

*La Serie Universitaria de la Fundación Juan March
presenta resúmenes, realizados por el propio autor,
de algunos estudios e investigaciones
llevados a cabo por los becarios de la Fundación
y aprobados por los Asesores Secretarios
de los distintos Departamentos.*

*El texto íntegro de las Memorias correspondientes
se encuentra en la Biblioteca de la Fundación
(Castello, 77. Madrid-6).*

*La lista completa de los trabajos aprobados
se presenta, en forma de fichas,
en los Cuadernos Bibliográficos
que publica la Fundación Juan March.*

*Estos trabajos abarcan las siguientes especialidades:
Arquitectura y Urbanismo; Artes Plásticas;
Biología; Ciencias Agrarias; Ciencias Sociales;
Comunicación Social; Derecho; Economía; Filosofía;
Física; Geología; Historia; Ingeniería;
Literatura y Filología; Matemáticas; Medicina,
Farmacia y Veterinaria; Música; Química; Teología.
A ellas corresponden los colores de la cubierta.*

Edición no venal de 300 ejemplares,
que se reparte gratuitamente a investigadores,
Bibliotecas y Centros especializados de toda España.

Beca de España, 1973

Departamento de Medicina, Farmacia y Veterinaria

Fundación Juan March



FJM-Uni 7-Sal

Mantenimiento en supervivencia d
Salva Lacombe, José Antonio.

1031783



Biblioteca FJM

Fundación Juan March (Madrid)

SERIE UNIVERSITARIA



Fundación Juan March

Mantenimiento en supervivencia del hígado dador in vitro para el trasplante homólogo ortotópico en cirugía experimental

FJM
Uni
7
Sal

7

Antonio Salva Lacombe

Mantenimiento del hígado dador in vitro en cirugía experimental / José Antonio Salva Lacombe

Fundación Juan March
Serie Universitaria

7

MANTENIMIENTO EN SUPERVIVENCIA DEL
HIGADO DADOR IN VITRO PARA EL TRASPLANTE
HOMOLOGO ORTOTOPICO EN CIRUGIA
EXPERIMENTAL

JOSE ANTONIO SALVA LACOMBE



Fundación Juan March
Castelló, 77. Teléf. 225 44 55
Madrid - 6

Fundación Juan March (Madrid)

Depósito Legal: M - 30436 - 1976
Ibérica, Tarragona, 34 - Madrid-7

I N D I C E

	Página
PRESERVACION DE ORGANOS PARA TRASPLANTE	1
— Métodos de preservación. Tabla I	3
TRASPLANTE HEPATICO ORTOTOPICO EN EL CERDO CON PRE- SERVACION HIPOTERMICA MENOR DE UNA HORA.	10
— Material y método	10
— Resultados	10
— Causa de muerte durante las primeras 48 horas	11
— Causas de muerte entre el 3° y 4° días	11
— Causas de muerte entre el 4° y 8° días	12
— Dos animales han sobrevivido entre 8 y 15 días	12
— Causa de muerte entre los 15 y 60 días	12
HALLAZGOS ANATOMOPATOLOGICOS	14
PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO	16
— Serie I	17
— Material y métodos	18
— Intervención sobre el dador: preservación del órgano	18
INTERVENCION SOBRE EL RECEPTOR	20
ASPECTOS ANATOMOPATOLOGICOS	22
— Serie II	26
— Material y métodos	27
— Serie II A	27
— Serie II B	28
RESULTADOS	29
— Serie II A	29
— Serie II B	30

ASPECTOS ANATOMO–PATOLOGICOS	30
ESTUDIO CRITICO DE LOS RESULTADOS	34
CONCLUSIONES	42
BIBLIOGRAFIA	

PRESERVACION DE ORGANOS PARA TRASPLANTE

La conservación de órganos junto con los problemas inmunológicos constituyen la base de los futuros progresos en la cirugía de los trasplantes. La conservación y la reanimación de las funciones vitales de los tejidos se hallan estrechamente ligados a las condiciones anatomofuncionales existentes en el momento de la extracción del órgano a trasplantar. Este punto representa ya un obstáculo para la aplicación clínica de algunos resultados obtenidos en el laboratorio.

La experimentación animal proporciona unas condiciones óptimas: extracción del órgano IN VIVO y aplicación inmediata de los métodos de preservación. Por el contrario, la clínica no ofrece situaciones similares, excepción hecha de los trasplantes renales a partir de donante vivo en los que no se plantea el problema de la conservación del órgano. La agonía y la isquemia caliente condicionan de forma negativa, los resultados de todos los métodos de preservación independientemente de su mayor o menor perfección. Por otra parte, un órgano dañado presenta un poder de recuperación menor al de un órgano sano. En el caso del hígado, las lesiones isquémicas, aparte de producir zonas de necrosis más o menos extensas, reducen la vitalidad de los hepatocitos, comprometiendo IN TOTO o parcialmente, la recuperación funcional del trasplante.

La posibilidad de trasplantes de órganos "a gran escala" ha estimulado el desarrollo de más y mejores métodos de con -

servación de órganos. Es evidente que el número creciente de trasplantes realizados requiere la utilización de órganos procedentes de cadáver los cuales precisarán un periodo de almacenamiento. La situación ideal y la finalidad de la mayor parte de los estudios experimentales, en el momento actual, radica en desarrollar un método de preservación que permita un almacenamiento "a largo plazo" seguido de una restauración inmediata de la función normal después de realizado el trasplante. Abandonando esta condición ideal puede asegurarse desde el punto de vista práctico, que son válidos - los esfuerzos destinados a obtener una perfecta preservación "a corto plazo" durante 24 horas o menos. Esta preservación a corto plazo, permite una mayor utilización de los órganos de cadáver - salvando el tiempo crítico necesario para llevar a cabo con éxito un trasplante de donante a receptor con los métodos actualmente - en uso.

El tiempo necesario para la preparación quirúrgica de los pacientes puede proporcionarlo cómodamente, las varias horas obtenidas con el método de preservación.

En un sentido amplio se podría definir la preservación como el mantenimiento, en un estado fuera del ambiente funcional normal, mediante el cual una célula, órgano u organismo - puede ser resucitado reasumiendo todos sus procesos vitales normales.

En general todos los métodos de preservación están - concebidos para cumplir estas finalidades a través de una de las

Fundación Juan March (Madrid)

dos formas siguientes: reduciendo las necesidades metabólicas o aportando lo necesario para satisfacer estas necesidades. En la Tabla I pueden apreciarse los diversos métodos que han sido utilizados.

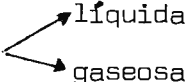
La hipotermia, la infrarrefrigeración, el bloqueo metabólico, la perfusión y la oxigenación hiperbárica constituyen técnicas cuya eficacia ha quedado demostrada tanto experimental- como clínicamente para los periodos de corta preservación de órganos intactos destinados a trasplantes. La utilización de las técnicas de congelación ha sido demostrada en la preservación de suspensiones de células, fragmentos de tejido y parásitos. Hasta el momento actual no se ha comunicado ningún éxito de trasplante de un órgano congelado que requiera la práctica de anastomosis vasculares.

MÉTODOS DE PRESERVACION. TABLA I

I. Reducción de las necesidades metabólicas.

- A) Hipotermia simple
- B) Congelación
 - simple
 - con protectores químicos
- C) Infrarrefrigeración
 - simple
 - con protectores químicos
 - con presión hidrostática
- D) Liofilización y deshidratación
- E) Bloqueo metabólico

II. Satisfacción de las necesidades metabólicas.

- A) Perfusión 
 - líquida
 - gaseosa
- B) Oxigenación hiperbárica

Existen diversas razones por las que las técnicas de preservación hepática desempeñan un papel crucial en el trasplante hepático ortotópico. El hígado es especialmente sensible a los efectos de la anoxia, aunque el ritmo de producción de las lesiones por isquemia puede reducirse notablemente mediante refrigeración precoz. Las dificultades técnicas en la realización de la hepatectomía del receptor pueden requerir varias horas. Finalmente, el precio de trasplantar un hígado no viable, representa la muerte del paciente, ya que la supervivencia en un estado funcional anhepático es muy breve.

Durante varios años, la investigación de técnicas destinadas a la preservación del hígado completo dió unos resultados desalentadores. Sin embargo, pronto se comprobó en el perro, que la refrigeración precoz proporcionaba un tiempo útil de isquemia de aproximadamente dos horas. Al añadir la perfusión a la hipotermia, MIKAELOFF y KESTENS y Al., y MARCHIORO y Al., lograron ampliar la viabilidad del órgano. Pese a todo, estos sistemas se referían a técnicas in situ y los intentos destinados a extirpar el órgano y conservarlo fuera del cuerpo del dador, fracasaban de forma uniforme.

Alrededor de 1967 comenzó a lograrse mantener el hígado en buen estado durante varias horas después de su extirpación.

Comentaremos brevemente las diversas técnicas utilizaadas por distintos autores para lograr el citado objetivo.

