamiento futuro del injerto.^{125,262}

Los estudios realizados por McKeown et al. en ratas la isquemia caliente, se manifiesta con mas frecuencia en los hepatocitos a nivel de las mitocondrias, con respecto a la isquemia fría.¹⁰¹

En nuestros animales aparece necrosis central leve en un 27,3% y moderada en 9,1%, no apareciendo en ningún caso necrosis central grave, la necrosis difusa la encontramos en las mismas proporciones y con la misma gravedad de la necrosis central.

Las manifestaciones de la isquemia en las células endoteliales se manifiesta modificando su forma y el grado de adherencia a la pared, si el tiempo de isquemia es importante adoptan una forma redondeada y se destruye la capa sinusoidal^{263,264} En los animales de nuestro estudio tratamos analizamos tanto la forma de las células como el grado de desprendimiento de la pared, encontrando una forma redondeada en un 25% de los casos y desprendidas de la pared en un 45%.

La isquemia caliente induce la activación de las células de Kupffer,^{265, 266} las cuales una vez activadas segregan en el sinusoide una serie de factores como el de la necrosis tumoral (TNF) que produce unas repercusiones locales y otras generales que pueden inducir edema intersticial pulmonar.²⁶⁷ En nuestros animales aparecían estas células activadas en tres casos lo que representa el 25%.

Las células inflamatorias muestran el grado de inflamación que aumenta con la revascularización y es paralelo al grado de necrosis de los hepatocitos, los patrones de inflamación que suelen aparecer son, neutrófilos o neutrófilos mezclados con linfocitos y restos celulares en los sinusoides.⁹⁸ En nuestros animales aparecieron de forma leve en 5 casos moderada en un caso y de forma severa en un caso.

Los estudios a la **necropsia** de los animales destacan la aparición de células de Kupffer activadas en un 42,95 de las muestras analizadas. En un caso encontramos una necrosis central grave y en otro una colestasis con tapón de bilis. En las muestras tomadas en la necropsia aumenta la cantidad de células inflamatorias.

6-9-Validez interna:

La única diferencia entre los grupos estriba en la forma de provocar la muerte y realizar la extracción en el animal donante

Los animales utilizados para el experimento tenían un peso similar para ambos grupos(20-25Kg), genéticamente eran similares ya que pertenecían a la misma raza Large-White, y nos fueron suministrados por la misma granja.

A los animales se le realizaron una preparación en el preoperatorio y una pauta anestésica similar, tanto para el donante como para el receptor de los dos grupos, así mismo la intervención en el banco y el trasplante en el animal receptor se realizó en idénticas condiciones. El protocolo para las extracciones analíticas tanto en tiempos como en cantidad, el tratamiento postoperatorio y el mantenimiento de los animales, se efectuaron de forma similar para los dos grupos de animales.

Como posible sesgo se puede considerar la falta de aleatoriedad en la distribución de los animales en los grupos y que la distribución en el tiempo tampoco fuese aleatoria sino que existe una tendencia a realizar primero los del grupo 1 y posteriormente los del grupo2, por el contrario los animales eran similares en peso, genéticamente y en origen. El equipo quirúrgico también similar y previamente al inicio del estudio se realizaron como preparación 26 trasplantes en condiciones similares con la intención de perfeccionar la técnica.

Otro punto a controlar como la técnica de extracción de la sangre fue similar para ambos grupos, el estudio de la sangre se realizó en el laboratorio central del hospital sin que el analista conociese a que grupo pertenecía cada animal. Y con metodología similar para ambos grupos.

Significación estadística: Se ha considerado estadísticamente significativos valores de $p < 0,05$. Los test estadísticos utilizados han sido bilaterales

La supervivencia actuarial se realizó con la metodología de Kaplan-Meier, se aplico el test de Log-rank para comparar los dos grupos.

Las complicaciones y las causas de muerte se compararon y estudiaron por medio test estadístico chi- cuadrado

Los datos cuantitativos de las analíticas se compararon mediante la t-student de datos independiente, comprobando la igualdad o no de las varianzas con el test de Levene. Previamente se determinó la normalidad o no de las variables estudiadas con el

test de Kolmogorov Smirnov. En caso de no presentar una distribución normal, la comparación de medias se realizó con el test de Mann Whitney.

Se realizó un estudio descriptivo de todas las variables procedentes del estudio del servicio de Anatomía Patológica ya que solamente teníamos datos de los animales del grupo G2.

Validez interna de los resultados. Dadas las características del estudio estos datos son representativos de los animales trasplantados tanto con injerto procedente de asistolia como de los animales trasplantados con injertos procedentes de animales a corazón latiente.

6-10-Validez externa de los resultados:

Los resultados de este estudio pueden extrapolarse a animales de características similares a los analizados, pues aunque no se realizó una distribución al azar para su entrada en el estudio, estamos hablando animales de pesos similares y características genéticas establecidas.

La intención de todo estudio clínico con animales es intentar utilizar estos resultados con finalidad clínica. En ningún caso se pueden extrapolar estos resultados para valorar el comportamiento de los injertos de los donantes humanos en asistolia con respecto a los de corazón latiente pero puede darnos una idea de su posible comportamiento y permitirnos iniciar estudios en humanos con fundamentos básicos de su posible comportamiento.

El modelo clínico que tratamos de valorar son los donantes que mueren en accidente por sangrado activo y que llegan cadáveres al centro sanitario o mueren tras intentar una reanimación intensiva en urgencias con un tiempo de isquemia caliente inferior a 30 minutos.

6-11-Consecuencias teóricas de los resultados:

Estos resultados indican que los injertos procedentes de animales en parada cardiorrespiratoria, con 30 minutos de asistolia más el tiempo empleado en realizar maniobras dirigidas a preservar los órganos, son utilizables como injertos para realizar un trasplante hepático en otro cerdo de las mismas características que las analizadas. La

supervivencia en estos casos es ligeramente inferior a los que se trasplantan con injertos procedentes de donantes con corazón latiente.

Esto nos incita a iniciar estudios en donantes humanos cuya muerte se produce en parada cardio respiratoria ya que consideramos que la isquemia caliente se comporta de forma similar tanto en los hígados humanos como porcinos.

El incremento de donantes en parada lo analiza el Documento de Consenso Español para la Donación de Órganos a Corazón Parado, la valoración la efectúa analizando los datos de dos formas diferentes

Primero teniendo en cuenta el incremento de donaciones que supone tener un programa de estas características en marcha, las cifras oscilan entre un 6,2% y un 21,8 % según los centros.

La segunda forma de realizar el cálculo es teniendo en cuenta estudios nacionales e internacionales que sobre donantes potenciales calculan que probablemente entre un 10-14 % de los fallecidos en un hospital pueden cumplir los requisitos de donación de órganos.²⁶⁸ Si las muertes cerebrales suponen entre el 2-4 % de los donantes, parece que utilizar los donantes en parada puede incrementar en varias veces el número de injertos.

6-12-Posibles mejoras en la investigación del tema:

La búsqueda de sustancias que permitan recuperar la función del injerto, parece una de las principales preocupaciones de los distintos grupos de trabajo encontrar sustancias que de alguna forma protejan al injerto durante la isquemia caliente o que permita la viabilidad de este durante la reperfusión. Se realiza una revisión de los trabajos publicados desde el 1997 hasta enero del 2001 en este sentido.

Existen múltiples descripciones en la literatura del uso de sustancias para proteger el injerto de la isquemia caliente pero su utilización es previa a la isquemia. Así Ikegami fundamenta el tratamiento en aplicar 60 minutos antes de la isquemia un inhibidor de la fosfodiesterasa tipo 3, encuentran que disminuye el daño en el injerto causado por la isquemia caliente y fría e incrementa el cAMP intracelular.²⁶⁹

La eliminación de las células de Kupffer, mediante liposomas encapsulados de diclorometileno difosfonato, es la base de los estudios de Oikawa en modelo porcino y encuentran una mejora en la microcirculación de los animales tratados.²⁷⁰

El uso de heparina y fentolamina con la intención de mejorar la perfusión de la microcirculación es en lo que se fundamentan los estudios de Richter.²⁷¹ En otro

estudio de este grupo trata de valora en ratas el efecto protector, del antifibrinolitico estrectokinasa, frente al daño de la isquemia caliente.²⁷²

El estudio del efecto de la pentoxifilina que es un antiagregante plaquetario, en la prevención de los efectos de la isquemia caliente en ratas, es el objetivo de los trabajos de Astarcioglu.²⁷³

Minor estudia el efecto de la adenosina sobre el injerto durante la reperfusión, los trabajos realizados en ratas con hígados exvivo tras un tiempo de isquemia caliente.²⁷⁴

La N-Acetilcisteina para prevenir el efecto de los radicales libres de oxigeno en cerdos es el objetivo de los estudios de Manika.²⁷⁵

Soejima estudia aplicar antes de la isquémica caliente factor inhibidor de la síntesis del Tromboxano, el trabajo lo realiza en ratas.²⁷⁶

Los estudios del Clinic de Barcelona se fundamentan en aplicar L-Arginina durante un periodo de recirculación normo térmica en el cadáver después de la isquemia caliente.²⁷⁷

Los recientes trabajos de Takada son los únicos que claramente actúan sobre el receptor, aplicando antes de la reperfusión antagonista de la endotelina y factor antagonista del activador de las plaquetas. Los estudios están realizados en cerdos.²²⁰

Parece importante lograr sustancias que protejan al injerto de las repercusiones de la isquemia caliente en este sentido los efectos de la activación de las células de Kupffer, los radicales libres de oxigeno y la perdida de carga energética parecen los principales agentes causantes del daño en el momento de la reperfusión. El otro punto donde se centran las actuaciones es en lograr una buena limpieza en el ámbito de la microcirculación, permitiendo un buen paso del liquido, las actuaciones se centran en la densidad de los líquidos y disminuyendo el espasmo de los vasos. Conseguir sustancias que se puedan aplicar en el receptor parece una solución mucho más operativa.

