



Hospital General Universitario  
Gregorio Marañón



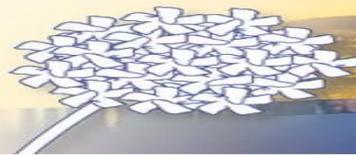
# Desarrollo y estandarización de un sistema de perfusión normotérmica para preservación de injertos hepáticos durante 24 horas en un modelo porcino.

P Lozano Lominchar, JM Asencio Pascual, A Morales Taboada, JA López Baena, JF Del Cañizo, L Guñón, L Olmedilla, JL García Sabrido

**Ponente: Pablo Lozano Lominchar**

Médico Interno Residente de Cirugía General y del Aparato Digestivo.

Servicio Cirugía General. Sección de Cirugía Hepatobiliopancreática y Transplante hepático. Servicio de Cirugía Experimental



ESTA PRESENTACIÓN NO PRESENTA CONFLICTOS DE INTERÉS

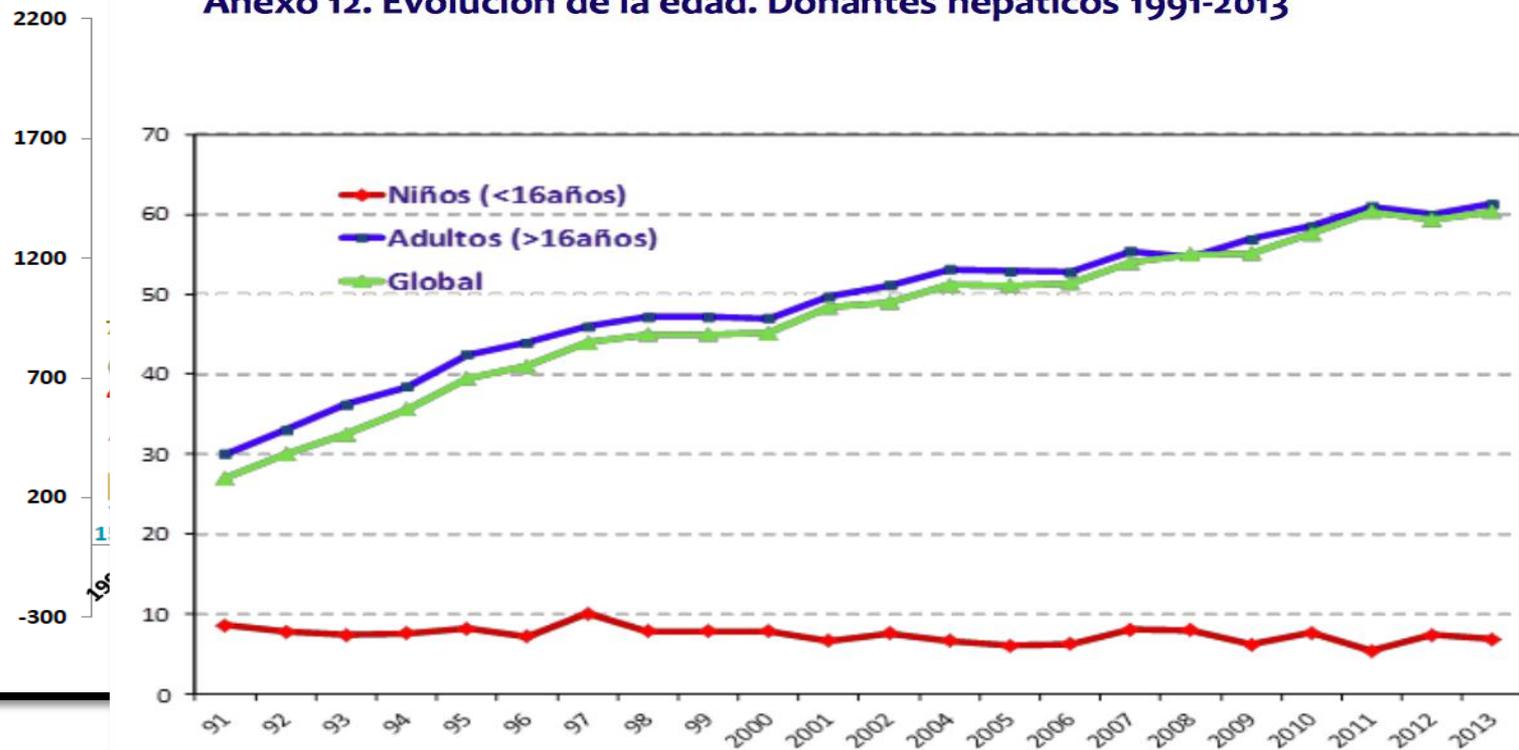
# INTRODUCCIÓN

## NÚMERO ANUAL DE TX INCLUIDOS EN EL RETH

Evolución lista de espera global. Trasplante hepático 2011.



Anexo 12. Evolución de la edad. Donantes hepáticos 1991-2013



## INJERTOS SUBÓPTIMOS

- Edad avanzada
- Esteatosis
- Tiempo de isquemia prolongada
- DCD



Mayor susceptibilidad al  
daño por isquemia-  
reperfusión

INVESTIGACIÓN EN  
TÉCNICAS DE  
PRESERVACIÓN Y  
**OPTIMIZACIÓN** DE  
INJERTOS HEPÁTICOS

NUEVAS SOLUCIONES  
DE PRESERVACIÓN EN  
FRIO

MÁQUINAS DE  
PERFUSIÓN

# MÁQUINAS DE PERFUSIÓN DE HÍGADO AISLADO

TEMPERATURA

HIPOTERMIA 4° C

SUBNORMOTERMIA 20-25° C

NORMOTERMIA 37° C

FLUJO PULSÁTIL VS CONTINUO  
PERFUSIÓN SIMPLE VS DUAL  
OXIGENACIÓN VS NO OXIGENACIÓN  
COMPOSICIÓN DE LA SOLUCIÓN

## MÁQUINA DE PERFUSIÓN NORMOTÉRMICA

- Mantener el metabolismo celular en un ambiente fisiológico.
- Medir la viabilidad del injerto previo a ser trasplantado
- Medir la producción biliar y metabólica hepática.

## OBJETIVOS

DESARROLLAR UNA MÁQUINA DE  
PERFUSIÓN NORMOTÉRMICA DE HÍGADO  
AISLADO PARA :

- PRESERVAR
- MONITORIZAR
- MODULAR

## OBJETIVOS

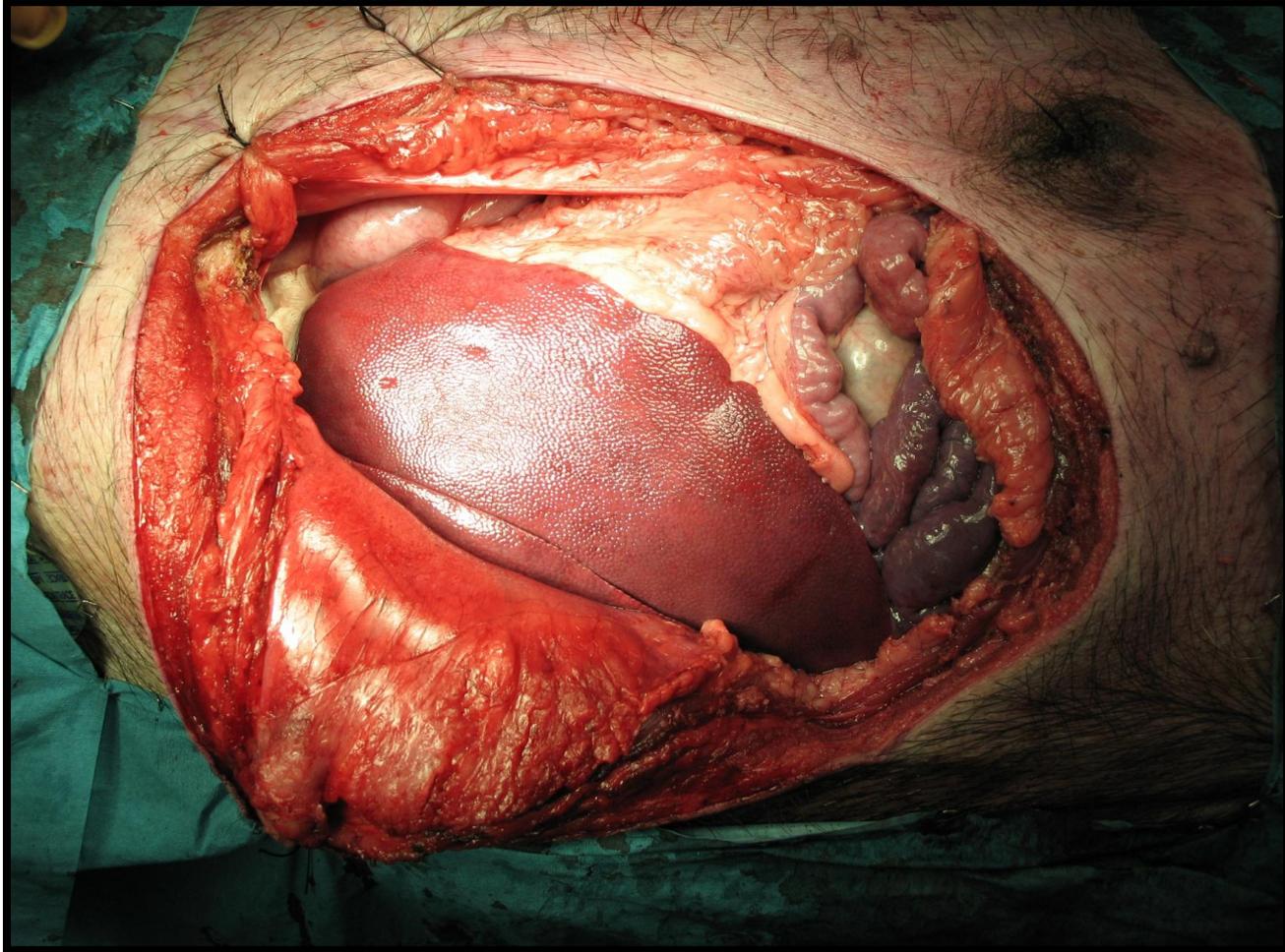
ESTANDARIZAR EL PROCESO DE EXTRACCIÓN Y PRESERVACIÓN DE ÓRGANOS EN UN MODELO PORCINO BASANDOSE EN PARÁMETROS :

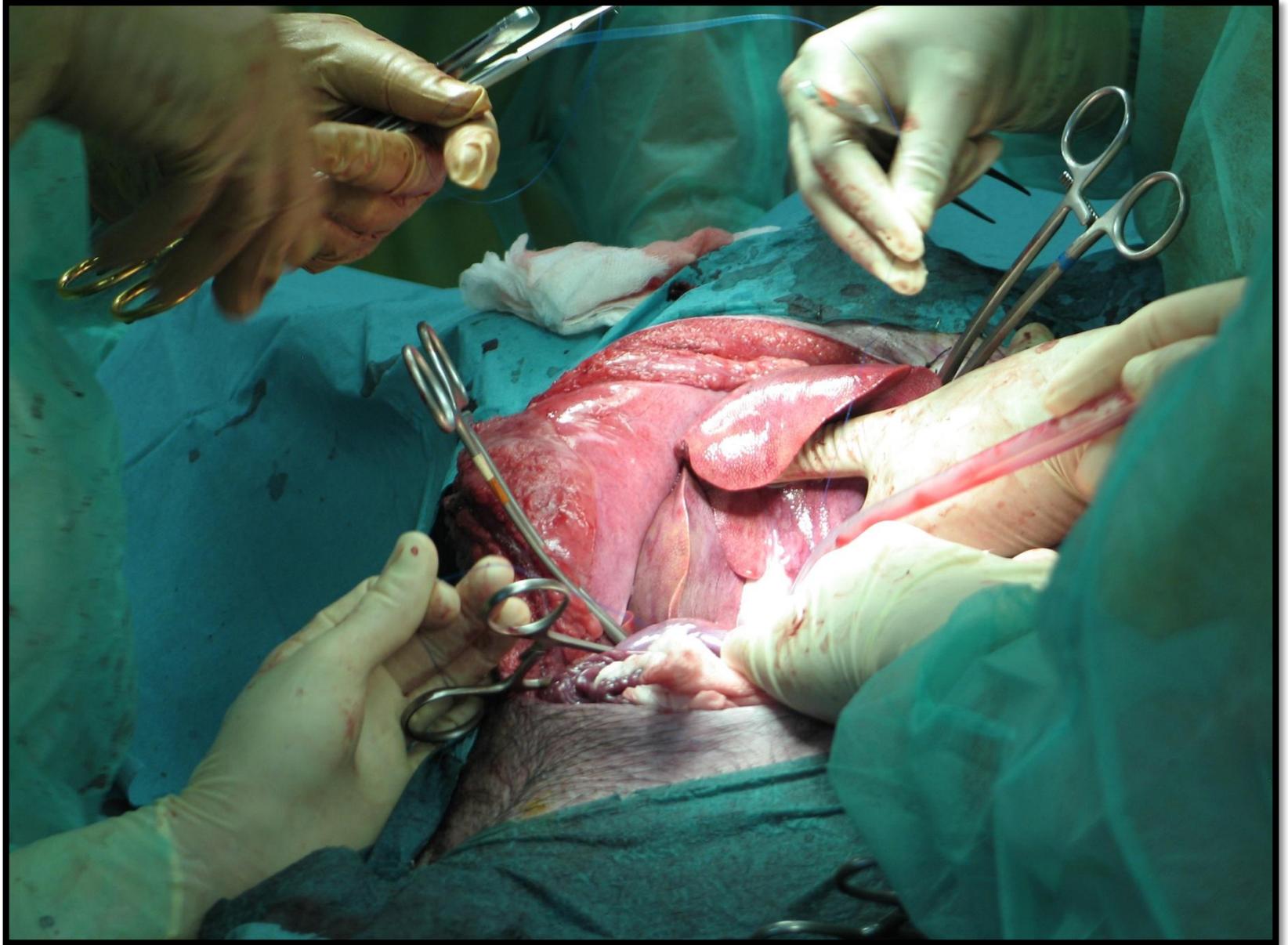
- BIOQUÍMICOS
- HEMODINÁMICOS
- HISTOLÓGICOS

## MATERIAL Y MÉTODOS.

1. Doce cerdos de la raza MINIPIG ( 25-40kg)
2. EXTRACCIÓN HEPÁTICA CONVECCIONAL Y CANULACIÓN
3. CONEXIÓN AL SISTEMA DE PERFUSIÓN NORMOTÉRMICA DE HIGADO AÍSLADO
4. MANTENIMIENTO Y MONITARIZACIÓN DURANTE 24 HORAS