STARLZ y Cols., en 1965, utilizando la combinación de hipotermia, hiperbaria y perfusión continua, obtuvieron una buena recuperación funcional hasta veinticuatro horas después de iniciar la perfusión.

SMITH y Cols., en 1967, estudiaron la viabilidad de -
hígados de mono almacenados en oxigenación hiperbárica (3 atmósferas), y bajo hipotermia a 1º C., comprobando que eran viables hasta las 24 horas.

BROWN y Cols., también en 1967, utilizan como medio -
de preservación de hígados de perro, la deshidratación del órgano entre 5% y 36%, almacenándolos después durante cuarenta y cinco -
días a -6º C., sumergidos bien en glicerol, bien en una solución de dimetilsulfóxido (DMSO) 2M. No se empleó la congelación sino -
la "superrefrigeración". Los resultados obtenidos se juzgaron teniendo en cuenta el aspecto del hígado, la permeabilidad de los vasos sanguíneos y la supervivencia de los receptores trasplanta-dos con estos órganos. Estos resultados no fueron satisfactorios, pero los autores, recomiendan el estudio de posibles refinamientos de esta técnica con el fin de obtener preservaciones prolongadas-del hígado.

ABOUNA en 1968, utiliza la sangre humana como líquido de perfusión del hígado en el cerdo y subraya la importancia de

proteger las células hepáticas durante el periodo de isquemia mediante la perfusión de una solución que contenga potasio, magnesio, sulfato y fosfato, en concentraciones elevadas, y sodio, cloro y calcio a cifras normales; además debe ir provista de un sustrato-energético, v. gr. dextrosa, y un coloide, v. gr. dextrano, siendo hipertónica, oxigenada y tamponada antes de su uso.

SHALM y Cols., en 1.969, con el fin de prolongar la tolerancia del hígado a la isquemia, después de practicar la refrigeración, realiza la perfusión con un líquido de preservación conteniendo plasma (200 cc) glucosa, heparina y cortisona, manteniendo el órgano en un ambiente de 4º C de temperatura.

FONKALSRUD y Cols., también en 1.969, emplearon para la preservación hepática un nuevo concepto basado en la capacidad de los farmacos estabilizadores de membrana (clorpromacina, fenoxibenzamina, cortisona), para demorar la necrosis celular hepática y la rotura de los órganos intracelulares, con la consiguiente liberación de enzimas.

ZIMMERMANN, al igual que los dos anteriores en 1.969, utilizando perfusión continua para la preservación hepática (en perros y cerdos), comprueba que para la perfusión con líquidos sin hemoglobina, es necesario que este líquido contenga un componente osmótico y un componente isooncótico en forma de albúmina al 5% o Dextrano, con un peso medio de 40-70.000 ó 100.000, con el fin de contrarrestar el edema. TURNER y ALICAN en 1.970, obtienen unas preservaciones de 20 horas de hígados de perro con el empleo de una perfusión hipotérmica continua (10º), utilizando suero homólo

go como líquido de perfusión.

MARSHALL y Cols., utilizan el cerdo como animal de experimentación y realizan un estudio comparativo entre la hipotermia sola y las técnicas de perfusión, llegando a la conclusión de que la simple hipotermia ofrece una buena preservación hasta cuatro horas, mientras que las técnicas de perfusión son más eficaces.

GORIN y Cols., en 1.971, utilizan para la preservación del hígado de cerdo, la combinación de hipotermia, oxigenación hiperbárica y perfusión. Esta técnica proporciona un 100% de buenos resultados dentro de las primeras 8 horas de preservación. La preservación de 24 horas apenas proporciona supervivencias en los - animales trasplantados.

SPILG y Cols., en 1.972, utilizan la hipotermia aso - ciada a oxigenación hiperbárica con lo que consiguen una buena - preservación del hígado de cerdo durante 12 horas.

CALNE y Cols., en el mismo año que los dos anteriores combinan las ventajas de la hipotermia con la perfusión intermitente, inyectando 20 cc. del líquido de perfusión cada cinco minutos en un tiempo de 15 segundos.

OLSZEWSKI y Cols., en 1.973, obtiene los mejores resultados (preservación de 8 horas), con la perfusión contínua de plasma oxigenado, aunque estos autores reconocen que el método es demasiado complejo para ser aplicable en clínica.

OTTE y Cols., también en 1.973, con el empleo de la solución de Collins y de isoproterenol y de preservación en frío,

obtienen buenas preservaciones en el perro de una duración de 5 a 19 horas.

Revisando los diversos métodos propuestos está claro que todos los investigadores tienen una idea básica semejante: la anoxia celular da lugar a la inhibición de la fosforilización oxidativa, a la disminución en el contenido en nucleóticos, a alteraciones en el potencial de membrana celular así como el pH de superficie e intracelular, con modificación del potencial redox intracelular, consumo de oxígeno o liberación de enzimas lisosomiales. De este modo, se supone que frente al insulto básico de la anoxia, la célula experimenta las alteraciones citadas anteriormente.

La valoración de la viabilidad de un órgano preservado es difícil y puede resultar fácilmente errónea. Los criterios propuestos últimamente para juzgar la viabilidad de las células hepáticas son múltiples, yendo desde el examen funcional del hígado hasta las alteraciones bioquímicas aparecidas a nivel subcelular pasando por los estudios anatomo-patológicos. Es de destacar que ninguno de los numerosos métodos propuestos para juzgar la viabilidad de órganos, se utiliza de forma rutinaria en la práctica clínica.

Merece interés especial el método propuesto por Lambotte para valorar la preservación de hígado en el que utiliza la determinación del potencial de membrana de la célula hepática.

ca mediante la inserción progresiva en el hígado de un electrodo vidrio, con el que recoge la diferencia de potencial entre este electrodo, cuando penetra en una célula hepática, y otro electrodo situado en cualquier parte de la superficie del órgano.

En 1.970, Fourcade y Cols., propusieron utilizar - la impedancia tisular como un nuevo parámetro de viabilidad de un órgano anóxico.

Cualquier método utilizado debe ser cotejado con - los resultados clínicos, ya que se ha puesto en evidencia que muchos buenos resultados "in vitro" no obtuvieron la paridad - clínica correspondiente.

S E R I E A

TRASPLANTE HEPATICO ORTOTOPICO EN EL CERDO CON PRESERVACION HIPO TERMICA MENOR DE UNA HORA.

MATERIAL Y METODOS.— Las intervenciones sobre dador- y receptor, se realizaron simultaneamente con dos equipos quirúrgicos. Una diferencia de 35 minutos entre el inicio de ambas intervenciones, nos ha permitido obtener un promedio del tiempo de isquemia fría de 50 minutos.

En todos los casos el hígado dador ha sido perfundido mediante 2.000 cc. de solución salina fisiológica a 4º C por vía portal. Los primeros 1.000 cc. se heparinizan a razón de 25 u/500 cc. Asimismo se han perfundido 100 cc. de suero fisiológico heparinado a través de la arteria hepática.

Siguiendo esta forma de actuación hemos obtenido los siguientes resultados:

RESULTADOS.— Se han logrado 27 supervivencias operatorias (79%) cuya evolución ha sucedido de la siguiente forma:

de 0 a 48 horas	11 casos
de 49 a 96 horas	4 casos
de 4 a 8 días	4 casos
de 8 a 15 días	2 casos
de 15 a 60 días	6 casos

Las muertes ocurridas dentro de las primeras 48 ho - ras, siguientes a la intervención, se han debido principalmente-

a derrames intraabdominales de sangre o bilis.

CAUSA DE MUERTE DURANTE LAS PRIMERAS 48 HORAS

<u>Animal</u>	<u>Causa de muerte</u>	<u>Supervivencia</u>
1, 2, 5	Hemoperitoneo	11, 12, 10h.
8, 10, 12	Coleperitoneo	40, 40, 48h.
24	Acidosis metabólica	10h.
29	Excesivo tiempo de clampaje	5h.
34	Acidosis metabólica-Trombosis	46h.

La muerte de los animales entre el 3º y 4º días se han debido a trastornos biológicos y metabólico que no han sido debidamente compensados.

CAUSAS DE MUERTE ENTRE EL 3º Y 4º DÍAS

<u>Animal</u>	<u>Causa de muerte</u>	<u>Supervivencia</u>
13	?	74h.
14	Shock operatorio	91h.
15	?	62h.
19	Fallo mecánico	63h.

Durante el 4º y el 8º día, hemos encontrado en 1 caso, necrosis hepática y en otro, rechazo agudo.

CAUSAS DE MUERTE ENTRE EL 4º Y 8º DIAS

<u>Animal</u>	<u>Causa de muerte</u>	<u>Supervivencia</u>
6	Rechazo precoz	108h.
7	Colapso periférico	170h.
16	Necrosis hepática	106h.
18	Coma hiperglicémico	132h.