Métodos que permitan diagnosticar la viabilidad de injerto. Los estudios efectuados durante el periodo desde 1997 y 2001 se fundamentan en el estudio del acido Hialurónico como marcador de las células endoteliales en el momento de la reperfusión.^{278,279}

El alfa-GST también se utiliza como marcador del grado de lesión endotelial, estudiado en cerdos por el grupo del Cinic de Barcelona²⁷⁹. Este mismo grupo en el

mismo modelo animal estudia el valor del monoethylglycinexylidide (MEGX) para predecir el comportamiento del injerto tras diversos periodos de isquemia caliente.²⁷⁹

El MEGX es valorado junto con las transaminasas y la bilirrubina en modelo animal por el grupo de Ong.²⁸⁰

El estudio de la carga energética es el objetivo de los trabajos de Minor en ratas y del grupo del Clinic de Barcelona en cerdos.^{281,282}

El objetivo de la búsqueda de un marcador, del daño de la isquemia caliente, tiene que centrarse en poder conocer el comportamiento de un injerto antes de tomar la decisión de realizar el trasplante, o sea en el momento que se decide la donación ya que tomar la decisión posteriormente supone un riesgo para el receptor. Todos los marcadores mencionados anteriormente nos pueden indicar el comportamiento de un injerto trasplantado pero no sirven como método para descartar un donante.

Posibilidad de recuperar un injerto tras un tiempo de isquemia caliente en el limite alto, algunos autores han sugerido el efecto beneficioso de la perfusión oxigenada a 37 ° C mediante el uso del bypass cardiopulmonar sobre la evolución futura de los injertos sometidos a isquemia caliente, Hoshino mediante este método encuentra un incremento de la supervivencia,²⁸³ Endoh mediante este método encuentra una recuperación de la carga energética²⁸⁴

Los estudios realizados mediante modelo porcino del grupo del Clinic de Barcelona encuentran claro beneficio, de la recirculación normotermica mediante bypass cardiopulmonar durante 30 minutos, en la supervivencia, daño endotelial así como en la carga energética.²⁸⁵

Estas técnicas que consisten en mantener el donante después de la isquemia caliente con la intención de mejorar su función no es practico en nuestro modelo dado que al ser la perdida de sangre la que provoca la muerte no existe la posibilidad de mantener una recirculación normo térmica.

El modelo propuesto por Minor en ratas y que trata de recuperar al injerto después de extraído del donante, parece que se adapta mejor a las necesidades de los donantes de nuestro modelo. En el tratamiento incluye un antioxidante como superóxido dismutasa y la insuflación vascular con oxigeno gaseoso durante la preservación.²⁸⁶

Filipponi et al, para valorar la recuperación de la isquemia caliente utiliza un modelo en cerdos, la muerte se produce mediante la perdida sanguínea y luego esperan 30 minutos para perfundir con 3 litros de Eurocollins, posteriormente mantiene el hígado con perfusión ex situ a 37°C durante 6 horas.²⁸⁷

La reciente publicación en la que Schon et. col. muestran sus resultados de la preservación del injerto hepático mediante perfusión extra corporal normo térmica, para recuperar 60 minutos de isquemia caliente. El estudio esta realizado en cerdos y los resultados parecen alentadores.²⁸⁸

Estos dos últimos modelos al actuar directamente sobre los injertos un vez realizada la extracción parecen mas efectivos al acometer una recuperación y un mantenimiento del injerto individualizado.

La posible utilización de estos injertos se vera beneficiada por un diagnostico de muerte seguro y sin demasiadas dilaciones así como por una reanimación de los accidentados de forma que permitan mantener los injertos hasta el momento del diagnostico de muerte sin interferir con el mantenimiento general del paciente. Bellamy y Safar investigaron la preservación del organismo como un todo inmediatamente después de iniciarse el paro cardiaco, para conservar la viabilidad de los órganos vitales durante el paro circulatorio de una a dos horas, para el transporte y la reparación del paciente sin pulsos, lo que iría seguido por reanimación a fin de lograr la supervivencia sin lesión cerebral. A este criterio totalmente nuevo lo denominaron Animación suspendida.^{289,290} La hipotermia controlada, podría proteger y preservar las vísceras abdominales, además del cerebro, en reanimaciones encaminadas a salvar la vida de traumatismos por hemorragias.²⁹¹

6-13-limitaciones del estudio:

El estudio esta realizado en animales de experimentación y la extrapolación de los resultados a la población general tiene que hacerse con muchas reservas ya que no se pueden generalizar los resultados de un a población a otra distinta. Los resultados de un estudio como este nos puede sugerir una idea del comportamiento de los injertos en los humanos pero es necesario perfilar estos resultados para utilización de forma clínica.

No hemos encontrado diferencias significativas en muchos de los parámetros estudiados. Hemos de considerar que nuestra tendencia muestral es adecuada para detectar diferencias de mayor magnitud. La complejidad del estudio por otra parte no hace viable disponer de más animales de experimentación para su realización. Sin embargo los estudios son consistentes con publicaciones similares.

La anatomía patológica solo se ha realizado a 12 animales procedentes del grupo 2 para valorar evolución del injerto. Hay que tener en cuenta el objetivo primario de este estudio es la supervivencia. Por tanto solo se describe la anatomía patológica en los animales cuyo injerto procedía de asistolia en plan exploratorio.

El estudio no ha sido aleatorio. Sin embargo los animales son comparables en, peso edad, carga genética, procedencia. Por lo que podemos considerar que esta ausencia de aleatorización posiblemente no afecte los resultados del estudio.

8-. CONCLUSIONES

1-Los animales que se trasplantan con injertos procedentes de donante en parada tienen una supervivencia ligeramente inferior a la de los animales que se trasplantan con injertos procedentes donantes con corazón latiente, sin embargo estas diferencias no llegan a ser significativas.

2- Los injertos procedentes de donantes en asistolia presentan un patrón colestático en las primeras horas del postoperatorio mas intenso que los animales que se trasplantan con injertos procedentes de donantes con corazón latiente.

3-Los injertos procedentes de asistolia presentan una función de los hepatocitos similar a los de corazón latiente valorado a través de la evolución de las cifras de GOT y GPT.

4-Las complicaciones y las causas de muerte son similares en los dos tipos de tratamiento.

5 -Los depósitos de glucógeno parecen agotarse antes en los animales con hígados procedentes de asistolia, existiendo diferencias que en el estudio no llegan a ser significativas.

9-. Bibliografía

- 1) OCT Trasplante hepático. Rev. Esp. Trasp. Vol. 9. Nº 1 –26-44.
- 2) B. Miranda, R. Matesanz. Evolución de las características de los donantes en España. Coordinación y trasplantes. El modelo español Edita ONT, pp 99-109 .1995.
- 3) Rivers EP , Buse SM , Biving BA y hort HM. Organ and tissue procurement in the acute care setting: Principles and practice (Part 2). Ann Emerg Med. 19 :193-200, 1990.
- 4) Getino Melián M., Escalante J.L. Detección , Identificación y Valoración Clínica del Donante de Organos y Tejidos . Curso Superior Internacional En Coordinación de Trasplantes. pp. 1.1.17.
- 5) Penn Y. Malignancy in transplanted organs. Transpl Int. 6: 1-3. 1993.
- 6) Hoffman HJ, Duffner PK . Extraneural metastases of central nervous system tumors. Cancer. 56:1778-1782,1985.
- 7) Gottesdiener KM, Transplated infections: Donor-to-Host transmsion with allograft. Ann Inter med. 110: 1001-1016, 1989.
- 8) Soifer BE y Gelb AW. The multiple organ donor: Identification and manegement. Ann Inter Med: 110 :814-823, 1989.
- 9) Starz TE, Demetris AJ, Thiel DV: Liver transplantation , N Engl J . Med 1989; 321:1014-1022.
- 10) Espinel Garuz E. Criterios de selección del donante de organos y tejidos.En : Protocolos de obtención de órganos y tejidos. Eds Morlans Molina M, Piera Robert L.Ed Mayo. Barcelona. 1990. Pag 45-55.
- 11) F. Sánchez-Bueno, P. Parrilla. Criterios de selección del donante: Trasplante Hepático: V. Cuervas-Mons Dirección Editorial pp 23-35 .1993.
- 12) Manyalich M, Valero R, Cabrer CA, Garcia-fages LC. Criterios de aceptación de donantes de órganos: detección identificación y selección de

donantes. Estado actual y perspectivas de futuro. Revista Española de Trasplantes. Vol.1, no 1,pp.16-20 Marzo 1992.

13) Bodenham A, Park GR. Care of the multiple organ donor . Intensive Care Med. 15:340-348,1989.

14) Casavilla A, Mazariegos G, and Fung JJ. Cadaveric liver donor: What are the limits?. Transplant Proc. 1996; Vol 28, N° 1: 21-23.

15) Raia S, Nery JR, Mies S. Liver transplantation from live donors. Lancet; 1989; 2: 497.

16) Strong R., Lynch S, Ong TH, y cols. Successful liver transplantation from a living donor to her son. N Engl J Med; 1990; 32: 1505-1507.

17) Broelsch CH, Whittington P, Emond J, y cols. Liver transplantation in children from living related donors. Ann Surg; 1991; 214:428-439.

18) Vazquez J, Alvarez de la Marina J, Gamez M, Mata A, Murcia J, Lopez Santamaria M, Jara P, Diaz MC, Bourgeois P, Rodriguez E, Criado A, Magallon P, Tovar JA. Trasplante hepático de padre a hija: Primera experiencia en España. Rev Esp Trasp; 1995; Vol.3 N°3: 180-182.