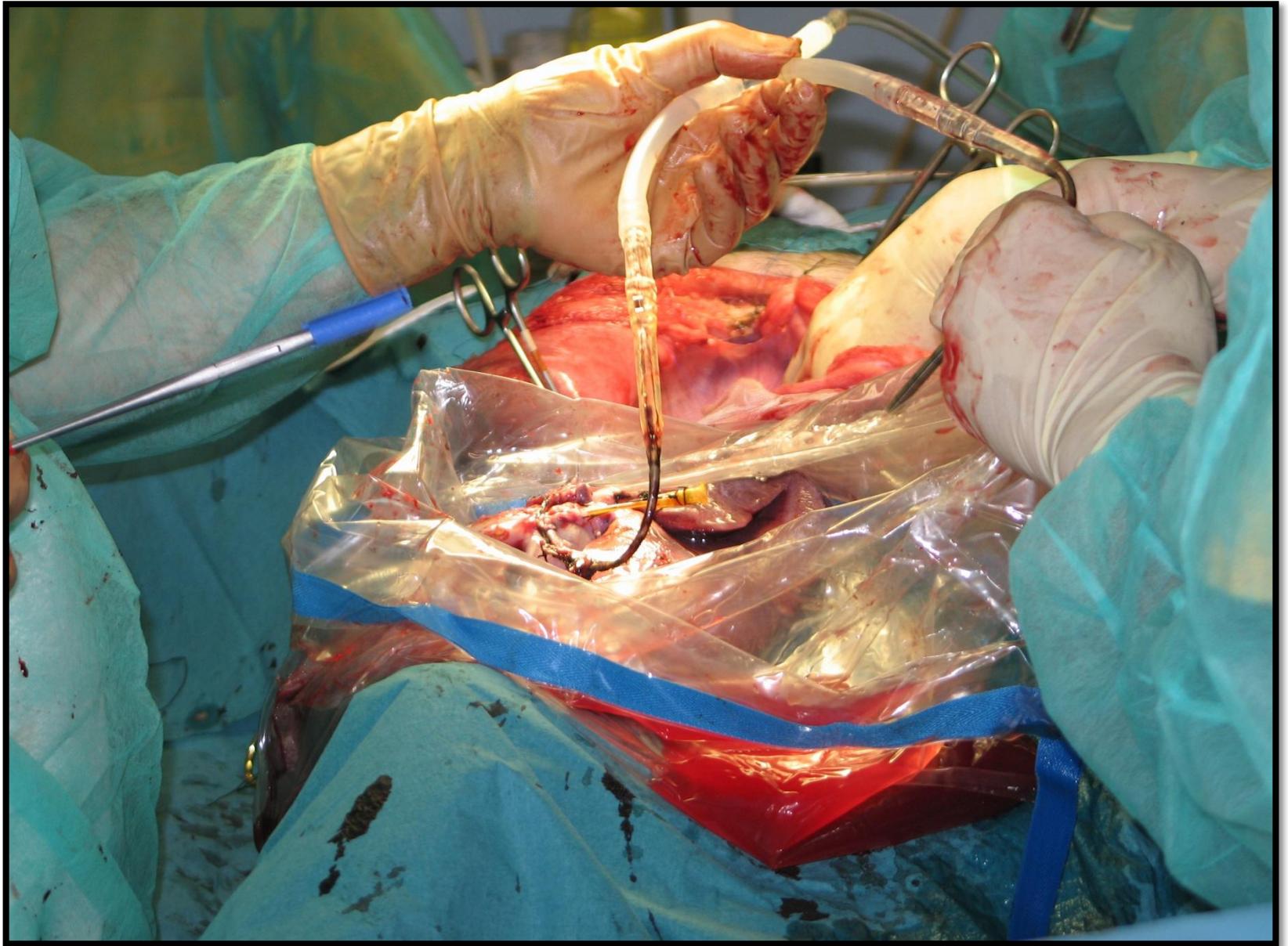
## 2. Extracción hepática y canulación





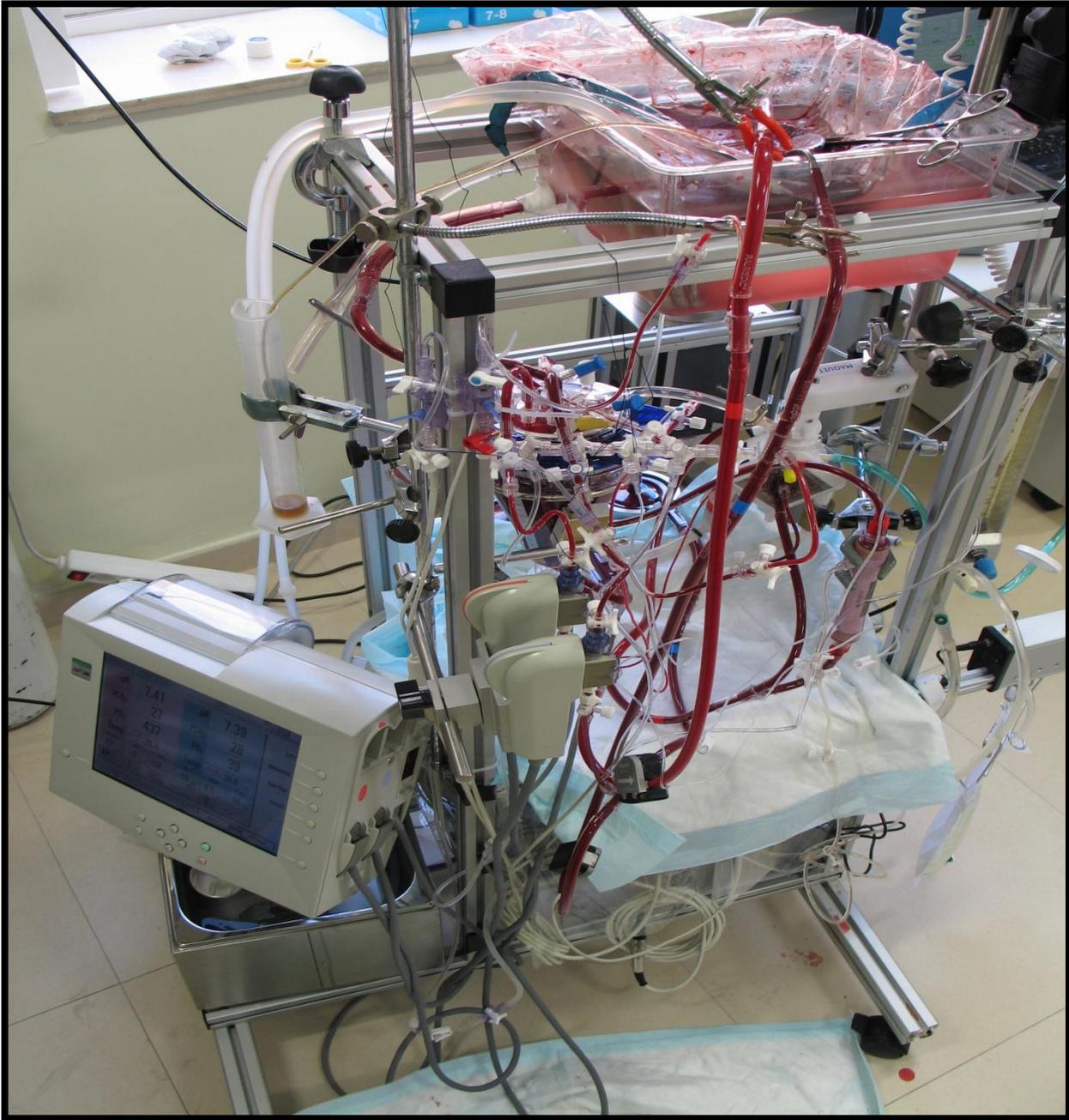
## MATERIAL Y MÉTODOS.

- Heparinización
- Exanguinación para obtención de 900-1200mL en bolsas de CPDA para cebado del sistema.



### 3. Conexión al sistema de perfusión normotérmica de hígado aislado.





## MATERIAL Y MÉTODOS.

El cebado de la máquina se realiza con:

- Sangre del donante 900 mL (toda la disponible)
- Rellenar el sistema con el mínimo volumen posible de Plasmalyte R más 50 mL de Dextrano 40.
- Bicarbonato sodico 1M 30 mL.
- Cloruro cálcico 10% 25 mL.
- Heparina sódica 5000 UI.

pH	7.38	pH	7.36		
PCO <sub>2</sub>	38 mmHg	PCO <sub>2</sub>	39 mmHg		
PO <sub>2</sub>	308 mmHg	PO <sub>2</sub>	61 mmHg		
Temp	37C 39.4 °C	Temp	37C 37.2 °C		
HCO <sub>3</sub>	EB	HCT	Hgb	SO <sub>2</sub>	
22 meq/l	-2 meq/l	100 %	20 %	9.4 g/dl	91 %
K <sup>+</sup>	7.4 mmol/l				

@ / 37°C  
almacenar  
fijar flujo  
marcar  
alimentar

## MATERIAL Y MÉTODOS.

- Temperatura : 37°C.
- Presión arterial máxima 90-95 mm Hg.
- Presión portal 5-10 mm Hg. (<15 mm Hg)
- Flujo Total 1mL/ min / g: 75% flujo portal, 25% flujo arterial. En definitiva, flujo portal alrededor de 1L minuto y arterial entre 100 y 150 mL/min dando siempre prioridad al control de la presión frente al flujo.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

- Sangre completa (900 mL).
- Heparina 5000 UI al principio de la perfusión y 2500UI cada hora.
- Metilprednisolona 20 mg (5 en bolo al inicio y 15 en infusión, mínimo en 30 minutos)
- Prostaciclina (epopostrenol sódico) en perfusión 9microgr/h
- Insulina Lispro 25 UI/h
- Nutrición parenteral
- Cefotaxima 1g/12h
- Vancomicina 0.5 g/12h
- Bicarbonato sódico en caso de desajuste ácido-básico metabólico
- Cloruro cálcico según niveles de calcio en la gasometría.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

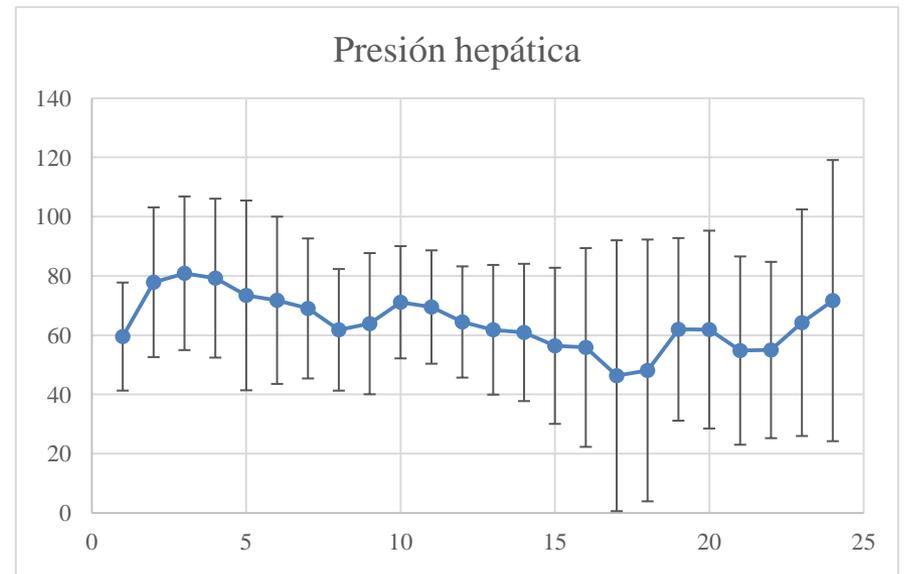
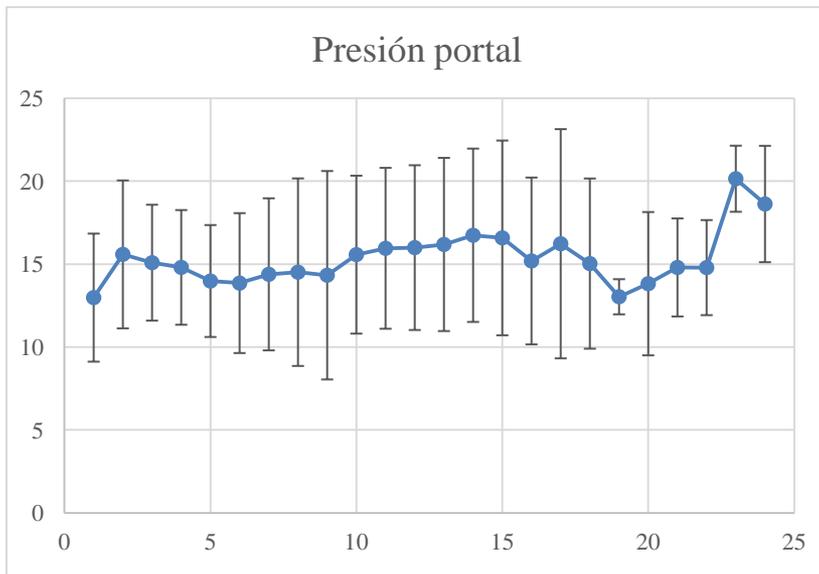
- Analítica: 1h, 3h, 6h, 12h, 18h y 24h
- HB, HCTO, AST, ALT, Fosfatasa alcalina, INR, LDH, urea, glucosa. Gasometría
- Producción biliar durante la perfusión, primeras 4 horas, luego cada 6 horas.
- Peso antes de la perfusión y después de la misma.
- Biopsia: durante la extracción, a las 3 horas de perfusión y a las 24 horas antes y después del implante.

## RESULTADOS

Número de perfusiones completadas	8
Fallidas	4
Monitorización de la presión	Mantenida
Monitorización del flujo	Mantenida
Monitorización de la temperatura	Mantenida
Volumen del reservorio	Reducción compensada
Tiempo hasta canulación	2-4min
Tiempo hasta conexión en el sistema	5-8 min
Tiempo hasta regularización del sistema	30 min