DOS ANIMALES HAN SOBREVIVIDO ENTRE 8 Y 15 DIAS

<u>Animal</u>	<u>Causa de muerte</u>	<u>Supervivencia</u>
31	Abscesos hepáticos	13 días
32	Anemia aguda-melenas	12 días

CAUSA DE MUERTE ENTRE LOS 15 Y 60 DIAS

<u>Animal</u>	<u>Causa de muerte</u>	<u>Supervivencia</u>
21	Angiocolitis	55 días
22	Oclusión intestinal	37 días
23	Oclusión intestinal	17 días
27	Bronconeumonía	35 días
30	Abscesos hepáticos	19 días
33	Anestesia para Arteriografía	48 días

Del estudio sistemático de los hígados obtenidos en las necropsias de los animales fallecidos, hemos obtenido los siguientes datos:

En alguna ocasión los animales han presentado una alteración profunda del estado general, mientras que el paren-
quima era totalmente normal. Otras veces, junto a una supervi-
vencia aparentemente normal, se encontraron lesiones hepáticas
purulentas, e incluso necrosis hepática.

De los 34 casos expuestos, solamente podemos consi-
derar que hayan muerto por rechazo dos de ellos. Uno en forma-
aguda a las 108h. hallándose acúmulos de células redondas mono-
nucleares que ocupan los espacios periportales. El otro caso ha
sido por rechazo crónico, encontrándose colostasis centrolobu-
lillar con necrosis focal de hepatocitos, manifestado por la -
presencia de corpúsculos acidófilos y un infiltrado celular po-
limorfo de las vías portales y de los sinusoides. La mayor par-
te del infiltrado está compuesto por grandes células de la se-
rie linfoide y otras células parecidas a plasmocitos. En este
animal coincidió la clínica con las manifestaciones anatomopa-
tológicas, presentado a los 20 días, signos de rechazo con ano-
rexia, adelgazamiento, fiebre, ictericia conjuntival y mal es-
tado general, acompañado todo ello por alteraciones biológicas;
aumento de la bilirrubinemia para disminuir a los 3-4 días y
reaparecer en la fase final.

Entre estas dos formas extremas, existen gran núme-
ro de formas intermedias, con un grado más o menos intenso de
rechazo. A los 5-6 días, si bien no existe edema en el septus-
interlobulillar, si encontramos una escasa infiltración de cé-

lulas mononucleares en las áreas periportales más o menos extendidos por el tejido hepático y que van en aumento de forma lenta en el transcurso de los días. No es infrecuente encontrar lesiones hepáticas purulentas y necróticas con angiocolitis aguda acompañada de numerosos microabscesos y trombosis vasculares con áreas necróticas centrolobulillares.

En ocasiones, el parenquima hepático presenta importantes lesiones autolíticas correspondientes a procesos - angiolíticos purulentos, con desaparición de extensas zonas - de mucosa de los conductos biliares y acúmulos granulocita - rios ocupando su luz. En estos casos es difícil hacer el diagnóstico diferencial con el rechazo crónico.

También hemos observado lesiones necróticas de origen isquémico que se manifiestan por extensas zonas necróticas de predominio centrolobulillar.

HALLAZGOS ANATOMOPATOLOGICOS

Hígado normal	13 casos
Rechazo agudo	1 caso
Rechazo crónico	1 caso
Manifestaciones de rechazo	11 casos
Necrosis hepática	1 caso
Abscesos hepáticos	5 casos
Parasitosis hepática	1 caso
Congestión hepática con zonas de hemo	
rragia	8 casos

Degeneración grasa microgotular 2 casos

CORRELACION ENTRE LAS LESIONES ANATOMOPATOLOGICAS Y LA SUPERVIVENCIA.

<u>Animal</u>	<u>Lesión anatomopatológica</u>	<u>Supervivencia</u>
1, 2, 3, 4	Hígado normal	11, 12, 0, 0h.
5, 13, 17	Hígado normal	0, 10, 74h.
20, 24, 25	Hígado normal	0, 9, 10h.
26, 29, 34	Hígado normal	0, 5, 46h.
6	Rechazo agudo	108h.
7	Zonas hemorrágicas + manifestaciones de rechazo.	180h.
8, 9, 10	Congestión hepática	40, 30, 40h.
11, 12, 14	Congestión hepática	0, 49, 91h.
15	Focos hemorrágicos	62h.
16	Angiocolitis purulenta + trombocapilaritis renal	106h.
18	Degeneración grasa microgotular	132h.
19	Infartos	63h.
21	Angiocolitis o rechazo crónico	1.320h.
22, 23, 30, 31	Abscesos hepático+rechazo crónico	880, 408, 456,
32		312, 288h.
27	Bronconeumonía con angiocolitis purulenta	668h.
28	Hígado parasitario	5h.
33	Angiocolitis + rechazo crónico	1.152h.

PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO

Como hemos indicado anteriormente, nos ha sido posi
ble conseguir una buena preservación de unos 55 minutos, única-
mente con el lavado refrigerado de la glándula con 2.000 cc. de
suero fisiológico a 4°C. Sin embargo, este tiempo de preservava
ción no es suficiente en el trasplante humano donde por razones
de índole técnica, son necesarios tiempos superiores.

El objeto de este trabajo será pues, el de estudiar
las técnicas que a nuestro entender tienen mayores posibilida-
des de éxito, después de revisar la literatura y haber tenido -
contacto con otros equipos de trabajo.

Fundamentalmente empleamos dos técnicas de preservava
ción agrupadas en dos series:

SERIE I.- Preservación "in vitro" del hígado dador mediante re
frigeración únicamente. Después del lavado refrige-
rado con 2.000 cc. de suero salino a 4°C, como en la
serie expuesta anteriormente (THO con preservación -
hipotérmica menos de 1 hora), se conserva el hígado
en nevera a 4°C sumergido en una solución de suero -
salino fisiológico durante 4 horas.

SERIE II.- Preservación del hígado con hipotermia asociada a
perfusión del órgano con una solución que contiene
albúmina humana y un estabilizador de la membrana

celular. Esta serie se subdivide a su vez en dos grupos A y B, según que la perfusión se realice de forma intermitente durante todo el transcurso de la preservación o únicamente al principio de ésta.

La valoración de los resultados obtenidos se lle
vará a cabo mediante los siguientes parámetros:

- 1) Biopsia hepática, antes y después de la pre -
servación y una vez revascularizado el órgano,
practicando estudio anatomopatológico con mi
croscopia óptica y electrónica.
- 2) Tiempo de supervivencia.
- 3) Examen necrópsico y estudio anatomopatológico
del hígado preservado y trasplantado.
- 4) Aspecto macroscópico del hígado al final de -
la preservación.

Se comparan los resultados obtenidos entre ambas series y la ya realizada anteriormente con refrigeración del órgano y trasplante inmediato.

S E R I E I

Dentro del plan de trabajo trazado, hemos reali-
zado 34 trasplantes hepáticos ortotópicos en el cerdo.

Este primer grupo de experiencias constituye la Serie I, que consiste en la Preservación "in vitro" del hígado - del dador mediante refrigeración únicamente. Después del lavado refrigerado con 2.000 cc. de suero salino a 4° C se conserva el hígado en nevera a 4° C sumergido en una solución de suero salino fisiológico durante 4 horas.

MATERIAL Y METODOS

Cerdos de peso comprendido entre 20 + 3 Kgs. los dadores y 22,8 + 2 Kgs. los receptores.

Las intervenciones sobre el dador y el receptor, - se realizan con una diferencia de tiempo tal que da un promedio de 4 horas de tiempo de isquemia.

Los animales son premedicados 30' antes de iniciar la anestesia con ATROPINA I.M. (0,5 - 0,8 mg.).

Se realiza la inducción anestésica por inhalación de una mezcla de HALOTHANO y OXIGENO, posteriormente son intubados oralmente y conectados a un aparato de ventilación controlada. Se mantiene la anestesia igualmente con Halothano y oxígeno.

INTERVENCION SOBRE EL DADOR: PRESERVACION DEL ORGANO

Incisión media xifopúbica, la via biliar principal es ligada por debajo del confluente cístico-coledocal y la ve-

sícula biliar abierta y aspirada. Se aislan los pedículos vasculares hepáticos, ligando el resto de omento menor: la arteria hepática es individualizada junto con el tronco celíaco - hasta aorta, previa ligadura y sección de la arteria gastroduodenal y de las demás ramas del tronco celíaco (coronaria estomacal y esplénica). La vena porta es disecada hasta el confluente espleno-mesentérico, y la vena esplénica ligada al igual que la vena pancreatoduodenal a fin de conseguir un tronco portomesentérico de suficiente longitud. La vena cava inferior infrahepática es individualizada y el ligamento que la fija a la pared abdominal posterior es seccionado, al igual que los ligamentos falciforme y freno-hepático izquierdo. (el derecho es inexistente).