19) Vazquez J. Gamez M. Ballesteros A. Murcia J. Santamaria, M L. Tovar J.A. Extracción segmentaria hepática en donante cadáver y donante vivo. Curso internacional de coordinación de trasplantes. Hospital Clinic I Provincial de Barcelona.1995 pp 6.3.1-6.3.9.

20) Bismuth H, Houssin D. Reduced-sized orthotopic liver graft for liver transplantation in children. Surgery; 1984; 95: 367-370.

21) Bismuth H, Houssin D. Partial resection of liver allografts for orthotopic or heterotopic liver transplantation. Transplant Proc. 1985; 17:279-83.

22) Broelsch Ch, Stevens LH, Whittington PF. The use of reduced-size liver transplants in children, including split livers and living related liver transplants. Eur J Pediatr Surg, 1991; 1:166-171.

-
- 23) Bismuth H, Morino M, Castaing D, et al. Emergency orthotopic liver transplantation in two patients using one donor liver. *Br J Surg*;1989;76:722-4
- 24) Vázquez J, Murcia FJ, Gámez M; López-Santamaria M. Técnicas innovadoras en el trasplante ortotópico de hígado. Trasplante reducido, segmentario, "Split" y donante vivo. En: Cuervas-Mon V, ed. Mayo 1993; 189-196.
- 25) Sommacale D, Farges O, Etrre GM, Lebigot P, Sauvanet A, Marty Duran F, Belghti J. I situ split liver transplantation for two adult recipients. *Transplantation* 2000 Mar 15; 69(5): 1005-7.
- 26) Thompson C, Humanised pigs hearts boost xenotransplantation. *Lancet*; 1995; 346: 766.
- 27) Pourcel Ch, Charreau B, Le Mauff B, Bouhours JF, Anegon I, Soullillou JP. La xénogreffe chez l'homme acquis et perspectives. *Synthèse; Medicine/sciences*;1997; 13: 301-311.
- 28) Starzl TE, Ishikawa M, Putman CW et al. Progress in and deterrents to ortotopic liver transplantation, with special reference to survival, resistance to hyperacute rejection, and biliary duc reconstruction. *Transplant Proc* 1974; 6:129.
- 29) Starzl TE, Fung J, Tzakis A et al. Baboon to human liver transplantation. *Lancet* 1993; 341: 65-71.
- 30) Makowka L, Wu GD, Hoffman A et al. Immunohistopathologic lesions associated with the rejection of a pig to human liver xenografts. *Transplant Proc* 1998; 26: 1074-1975.
- 31) Habibullah CM, Syed IH, Qamar A, Taher-Uz Z. Human fetal hepatocyte transplantation in patients with fulminant hepatic failure. *Transplantation* 1994; 58: 951-952.
- 32) Strom SC, Fisher RA, Thompson MT et al. Hepatocyte trasplantation as a bridge to orthotopic liver transplant in terminal liver filure. *Transplantation* 1997; 63: 1148-1154.

33) Mito M, Kusano M. Hepatocyte transplantation in man. Cell Transplantation 1993; 2:65-74.

34) Grossman M, Rader DJ, Muller DWM et al. A pilot study of ex vivo gene therapy for homozygous familial hypercholesterolemia. Nature Med 1995; 1:1148-1154.

35) Valero R, Manyalich M, Cabrer C, Salvador L y Garcia-Fages LC Organ procurement from non-heart-beating donors by total body cooling. Transplant Proc, 25(6): 3091-3092, 1993.

36) D'Alessandro A.M., Hoffmann R.M., Knechtle S.J., Ekhoﬀ D.E., Love R.B., Kalayoglu M., Sollinger H.W., and Belzer F.O. Controlled Non-Heart-Beating Donors: A potential source of extrarenal organs. Transplant. Proc. ,27(1):707-709, 1995.

37) Takehide Asano, K.Ohtsuka, T.Goto, T.Nakagohri, T.Kenmochi, T.Ochiai, and, K.Isono. Usefulness of rapid Machine cooling in the procurement of livers. Transplant. Proc. ,21(1)1307-1308, 1989.

38) Casavilla A, Ramirez C, Shapiro R, Nghiem D, Miracle K, Fung J.J, and Starz T.E. Liver and kidney transplantation from non-heart-beating donors: The Pittsburgh experience. Transplant. Proc. 27 (1) 710-712, 1995.

39) Memoria Coordinación Comunidad Gallega. 1992 pp 16.

40) Koyoma I. Hoshino T. Nagashima N. Adachi H. Ueda K. And Omoto R. A New approach to kidney procurement from Non-Heart-Beating Donor: core cooling on cardiopulmonary bypass. Transplant. Proc. 21 (1): 1203-1205, 1989.

41) Jaboulay M, Greffe de reins au pli du coude par soudures arteriales et veineuses. Lyon Med 1906; 107:575-593.

42) Carrel A. La technique operatoire des anastomoses Vasculaires et la transplantation des visceres. Lyon Med 1902; 98:859-876.

43) Küss R., Bourget P. Una historia ilustrada del trasplante de órganos. La gran aventura del siglo. Rueil-Malmaison (Francia). Sandoz. 1992. 6-75.

44) Starzl TE, Marchioro TL, Von Kaulla KN, et al. Homotransplantation of the liver in humans. *Surg Gynecol Obstet* 1963;117:659-76.

45) Starzl TE, Groth C, Brettschneider L, Moon J, Fulginiti V, Cotton E. Extended survival in 3 cases of orthotopic homotransplantation of the human liver. *Surgery* 1968; 63:549.

46) Calne R, Williams R. Liver transplantation in man. Observations on technique and organization in five cases. *Brit Med J* 1968;4: 535.

47) Borel JD: Comparative study of in vitro and in vivo drug effects on cell mediated cytotoxicity . *Immunology*, 31:631-634,1976.

48) Benichou J, Halgrimson CG, Weil R, Koop LJ, Starzl TE. Canine and human liver preservation for 6-18 hours by cold infusion. *Transplantation*. 1977; 24: 407-411.

49) Collins GH, Bravo-Shugarman MB, Terasaki PL. Kidney preservation for transplantation. Initial perfusion and 30 hour ice storage. *Lancet* 1969; 2: 1219-1222.

50) Dreikron NV, Horsch R, Rohl L. 48 to 96 hour preservation of canine kidneys by initial perfusion and Hypothermic storage using the Eurocollins solution. *Eur Urol*. 1980; 6: 221-224.

51) Belzer FO, Southard JH. Principles of solid organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988; 45:673-676.

52) Jamieson NV, Sundberg R, Lindell S, et al. Preservation of the canine liver for 24-48 hours using simple cold storage with UW Solution. *Transplantation*, 1988; 46: 517-522.

53) Yu W, Coddington D, Bitter-Suerman H. Rat liver preservation I. The components of UW solution that are essential to its success. *Transplantation*, 1990; 49: 1060-1066.

54) Sumimoto R, Kamada N. Lactobionate as the most important component in UW solution for liver preservation. *Transplant Proc*. 1990; 22 2198-2199.

55) National Institutes of Health. Consensus development conference statement. Liver transplantation. *Hepatology* 1984;4:1078-1108.

56) Mollaret P, Goulon M. Le coma dépassé. *Rev Neurol* 1959; 101: 3-15.

57) Guidelines for the determination of death. Report of the Medical Consultants on the President's Commission for the Study of Ethical Problems in Medicine and Biomedical Behavioral Research. *JAMA* 1981; 246: 2184-2186.

58) Diagnostico neurológico de la muerte cerebral. Dictamen de Candanchu 1993 de la Sociedad Española de Neurología. *Quadern CAPS* 1994; 20: 45-46.

59) Comas D'Argemir Cendra M. La reforma jurídica en materia de trasplantes: análisis de RD 2070/1999, de 30 de diciembre. *Rev. Esp. Trasp.* Vol. 9 Nº 2-139-144.

60) Valero R. Mañalich M. Cabrer C.A. Garciafages C.G. y Salvador L. Extracción de órganos de donantes a corazón parado. Coordinación y trasplantes. El modelo español. *Edicta. ONT.* pp 67-73, 1995.

61) Frutos M.A, Varela A, Gonzalez-Molina M., Cabello M, Burgos D, Perez-Rielo A, Ruiz P y Lopez de Novales E., Extracción de riñones en parada cardíaca : un método muy sencillo .*Rev. Esp. Trasp.* 3(3) pp170-175 , 1994.

62) Kootstra G, Daemen JHC, and Oomen. Categories of Non-Heart-Beating Donors. *Transplant. Proc.* Vol 27, Nº 5 (October), 1995:2893-2894.

63) Statements d Recomendations on Non Heart-Beating Donors. *ETCO-Newsletter* November, 1995;13(2).

64) Organización Nacional de Trasplantes. Documento de Consenso Español. Donación de órganos a corazón parado. Noviembre, 1995.

65) Arnol RM, Youngner SJ. Time Is of the Essence: The Pressing Need for Comprehensive Non-Heart-Beating Cadaveric Policies. *Transpl. Proc.* Vol 27, Nº 5 (October), 1995: 2913-2921.

66) Booster MH, Wijinen RMH, Ming Y, Vroemen JPAM, Koostra G. In situ perfusion of kidneys from non-heart-beating donors: The Maastricht protocol. *Transplant. Proc.* 25:1503-1504, 1993.

67) Nakamoto S, Straffon RA, Kolff WJ. Human renal homotransplantations with cadaver kidneys. *JAMA* 1965; 192: 302-308.W.

68) Straffon RA, Stewart BH, Kiser WS, Hewitt CB, Nakamoto S, Kolff WJ. The use of ninety-four cadaveric kidneys for transplantation. Clinical experience. *Br J Urol* 1966; 640-649.

69) Machimoro TL, Huntley RT, Waddell WR, StarzTE. Extracorporeal perfusion for obtaining postmortem homografts. *Surgery* 1963; 54: 900-911.