# RESULTADOS

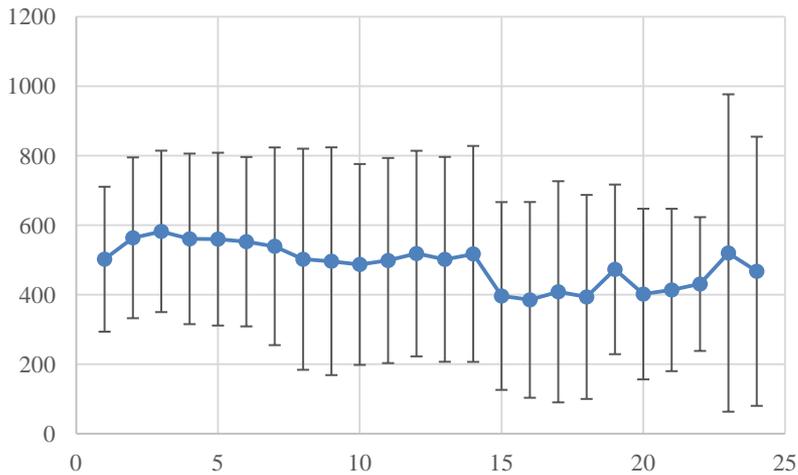
## Hemodinámicos



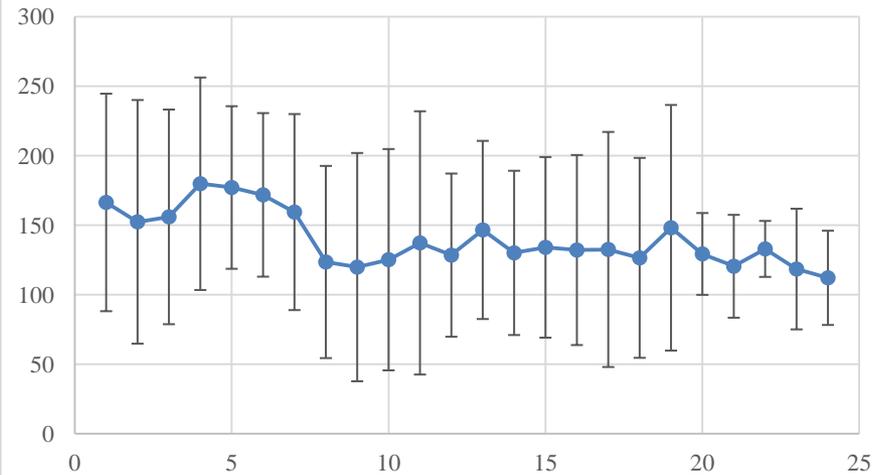
# RESULTADOS

## Hemodinámicos

Flujo portal



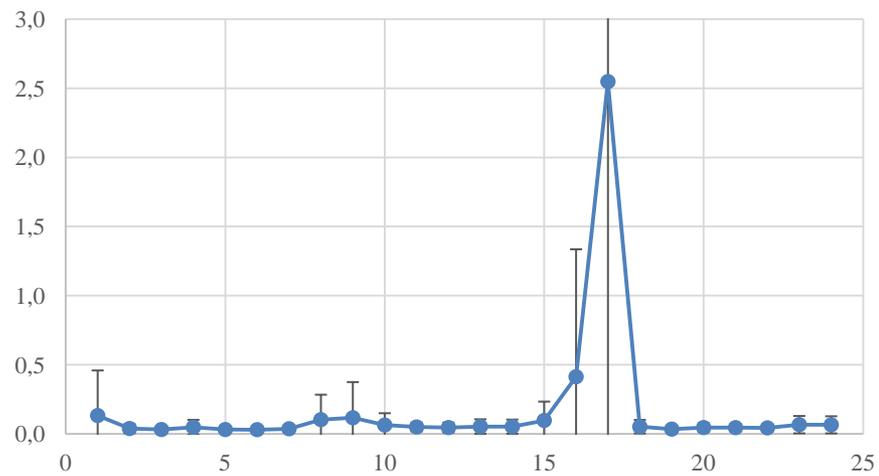
Flujo hepático



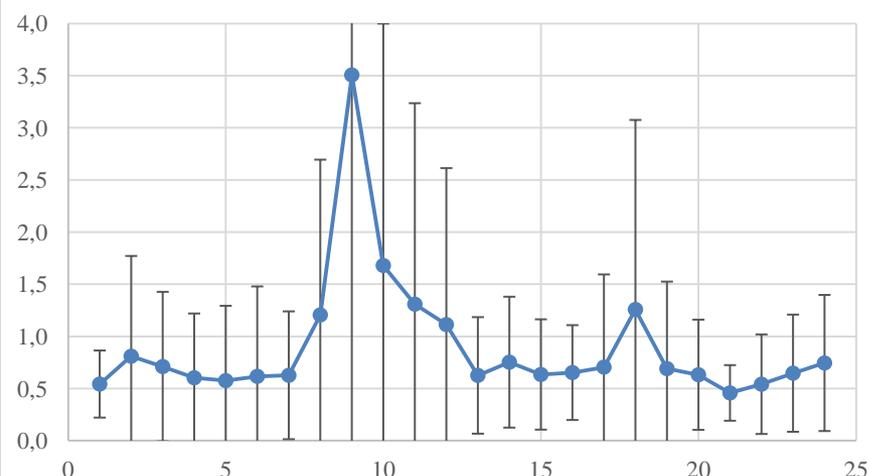
# RESULTADOS

## Hemodinámicos

ResPorta



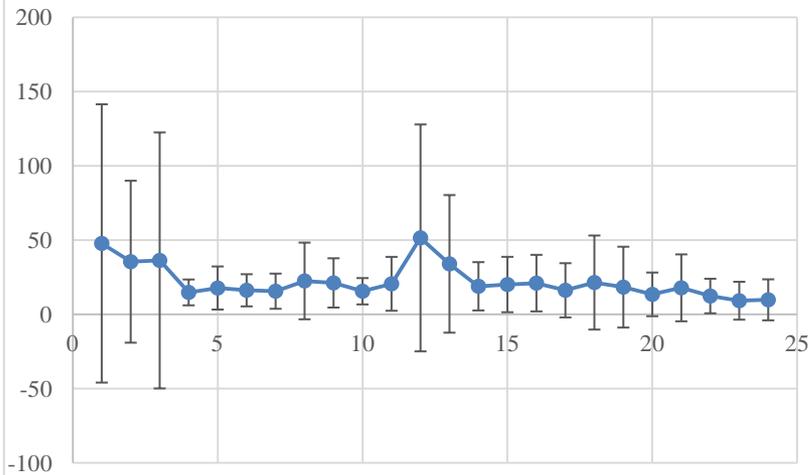
ResHep



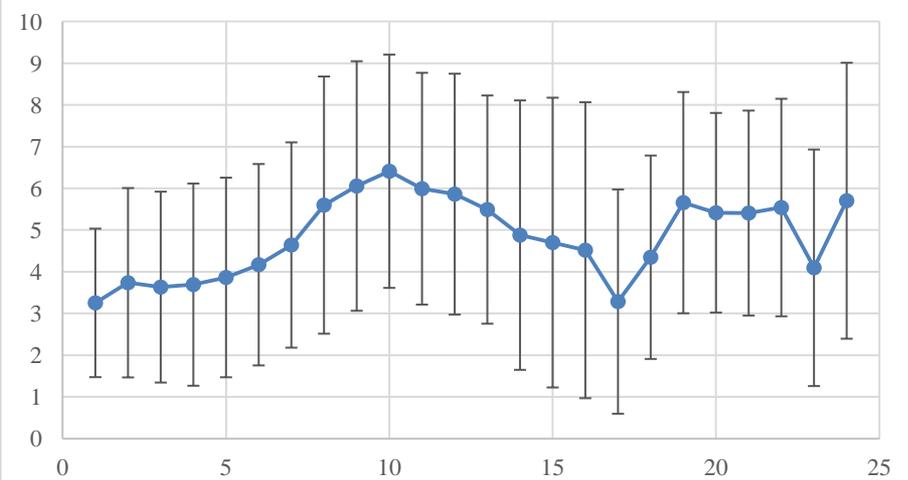
# RESULTADOS

## Metabólicos

Hematocrito



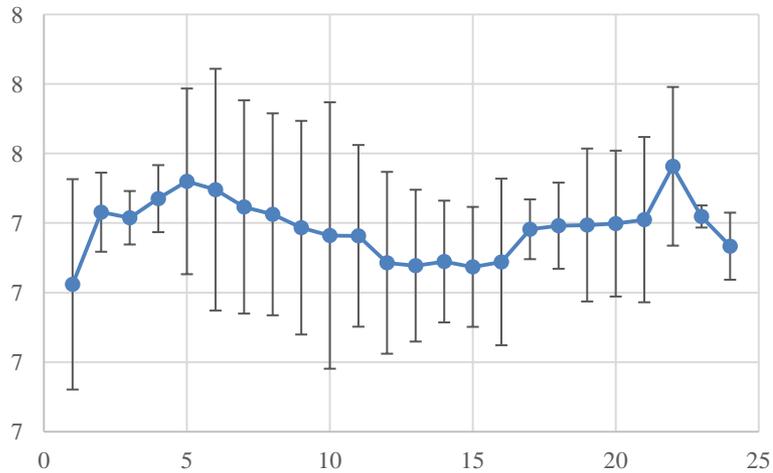
Potasio



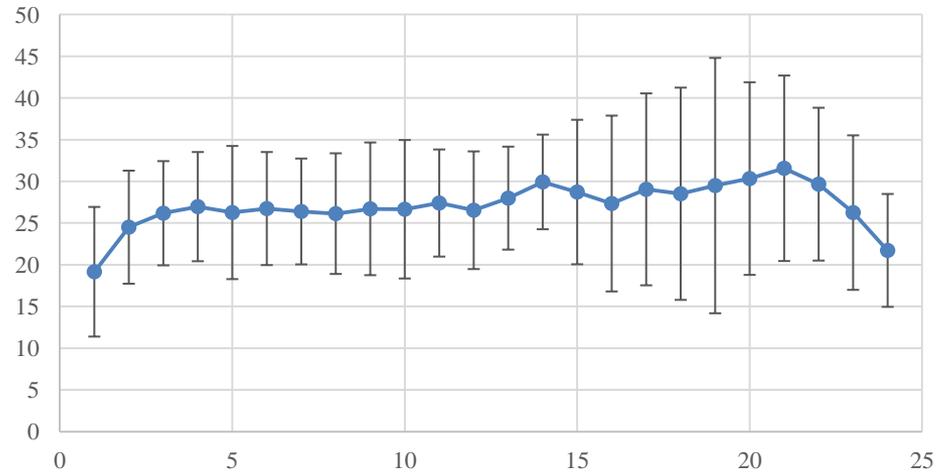
# RESULTADOS

## Metabólicos

pHArterial



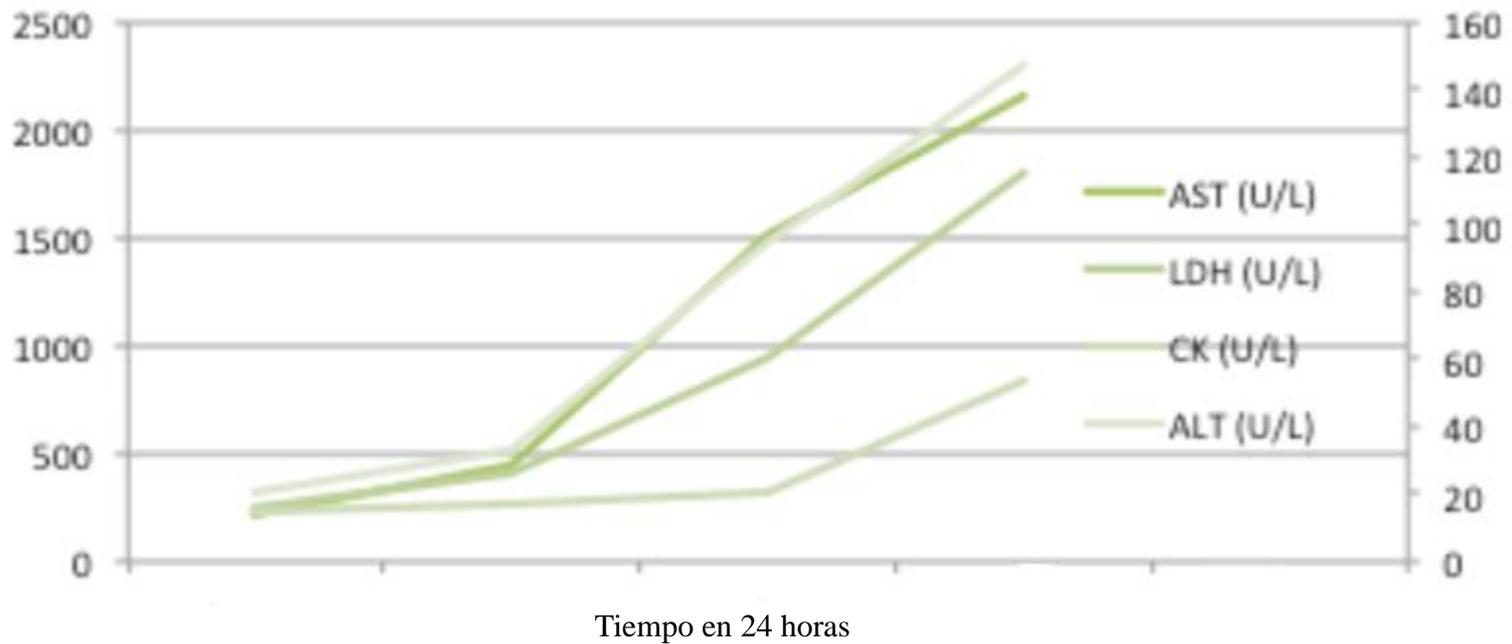
HCO<sub>3</sub>Art



# RESULTADOS

## Metabólicos

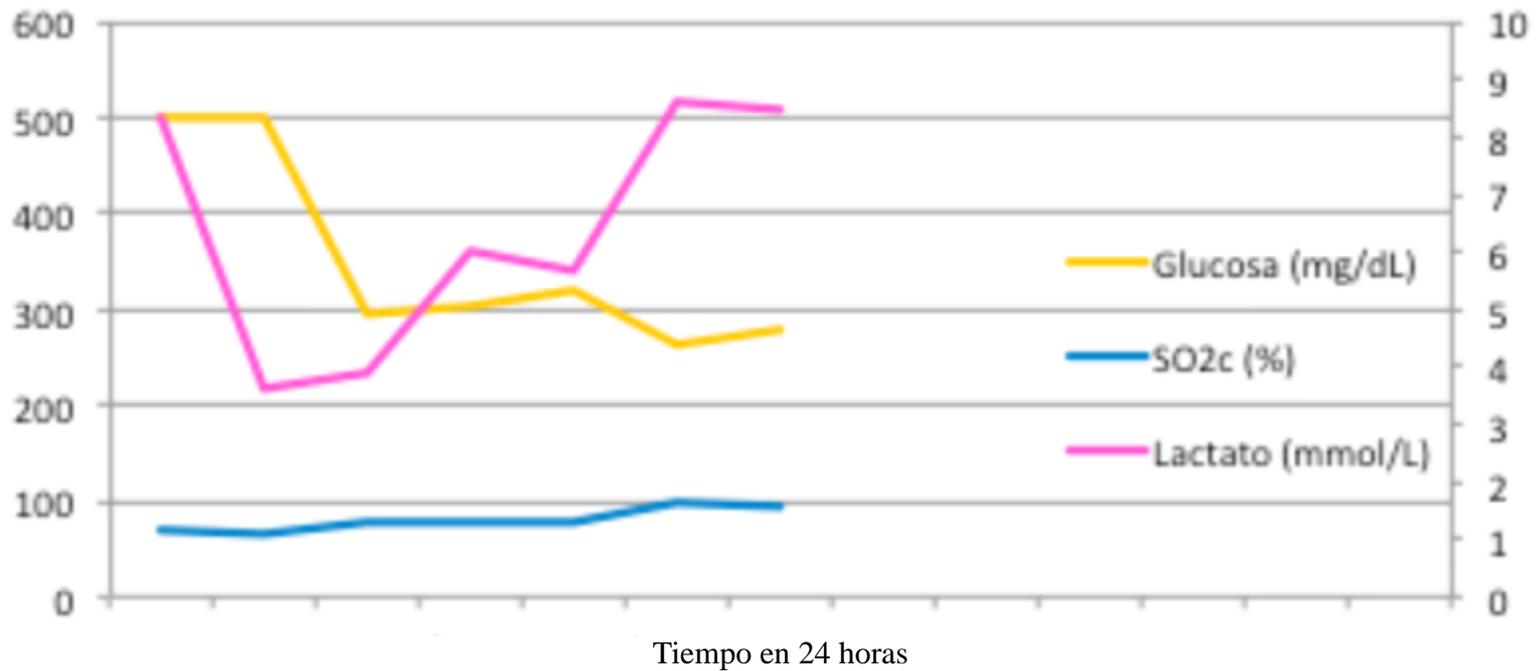
- Transaminasas



# RESULTADOS

## Metabólicos

- Glucosa