El tiempo de disección finaliza con el aislamiento de la vena Cava Inferior Infrahepática. Cuando el hígado - está a punto de ser extraído se liga la aorta por encima de su bifurcación ilíaca y se punciona mediante un trocar grueso conectado a un frasco con solución de ACD, la sangre recogida será transfundida al animal receptor. Simultáneamente, se introduce un grueso catéter a través de la vena mesentérica superior perfundiendo a su través de 2.000 a 3.000 cc. de suero fisiológico heparinizado (5.000 v/l) a 4°C, lográndose el lavado refrigerado del órgano en un plazo de 10-12 minutos. Se procede a la sección de los pedículos vasculares: Vena Porta, Vena Cava Inferior Infrahepática; la arteria hepática es ex -

traída junto con el tronco celiaco y un segmento aortico, y la vena Cava Inferior Suprahepática se extrae con un collarete - diafragmático, que es convenientemente retocado antes de realizar el trasplante.

Finalizada la extracción del órgano, este es cuidadosamente depositado en una batea llena de suero fisiológico a 4°C y de esta forma introducido en una nevera donde permanecerá alrededor de 4 horas a 4°C para ser trasplantado al animal receptor.

INTERVENCION SOBRE EL RECEPTOR

Comporta tres tiempos: preparación para la hepatectomía total, extracción del órgano con la fase anhepática consecuente, y tiempo del trasplante.

Incesión media xifopúbica, se procede a la ligadura y sección coledocal, iniciándose la individualización de los elementos del hilio hepático. La arteria hepática y la vena - porta se preservan. Sección del resto de omento menor, previa ligadura de los linfáticos regionales. Aislamiento de la vena Cava Inferior Infrahepática y sección del repliegue peritoneal posterior hasta diafragma. La aorta se aísla en un segmento suficiente para permitir su posterior clampaje.

Finaliza este tiempo con la disección de la vena Cava Inferior Suprahepática y sección de los elementos de fijación del hígado al diafragma.

A continuación se procede al clampaje de la arteria hepática, vena Porta, Vena Cava Inferior Supra e Infrahepática, sin establecer ningún método derivativo de la sangre portal y de vena Cava Inferior al sistema Cava Superior, se seccionan los vasos y se extrae el órgano.

Con la colocación del nuevo órgano "in vitro" se inicia el tiempo del trasplante practicando en primer lugar, la anastomosis termino-terminal de la vena Cava Inferior Suprahepática, mediante dos suturas semicontinuas de Mersilene 4/0; sigue la anastomosis de la vena Porta, termino-terminal, con 5/0, finalizando ahora el tiempo de isquemia hepática. - Anastomosis arterial se practica mediante una anastomosis aorto-aortica término-lateral, según técnica de STARZL. La intervención finaliza mediante la práctica de una colecisto-duodenostomía.

RESULTADOS.- El aspecto, volumen y consistencia - del hígado al finalizar la preservación y al ser revascularizado fue normal en todos los casos. La valoración de los mismos ha sido clínica, analítica y microscópica.

La hipoglucemia y la acidosis metabólica postoperatoria han sido más acusadas y difíciles de equilibrar que en la serie efectuada con tiempos de isquemia inferiores a los 60 minutos. Cinco animales fallecieron por causas ajenas a la preservación: en los 15 animales

restantes la muerte pudo imputarse a una preservación insuficiente. En éstos, la causa más frecuente de muerte fue el coma hipoglucémico como predominante en el cuadro general de insuficiencia hepática; en estos casos la hipoglucemia fue mantenida y persistente pese a la administración de cantidades considerables de glucosa. Únicamente un animal remontó su hipoglucemia, precisando 486 gramos de glucosa durante las primeras horas de postoperatorio, normalizándose a continuación. Todos los animales muertos durante las 48 primeras horas fallecieron con cifras de glucosa de sangre inferiores a los 20 mgs%. En ningún caso hemos observado fenómenos de diatesis hemorrágica. La traducción anatomopatológica de este proceso se observa en la intensísima disminución de glucógeno intrahepático, que vendría condicionado por la normal glucolisis anaerobia existente durante el periodo isquémico.

ASPECTOS ANATOMOPATOLOGICOS

OBSERVACIONES.— En la muestra de hígado tomada al finalizar la perfusión, se aprecia una discreta dilatación de los espacios sinusoidales y los hepatocitos muestran una ultraestructura muy bien conservada. La mayoría de ellos contienen grandes áreas de material glicogénico. En los núcleos, la cromatina es bastante laxa con nucleolos muy prominentes con nucleonema bien desarrollado. Se aprecian numerosos gránulos intercromatínicos así como estructuras nucleoides.

La muestra de tejido hepático tomada al final de la preservación ofrece varias modificaciones de la estructura celular. Existe una marcada disminución de las partículas de glucógeno en comparación con la primera toma. Esta disminución afecta prácticamente a todos los hepatocitos observados. En algunas células hepáticas aparece una dilatación generalizada de retículo liso, que adopta una apariencia vesicular. En algunas áreas aparecen zonas constituidas por algunos hepatocitos que muestran severas lesiones osmóticas consistentes en una gran dilatación de las cisternas del retículo endoplasmático granular. En estas mismas células las mitocondrias están edematizadas y con pérdida de sus crestas. Existen otras áreas constituidas por la fusión citoplasmática de varios hepatocitos, debido a la pérdida de su membrana plasmática. Estas áreas forman un "sincitio" de 4 o más celular. Debido a la pérdida de la membrana plasmática, el contenido citoplasmático se pone en contacto directo con la luz sinusoidal. Muestra de ello es la presencia de elementos celulares hemáticos (hematíes, leucocitos y plaquetas) que aparecen inmersos en el magma citoplasmático de estos hepatocitos. Los orgánoides celulares no están afectados. No existe incremento de lisosomas y las membranas del retículo granular aparecen conservadas.

COMENTARIOS.- Existen marcadas diferencias morfológicas, en las dos muestras procedentes del mismo hígado, antes y después de la preservación. Las modificaciones provocadas por este método de preservación son de dos tipos:

a) Representada por la presencia de dilataciones vasculares del retículo endoplasmático así como por la balonización mitocondrial. Estas lesiones indican una sobrecarga acuosa celular inducida probablemente por trastornos osmóticos.

b) Comprende las alteraciones del plasmolema hepatocitario. La alteración consiste en una lisis de la membrana plasmática que condiciona la fusión citoplasmática de varios hepatocitos.

Creemos que las lesiones osmóticas pueden ser reversibles en cuanto su tiempo de acción sea insuficiente para provocar cambios bioquímicos trascendentales para la vitalidad celular.

Las alteraciones de lisis del plasmolema con fusión hepatocitaria y contacto directo de las estructuras intracelulares con el espacio extracelular creemos que son incompatibles con la supervivencia de estas células. Posiblemente esta lesión podría repararse mediante la regeneración de los hepatocitos supervivientes.

Existe asimismo una marcada disminución del glucógeno intrahepático condicionada por la normal glucólisis anaerobia existente durante el periodo isquémico.

DISCUSION.- Parece lógico pensar que si uno o varios animales sobreviven al THO con preservación del órgano,-
Fundación Juan March (Madrid)

el método de preservación utilizado es aceptable. En nuestra experiencia, existe una marcada elevación de la mortalidad dentro de los primeros 6 días siguientes al trasplante en esta serie (I) en comparación con la serie (A) con preservación durante tiempos inferiores a los 60 minutos. Los THO han sido realizados por el mismo equipo y con idéntica técnica quirúrgica, por lo que creemos que el método de lavado-refrigeración y almacenamiento del hígado a 4°C, sin adicionar estabilizadores de la membrana celular, es insuficiente para lograr una preservación aceptable del órgano durante este periodo de tiempo.

En 21 de los 34 animales, la muerte ha ocurrido por insuficiencia hepática, evidenciándose la pérdida de una función tan específica del hepatocito como es el almacenamiento, síntesis y desdoblamiento del glucógeno; sin embargo no se ha observado la anulación funcional total del órgano, hecho que parece indicar la posibilidad de que no existe una pérdida inicial de todas las funciones hepáticas, sino que éstas se anulan gradualmente.

La valoración microscópica de un hígado preservado no corresponde a las posibilidades de supervivencia del trasplante; sin embargo, parece ser que las lesiones indicativas de sobrecarga acuosa celular, inducida probablemente por fenómenos osmóticos: dilataciones vacuolares del retículo endoplasmático, así como la balonización mitocondrial, pueden ser reversibles, como lo demuestra el hecho de que algunos animales han sobrevivido después de trasplantarles un hígado portador-

de este tipo de lesiones.

Siempre que hemos observado áreas de hepatocitos con lisis del plasmolema, existiendo contacto directo de las estructuras intracelulares con espacio extracelular, ha ocurrido la muerte del animal en un plazo breve, generalmente - por coma hipoglicémico irreversible, similar al tiempo que tarda en morir un animal al que se le ha practicado hepatectomía total.