70) Arias J , Alvarez J , Gomez M y cols :Successful renal transplantation with kideys from asystolic donors maintained under extracoporeal cardiopulmonary bypass : 6-month follow up .*Transplant Proc* , 23:2581-2583, 1991.

71) Hoshino T , Koyama I , Nagashima N , Kadocura M, Kazui M y Omoto R : Transplantation of livers from non-heart-beating donors by core cooling technique . *Transplat Proc*, 21(3):3519,1989.

72) Adachi H , Ueda K , Koyama I y cols :Donor core cooling for multiple organ retrieval: new application of portable cardiopulmonary bypass for transplantation. *Transplant Proc* , 21:1202-1204,1989.

73) Banowsky LH, Sullivan M, Moorehouse J. In morto renal perfusion for cadaver kidney preservation. *Inves Urol* 1971; 9: 199-205.

74) Garcia-Rinaldi R, Lekrak EA , Defore WW y cols: In situ preservation of cadaver Kidneys for transplantation: Laboratory observation and clinical application. *Ann Surg* , 182(5):576-584,1975.

75) Garvin PJ,Buttorff JD , Morgan R y Cood JE : In situ cold perfusion of kidneys for transplantation . *Arch Surg*, 115 :180-182 , 1980.

76) Hoshino T , Koyama Y , Nagashima N , Kadocura M , Adachi H, Ueda K y Omoto R : liver transplantation from non-heart-beating donors by core cooling technique. *Transplant Proc* , 21(19):1206-1208,1989.

77) Garcia-Rinaldi R, Lekrak EA , Defore WW y cols: In situ preservation of cadaver Kidneys for transplantation: Laboratory observation and clinical application. *Ann Surg* , 182(5):576-584,1975.

78) Garvin PJ,Buttorff JD , Morgan R y Cood JE : In situ cold perfusion of kidneys for transplantation . *Arch Surg*, 115 :180-182 , 1980.

79) Schweizer RT,Sutphin BA y Bartus SA: In situ cadaver kidney perfusion . *Transplantation* , 32(6):482-484,1981.

80) Fujita T, Matsui M , Yanaoka M , Shinoda M y Naide Y : Clinical application of in situ renal cooling: experiencia with 61 cardiac-arrest donor, *Transplantation Proc* , 21:1215-1217 , 1989.

81) Turcotte JG, Fleming A. Peritoneal hypothermia. A method of preserving organs for transplantation. An evaluation. *J Surg Research* 1966; 6: 522-530.

82) Casavilla A, Ramirez C, Shapiro R, Nghiem D, Miracle K, Bronsther O, Randhawa P, Bronznicz B, Fung J.J, and Starz T.E. Experience with liver and kidney allografts from non-heart-beating donors. *Transplantation*59,(2): 197-203 1995.

83) T. Van Minh. Anatomic basis of pig liver partition for experimental transplantation and perspective in xenotransplantation. *Transplant Proc.*28:61-62. 1996.

84) Escalante JL. Diagnostico de muerte cerebral. Ed. R. Matasanz, B. Miranda, ONT. Coordinación y trasplante. El modelo español.1995; pp: 57-65.

85) Miguélez MC: Regulación del diagnostico de muerte en el donante cadáver. Revision aspectos legislativos, marzo de 1992. *Rev Esp Trasp.* 1:281-288.

86) Pascuale MD, Rodes M, Cipolle MD, Hanley T and Wasser T. Defining "Dead on Arrival": Impact on a level I Trauma Center. *The Journal of Trauma: Injury, and Critical Care.*1996: Vol.41, No 4. Pp.726-730.

87) Hoshinaga K, Fujita T, Nadie Y, et al: *Transpl. Proc.* 27: 703, 1995.

88) Kootstra G. Statement on Non-Heart--Beating Donors Programs. *Transplan. Proc.* Vol 27, Nº 5,(October), 1995:2965.

89) Boss MA. Legal Issues Concerning the Use of Non-Heart-beating Donors. *Transpl. Proc.*, Vol 27, N°5 (October), 1995: 2929-2932.

90) Clavien P.A., Harvey P.R., Strasberg S.M. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. *Transplantation*. 1992; 53: 957-978.

91) Boudjema KS, Lindell SL, Southard JH, Belzer FO. The effects of fasting on the quality of liver preservation by simple cold storage. *Transplantation*. 1990; 50: 943-948.

92) Belzer FO, Southard JH. Principles of solid-organs preservation by cold storage. *Transplantation*. 1988; 45: 673-676.

93) Lemaster JJ, Bunzendahl H, and Thurman R G. Preservation of the liver. Willis C. Maddrey, MD, *Transplantation of the liver*. Ed Appleton & Lange. 1995; 297-321.

94) Cisneros C, Guillen F, Gomez R, Gutierrez J, Volwald P, Montero A, Moreno E. Analysis of warm ischaemia time for prediction of primary non-function of the hepatic graft. *Transplantation Proc*. 1991; 23:1976.

95) Kin SK, Belzer FO, Southard JH. Loss of mitochondrial respiratory function and its suppression during cold ischaemic preservation of rat livers with UW solution. *Hepatology*. 1992;16: 742-748.

96) Schiaffonati L, Cairo G, Tacchini L, Pappalardo C, Gatti S, Piazzini-Albani A, Bernelli-Zazzera A. Protein synthesis and gene expression in transplanted and postischemic livers. *Transplantation*. 1993; 55:977-982.

97) Blankensteijn JD, Terpstra OT. Liver preservation: the past and the future. *Hepatology*. 1991; 13: 1235-1250.

98) Kakizoe S, Yanaga K, Starzl TE, Dimitris AJ. Valuation of protocol before transplantation and after reperfusion biopsies from human orthotopic liver allografts: Considerations of preservation and early immunological injury. *Hepatology*. 1990; 11: 932-941.

99) Clavian PA. *Transplantation*. 1993; 55: 522-526.

100) Marzi I, Zhong Z, Lemasters JJ, Thurman RG. Evidence that graft survival is not related to parenchymal cell viability in rat liver transplantation: the importance of nonparenchymal cells. *Transplantation*. 1989; 48: 463-468.

101) Mckeown CBM, Edwards V, Phillips MJ, Harvey PR, Petrunka CN, Strasberg SM. Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation*. 1988; 46: 178-191.

102) Caldwell-Kenkel JC, Currin RT, Tanaka Y, Thurman RG, Lemasters JJ. Reperrfusion injury to endothelial cells following cold ischemic storage of rat livers. *Hepatology*. 1989; 10: 292-299.

103) Blankensteijn JD, Terpstra OT. Liver presevation: the past and the future. *Hepatology*. 1991; 13: 1235-1250.

104) Marzi I, Zhong Z, Lemasters JJ, Thurman RG. Evidence that graft survival is not related to parenchymal cell viability in rat liver transplantation: the importance of nonparenchymal cells. *Transplantation*. 1989; 48: 463-468.

105) Fitzpatrick DB, Karmazyn M. Comparative effects of calcium channel bloking agents and varying extracelular calcium comcentrations on hypoxia reoxigenation ischemia-reperfusion induced cardiac injury. *J Pharmacol Exp Ter* 1984; 228: 761-768.

106) Sandritter WA, Reid UN. Morfology of liver cell necrosis. In Keppler D, Ed. *Phatogenesis and mechanisms of liver cell necrosis*. Lancaster: MTP Press. 1975; 1-14.

107) Parks DA, Granger DN. Xantino oxidase: Biochemistry, distribution and physiology. *Acta physiol Scand*. 1986. Suppl. 548:87.

108) Parks DA, Granger DN. Ischemia reperfusion injury: A radical view. *Hepatology* 1988; 8: 680-682.

109) Bulkley GB. The role of oxygen free radicals in human disease processes. *Surgery*. 1983; 94:407-411.

110) McCord JM. Oxygen-derived free radicals postischemic tissue injury. *New Eng J Med*. 1983; 312:159-164.

111) Atalla SL, Toledo-pereyra LH, McKenzie GH, Cederna JP. Influence of oxygen-derived free radicals scavengers on ischemic livers. *Transplantation*. 1985; 40:584-590.

112) Ernst I. Biochemistry of reoxygenation injury. *Crit Care Med*. 1988;16: 947-53.

113) Zimmerman BJ, Granger DN Lesión por reperfusión. *Clin. Quir. Nor. Am.* 1992; 61-78.

114) Del Maestro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand*. 1980; Suppl 492: 153-168.

115) Granger DN, Hollwarth ME, Parks DA. Ischemia reperfusion injury: Role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol Scand Suppl*. 1986; 548:47.

116) Welbourn CRB, Goldman G, Paterson IS, et al. Patophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991; 78: 651-655.

117) Gimbrome MA, Brock AF, Schafer AI. Leukotriene B4 stimulates polymorphonuclear leukocyte adhesion to cultured vascular endothelial cells. *J Clin Invest*. 1984; 74: 1552-1555.

118) Spagnuolo PJ, Ellner JJ, Hassid A, Dunn MJ. Tromboxane A2 mediates augmented polymorphonuclear leukocyte adhesiveness. *J Clin Invest* 1980; 66: 406-411.

119) Smedly LA, Tonnesen MG, Sandhau RA, et al. Neutrophil-mediated injury to endothelial cells. Enhancement by endotoxin and essential role of neutrophil elastase. *J Clin Invest*. 1986; 77: 1233-1243.

120) Paterson IS, Klausner JM, Goldman G et al. Tromboxane mediates the ischemia-induced neutrophil oxidative burst. *Surgery*; 1989; 106: 224-229.

121) D'Alessandro AM, Kalayoglu M, Solinger HW, Hoffmann RM, Reed A, Knechtle SJ, Pirsch JD, Hafez GR, Lorentzen D, and Belzer FO. The predictive value of donor liver biopsies on the development of primary

nonfunction after orthotopic liver transplantation. *Transplantation Proc.* Vol.23 N.1, 1991:1535-1537.