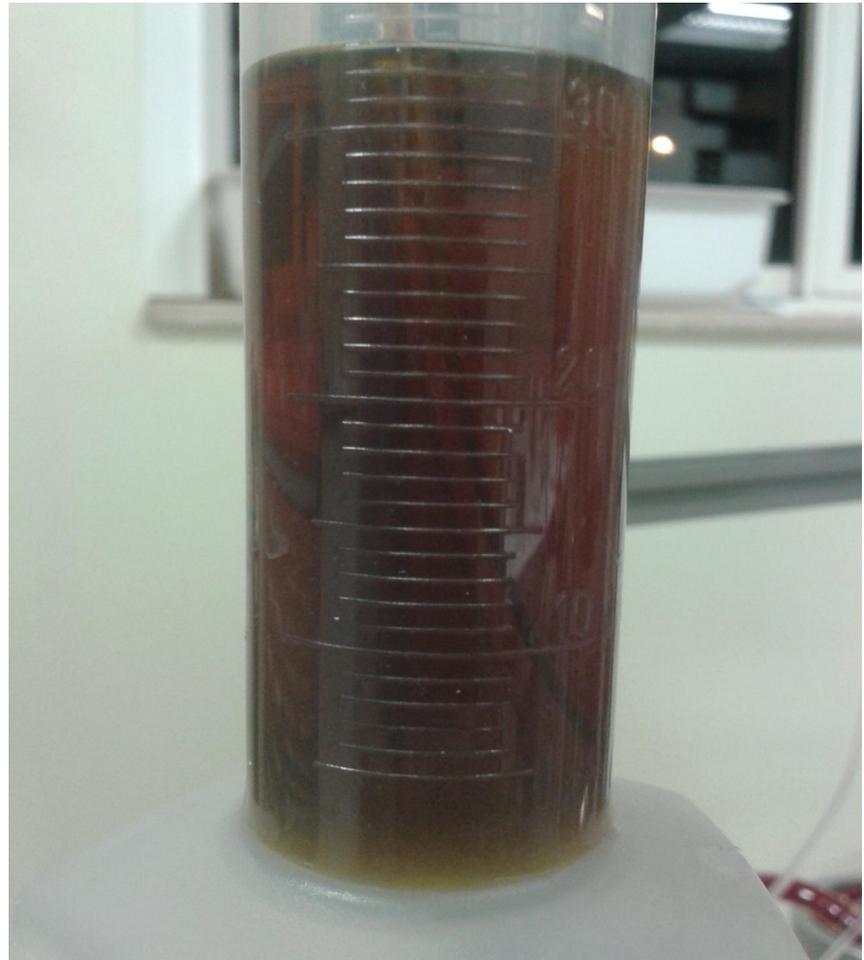


# RESULTADOS

## Producción biliar

Máxima : 100ml/24h

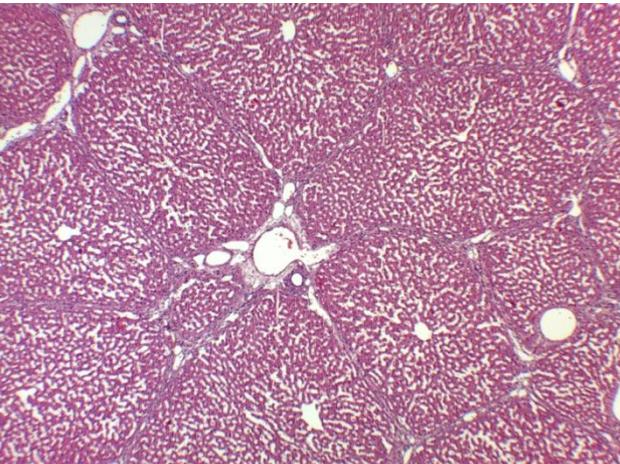
Media : 60-80 ml /24h



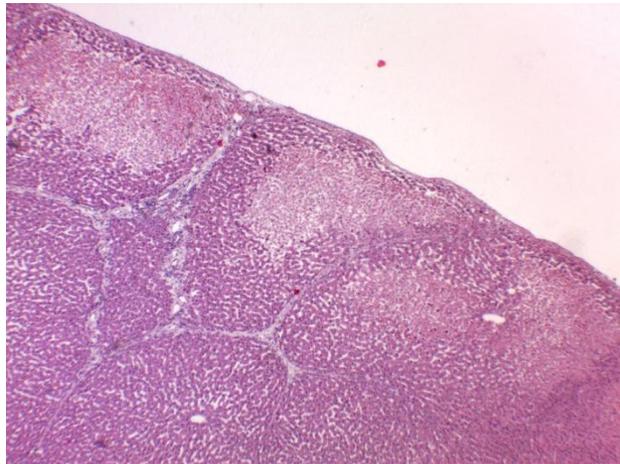
# RESULTADOS

## HISTOLOGÍA

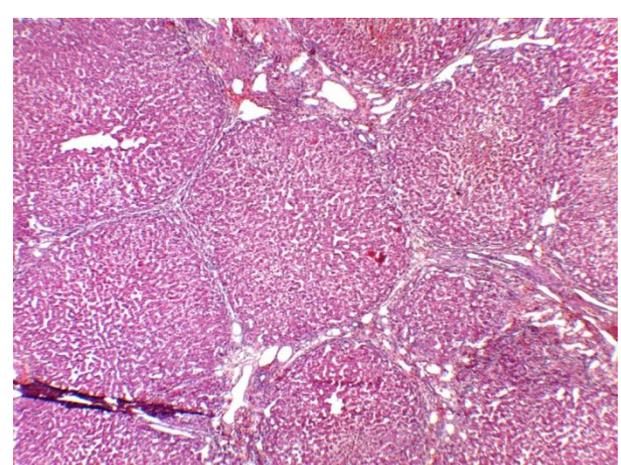
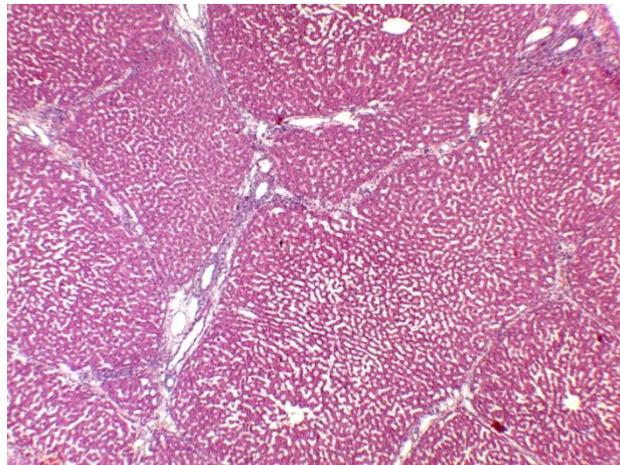
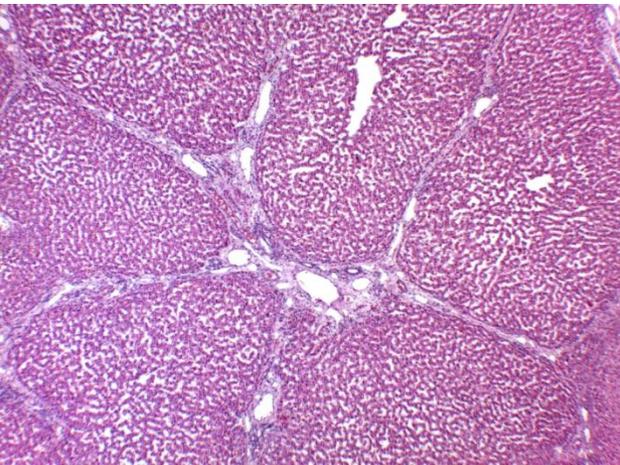
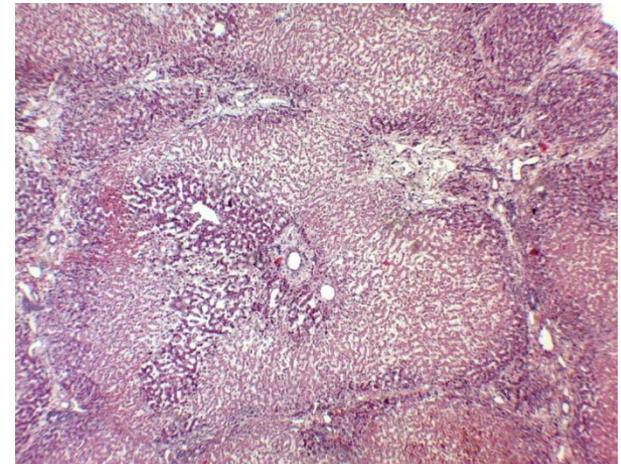
**-Basal-**



**-3 Horas-**

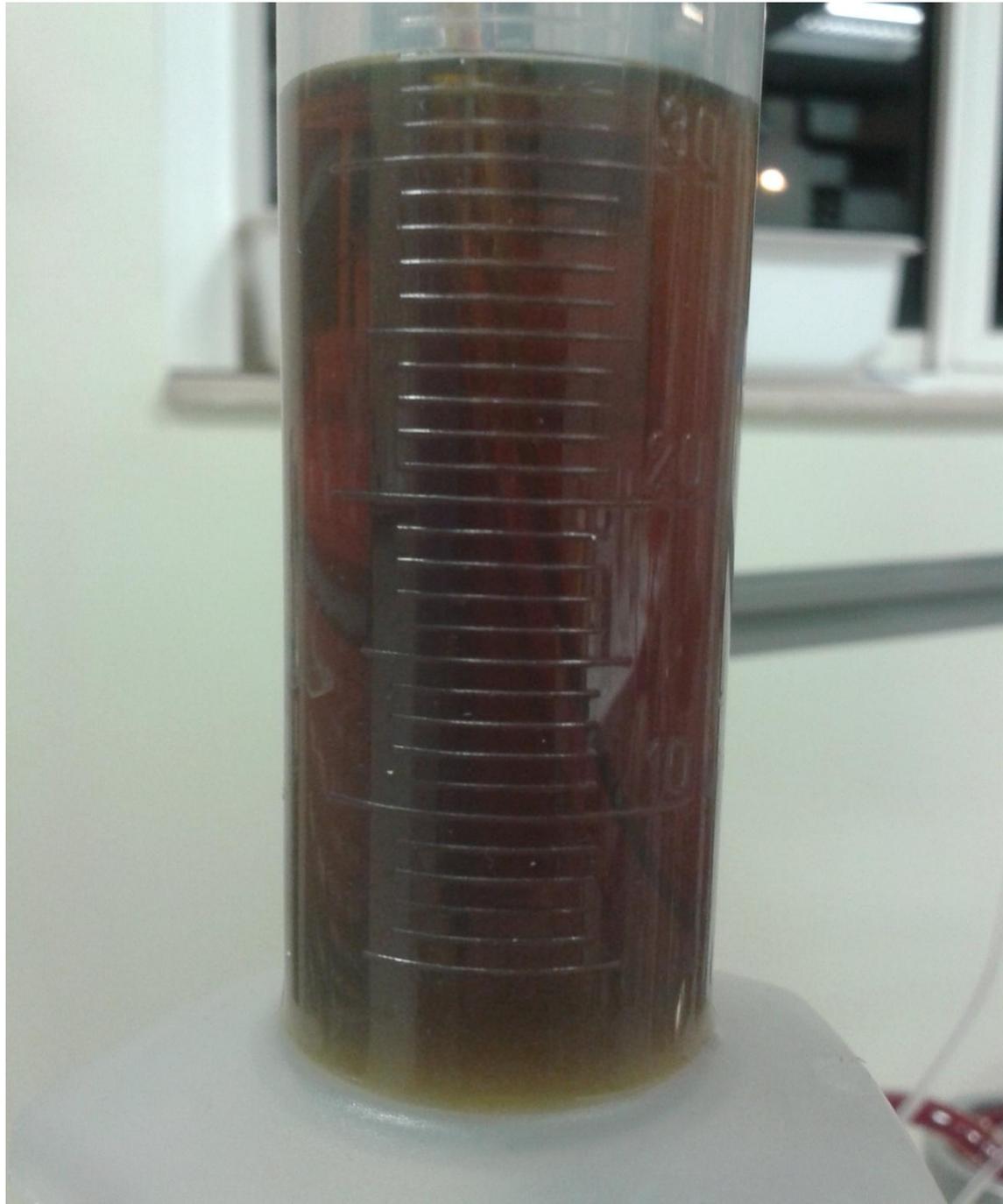


**-24 Horas.**



## CONCLUSIONES

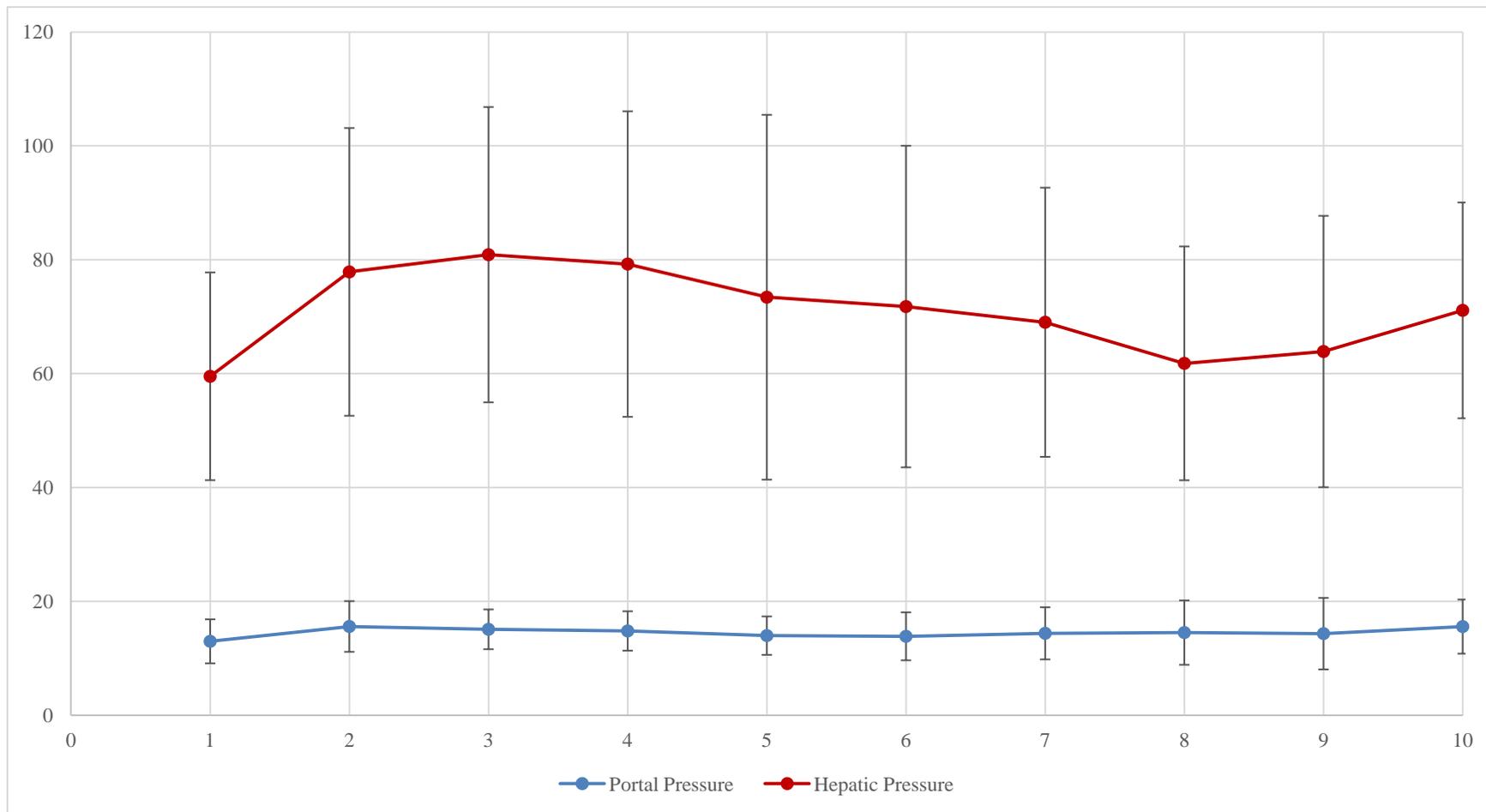
- Se ha desarrollado un sistema de perfusión normotérmica de hígado aislado de larga duración consiguiendo mejorar los problemas iniciales.
- La modulación experimental de injertos hepáticos con criterios expandidos será el objetivo del proyecto en un futuro.