S E R I E I I

Esta serie ha sido realizada para valorar los resultados de la preservación del hígado con hipotermia asociada a perfusión del órgano con una solución (PPF) que contiene albúmina humana y un estabilizador de la membrana (hidrocortisona), ya que según SCHALM (1969) y CALNE (1972) es indispensable la adición de alguna fracción plasmática y de estabilizadores de la membrana para obtener buenos resultados en la preservación de órganos para trasplante.

Hemos dividido esta serie en dos grupos. El grupo A en el que se ha practicado una perfusión intermitente - del órgano durante todo el tiempo que ha durado la preservación. En el grupo B se ha realizado únicamente la infusión - de 600 cc de PPF y se ha conservado el órgano en hielo picado y en nevera durante el tiempo que ha durado la preserva-ción.

MATERIAL Y METODOS

Se han realizado un total de 21 experimentos con técnica idéntica a la anterior variando únicamente el método de preservación.

S E R I E IIA

Después de extraído el órgano, se procede a su lavado por vía portal y arterial simultáneamente. El lavado se efectúa con unos 1.500 cc. de solución de HARTMANN (composición: Cloruro sódico 3,00 grs/litro, Lactato sódico 1,55 - grs/litro, Cloruro potásico 0,15 grs/litro, Cloruro cálcico 0,15 grs/litro) la cantidad empleada oscila algo, pues el lavado se interrumpe cuando el líquido que drena por las venas suprahepáticas es totalmente claro ya que el único fin de este lavado es aparte de refrigerar el órgano, conseguir un hígado totalmente exsangüe.

La solución de Hartmann se emplea a una temperatura de 4°C, y se adicionan 50 mg. de Heparina a los primeros 500 cc.

Una vez obtenido un hígado exsangüe y refrigerado, se conecta la canula portal a un circuito que alimentado por una bomba de perfusión consigue un flujo intermitente de 20cc. durante 15 segundos, cada 5 minutos. El hígado previamente introducido en una bolsa de plástico atóxico es colocado en un baño refrigerante que mantiene a una temperatura de

4°C el líquido de perfusión y el propio órgano. De esta forma el hígado es perfundido intermitentemente con una cantidad aproximada de 900 cc. de una solución que contiene:

Albúmina	45	g/litro
Ac. Lútrico	0,6	g/litro
Capilato Sódico	3,75	g/litro
Sulfato Magnésico ...	1,5	g/litro
Fosfato Dipotásico ..	4,12	g/litro
Glucosa	18,75	g/litro
Heparina	0,2	g/litro
Hidrocoftisona	250	mg/litro
Cloranfenicol	1	g/litro

Imponiéndole un pH de 6,8 a 37° C mediante la adición de CIH al 10% en cantidad aproximada de 6 cc/litro. Al cabo de aproximadamente 4 horas, el hígado es trasplantado al animal receptor. (Fig. 1).

S E R I E IIB =====

Después de lavar el órgano de forma idéntica a la descrita en la serie II A, se procede a la infusión hepática del mismo líquido de preservación empleado en la serie anterior.

Se infunden unos 500 cc. por vía portal y unos - 100 cc. por vía arterial, a una presión aproximada de 100 cc de H₂O y una temperatura de 4°C.

Posteriormente el hígado es introducido en una bolsa de plástico, bañado en el mismo líquido de perfusión y

esta bolsa colocada dentro de un recipiente lleno de hielo picado. Quedando el hígado inmerso en el hielo. Todo el recipiente es a su vez introducido en una nevera, donde permanecerá por espacio de cuatro horas aproximadamente, hasta que sea - trasplantado al animal receptor.

RESULTADOS

Siguiendo la técnica anteriormente descrita hemos podido obtener los resultados que se aprecian en las tablas - siguientes:

S E R I E II A

<u>Nº</u>	<u>Tº PRESERVACION</u>	<u>Tº SUPERVIVENCIA</u>	<u>CAUSA DE MUERTE</u>
1	3h 25'	2h	Hemoperitoneo
2	3h 25'	23h	Coleperitoneo
3	3h 25'	2h	Mal funcionamiento má quina.
4	2h 50'	10d.	Coleperitoneo tabicado
5	3h 10'	per-operatoria	Hipertermia maligna
6	4h 35'	10'	Acidosis metabólica
7	2h 40'	per-operatoria	Acidosis metabólica
8	3h 40'	11d.	Oclusi'ón intestinal
9	3h 55'	5d.	Melenas
10	3h 37'	6h 15'	Embolia gaseosa yatró gena.
11	4h	16h 15'	Hipoglucemia
12	4h 05'	6d.	Trombosis porta

S E R I E I I 8
=====

<u>Nº</u>	<u>Tº PERSERVACION</u>	<u>Tº SUPERVIVENCIA</u>	<u>CAUSA DE MUERTE</u>
1	3h 50'	18d.	Oclusión intestinal
2	3h 5'	5d.	Coleperitoneo tabicado
3	3h 45'	14d.	Hipoglucemia
4	4h 05'	operatoria	Hipertermia maligna
5	3h	135d.	Oclusión intestinal
6	4h 10'	operatoria	Acudosis metabólica
7	3h 30'	9d.	Melenas
8	3h 35'	Operatoria	Embolia gaseosa yatrógena.
9	3h 35'	23h	Coleperitoneo

ASPECTOS ANATOMO-PATOLOGICOS
=====

Se efectuaron tres tomas de tejido hepático, en cada hígado trasplantado para estudio anatomopatológico ultraestructural. La primera muestra se obtuvo después del lavado refrigerado del órgano, la segunda después de transcurridas las cuatro horas de preservación y la última, después de realizado el trasplante, es decir con el órgano ya revascularizado. El material fue fijado inmediatamente después de su extracción en Glutaraldehído al 2,5% en tampon fosfato pH 7,4 durante un tiempo de 24 horas. A continuación, después de lavado se sometió a una segunda fijación en tetróxido de osmio según DALTON. Tras deshidratación en acetona-

se incluyó en ARALDIT. Los cortes ultrafinos se obtuvieron con un ultramicrotomo REICHERT OM-3, los cuales montados en rejillas fueron contrastados en acetado de uranillo y citrato de plomo según VENABLE.

A)- MUESTRAS OBTENIDAS DESPUES DE LA PERFUSION DEL ORGANO Y ANTES DE LA PRESERVACION.-

La ultraestructura general de los hepatocitos es tá bien conservada, no se encuentran anomalías en la membrana plasmática, organoides citoplasmáticos ni en los nucleos.

Las mitocondrias y el retículo endoplásmico no muestran alteraciones de tipo osmótico tan severas como en el caso anterior estudiado (preservación sin albúmina). Las crestas mitocondriales de algunos hepatocitos han desaparecido por completo.

B)- MUESTRAS OBTENIDAS AL FINALIZAR LA PRESERVACION.-

Las muestras obtenidas al final de la preservación muestran modificaciones estructurales similares en todos los cortes examinados. Los espacios sinusoidales se encuentran muy agrandados y distendidos y desprovistos de células circulantes. Las células de KUPFFER son prominentes y en ellas no se aprecian modificaciones, los cordones hepatocitarios muestran una arquitectura bien conservada. Se aprecian bastantes células almacenadoras de grasa y en uno de los casos se ha podido sorprender a una de estas células en fase de expulsión de su gran vacuola lipídica.

Los hepatocitos muestran morfología variable. Algunos son voluminosos y esferoidales, con hiperclaridad hialoplasmática. En estas células, el retículo endoplásmico liso ha perdido su configuración habitual, sufriendo un proceso de transformación vesicular. El aparato de Golgi igualmente, aparece muy vesicular, en las cercanías de los capilares biliares. Las mitocondrias, son grandes y en su interior han desaparecido las crestas. Su contenido es homogéneo y finamente granular. El contenido de glucógeno de estas células es muy pobre. El núcleo presenta morfología intacta, aunque en algunos casos es posible apreciar una dilatación del espacio intermembranoso de la envoltura nuclear. El espacio intercelular de estos hepatocitos se encuentra algo dilatado, conservándose la estructura de los capilares biliares y de sus complejos de unión. El polo sinusoidal, posee microvillis normales en cantidad y distribución. En alguno de los casos se han visto imágenes sugerentes de comunicaciones entre el polo biliar y sinusoidal, a través del espacio extracelular ampliado, limitado por las membranas hepatocitarias.

En algunas zonas aisladas, aparecen hepatocitos con dilataciones muy marcadas del retículo endoplásmico granular, que forman grandes cavidades en el interior de los hepatocitos. Las mitocondrias de estas células muestran alteraciones superponibles a las descritas anteriormente.

La mayor parte de los hepatocitos, sin embargo, no muestran alteraciones tan severas. Los organoides citoplasmáticos se encuentran mejor preservados y las mitocondrias muestran configuración normal. Unicamente se aprecia una dilatación discreta del retículo endoplásmico granular.