122) Markin RS, Wood RP, Stratta RJ, Langnas AN, Pillen TJ, Dawidson I, Zetterman RK, and Shaw BW. Predictive value of intraoperative liver biopsies of donor organs in patients Undergoing orthotopic liver Transplantation. *Transplantation proc.*, Vol 22, N 2, 1990:418-419.

123) Lemasters JJ, Stemkowski CJ; Ji S, Thurman RG. Cell surface, changes and enzyme release during hypoxia and reoxygenation in the isolated, perfused rat liver. *J Cell Biol.* 1983; 97: 778-786.

124) Caldwell-Kenkel JC, Currin RT, Tanaka Y, Thurman RG, Lemasters JJ. Kupffer cell activation and endothelial cell damage after storage of rat livers: Effects of reperfusion. *Hepatology.* 1991; 13: 83-95.

125) Caldwell-Kenkel JC, Thurman RG, Lemasters JJ. Selective loss of nonparenchymal cell viability after cold, ischemic storage of rat livers. *Transplantation.* 1988;45:834-837.

126) Mckeown, C.M.B. Edwards V. Phillips M.J. Harvey P.R., Petrunka C.N. Strasberg S.M. Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation.* 1988;46: 178-191.

127) Rymsa B, Wang JF, de Groot H. O₂-release by activated Kupffer cells upon reoxygenation. *Am J Physiol.* 1991;261:G602-G607.

128) Colletti Lm, Remik DG, Burtch GD, Kunkel SL, Strieter RM, Campbell DA. The role of tumor necrosis factor alpha in the pathophysiologic alterations following hepatic ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest.* 1990;85:1936-1943.

129) Takei Y. Marzi I, Kauffman FC, Currin RT, Lemasters JJ, Thurman RG. Increase in survival time of liver transplant by protease inhibitors and a calcium channel blocker, nisoldipine. *Transplantation.* 1990;50:14-20.

130) Caldwell-Kenkel JC, Coote A, Currin RT, Thurman RG, Lemasters JJ. Activation of oxygen radical formation by Kupffer cells in rat livers stored for transplantation surgery. *Gastroenterology*. 1991; 100:726.

131) Lindert KA, Caldwell-Kenkel JC, Nukina S, Lemasters JJ, Thurman RG. Activation of Kupffer cells on reperfusion following hypoxia particle phagocytosis in a low-flow, reflow model. *Am J Physiol*. 1992;262:G345-G350.

132) Jaeschke H, Farhood A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am J Physiol*. 1991;260:G355-G362.

133) Jacobson J, Oddind B, Tufveson G, Whalberg J. Effects of cold ischemia and reperfusion on trapping of erythrocytes in rat, rabbit kidney. *Transpl. Int*. 1988; 1: 75-9.

134) Kallerhoff m, Blech M, Kehrer G, ET Al. Short-term perfusion and equilibration of canine kidney with protective solutions. *Urol. Res*. 1987; 15: 5-12.

135) Lie TS, Ukikusa M,. Significance of alkaline preservation solutions in liver transplantation. *Transplant Proc* 1984; 16: 134-137.

136) Macnight ADC, Leaf A. Regulation of cellular volume. *Physiol Rev*. 1977; 57: 510.

137) Collins GH, Bravo-Shugarman MB, Terasaki PL. Kidney preservation for transplantation. Initial perfusion and 30 hour ice storage. *Lancet* 1969; 2: 1219-1222.

138) Collins GM, Harley LCJ, Clunie GJA. Kidney preservation for transplantation. *Br. J. Surg*. 1972; 187-189.

139) Lam FT, Movor AID, Pott DJ, Giles GR. Improved 72-hour renal preservation with phosphate-buffered secrosa. *Transplantation*. 1989; 47: 767-771.

140) Torras J, Bordalba JR, Seron D, Et Al. An experimental comparison between isotonic saline solution, Eurocolins and a flush solution

with mannitol in the prevention of renal damage due to warm ischemia. *Transpl. Proc.* 1992; 24:54-5.

141) Southard JH, Van Gulik TM, Ametani MS, Vreugdenhill PK, Lindell SL, Pienar BL, Belzer FO. Important components of the UW solution. *Transplantation* 1990; 49: 251-7.

142) Perry MA, Wadhwa SS. Gradual reintroduction of oxygen reduces reperfusion injury in cat stomach. *Am J Physiol.* 1988; 254: G366.

143) Ernster L, Nordenbrand K. Mitochondrial lipid peroxidacion. *Meth Enzymol* 1967;10:574.

144) Chaudry HI; Clemens MG, Baue AE. Alterations in cell functions with ischemia and shock and their correction. *Arch Surg* 1981; 116: 1309-1317.

145) Weiss SJ. Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta Physiol Scand.* 1986; Suppl 548:9.

146) Chien kr, Abrams J, Pfau RG, Farber JL. Prevention by chlorpromazine of ischemic liver cell death. *Am J Pathol.* 1977; 88: 539-558.

147) Fortner JG, Shiu MH, Kinne DW. Major hepatic resection using vascular isolation and hypothermic perfusion. *Ann Surg.* 1974; 180:644-652.

148) Landa JI, Arias J, Gomez M, Quadros M, Moreno A, Balibrea JL. Cytoprotective effect of somatostatin in a rat model of hepatic ischemic-reperfusion. *Hepatology* 1992; 16: 1474-1476.

149) Fraguela Mariña JA. Papel de via arginina: NO y de los aminoacidos basicos lisina e histidina en un modelo de isquemia-reperusión hepática. Tesis doctoral Universidad Complutense de Madrid. P:130.

150) Marubayashi S, Dohi K, Ezaki H. Presevation of ischemic rat liver mithochondrial function and liver viability with CoQ10. *Surgery.* 1982; 91: 631-537.

151) Hasselgren PO. Prevention and treatment of ischemia of the liver. *Surg Gynecol Obstet.* 1987; 164: 187-194.

152) Marubayashi S, Dohi K, Ochi K, Kawasaki T. Role of free radicals in ischemic rat liver cell injury: Prevention of damage by alfa-tocoferol administration. *Surgery*. 1986; 99: 184-191.

153) Fornader J, Seeman T, Hasselgren PO. Changes of protein synthesis in liver tissue following ligation of hepatic artery or portal vein in rats. *Eur Surg Res*. 1985; 17: 101-108.

154) Nordstrom G, Seemant T, Hasselgren PO. Beneficial effect of allopurinol in liver ischemia. *Surgery* 1985; 97: 679-684.

155) Fornader J, Hellman A, Hasselgren PO. Effects of methylprednisolone on protein synthesis and blood flow in the postischemic liver. *Circ. Shock*. 1984; 12: 287-295.

156) Southard JH. Advances in organ preservation. *Transplant Proc.* 1989; 21: 1195-1196.

157) Benichou J, Halgrimson CG, Weil R, Koop LJ, Starzl TE. Canine and human liver preservation for 6-18 hours by cold infusion. *Transplantation*. 1977; 24: 407-411.

158) Dreikron NV, Horsch R, Rohl L. 48 to 96 hour preservation of canine kidneys by initial perfusion and Hypothermic storage using the Eurocollins solution. *Eur Urol*. 1980; 6: 221-224.

159) Marshall VC, Howden BO, Jablonski P, et al. Analysis of UW solution in a rat liver transplant model. *Transplant. Proc*. 1990; 22: 503-505.

160) Yu W, Coddington D, Bitter-Suermana H. Rat liver preservation I. The components of UW solution that are essential to its success. *Transplantation*, 1990; 49: 1060-1066.

161) Prien T, Dietl KH, Zander J, Hachenberg T, Buchholz B. Bradyarrhythmia With UW preservation solution. *Lancet*. 1989; 1: 1319-1320.

162) Howden BO, Jablonski P, Thomas AC, et al. Liver preservation with UW solution I. Evidence that hydroxyethylq starch is not essential. *Transplantation*, 1990; 49: 869-872.

163) Adam R, Settaf A, Fabiani B, et al. Comparative evaluation of Euro-Collins, UW solution, and UW solution without hydroxyethyl starch in orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplant. Proc.* 1990; 22: 499-502.

164) Kubota T, Asano T, Nakagouri T, Arita S, Kainuma O, Isono K. Hepatic protein synthesis rate of biopsied liver tissue in the assessment of preservation solutions. *Transplant Proc.* 1992; 24: 1625-1627.

165) Ploeg RI, Boudjema K, Marsh D, et al. The importance of a colloid in canine pancreas preservation. *Transplantation.* 1992; 53: 735-741.

166) Wicomb WN, Collins GM. 24-Hours rabbit heart storage with UW solution. *Transplantation,* 1989; 48: 6-9.

167) Boudjema K, Van Gulik TM, Lindell SL, Vreugdenhil PS, Southard JH, Belzer FO. Effect of oxidized and reduced glutathione in liver preservation. *Transplantation,* 1990; 50: 948-951.

168) Bretschneider HJ, Helmchen U, Kehrler G. *Klin Wochenschr.* 1988; 66: 817-827.

169) Erhard J, Lange R, Scherer R, Eigler FW. Experiences with histidine-tryptophan-ketoglutarate-perfused organs in clinical liver transplantation. *Transplant Proc.* 1993; 25: 1885-1886.

170) Van Gulik TM, Nio CR, Cortissos E, Klopper PJ, Van der Heyde MN. Comparison of HTK solution and UW solution in 24- and 48- hour preservation of canine hepatic allografts. *Transplant Proc.* 1993; 25: 2554.

171) Tokunaga Y, Wicomb WN, Concepcion W, Nakazato P, Esquivel CO. Successful 20- hour rat liver preservation with Chlorpromazine in sodium Lactobionate sucrose solution. *Surgery.* 1991; 110: 8086.