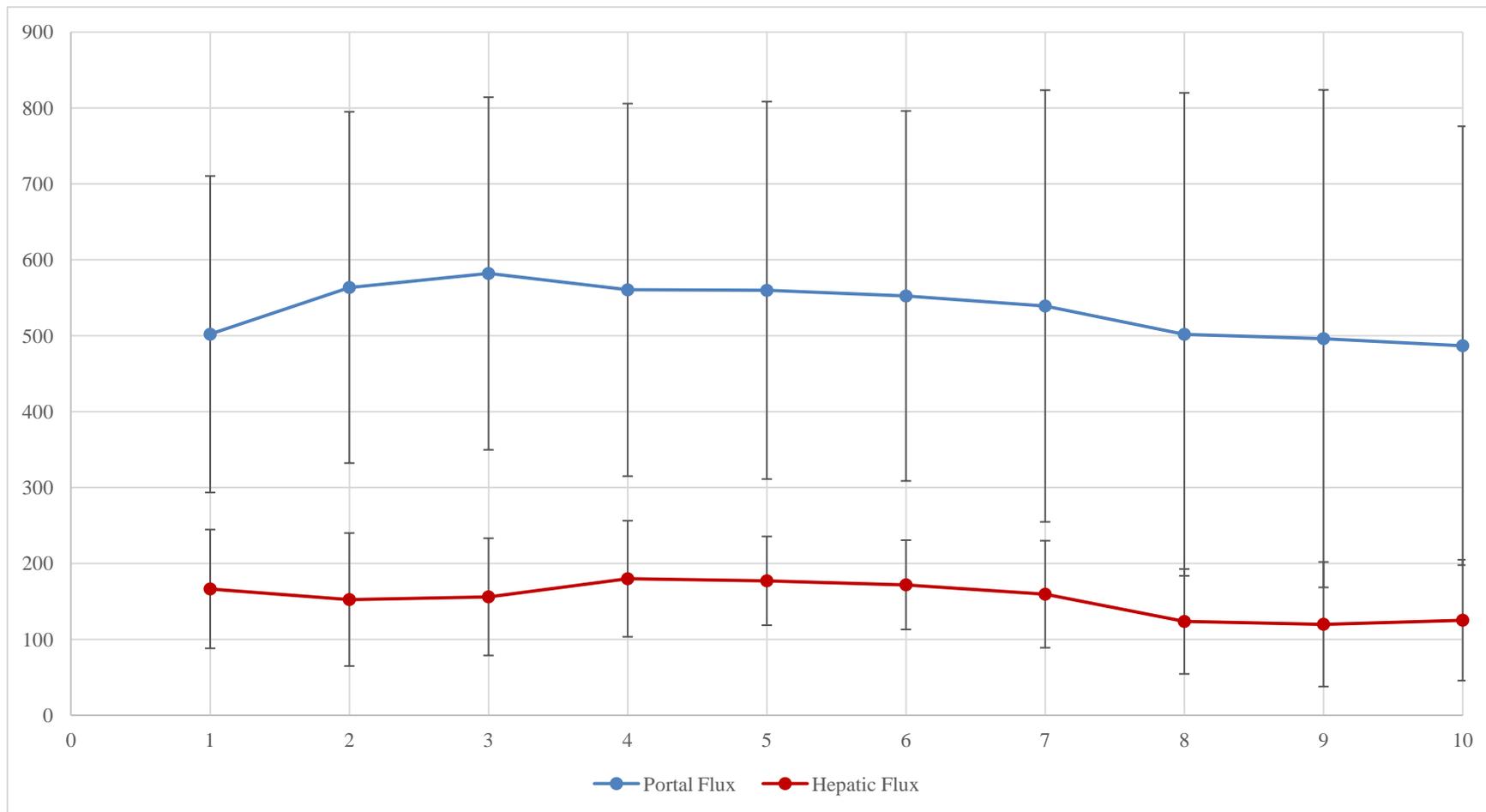




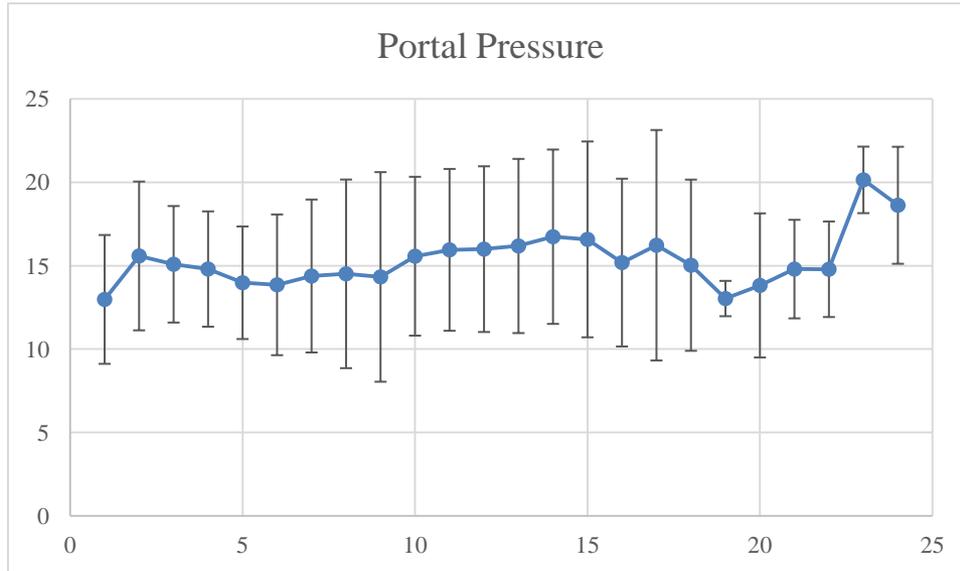
## Resultados

1. HEMODINÁMICA
2. ESTRUCTURAL
3. BIOQUÍMICO

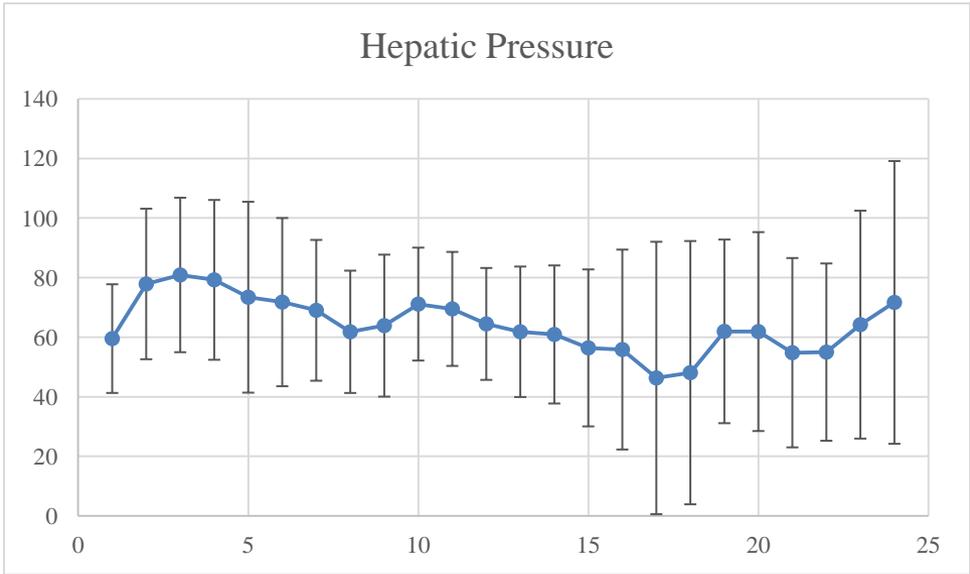




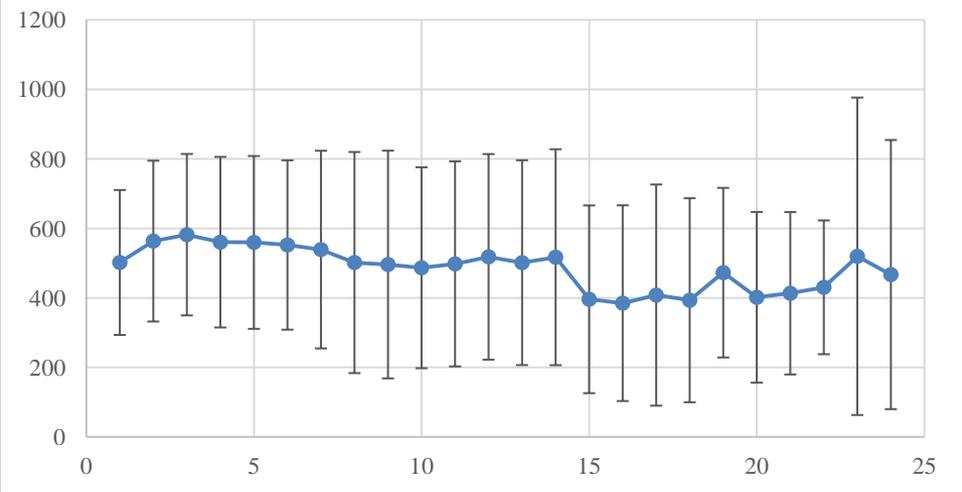
Portal Pressure

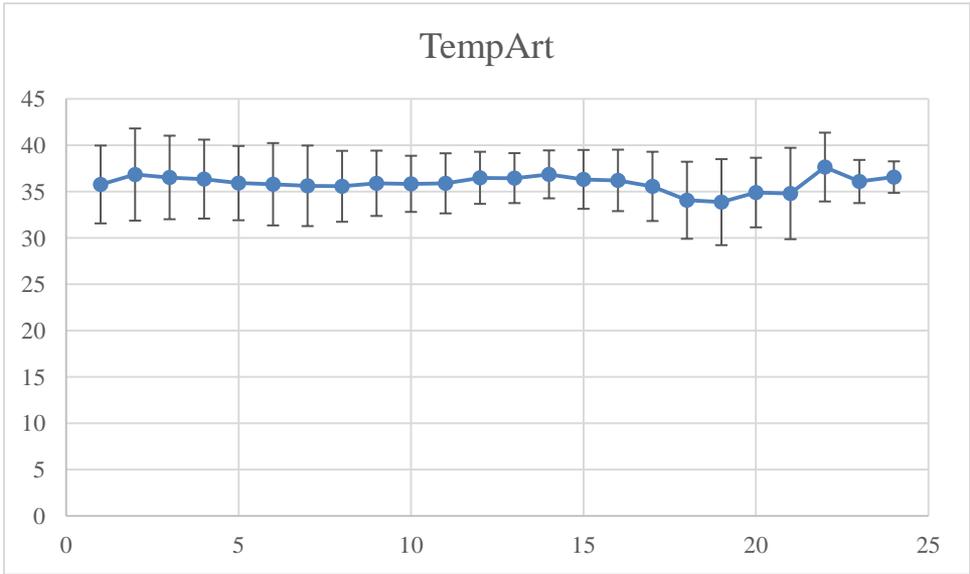


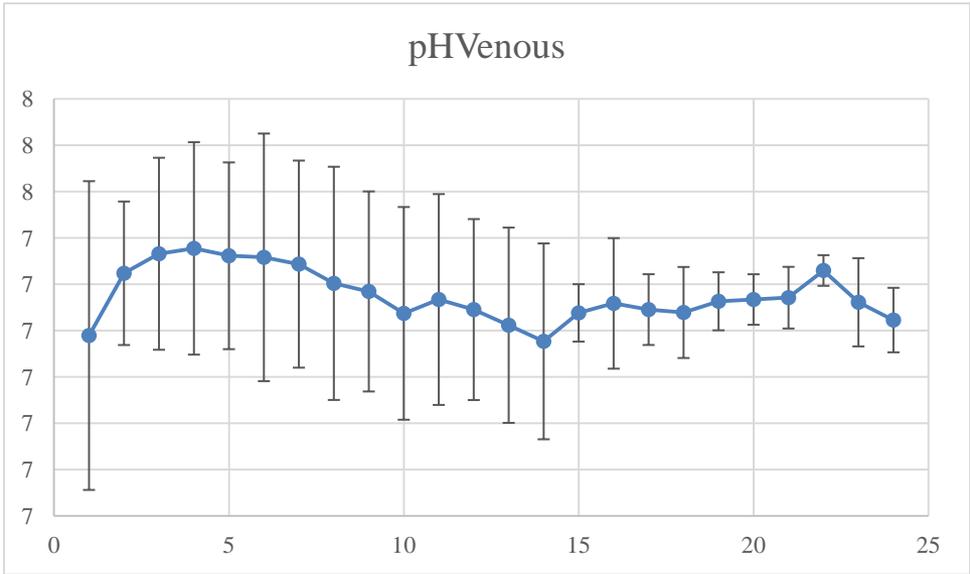
### Hepatic Pressure



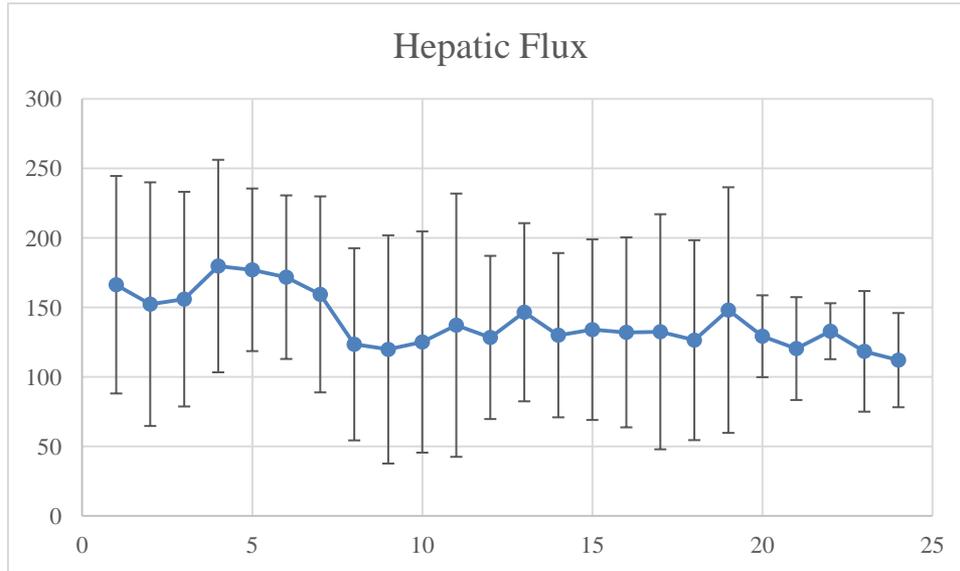
### Portal Flux



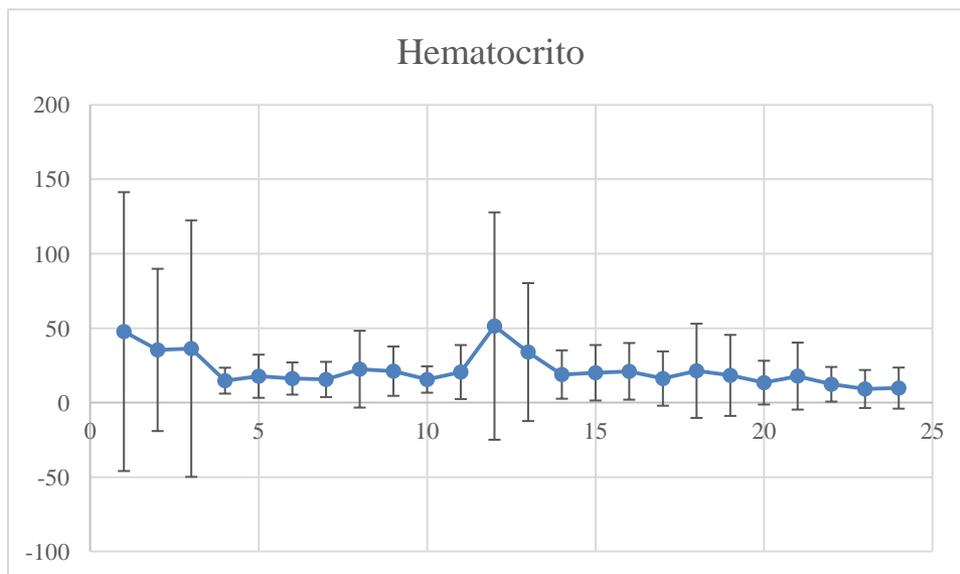