Finalmente, en algunas áreas circunscritas, es posible identificar células hepáticas muy alteradas, con discontinuidad plasmolémica y expulsión de los organoides hacia el espacio extracelular. Los núcleos de estas células suelen ser densos. Una manifestación más importante de este mismo fenómeno, se aprecia cuando esta lesión aparece afectando simultáneamente a unos cuantos hepatocitos. En este caso aparece un magma citoplasmática que contiene organoides particulados dispuestos al azar, en el seno de un material granular, en el que se pueden apreciar varios núcleos hepatocitoarios, así como células sanguíneas.

En alguno de los casos, en el que la preservación no fue tan correcta, se aprecia en el interior de los hepatocitos unas formaciones vacuolares grandes, limitadas por membranas, en cuyo interior se aprecian escasas figuras de mielina y un material granular.

C)- MUESTRAS OBTENIDAS DESPUES DE LA REVASCULARIZACION.-

Las muestras obtenidas inmediatamente después de la revascularización, muestran alteraciones de la estructura hepatocitaria similares a los descritos después de la preservación

ción.

Los sinusoides no aparecen aquí distendidos. En su interior aparecen elementos sanguíneos circulantes. Las células de Kupffer no sufren modificaciones. En algunas áreas se aprecian pequeños agregados plaquetarios en la luz sinusoidal, a la que generalmente no ocluyen. Asimismo en estas áreas se pueden apreciar la presencia de fibrina. En algunos casos se aprecian filamentos de fibrina y hematíes a nivel del espacio de Disse que se encuentra agrandado.

Se hallan colecciones focales de hematíes, asociados a filamentos de fibrina y pequeños agregados plaquetarios; estos últimos en ocasiones se adhieren a la superficie de hepatocitos alterados.

ESTUDIO CRITICO DE LOS RESULTADOS

La hipotermia se reconoce universalmente como un elemento imprescindible en preservación hepática. Para la refrigeración del hígado hemos empleado la infusión de suero a 4°C logrando que la temperatura del órgano alcance los 7-10 grados C., como hemos podido comprobar mediante la colocación de un termómetro electrónico en el interior de la vena cava, próxima a las suprahepáticas. Como ya hemos dicho, la hipotermia como único medio de preservación supedita su eficacia a la duración del tiempo de isquemia. A este respecto existe disparidad de criterios entre los diversos autores en el mo-

mento de establecer el periodo máximo de tiempo de preservación en el que la hipotermia como único acto será eficaz.

La hipotermia se nos ha mostrado eficaz en la serie A (tiempo de preservación inferior a 60 minutos).

Ante la disparidad de criterios antedicha hemos querido adquirir el nuestro propio habiendo realizado una serie (I) con hipotermia simple durante 3-4 horas. Los resultados obtenidos han demostrado la ineficacia del método para este periodo de preservación (67,6% de mortalidad por mala preservación). Este porcentaje no demuestra exactamente la realidad en cuanto a la ineficacia del método ya que algunos animales han muerto por otras causas antes de poder valorar la preservación hepática.

De las observaciones realizadas en este trabajo, deducimos que ante una mala preservación, la función hepática no desaparece totalmente desde el primer momento sino que existe una anulación gradual de las diversas funciones hepáticas. La glucogenolisis parece ser una de las primeras funciones en desaparecer mientras que la función exocrina del órgano desaparece más tardíamente.

El estudio histológico del órgano al final de la preservación, ni aún llevado al terreno ultraestructural, nos parece un parámetro lo suficientemente fidedigno como para basar en el mismo el criterio de viabilidad del mismo por varias razones. En primer lugar, los datos microscópicos re-

velan únicamente el estado de una pequeña y superficial porción del órgano, por lo que se necesitarían múltiples tomas-biópsicas distribuidas por todo el parenquima hepático. En segundo lugar, hemos podido comprobar que órganos con lesiones importantes pueden lograr mantener con vida al animal receptor, habiendo constatado que no existe paridad entre las lesiones histológicas y la evolución clínica.

En general podemos decir que cuando la preservación se prolonga durante 3-4 horas, la cantidad de glucógeno citoplasmático está en relación inversa con la buena calidad de la preservación. Así, en los casos en los que se ha constatado la destrucción del plasmolema como lesión predominante, casos que han ido seguidos por la muerte indefectible del animal en las primeras 48 horas, la cantidad de glucógeno citoplasmático ha sido notablemente superior al hallado en los casos en que la preservación ha sido eficaz, logrando la supervivencia del animal. La desaparición del glucógeno se realiza en primer lugar en el parenquima periportal y en último lugar se hace en el polo biliar.

Creemos que ante una preservación deficiente, la célula hepática pierde su vitalidad antes de poder aprovechar el glucógeno citoplasmático mediante la glucolisis anaerobica. Por lo tanto, en nuestra experiencia, la desaparición del glucógeno ha sido índice de una preservación eficaz en contraposición de lo que afirman algunos autores (TRUMP y -

cols.), los cuales consideran la depleción de glucógeno como índice de mala preservación.

Las lesiones ultraestructurales halladas a nivel mitocondrial pueden ser múltiples. TRUMP opina que el simple edema mitocondrial es signo evidente de lesión por preservación. Los resultados obtenidos en nuestro estudio no concuerdan con estos datos ya que cierto grado de edema a este nivel, incluso con pérdida de la configuración normal de la membrana mitocondrial interna ha aparecido inmediatamente después del lavado-refrigeración del órgano, antes de iniciar la preservación. A este respecto debe aclararse que el lavado-refrigeración forma parte de la preservación pero en su fase más inicial; creemos más oportuno denominar preservación al acondicionamiento más prolongado del órgano.

En nuestra experiencia, una balonización mitocondrial más o menos acentuada, y no de forma universal, existe en todos los casos, igualmente en los que se ha obtenido la supervivencia prolongada del receptor. Este discreto edema mitocondrial viene acompañado de una pérdida de continuidad de sus crestas. La membrana externa no ha presentado modificaciones ni en las preservaciones más deficientes.

En los casos de mala preservación hemos observado una balonización mitocondrial muy intensa acompañada de una pérdida de la imagen normal de condensación mitocondrial y de la desaparición de la membrana interna.

La destrucción de la membrana celular constituye la lesión más evidente de mala preservación. Cuando éste representa la lesión predominante, se comprende que el órgano ha perdido su viabilidad. En estos casos puede observarse la aparición de fusiones citoplasmáticas que contienen varios-núcleos.

La pérdida de continuidad del plasmolema condiciona el intercambio de elementos entre los espacios intra y extra celular, y así podemos encontrar elementos formes de la sangre en el interior del citoplasma al igual que la presencia de organoides celulares en la luz sinusoidal.

La preservación mediante PPF y estabilizadores de la membrana ha permitido disminuir notablemente la frecuencia de aparición de este tipo de lesiones.

La vacuolización citoplasmática se considera universalmente una consecuencia de la preservación. Después del estudio de los 89 hígados de cerdo preservados y, posteriormente, trasplantados, creemos que no puede hablarse simplemente de vacuolización sino que es necesario analizar este fenómeno. El análisis de estos casos demuestra que la vacuolización citoplasmática por si misma no es sinónimo de pérdida de viabilidad del órgano, sino que debe considerarse como un fenómeno osmótico. En los casos en que los citoplasmas hepatocitarios han sido sustituidos por vacuolas de gran tamaño, la muerte del animal receptor es la regla. La presencia

de múltiples vacuolas de pequeño tamaño, distribuidas universalmente por todo el parenquima hepático, no implica la pérdida de la viabilidad del órgano. A este respecto es demostrativo el caso de un animal receptor de un hígado que presentaba este tipo de lesiones y sobrevivió 135 días, falleciendo a causa de una oclusión intestinal.

La dilatación sinusoidal ha sido una lesión hallada frecuentemente en los órganos preservados; este fenómeno creemos que puede ser debido al método de infusión-lavado, aunque el líquido haya descendido simplemente por gravedad desde una altura de 100 cms.

El hallazgo de agregados plaquetarios en el interior de la luz sinusoidal lo hemos interpretado como una consecuencia de mala preservación aunque el hecho de observar esta anomalía no ha ido seguida de la pérdida del animal receptor. Del mismo modo, la presencia de fibrina en la pared sinusoidal y en el espacio de Disse ha sido observada en cierto número de casos ignorando la causa de su aparición al igual que su significado. Estas lesiones han sido halladas preferentemente en los animales pertenecientes a la serie II. Por el contrario, en las series II A y II B, los agregados plaquetarios han sido más escasos y de menos intensidad no llegando nunca a ocluir la luz sinusoidal; estos agregados plaquetarios se encuentran generalmente adheridos a la superficie de los hepatocitos alterados. No hemos encontrado nunca modificaciones de las células de Kupffer.

En algunos casos se han visto imágenes sugestivas de comunicación entre los polos biliar y sinusoidal, a través de un espacio extracelular ampliado.