172) Zhu Y, Furokawa H, Nakamura K, et al. Sodium lactobionate sucrose solution for canine liver and kidney preservation. *Transplant proc.* 1993; 25: 1618-1619.

173) Nakazato PZ, Itazaka H, Concepcion W, Lim J, Esquivel C Collins G. Effects of abdominal en bloc procurement and of a high sodium

preservation solution in liver transplantation. *Transplant Proc.* 1993; 25: 1604-1606.

174) Takei Y, Gao W, Hijioka T, et al. Increasing survival of liver grafts after rinsing with warm ringer's solution due to improvement of hepatic microcirculation. *Transplantation.* 1991; 52: 225-230.

175) Currin RT, Reinstein LJ, Lichtman SN, Thurman RG, Lemasters JJ. Inhibition of tumor necrosis factor release from cultured rat Kupffer cells by agents that reduce graft failure from storage injury. *Transplant Proc.* 1993; 25: 1631-1632.

176) Reinstein LJ, Lichtman SN, Currin RT, Wang J, Thurman RG, Lemasters JJ. Suppression of lipopolysaccharide-stimulated release of tumor necrosis factor by adenosine: evidence for A2 receptors on rat Kupffer cells. *Hepatology,* 1994; 19: 1445-1452.

177) Gao W, Hijioka Y, Linder KA, Caldwell-Kenkel JC, Lemasters JJ, Thurman RG. Evidence that adenosine is a key component in Caroline rinse solution for reducing graft failure after orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation.* 1991; 52: 992-998.

178) Bachmann S, Caldwell-Kenkel JC, Oleksy I, Thurman RG, Lemasters JJ. Warm Carolina rinse solution prevents graft failure from storage injury after orthotopic rat liver transplantation with arterialization. *Transplant. Int.* 1992; 5: 108-14.

179) Bachmann S, Caldwell-Kenkel JC, Currin RT, et al. Protection by pentoxifylline against graft failure from storage injury after orthotopic rat liver transplantation with arterialization. *Transplant Int.* 1992; 5(suppl 1): S345-S350.

180) Ploeg RJ, D'Alessandro AM, Knechtle SJ, Stegall MD, Pirsh JD, Hoffman RM, Sasaki T, et al. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation: a multivariate analysis. *Transplantation* 1993; 55: 807-813.

181) Shaw BW, Gordon RD, Iwatsuki S, Starz TE. Hepatic Retransplantation. *Transpl. Proc.* 17: 264-271, 1985.

182) Makowka L, Gordon RD, Todo S, Ohkohchi N, Marsh JW, Tzakis AG, Yokoi H, et al. Analysis of donor criteria for the prediction of outcome in clinical liver transplantation. *Transplant. Proc.* 1987; 19: 2378-2382.

183) Mor E, Klintmalm GB, Gonwa TA, Solomon H, Holman MJ, Gibbs Jf, Waternberg I et al. The use of marginal donors for liver transplantation. *Transplant. Proc.* 1992; 53: 383-386.

184) Howard TK, Goran B, Klintmalm G, Cofer J, Husberg BS, Goldstein RM, Gonwa TA. The influence of preservation injury on rejection in the hepatic transplant recipient. *Transplantation* 1990; 49: 103-107.

185) Greig PD, Forster J, Superina RA, Strasberg SM, Mohamed M, Blendis LM, Taylor BR, et al. Donor -specific factors predict graft function following liver transplantation. *Transplant. Proc.* 1990; 22: 2072-2073.

186) Strasberg SM, Howard TK, Molmenti EP, and Hertl M. Selecting the Donor Liver: Risk Factors for Poor Function After Orthotopic Liver Transplantation. *Hepatology* Vol 20, N°. 4, 1994.

187) Adans R, Reynes M, Johann M, morino M, , Astarcioglu I, Kafetzis I, Casting D, et al. The outcome of steatotic graft in liver transplantation. *Transplant. Proc.* 1991; 23: 1538-1540.

188) Wall WJ, Mimeault R, Grant DR, Bloch M. The use of older donor livers for hepatic transplantation. *Transplantation.* 1990; 49: 377-381.

189) Avolio AW; Agnes S, Magalini SC, Castagneto M,. Importance of donor blood chemistry data (AST, serum sodium) in predicting liver transplant outcome. *Transplant. Proc.* 1991; 23: 2451-2452.

190) Mimeault R, Grant D, Ghent C, Duff J, Wall W. Analysis of donor and recipient variables and early graft function after orthotopic liver transplantation. *Transplant. Proc.* 1989; 21: 3355.

191) Huguet C, Nordlinger B, Bloch P, Conard J. Tolerance of the human liver to prolonged normothermic ischemic. *Arch. Surg.* 1978; 113: 1148-1151.

192) IU S, Harvey PRC, Makowka L, Petrunka CN, Ilson RG, Strasberg SM. Markers of allograft viability in the rat. Relationship between transplantation viability and liver function in the isolated perfused rat liver. *Transplantation*; 1987; 45: 562-569.

193) Kahn D, Hickman R, Terblanche DJ. For how long can the liver tolerate ischemia?. *Eur Sur Res* 1986; 18: 277-282.

194) Cywes R, Greig PD, Sanabria JR, Clavien PA; Levy GA, Harvey PRC, Strasberg SM. Effect of intraportal glucose infusion on hepatic glycogen content and degradation, and outcome of liver transplantation. *Ann Surg* 1992; 216: 235-247.

195) Holloway CMB, Harvey PRC, Strasberg SM. Viability of sinusoidal lining cells in cold-preserved rat liver allografts. *Transplantation*. 1990; 49: 225-229.

196) Adam R, Bismuth H, Diamond T, Ducot B, Morino M, Astarcioglu I, Johann M, et al. Effect of extended cold ischemia with UW solution on graft function after liver transplantation. *Lancet* 1992; 340: 1373-1376.

197) Furokawa H, Todo S, Inventarza O, Casavilla A, Wu YM, Scotti-Foglieni C, Broznick Brian JB, et al. Effect of cold ischemia time on the early outcome of human hepatic allografts preserved with UW solution. *Transplantation* 1991; 51: 1000-1004.

198) KameiiW, Bardelski M, Steinhoff G et al. Adenine nucleotide metabolism and its relation to organ viability in human liver. *Transplantation* 1988; 45: 138-143.

199) Mcintyre N, Rosalki S. *Investigaciones Bioquímicas en el Tratamiento de las enfermedades Hepáticas*. Editorial Masson-Salvat. *Tratado de Hepatología Clínica*. Juan Rodes. 1993; 6.1:343-361.

200) Cuervas-Mons V, Millán I, Gavaler JS et al. Prognostic value of preoperatively obtained clinical and laboratory data in predicting survival following orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1986; 6: 922-927.

201) Jenkins RL, Bosari S, Khettry V et al. Survival from hepatic transplantation. *Ann Surg* 1986; 204: 364-374.

202) Powel-Jackson P, Wyke RJ, Williams R. En: Calne RY(ed) : *Liver transplantation*. London. Grune-Stratton 1983; 181-189.

203) Zimmerman HJ. Función e integridad del hígado. En: Todd-Sandford-Davidson. Henry JB, Eds. *Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio*. Salvat 1988; 271-311.

204) González A, Gómez-Arnau J, Pensado A, Peral A, Pascual E, Cuervas-Mons V. Bioquímica sérica en el postoperatorio inmediato del trasplante hepático. *Edi. Grupo Aran, D. Riaño. Manejo perioperatorio del trasplante hepático*. 1993 pp: 165-169.

205) Starzl TE, Demetris AJ. *Liver transplantation . A 31-year experience*. Chicago. Year Book Medical Publishers Inc 1990.

206) Robers MS, Pinson CW, Karison C et al. Predictors of intraoperative death and long-term survival in liver transplantation: a multistage analysis. *Transplant. Proc.* 1989; 21: 2439-2442.

207) Lanir A, Jenkins L, Caldwell C, Lee RGL, Khettry U, Clouse ME. Hepatic transplantation survival: Correlation with adenina nucleosido level in donor liver. *Hepatology* 1988; 8: 471-475.

208) Kamiike W, Burdelski M, Steinhoff G, Ringe B, Lauchart W, Pichlmayr R. Adenine nucleotide metabolism and its relation to organ viability in human liver transplantation. *Transplantation*. 1988; 45: 138-143.

209) Asonuma K, Tanaka K, Uemoto S, Okamura R, Matsuoka S, Utsunomiya H and Ozawa K. Blood Ketone Body Ratio as an Indicator of Graft viability in Rat liver Allotransplantation. *Transplantation Proc.* Vol 21, No 1 (february) 1989: pp 1335-1337.

210) Yamaoka Y, Washida M, Manaka D, Gubernatis G, Ringe B, Ozaki N, Yamaguchi T, et al. Arterial Ketone body ratio as a predictor of donor liver viability in human liver transplantation. *Transplantation* 1993; 55: 92-95.

211) Oellerich M, Burdelki M, Wittekind C, Lamesch P, Lautz HU, Gubernatis G, et al. Funcional state of the donor liver and early outcome of transplantation. *Transplant. Proc.* 1991; 23: 1575-1578.

212) Reading R, Wallemacq A, De Ville De Goyet J, Lerut J, Hausleithner V, Peyaerts A, Lambotte L, et al. The unreliability of the lidocaine/monoethylglycinexylidide test for assessment of liver donors. *Transplantation* 1993; 56: 323-326.

213) Shimada M, Yanaga K, Higashi H, Makowka L, Kakizoe S, Starzl TE. Pretansplant assessment of human liver grafts by plasma lecithin: Cholesterol acyltransferase (LCAT) activity in multiple organ donors. *Transplant. Int* 1992; 5: 27-30.

214) Accident Facts, 1986 ed. National Safety Council, Chicago, Illinois.