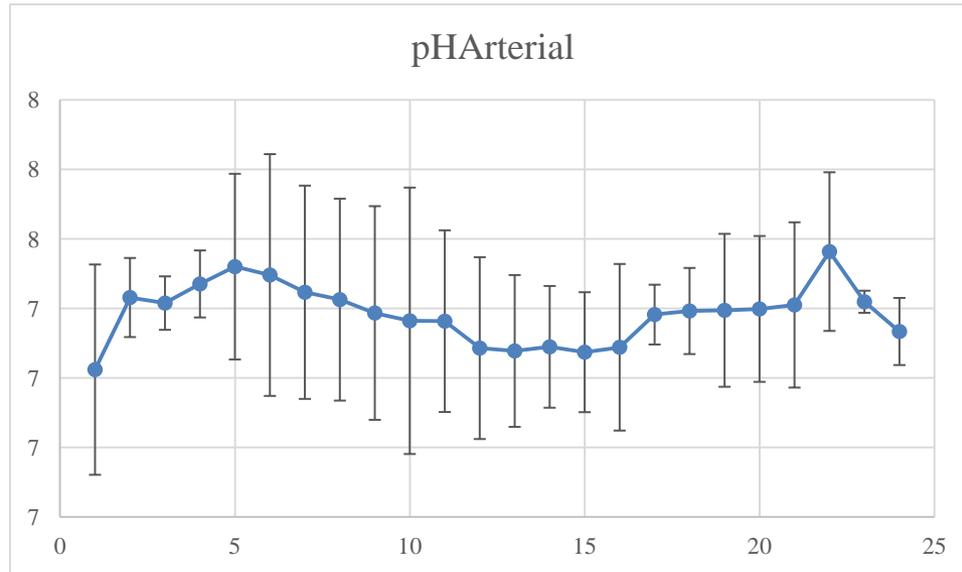


### Hepatic Flux

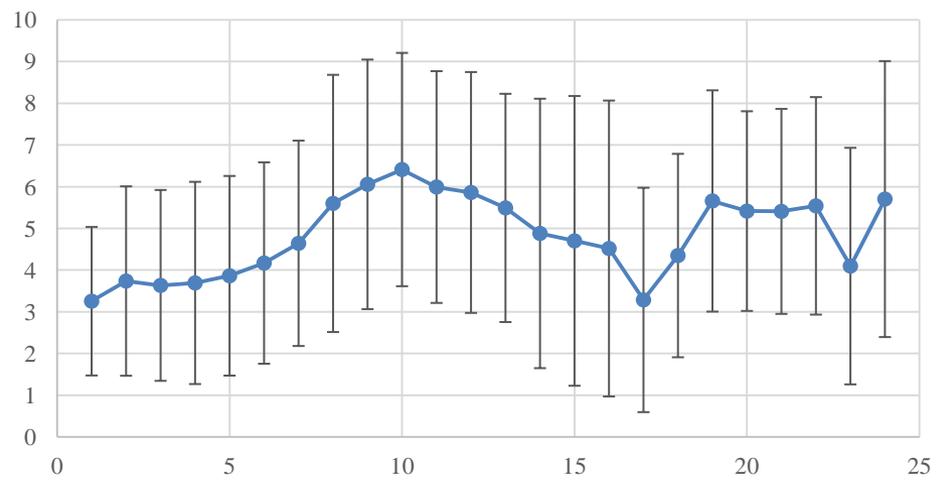


### Hematocrito

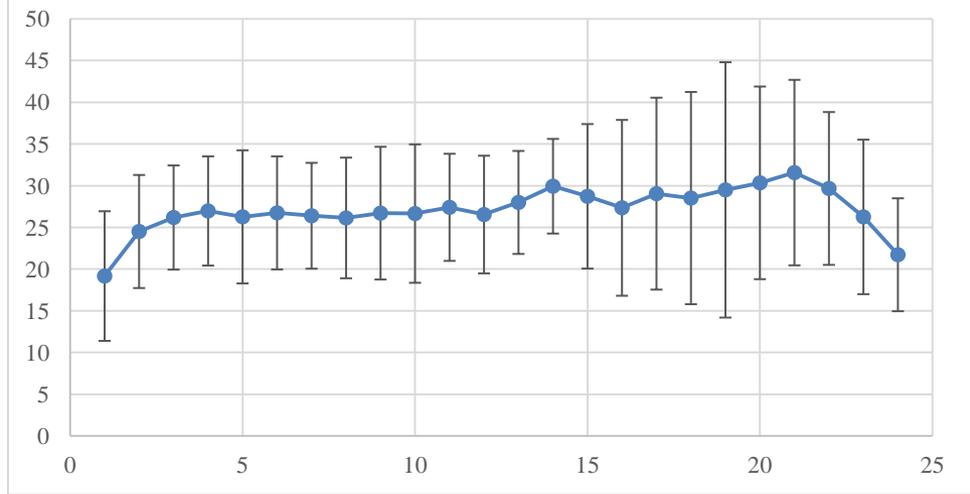


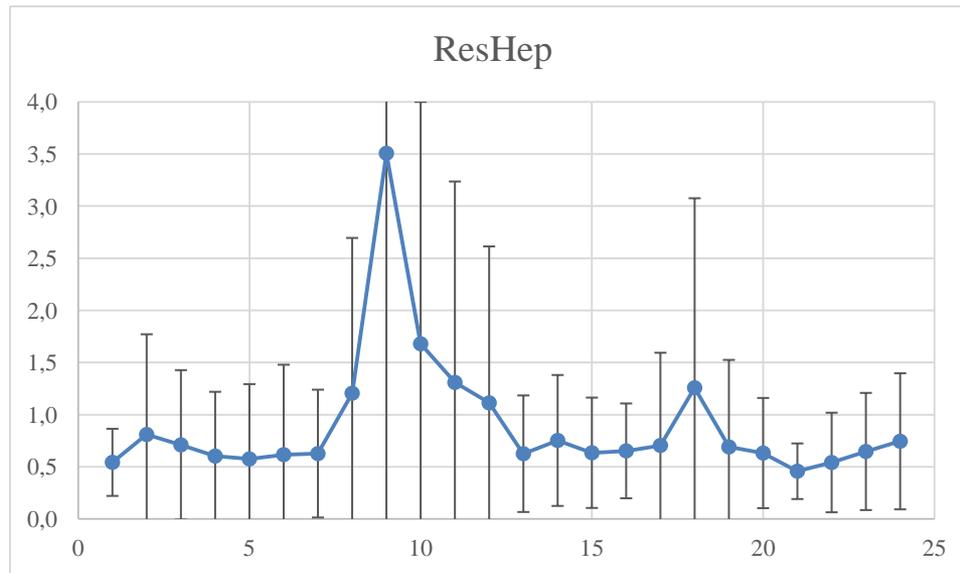


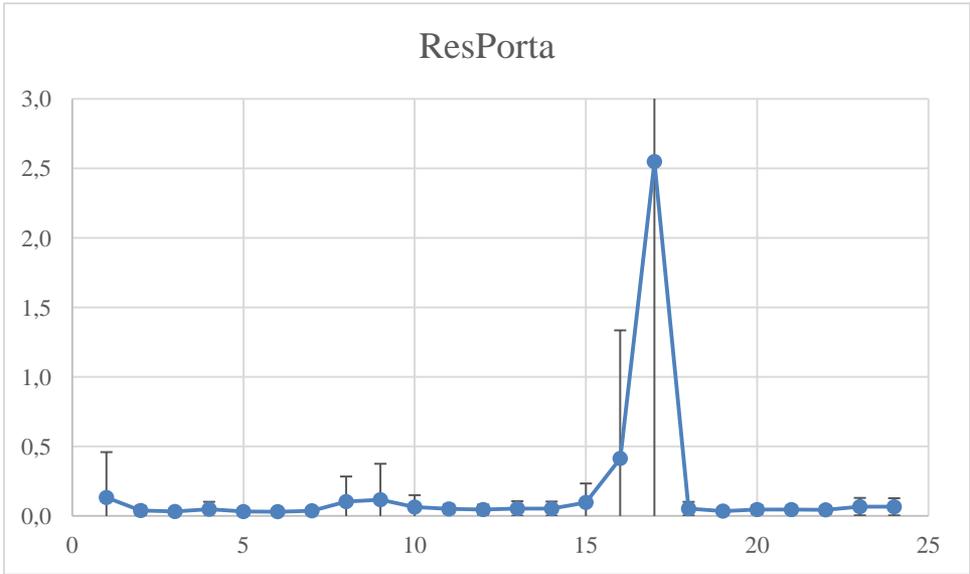
# Potasio



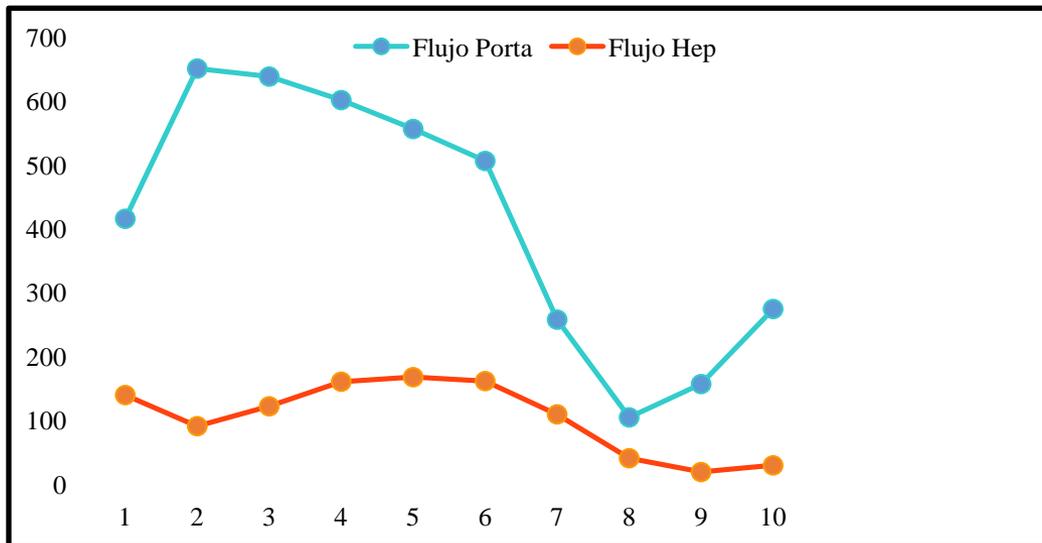
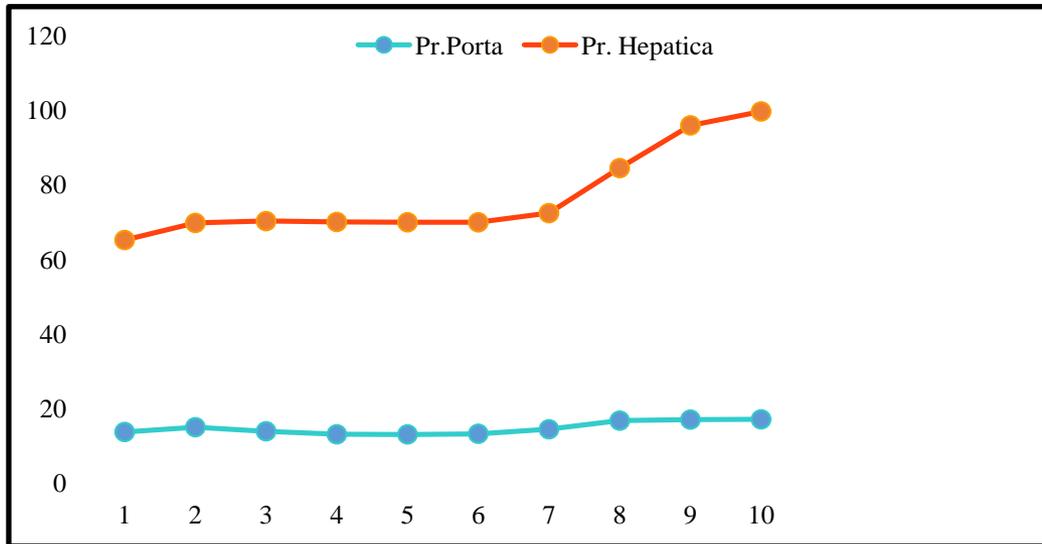
### HCO3Art



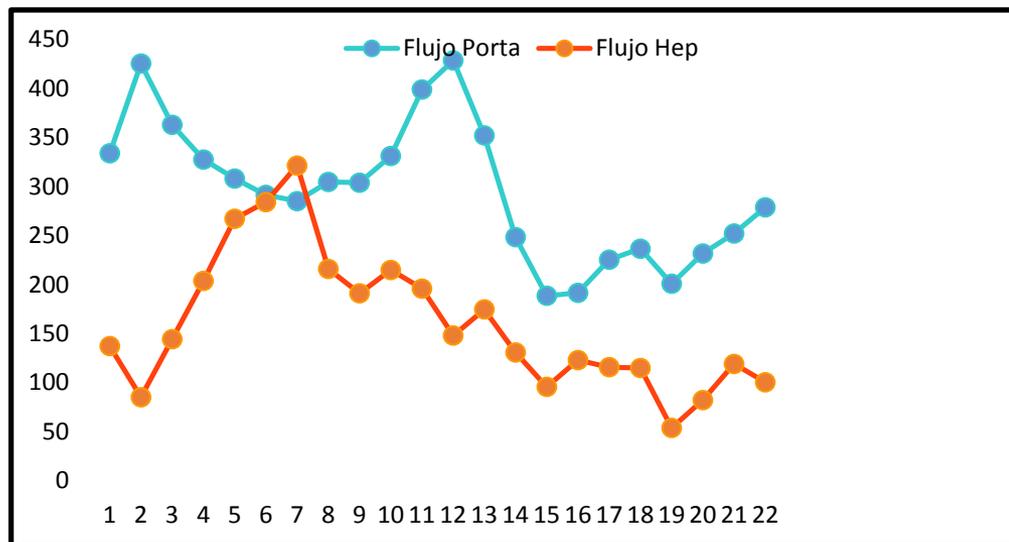
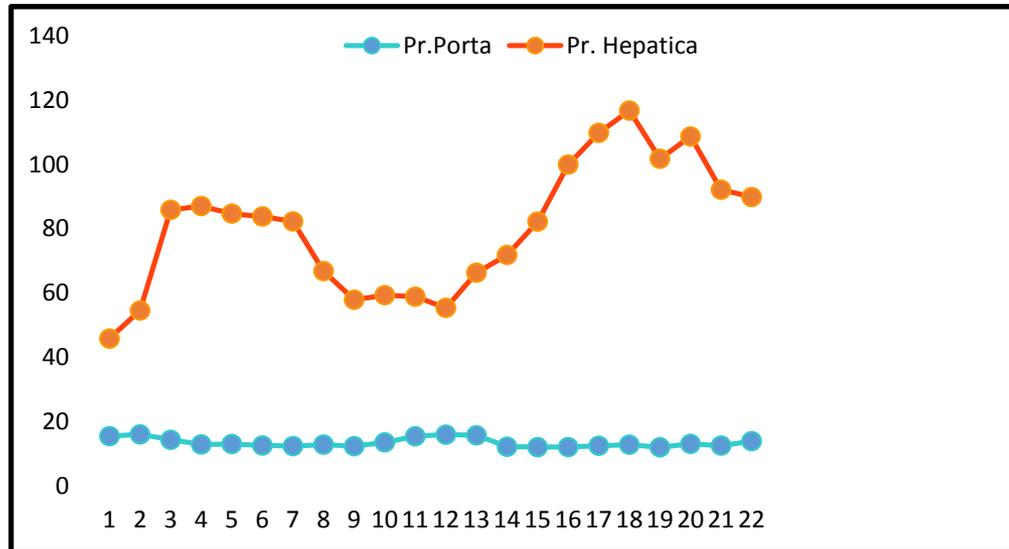