Es importante establecer un estudio comparativo - entre los métodos de preservación utilizados en nuestro trabajo y los resultados obtenidos. El examen minucioso de estos datos puede hallarse en los apartados correspondientes.

Las cifras de mortalidad en cada serie permiten - la valoración final de los distintos métodos de preservación, teniendo en cuenta que, en todos estos casos, se ha podido de mostrar la mala calidad de la preservación como la responsable de la muerte de los animales.

<u>SERIE</u>	<u>Nº DE CASOS</u>	<u>TANTO % DE MORTALIDAD POR MALA PRESERVACION</u>
=====		
Hipotermia Serie A		
Tº inferior a 1 hora	34	8,8
Hipotermia Serie I		
Tº 3-4 horas	34	67,6
Hipotermia + albumina		
Serie II	21	8,7
=====		

El método más sencillo de los empleados es el almacenamiento en hielo.

El método de preservación por perfusión intermitente aunque simple, requiere una mayor vigilancia, aunque la utilización del regulador mecánico del ritmo de perfusión fa-

cilita el empleo de este método. En estos casos, hemos observado un mayor edema del órgano al final de la preservación - que en los casos de la serie II B (almacenamiento en hielo). Este edema puede deberse fundamentalmente a dos causas:

- a) Mecánicas, por hiperaflujo o por dificultad de drenaje.
- b) Escasa presión osmótica del líquido de perfusión utilizado.

Tanto en la serie II A como en la II B, el líquido de preservación ha sido idéntico por lo que dicho edema - hemos de considerarlo de origen mecánico.

Hemos de hacer constar que la complejidad de la técnica del trasplante hepático ortotópico hace que, en ~~oca~~siones, sea muy difícil distinguir las muertes por mala ~~pre~~servación de aquellas debidas a otras causas.

CONCLUSIONES

El mejor criterio de buena preservación de un hígado es el de que su trasplante a un receptor hepatectomizado logre - mantener la vida de éste durante un mínimo de cuatro días.

Los animales a los que se les ha trasplantado un hígado mal preservado fallecen, generalmente, en las primeras 48 horas y siempre, dentro de los cuatro primeros días.

Las dificultades técnicas que entraña el trasplante hepático ortotópico y sus consecuencias, son, a veces, difíciles de distinguir de los fracasos debidos a una mala preservación.

En la microscopía óptica de los hígados preservados, el hallazgo más frecuente es el edema, el cual, en muchos casos, ha demostrado ser una lesión reversible y compatible con una buena función después del trasplante.

El estudio histopatológico, aun llevado a las más finas estructuras, no nos parece un parámetro fidedigno para juzgar la viabilidad del órgano.

Cuando las lesiones predominantes comprenden la destrucción de la membrana celular, a pesar de que esté conservada la ultraestructura celular, no es posible conseguir la supervivencia del animal receptor.

La destrucción de la membrana celular se acompaña de conservación del glucógeno citoplasmático; parece ser que la destrucción del plasmolema tiene lugar antes del aprovechamiento - del glucógeno por la glucólisis anaerobia.

Cuando se observan lesiones osmóticas, la viabilidad del órgano está en razón directa de la intensidad de estas lesio

nes.

La balonización mitocondrial, con pérdida de su membrana interna y la dilatación del retículo liso han resultado - ser signos de mala preservación.

La vacuolización citoplasmática no es indicativa de mala preservación.

La desaparición del glucógeno citoplasmático es índice de conservación de la vitalidad celular.

El edema del órgano, cuando no es debido a factores mecánicos es atribuible a una insuficiente presión osmótica del líquido de perfusión.

En nuestra experiencia, la primera función que desaparece en un hígado mal preservado es la capacidad de transformación del glucógeno hepático.

La hipotermia conseguida mediante infusión de líquido a 4º C por vía portal, es suficiente para obtener una buena preservación hepática durante un periodo inferior a los 60 minutos.

La hipotermia conseguida mediante infusión de líquido a 4º C seguida de almacenamiento del hígado en hielo, no ha sido eficaz para mantener la viabilidad del órgano durante 3-4 horas.

La preservación conseguida mediante hipotermia e infusión de albúmina con estabilizadores de la membrana ha sido - eficaz para mantener un buen funcionalismo hepático después de un tiempo de almacenamiento de 3-4 horas.

La perfusión intermitente empleando una bomba pulsátil no ofrece dificultades apreciables para conseguir una buena preservación hepática.

A pesar de la mala calidad de la preservación en la serie I no hemos observado nunca la aparición de diatesis hemorrágica.

La hipoglucemia constituye el factor que causa la muerte con mayor frecuencia en las primeras 48 horas del postoperatorio.

La acidosis metabólica, aún en los casos en que no se ha empleado derivación venosa porto-yugular, no es tan difícil de compensar como la hipoglucemia.

B I B L I O G R A F I A

ABOUNA G. M., ASHCROFT, T., HULL, C. and KIRKLEY, J.

Acomparison of the effect of warm ischemia and hypothermia on liver glycogen, electrolytes and pH during liver perfusion. Brit. J. Surg. 55:388 (1968).

ABOUNA, G. M.

Pig liver perfusion with human blood. Brit, J. Surg., 55: - 761 (1971).

ALICAN, F. and HARDY, J. D.

Replantation of the liver in dogs. J. Surg. Res., 7:368 - (1967).

BROWN, H.

A method for cold preservation of liver. J. R. Res., 7:71 - (1967).

CALNE, R., WILLIAMS, R.

Survival after orthotopic liver transplantation. A Follow-up report of two patients. Brit. Med. J., 3:436 (1970).

CALNE R.

Transplante hepatico. Barcelona Quirúrgica. 15:33 (1971).

CALNE, R.

Clinical organ transplantation. London. Ed. Blackwell Scientific (1971).

CALNE, R.

Prolonged survival of liver transplants in the pig. Brit. Med. J., 4:645 (1967).

CALNE, R. WHITE H. HERBERTSON B. MILLARD P. DAVIS D. SALAMAN J. SAMUEL J.

Pig to baboon liver xenografts. Lancet, 2:1.176 (1968).

CALNE R. DAVIS D. PENA J. BALNER H. VRIES M.

Hepatic allografts and xenografts in primates. Lancet, 1: 103 (1970).

CALNE R.

Surgical aspects of clinical liver transplantation in 14 cases. Brit. J. Surg. 56:729 (1969).

CALNE R.

Liver transplantation. Practitioner, 205: 157 (1970).

CALNE R. SELLS R. PEÑA J. DAVIS D. MILLARD P. HERBERTSON B. BINNS R.

Induction of immunological tolerance by porcine. Nature, 223: 472 (1969).

CALNE R. WHITE H. YOFFA D. MAGINN R. BINNS R. SAMUEL J. MOLINA V.

Observations of orthotopic liver transplantation in the pig. Brit. Med. J., 2:478 (1967).

CAMPRODON R. SALVA J. A. JORNET J. GUERRERO J. MENDOZA G. PI
ÑEIRO H.

Trasplante hepático ortotópico en el cerdo. Comunicación pre
sentada en el XII Congreso Español de Patología Digestiva.
(1972).

CAMPRODON R. SALVA J. A. JORNET J. GUERRERO J. MENDOZA G. PI
ÑEIRO H. MIRALLES J. KANAREK B.

Trasplante hepático ortotópico en el cerdo. Barcelona Quirúr
gica. 16:195 (1972).

CAMPRODON R. SALVA J. A. SOLANES R. BOSCH.

Tratamiento del coma hepático mediante perfusión del hígado-
eterologo aislado. Rev. Esp. Enf. Ap. Dig. 34:1 (1971).

CAMPRODON R. SALVA J. A. JORNET J. GUERRERO J. MENDOZA G. PI
ÑEIRO H. MIRALLES J. KANAREK B.

Trasplante hepático ortotópico en el cerdo. Barcelona Quirúr
gica., 16:195 (1972).

CAMPRODON R. MENDOZA C. ARCALIS. RIBAS J. RIBAS D.

Role of biliary derivation in the hepatic infection. Patholo
gy and analytical bacteriological studies in the pig. Com.al
10th Congress of the European Society for Experimental Surge
ry.

- CAMPRODON R. SALVA J. A. JORNET J. GUERRERO J. A. MONASTERIO J. PIÑEIRO H. MENDOZA G. SEGURA J. SOLEY P. CANELA M.
Aspectos biológicos del trasplante hepático en el cerdo. Rev. Esp. Enf. Ap. Dig., XLIV: 531 (1974).
- CAMPRODON R. JORNET J. SALVA J. A. GUERRERO J. A. PIÑEIRO H. MENDOZA G.
Problemas anestésicos del trasplante hepático total ortotópico en el cerdo. Rev. Esp. Anest. Rean., 21:68 (1974).
- FONKALSROUD E. RANGEL D. BYFIELD J. BRUCKNER. STEVENS G. DINBAR.
A hepatic preservation with chlorpromazine and Phenoxybenzamine; application to liver transplantation. Surgery., 66:23 - (1969).
- FONKALSROUD E. W.
Common mechanisms of hypotension in irreversible shock and - liver transplantation. Surg. Gynec. Obst., 128:601 (1969).
- KENTS P. J. AUSTEN W. G. and McDERMOTT W. V.
Biochemical and physiological studies on the viable extracorporeal liver. S. Forum., 10:225 (1969).
- KESTNS P. J. FARRELLY J. A. and McDERMOTT W.V.
A technique of isolation and perfusion of the canine liver., J. S. Res. 1:58 (1961).