215) Donald D. Trunkey. "Trauma". *Scientific American* 249(Agosto): 28, 1983.

216) D'Alessandro AM, Stratta RJ, Southard JH, Kalayoglu M, Belzer FO. Agonal hepatic arterial vasoospasm. *Transplantation* 1990 Mar; 324-328.

217) Hasselgren PO. Prevention and treatment of ischemia of the liver. *Surg Gynecol Obstet.* 1987; 164: 187-194.

218) Fornader J, Seeman T, Hasselgren PO. Changes of protein synthesis in liver tissue following ligation of hepatic artery or portal vein in rats. *Eur Surg Res.* 1985; 17: 101-108.

219) Fornader J, Hellman A, Hasselgren PO. Effects of methylprednisolone on protein synthesis and blood flow in the postischemic liver. *Circ. Shock.* 1984; 12: 287-295.

220) Gu M, Takada Y, Fukunawa K, Ishiguro S, Taniguchi H, Seino K, Yuzawa K, Otsuka M, Todoroki T, and Fukao K. Pharmacologic Graft Protection Without Donor Pretreatment in Liver Transplantation From Non-Heart-Beating Donors. *Transplantation.* Vol. 70; N° 7, October 15, 2000: 121-125.

221) Hoshino T, Kiyama I, Taguchi Y, Kazui M, Neya K, Omoto R. A new method for safe liver transplantation (LTX) from non-heart-beating Donors

(NHBD): In situ liver oxygenation by cardiopulmonary bypass(CBP). World Congress of the Transplantation Society. Kyoto, 1994:280.

222) Valero R., Garcia-Valdecasas J C. Tabet J. Taura P. Rull R. Beltrán J. Garcia F. Gonzalez F X. Lopez-Boado M A. Cabrer C. And Visa J. Hepatic Blood Flow and Oxygen Extraction Ratio During Normothermic recirculation and total body cooling as viability predictors in Non-heart-Beating donor pigs. *Transplantation* Vol. 66, 170-176, Nº 2, July 27, 1998: 170-176.

223) Huguet C, Nordlinger B, Bloch P, Conard J. Tolerance of the human liver to prolonged normothermic ischemic. *Arch. Surg.* 1978; 113: 1148-1151.

224) IU S, Harvey PRC, Makowka L, Petrunka CN, Ilson RG, Strasberg SM. Markers of allograft viability in the rat. Relationship between transplantation viability and liver function in the isolated perfused rat liver. *Transplantation*; 1987; 45: 562-569.

225) Kahn D, Hickman R, Terblanche DJ. For how long can the liver tolerate ischemia?. *Eur Sur Res* 1986; 18: 277-282.

226) Cywes R, Greig PD, Sanabria JR, Clavien PA; Levy GA, Harvey PRC, Strasberg SM. Effect of intraportal glucose infusion on hepatic glycogen content and degradation, and outcome of liver transplantation. *Ann Surg* 1992; 216: 235-247.

227) Cisneros C, Guillen F, Gomez R, Gutierrez J, Volwald P, Montero A, Moreno E. Analysis of warm ischaemia time for prediction of primary non-function of the hepatic graft. *Transplantation Proc.* 1991; 23:1976.

228) Kin SK, Belzer FO, Southard JH. Loss of mitochondrial respiratory function and its suppression during cold ischaemic preservation of rat livers with UW solution. *Hepatology.* 1992;16: 742-748.

229) Schiaffonati L, Cairo G, Tacchini L, Pappalardo C, Gatti S, Piazzini-Albani A, Bernelli-Zazzera A. Protein synthesis and gene expression in transplanted and postischemic livers. *Transplantation.* 1993; 55:977-982.

230) Anaise D, Yland MJ, Ishimaru M, Shabtai M, Hurley S, Waltzer WC, Rapaport FT. Organ procurement from non heart-beating cadaver donors. *Transplant Proc* 1989 Feb;21(1 Pt 2):1211-4.

231) Rapaport F T and Anaise. Technical Aspects of Organ Procurement From the Non-Heart-Beating Cadaver donor for Clinical Transplantation. Transplantation Proceeding, Vol 25, N° 1 (February), 1993: pp 1507-1508.

232) Anaise D, Yland MJ ;Waltzer WC , Frischer Z y Rapaport FT : A new perfusion tube for multiple organ procurement. Transplant Proc, 19(5):4129-4136,1987.

233) Anaise D;Yland MJ , Walzer WC y cols : Flush Pressure requirements for optimal cadaveric donor Kidney preservation . Transplant Proc, 20(5):891-894,1988.

234) Booster MH,Yin M , Stubenitsky BM , et al. Beneficial effect of machine perfusion on the preservation of renal microcirculatory integrity in ischemically damaged kidneys. Transplant. Proc. 25: 3012-3016 , 1993.

235) Tojimbara T, Wicomb WN, Garcia-Kennedy R, Burns W, Hayashi M, Collins G, Esquivel CO. Liver transplantation from non-heart beating donors in rats: influence of viscosity and temperature of initial flushing solutions on graft function. Liver Transpl Surg 1997 Jan;3(1):39-45.

236) Kootstra G , Ruers TJM y Vroemen JPAM: The non-heart-beating donor : Contribution of the organ shortage . Transplant Proc , 18(5):1410-1412, 1986.

237) Booster MH, Wijinen RMH, Ming Y, Vroemen JPAM, Koostra G. In situ perfusion of kidneys from non-heart-beating donors: The Maastricht protocol. Transplant. Proc. 25:1503-1504, 1993.

238) Casavilla A, Ramirez C, Shapiro R, Nghiem D, Miracle K, Bronsther O, Randhawa P, Broznicz B, Fung J.F. and Starz T.E. Experience with liver and kidney allografts from non-heart-beating donors. Transplantation, 59,(2): 197-203 1995.

239) Gomez M, Garcia-Buitron JM, Fernandez-Garcia A, Vilela D, Fernandez-Selles C, Corbal G, Fraguera J,Suarez F, Otero A, Alvarez J, Mañez R. Liver Transplantation With organ from Non-Heart-Beating Donors. Transplant. Proc. 1997 en prensa.

240) Hoshino T , Koyama Y , Nagashima N , Kadocura M , Adachi H, Ueda K y Omoto R : liver transplantation from non-heart-beating donors by core cooling technique. *Transplant Proc* , 21(19:1206-1208,1989.

241) Gómez M , Alvarez J , Arias J y cols : Cardiopulmonary bypass and profound hypothermia as a means for obtainig kidney grafts from irreversible cardiac arrest donors : cooling technique . *Transplant Proc* , 25(1):1501-1502,1993.

242) Nakazato P Z, Concepcion W, Bry W, Limm W, Tokunaga Y, Itasaka H, Feduska N, Esquivel CO, Collins GM,. Total abdominal evisceración: an en bloc technique for abdominal organ harvesting. *Surgery* 1992, 111, 37-47.

243) Lacy AM, Garcia-Valdecasas J C, Cugat E, Cabrer C, Mañalich M, Fuster J, Grande L, Taura P, Gonzalez F X, Anagas J, Rull R, Tabet J, Pons MJ, Visa J. *Cirugia española* 1993, 54, 9-13.

244) Starzl T E, Hakala T R, Shaw B W, Rosenthal T J, Griffith B P, Iwatsuki S, Bahnson H T,. A flexible procedure for múltiple cadaveric organ procurement. *Surg. Gynecol. Obstetric* 1984, 158,223-230.

245) Yanaga K, Podesta L G, Broznick B, Stieber A C, Shapiro R, Makowka L. Multiple organ Recovery for Transplantation. Edited by Thomas e. STARZL, Ron SHAPIRO, Richard I. SIMMONS. *Atlas of Organ Transplantation*. 3(0-49).1992.

246) Starzl T E, Miller C, Broznick B et al. :An improved technique for múltiple organ harvesting. *Surg Gynecol Obst* 1987;165: 343-8.

247) Tabet J, Garcia –Valdecasa JC, Net M, Cifuentes A, Gonzalez FX, Valero R, Deulofeu R, Rimola A, Garcia F, and Visa J. Evaluation of the ischemic liver injury during graft procurament from non heart-beating donor (NHBD) pigs. *Transplant Proc* 1997; 29: 3482-3483.

248) Takada y, Taniguchi H, Fukunaga K, Yuzawa K, Otsuka M, Todoroki T, Lijima T, et al. Hepatic allograft procurement from non heart-beating donors. Limits of warm ischemia in porcine liver transplantation. *Transplantation* 1997; 63(3): 369-373.

249) Ragueira F.M., Hernandez J.L., Sola I., Cienfuegos J.A., Pardo F., Diez-Caballero A., Sierra A., Nwose E., Espí A., Baixaúlli J., and Rotellar

F..Ischemic damage prevention by N-Acetylcysteine treatment of the donor before orthotopic liver transplantation. *Transplant. Proc.* 29, 3447-3448(1997).

250) Matsuno N, Uchiyama M, Sakurai E, Kozaki K, Ikeda T, and Kozaki M. Liver Transplantation From Non-Heart-Beating Donors: Liver Procurement Withot In Situ Portal Flush. *Transplant. Proc.* Vol 28, Nº 1(February), 1996: pp 203-204.

251) Shackleton CR, Martín P, Melinck J: *Transplantation* 50:554,1995.

252) González A, Gomez-Arnau J, Pensado A, Peral A, Pascual E, Cuervas-mons V. Bioquímica sérica en el postoperatorio inmediato del trasplante hepático. *Edi. Grupo Aran, D. Riaño. Manejo perioperatorio del trasplante hepático.* 1993 pp:165-169.

253) Kamachi H, Nakajima Y, Isai H, Kimura J, Tamura M, Ito K, Nishikawa M, Noto H, Tagucchi K, Kon H, and Uchino J. Study of Liver function in a graft suffering from warm ischemia in porcine Liver Transplantation. *Transplant. Proc.* 1996 Vol. 28, No 3(June): 1789-1791.