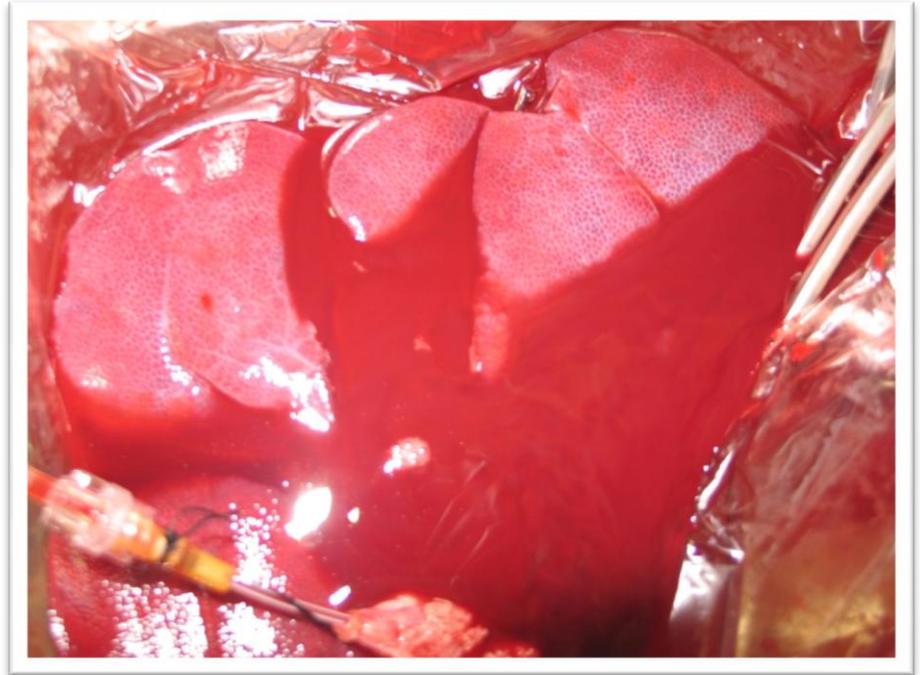
# Resultados hemodinámicos



# Resultados hemodinámicos



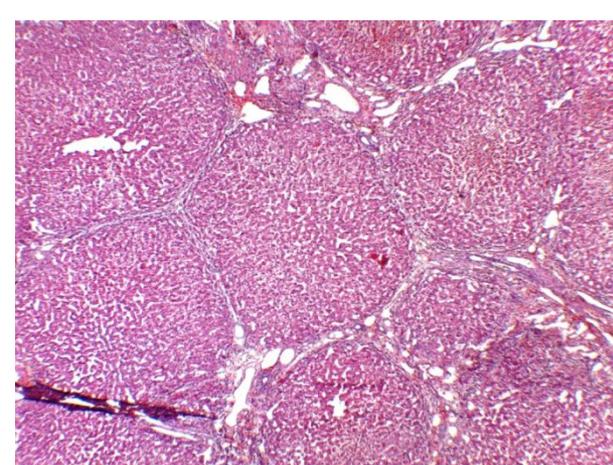
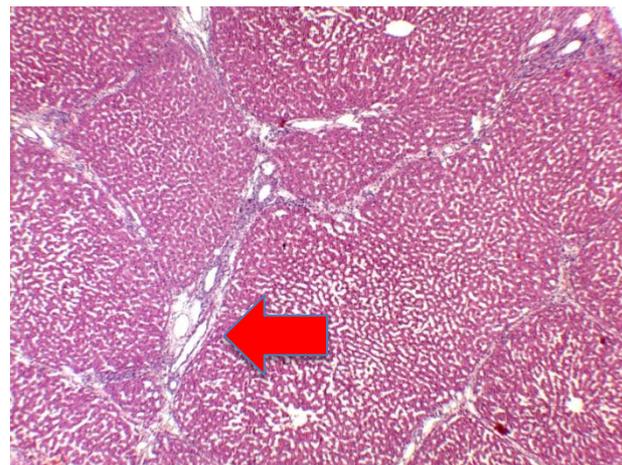
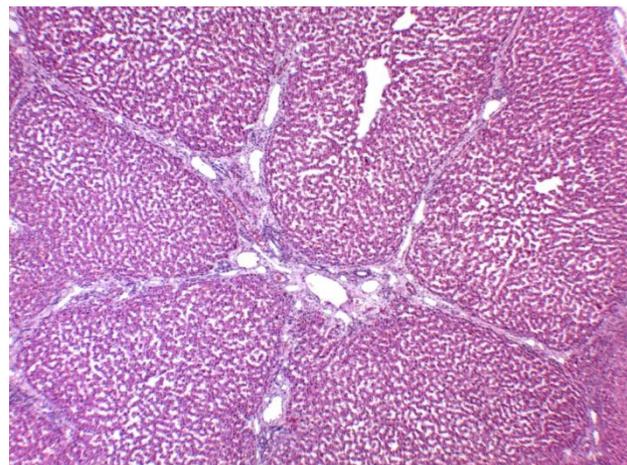
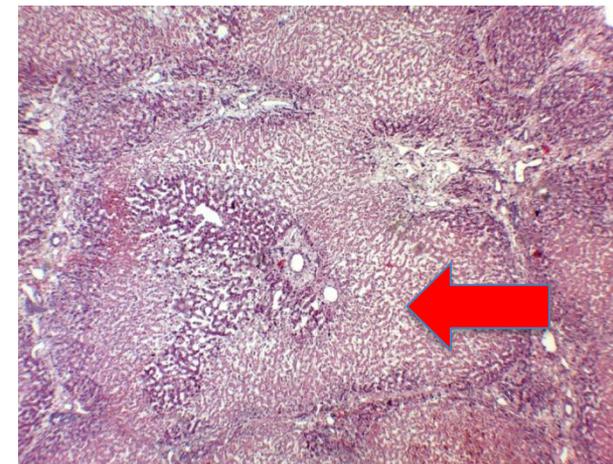
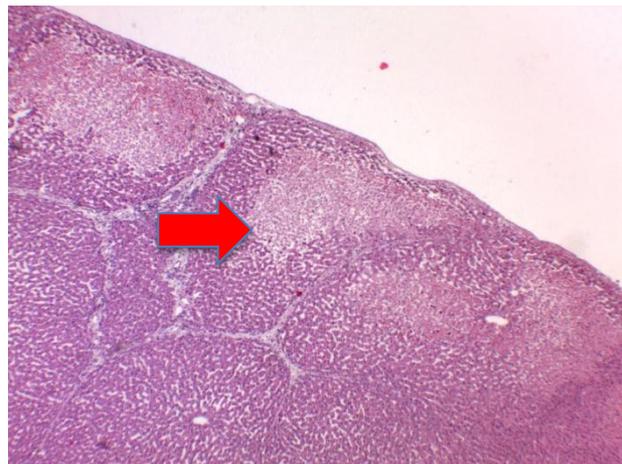
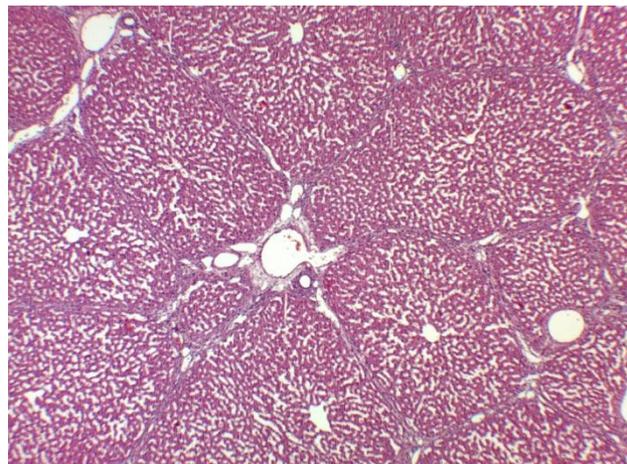
# Resultados estructurales



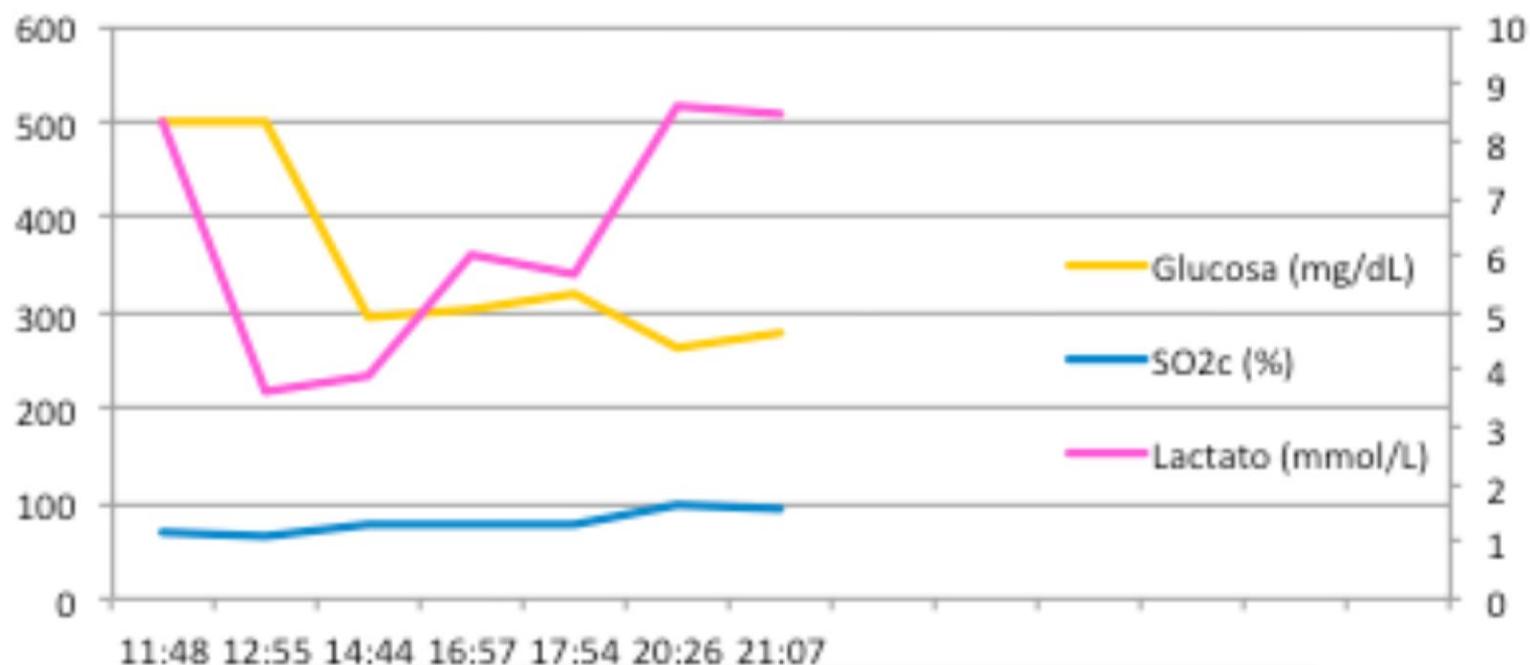
**-Basal-**

**-3 Horas-**

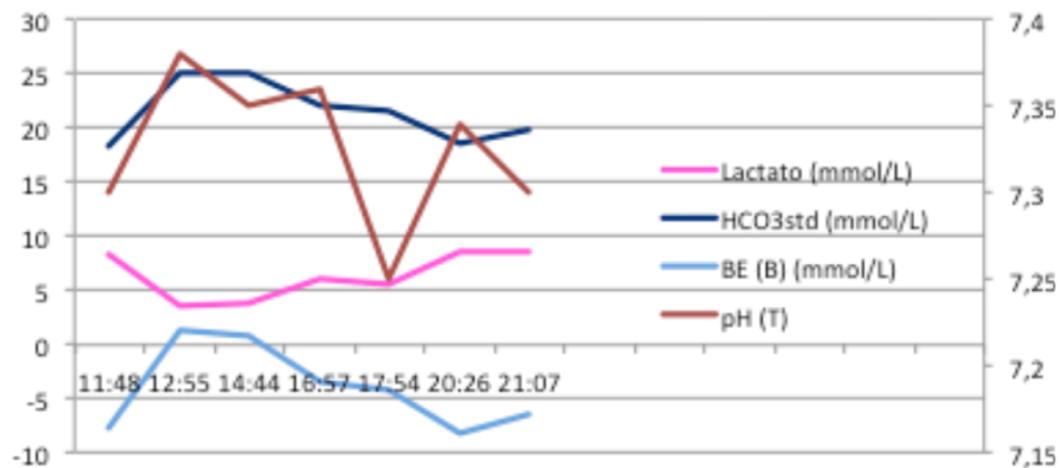
**-24 Horas.**



# METABOLISMO ENERGÉTICO

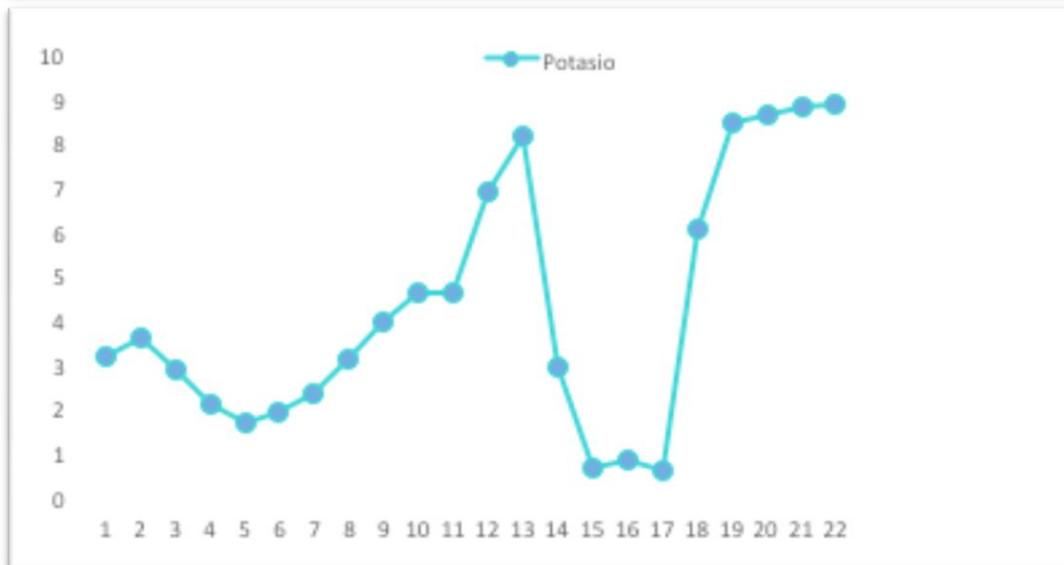
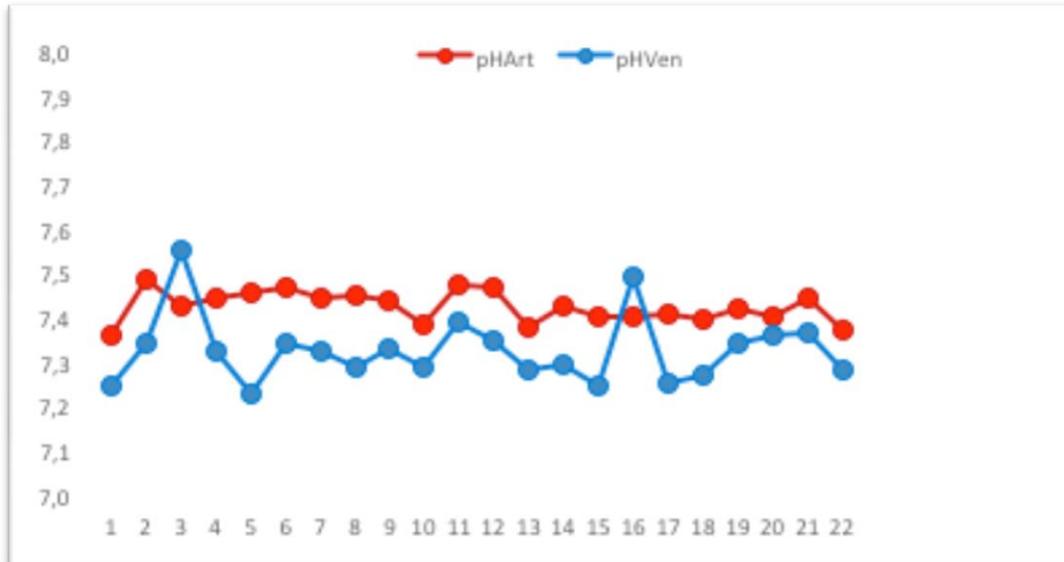


# METABOLISMO ÁCIDO-BASE



# Resultados metabólicos

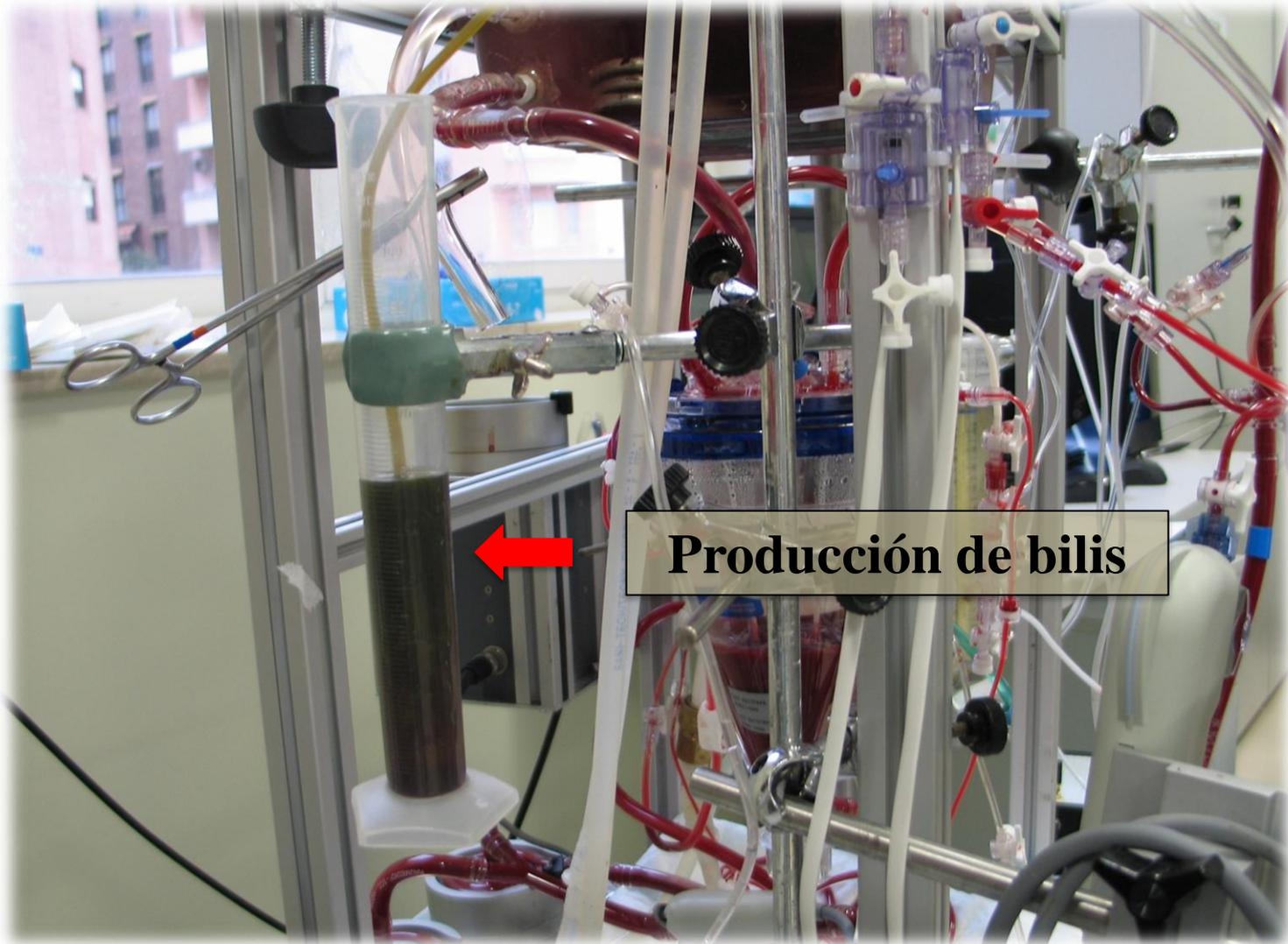
# Resultados metabólicos



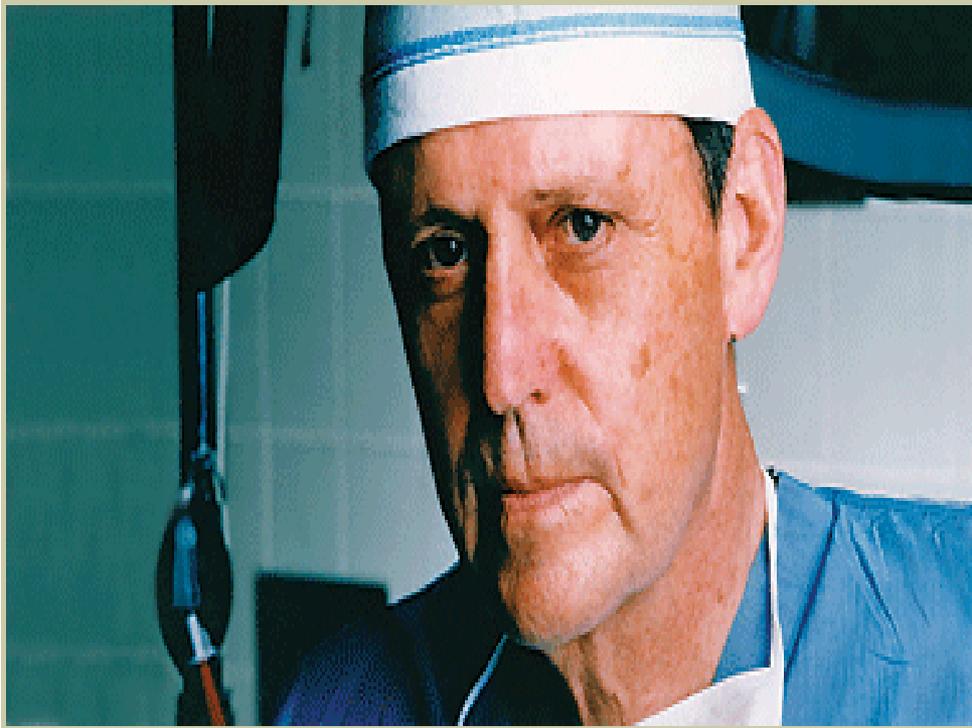




# Resultados metabólicos



Producción de bilis



PIONEER OF ORGAN  
TRANSPLANTATION



“A PROBLEM might be  
achievable, but only with  
great risk to yourself,  
risk of failure and  
professional disgrace.”