KESTENS P. J. and McDERMOTT W. V.

Perfusion and replacement of the canine liver. Surgery., 50: 196 (1961).

KESTENS P. J.

L'hypothermie selective du foie. Acta Chir. Belg., 64:326 - (1965).

KESTENS P. J.

La perfusion du foie isolé. Brussels Edition Arscia S. A. Paris. 1964 (Librairie Maloine).

KESTENS P. J. HAXHE J. J. ALEXANDRE G. P. J. HASSOUN A. and LAMBOTTE L.

Conservation du foie en vue de la transplantation. I. Hypothermie selective du foie. Rev. Int. Hepatol., 15:1383 (1965)

MARCHIORO T. HUNTLEY R. WADDELL W. STARZL T.

Extracorporeal perfusion for obtaining portmortem homografts. Surgery., 54:900 (1963).

MARCHIORO T. L. PORTER K. A. BROWN B. J. FARIS T. D. HERRMANN T. J. SUDWEEKS A. and STARZL T. E.

The specific influence of non-hepatic splanchnic venous blood flow on the liver. Surg. Forum., 16:280 (1965).

MARCHIORO T. L. WADDELL W. R. and STARZL T. E.

Use of extracorporeal cadaver perfusion for preparation of organ homografts. S. Forum., 14:174 (1963).

MARCHIORO T. L.

Extracorporeal perfusion for obtaining postmortem homografts. Surgery., 54:900 (1963).

MARSHALL B. S. et Col.

Liver preservation in the pig. Brit. J. Surg. 57:853 (1970)

MIKAELOFF P. H. and CALNE R. Y.

Progress in liver transplantation. Prog. Surg., 7:253 (1969)

MIKAELOFF P. y Cols.

Survie de 3 mois après transplantation hépatique avec hepatec tomie totale du receveur chez le chien. Press. Med. 73:1679 (1965).

MIKAELOFF y Cols.

Bailan de 100 transplantation hépatique chez le chien avec he patectomie totale du receveur. Ann. Chir. Infant. 6:81 (1965)

MIKAELOFF y Cols.

Transplantation orthotopique du foie après perfusion. Rev. Int Hepat. 15:1.401 (1965).

MIKAELOFF P.

Transplantation hépatique. Simep Editions (1967).

MIKAELOFF P. KESTENS P. J. DUREAU G. RASSAT J. P. HAXHE J.J.

ALEXANDRE G. P. DUBERNARD M. GUILLERET J. HASSOUN A. MALDAGUE P. and MORIAU M.

Conservation du foie en vue de la transplantation. II. Rv. Int. Hepatol., 15: 1401 (1965).

- MIKAELOFF P. DUREAU G. RASSAT J. P. CHABERT M. DUMONT L. BELLEVILLE J. TRONCHON J. MALLURET J. DESCOTES J.
Transplantation orthotopique du foie. Mem. Acad. Chir., 91: 286 (1965).
- OLSZEWSKY W. et Cols.
Experimental preservation of liver from hypotensive donor and with prolonged warm ischemia. Acta. Med. Pl. 14:147 (1973).
- OTTE J. B. et Cols.
Conservation prolongee du foie de chien. Merites de l'Isoproterenol et de la solution de Collins. J. Chir. 105:75 (1973).
- SHALM S. W. TERPSTRA J. L. DRAYER B. Van Den BERG C. VELTKAMP J. J.
A simple method for short-term preservation of a liver homograft transplantation., 8:877 (1969).
- SMITH A. U.
Problems in the resucitation of mammals from body temperatures below zero degrees centigrade. Proc. Roy. Soc. London. B. 147:533 (1957).
- SMITH B.
Preservation of the liver for transplant into biliary atretic infants. J. A. M. A., 200: 546 (1967).

SPILG H. UYS C. J. HICKMAN R. SAUNDERS S. J. and TERBLANCHE J.

Twelve-hour liver preservation in the pig using hypothermia and hyperbaric oxygen. *Brit. J. Surg.*, 59:273 (1972).

STARZL T. E. KAUPP H. A. Jr. BROCK D. R. LAZARUS R. E. JOHNSON R. V.

Reconstruction problems in canine liver homotransplantation with special reference to the postoperative role of hepatic venose flow. *Surg. Gynec. Obst.*, 111:733 (1960).

STARZL T. and Cols.

Studies on the rejection of the transplanted homologous dog liver. *S. G. O.*, 112:135 (1961).

STARZL T. and Col.

Canine liver homotransplantation: the effect of host and graft irradiation. *Arch. Surg.*, 85:460 (1962).

STARZL T. E.

Homotransplantation of the liver in humans. *Surg. Gynec. Obst.* 117:659 (1963).

STARZL T. and Cols.

The reversal of rejection in human renal homografts with subsequent development of homograft tolerance. *S. G. O.* 117:385 (1963).

STARZL T. and Cols.

Immunosupresion after experimental and clinical homotransplantation of the liver. Ann. Surg., 160:411 (1964)

STARZL T. and. Cols.

Experimental and clinical homotransplantation of the liver. - Abb, B, Y. Acad. Sc. 120:739 (1964)

STARZL T. and Cols.

Factors determining short and long term survival after ortho-
topic liver homotrasplantation in the dog. Surgery., 58:131 -
(1965).

STARZL T. and Cols.

Liver transplantation. Arnn. Intern. Med. 64:473 (1968).

STARZL T. KENNETH A. PORTER M. BRETTSCHEIDER L. ISRAEL M. PE-
TER B. CHARLES W. PUTNAM B. ROBERT L. McGUIRE M.

Clinical and pathologic observations after orthotopic trans -
plantation of the human liver. Surg. Gyn. Obst., 128:327 (1969)

STARZL T.

Experience in hepatic transplantation. Ed. W. B. Saunders Comp.
(1969).

STARZL T. PENN I. SCHROTER G. POTNAM C. HALGRIMSON G. MARTINEAU
G. AMEMIYA H. GROTH C.

Cyclophosphamide and human organ transplantation. Lancet. 1:70
(1971).

STARZL T. E.

Progress in homotransplantation of the liver in advances in surgery Year boock Medical Publischers. Inc., 1966, vol. 2

TRUMP B. F. GOLDBLATT P. J. and STOWELL R. E.

An electron microscopic study of early cytoplasmic alterations in hepatic parenchymal cells of mouse during necrosis "in vi - tro" (autolysis). Lab. Invest., 11:986 (1962).

TRUMP B. F. STRUM J. M. BULGER R. E.

Studies on the pathogenesis of ischemia cell injury. Virchows Arch. Abt. B Cell Path., 16:1 (1974).

TRUMP B. F. GOLDBLATT P. J. STOWELL R. E.

Studies of mouse liver necrosis "in vitro". Ultrastructural and cytochemical alteration: in hepatic parenchymal cell nuclei. - Lab. Invest. 14: 1969 (1965).

TRUMP B. F. GOLDELATT P. J. STOWELL R. E.

Studies on necrosis of mouse liver "in vitro". Ultrastructural alterations in the mitochondrial of hepatic parenchymal cells. Lab. Invest., 14:343 (1965).

TRUMP B. F. GOLDBLATT P. J. and STOWELL R. E.

Studies of necrosis "in vitro" of mouse hepatic parenchymal - cells. Ultrastructural and cytochemical alterations of cytosomes, cytosegresomes, multivesicular bodies and microbodies and their relation to the lysosomes, concept. Lab. Invest. 14:1946. (1965)

ZIMMERMANN W. E. KESSLER M. LEMPERLE G. SEITZ D. DIERKESMANN
R.

The avoidance of primary hypoxic damage during liver preservation by perfusion with Hb-solutions. Transplantation Proceedings., 1:819 (1969).



FUNDACION JUAN MARCH
SERIE UNIVERSITARIA

Libros Publicados:

- 1.— *Semántica del lenguaje religioso* / A. Fierro
- 2.— *Calculador en una operación de rectificación discontinua* / A. Mulet
- 3.— *Skarns en el batolito de Santa Olalla* / F. Velasco
- 4.— *Combustión de compuestos oxigenados* / J. M. Santiuste
- 5.— *Películas ferromagnéticas a baja temperatura* / José Luis Vicent López
- 6.— *Flujo inestable de los polímeros fundidos* / José Alemán Vega