254) Hickman R, Rose-Innes C, Tyler M, Bracher M, Lotz Z, Fourie J. Enegy Change as an indication of liver viability. *Transplantation* 1992; 53(3): 540-545.

255) Walsh R, Tanaka J, Malcheski P, Eng D, Sato N, Nakayama S, Vogt D, et al. Monoethylglycinexylidide formation as an independent measure of warm hepatic ischemia and reperfusion injury. *J Surg Res* 1995; 59: 361-65.

256) Starzl TE, Demetris AJ. *Liver Transplantation. A 31-year experience.* Chicago. Year Book Medical Publishers Inc 1990.

257) Sadritter WA, Reid UN: Morphology of liver cell necrosis. In: Keppler D, ed. *Pathogenesis and mechanisms of liver cell necrosis.* Lancaster: MTP Press 1975; 1-14.

258) Fitzpatrick DB, Karmazyn M. Comparative effects of calcium channels bloking agents and varying extracellular calcium comcentrations on hypoxia-reoxygenation ischemia-reperfusion induced cardiac injury. *J Pharmacol Exp Ter* 1984; 228: 761-8.

259) Leatherdale BA, Chase RA, Roger J, et al. Forearm glucose uptake in currhosis. *Clinical Science* 1980; 59: 191-8.

260) Lavin N. Manual of endocrinology and metabolism, 2^a. Ed. Boston: Little, Brown, 1994.

261) Markin RS, Wood RP, Stratta RJ, Langnas AN, Pillen TJ, Dawidson I, Zetterman RK, and Shaw BW. Predictive value of intraoperative liver biopsies of donor organs in patients Undergoing orthotopic liver Transplantation. Transplantation proc., Vol 22, N 2, 1990:418-419.

262) Marzi I, Zhong Z, Lemasters JJ, Thurman RG. Evidence that graft survival is not related to parenchymal cell viability in rat liver transplantation: the importance of nonparenchymal cells. Transplantation. 1989;48:463-468.

263) Lindert KA, Caldwell-Kenkel JC, Nukina S, Lemasters JJ, Thurman RG. Activation of Kupffer cells on reperfusion following hypoxia particle phagocytosis in a low-flow, reflow model. Am J Physiol. 1992;262:G345-G350.

264) Jaeschke H, Farhood A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. Am J Physiol. 1991; 260:G355-G362.

265) Lindert KA, Caldwell-Kenkel JC, Nukina S, Lemasters JJ, Thurman RG. Activation of Kupffer cells on reperfusion following hypoxia particle phagocytosis in a low-flow, reflow model. Am J Physiol. 1992;262:G345-G350.

266) Jaeschke H, Farhood A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. Am J Physiol. 1991; 260:G355-G362.

267) Colletti Lm, Remik DG, Burtch GD, Kunkel SL, Strieter RM, Campbell DA. The role of tumor necrosis factor alpha in the pathophysiologic alterations following hepatic ischemia/reperfusion injury. J Clin. Invest. 1990;85:1936-1943.

268) Nathan HM, Jarrell BE, Broznik B, Kochik R, Hamilton B, Stuart S. Estimation and Characterization of the potential renal organ donor pool in Pennsylvania. Transplantation 1991; 51 142-149.

269) Ikegami T, Nishizaki T, Hiroshige S, Ohta R, Yanaga K, Sugimachi K. Experimental study of a type 3 phosphodiesterase inhibitor on liver graft function. Br J Surg 2001 Jan;88(1):59-64.

270) Oikawa K, Ohkohchi N, Sato M, Satomi S The effects of the elimination of Kupffer cells in the isolated perfused liver from non-heart-beating rat. *Transpl Int* 2000;13 Suppl 1:S573-9.

271) Richter S, Yamauchi J, Minor T, Menger MD, Vollmar B. Heparin and phentolamine combined, rather than heparin alone, improves hepatic microvascular procurement in a non-heart-beating donor rat-model. *Transpl Int* 2000;13(3):225-9.

272) Yamauchi JI, Richter S, Vollmar B, Menger MD, Minor T Warm preflush with streptokinase improves microvascular procurement and tissue integrity in liver graft retrieval from non-heart-beating donors. *Transplantation* 2000 May 15;69(9):1780-4.

273) Astarcioglu H, Karademir S, Unek T, Ozer E, Menekay S, Coker A, Astarcioglu I Beneficial effects of pentoxifylline pretreatment in non-heart-beating donors in rats. *Transplantation* 2000 Jan 15;69(1):93-8.

274) Minor T, Akbar S, Yamamoto Y Adenosine A2 receptor stimulation protects the predamaged liver from cold preservation through activation of cyclic adenosine monophosphate-protein kinase A pathway. *Liver Transpl* 2000 Mar;6(2):196-200.

275) Manika A, Trinh T, Lagace G, Dugas MA, Proulx F, Lepage G, Champagne J, Lavoie JC, Cousineau J, Russo P, Chartrand C, Yandza T N-acetylcysteine in pig liver transplantation from non-heart-beating donors. *Transplantation* 1999 Aug 15;68(3):327-30.

276) Soejima Y, Yanaga K, Nisizaki T, Yoshizumi T, Uchiyama H, Sugimachi K Effect of thromboxane synthetase inhibitor on non-heart-beating donors in rat orthotopic liver transplantation. *urgery, 1998;an; 23(1): 7-72.*

277) Valero R, Garcia-Valdecasas JC, Net M, Beltran J, Ordi J, Gonzalez FX, Lopez-Boado MA, Almenara R, Taura P, Elena M, Capdevila L, Manyalich M, Visa J. L-arginine reduces liver and biliary tract damage after liver transplantation from non-heart-beating donor pigs. *Transplantation* 2000 Sep 15;70(5):730-7.

278) Sudo Y, Takaya S, Kobayashi M, Fukuda A, Harada O, Suto T, Onozuka N, Suzuki S Assessment of graft viability using hyaluronic acid and

adenosine triphosphate in orthotopic liver transplantation from non-heart-beating donors. *Transplant Proc* 2000 Nov;32(7):2114-2115.

279) Garcia-Valdecasas JC, Tabet J, Valero R, Deulofeu R, Taura P, Rull R, Capdevila L, Cifuentes A, Gonzalez FX, Net M, Beltran J, Lopez-Boado MA, Palacin J, Garcia F, Visa J. Evaluation of ischemic injury during liver procurement from non-heart-beating Donors. *Clinic barcelona Eur Surg Res* 1999;31(6):447-56.

280) Ong HS, Soo KC, Joseph VT, Tan SY, Jeyaraj PR. The viability of liver graft for transplantation after prolonged warm ischaemia. *Ann Acad Med Singapore* 1999 Jan;28(1):25-30.

281) Net M, Garcia-Valdecasas JC, Deulofeu R, Gonzalez X, Palacin J, Almenara R, Valero R, Lopez-Boado M, Angas J, Elena M, Ballesta AM, Visa J. S-adenosyl L-methionine effect on hepatic allografts procured from non-heart-beating donor pigs. *Transplant Proc* 1999 Feb-Mar;31(1-2):1063-4.

282) Minor T, Akbar S Enhancement of endogenous cyclic AMP signal: a new approach to allow for cold preservation of rat livers from non-heart-beating donors?. *Transplantation* 1998 Oct 27;66(8):990-4.

283) Hoshino T, Koyama I, Taguchi Y, Kazui M, Neya K, Omoto R. A new method for safe liver transplantation (LTX) from non heart-beating donors (NHBD): In situ liver oxygenation by cardiopulmonary bypass (CBP). *World Congress of the Transplantation Society. Kyoto, 1994:280.*

284) Endoh T, Ohkohchi N, Kato H, Seya K, Satomi S, Mori S, Nakamura K Graft conditioning of liver in non-heart-beating donors by an artificial heart and lung machine in situ. *Transplant Proc* 1996 Feb;28(1):110-5.

285) Garcia-Valdecasas JC, Tabet J, Valero R, Taura P, Rull R, Garcia F, Montserrat E, Gonzalez FX, Ordi J, Beltran J, Lopez-Boado MA, Deulofeu R, Angas J, Cifuentes A, Visa J. Liver conditioning after cardiac arrest: the use of normothermic recirculation in an experimental animal model. *Transpl Int* 1998;11(6):424-32.

286) Minor T, Klauke H, Isselhard W Resuscitation of cadaveric livers from non-heart-beating donors after warm ischemic insult: a novel technique tested in the rat. *Experientia* 1996 Jul 15;52(7):661-4.

287) Filipponi F., Bacci S., Romagnoli P.. Normothermic liver perfusion ex situ: a resuscitation tool for hepatic grafts damaged by warm ischaemia. *Giorn Chir.* Vol. 14 –n 4/5 PP 254-258 (1993).

288) Schon MR, Kollmar O, Wolf S, Schrem H, Matthes M, Akkoc N, Schnoy NC, Neuhaus aP Liver Transplantation After Organ Preservation With Normothermic Extracorporeal Perfusion. *Ann Surg* 2001 Jan;233(1):114-123.

289) Bellamy R, Safar P, TishermanSA, et al: Suspended animation for delayed resuscitation. *Crit Care Med* 24(suppl):524-547, 1996.

290) Safar P: Resuscitation and suspended animation: Human Sustainement. In Klatz R, Goldman B (eds): *Anti-Aging Medical Therapeutics*. California, Health Quest Publications, 1998, pp 37-49.

291) Rupp SM, Severinghaus JW,: Hypothermia. In Miller RD (ed): *Anesthesia*, ed 2, vol 3 New York, Churchill Livingstone, 1986, pp 1995-2022.

UNIVERSIDADE DA CORUÑA
Servicio de Bibliotecas



1700744291