- Inducted: 1983 -

Starzl TE, Iwatsuki S, Van Thiel DH, Gartner JC, Zitelli BJ, Malatack JJ, et al.  
Evolution of liver transplantation. *Hepatology* 1982;2:614–636.

# AVANCES EN EL CONOCIMIENTO

Mecanismo  
inmunológico del  
rechazo



Descubrimiento de  
terapia  
inmunosupresora

Mecanismo del  
daño de isquemia  
reperfusión



Aparición de  
Técnicas de  
Preservación

# PRESERVACIÓN DE ÓRGANOS

La lesión del órgano ocurre principalmente como resultado de la Isquemia-Reperfusión

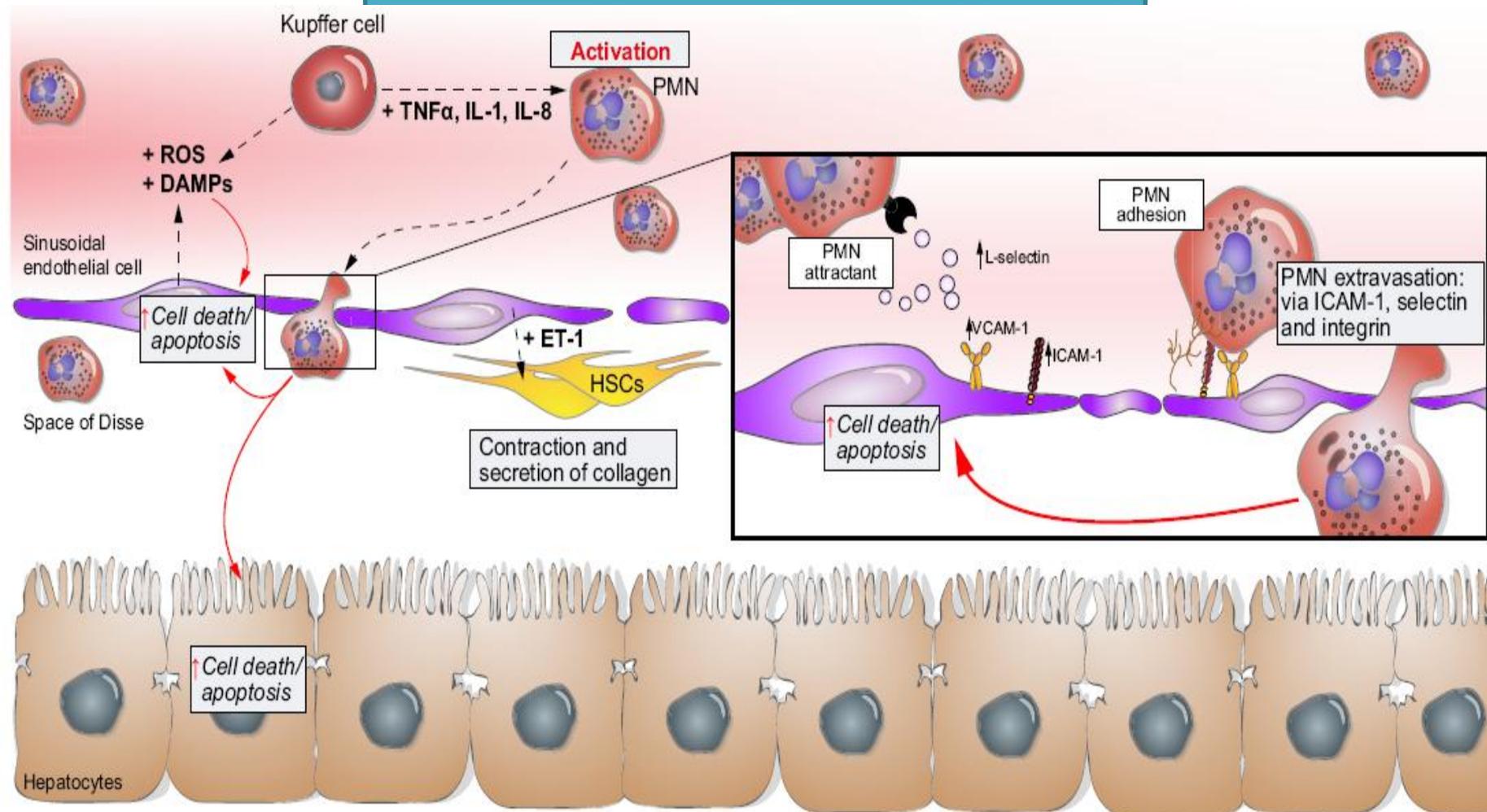


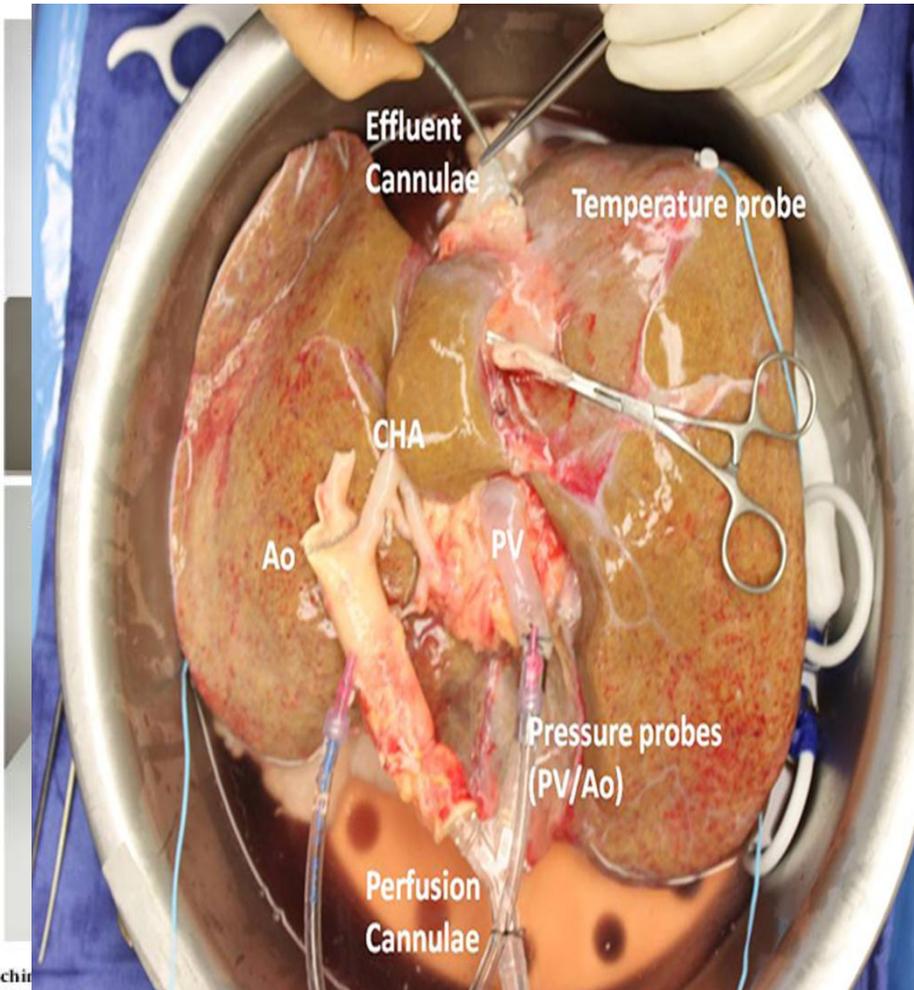
Fig. 2. Liver specific cellular and cytokine activation and injuries associated with transplant ischemia/reperfusion injury.

**Table 1. Donor characteristics which impart risk of adverse recipient outcomes.**

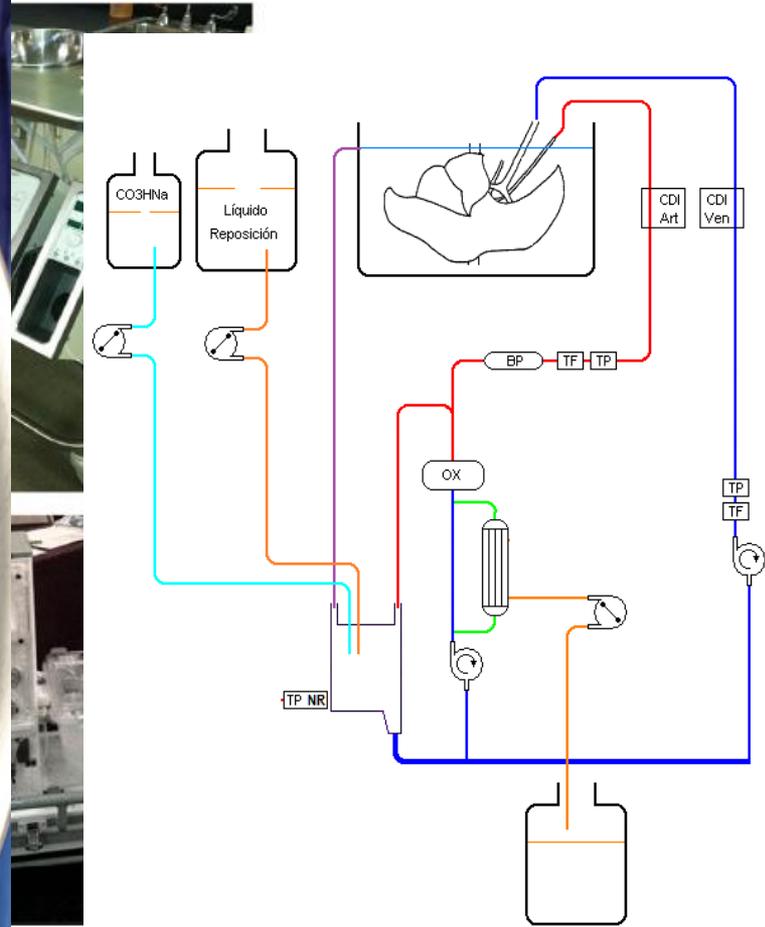
Elderly donors (>65 yr)	More susceptible to ischemic endothelial injury Decreased ATP availability on reperfusion Less tolerant of prolonged cold ischemia May have decreased synthetic function and regenerative capacity
Underlying liver histopathology	Macrosteatosis → predisposes to early allograft dysfunction and primary non-function Ischemic changes/necrosis Significant alcohol abuse → steatohepatitis Hepatitis B and C activity/portal inflammation Fibrosis → may be associated with hepatitis C or alcohol abuse and may affect long-term outcomes
Ischemia associated with donor injury	Donation after cardiac death → frequently profound ischemia injury High-dose vasopressors Prolonged or uncorrected hypoxemia or acidosis
Biochemical changes	Hypernatremia Rising transaminases or bilirubin

# PRESERVACION DINÁMICA DE ÓRGANOS

## MÁQUINAS DE PERFUSIÓN



chir  
metra™ device.



(C) ECOPS device (Organ Assist®).

## Table 2 Advantages and disadvantages of machine perfusion preservation

Advantages	Disadvantages
Continuous nutrients and oxygen supply	Logistically complex
Continuous monitoring of organ viability	High cost
Removal of metabolic waste products	No optimized conditions
Extended preservation time	Need for trained personnel
Better preservation of microcirculation	
Potential "rescue" of suboptimal organs	

Bejaoui et al . Emerging concepts in liver graft presevation. World J Gastroenterol 2015 January 14; 21(2): 396-407

## MÁQUINA DE PERFUSIÓN NORMOTÉRMICA

PRIMER ENSAYO CLÍNICO EN HUMANOS UTILIZANDO ESTE  
TIPO DE TÉCNICA DE PRESERVACIÓN

Ravikumar R, Coussios CC, Holroyd D, Heaton N, Friend PJ, Jassem W. Human Liver Transplantation Using Normothermic Machine Preservation. *Liver Transplant* 2014;20: S103

## MÁQUINA DE PERFUSIÓN NORMOTÉRMICA

### “DEFATTING” DISMINUIR LA ESTEATOSIS DEL HEPÁTOCITO ESTUDIOS ACTUALMENTE EXPERIMENTALES

Jamieson RW, Zilvetti M, Roy D, Hughes D, Morovat A, Coussios CC, Friend PJ. Hepatic steatosis and normothermic perfusion-preliminary experiments in a porcine model. *Transplantation* 2011; 92: 289-295

Nagrath D, Xu H, Tanimura Y, Zuo R, Berthiaume F, Avila M, Yarmush R, Yarmush ML. Metabolic preconditioning of donor organs: defatting fatty livers by normothermic perfusion ex vivo. *Metab Eng* 2009; 11: 274-283

## MÁQUINA DE PERFUSIÓN NORMOTÉRMICA

EL DAÑO HEPATOCELULAR QUE PROVIENE DEL PERIODO  
PROLONGADO DE ISQUEMIA CALIENTE EN INJERTOS  
PROVENIENTES DE DONANTES EN MUERTE CARDIACA PODRÍA  
SER ATENUADO

St Peter SD, Imber CJ, Lopez I, Hughes D, Friend PJ. Extended preservation of non-heart-beating donor livers with normothermic machine perfusion. *Br J Surg* 2002;89:609–616

Tolboom H, Milwid JM, Izamis ML, Uygun K, Berthiaume F, Yarmush ML. Sequential cold storage and normothermic perfusion of the ischemic rat Liver. *Transplant Proc* 2008;40:1306–1309.

## MÁQUINA DE PERFUSIÓN NORMOTÉRMICA

## APLICABILIDAD DE CONOCIMIENTOS ACTUALES EN BIOINGENIERIA

Caralt M, Velasco E, Lanas A, Baptista PM. Liver bioengineering: from the stage of liver decellularized matrix to the multiple cellular actors and bioreactor special effects. *Organogenesis* 2014; 10: 250-259

## CONCLUSIONES

LOS RESULTADOS TRAS TRASPLANTE HEPÁTICO DE INJERTOS PROVENIENTES DE DONANTES MARGINALES ES CONTROVERTIDO.

EL USO SEGURO DE ESTE TIPO DE DONANTES PUEDE DISMINUIR LA MORTALIDAD EN LISTA DE ESPERA Y AUMENTAR EL ACCESO A TRASPLANTE HEPÁTICO.

LOS TRABAJOS PRECLÍNICOS QUE UTILIZAN MÁQUINAS DE PRESERVACIÓN DINÁMICA DE INJERTOS SUGIEREN UN CAMPO DE INVESTIGACIÓN EN INTERVENCIONES PARA OPTIMIZAR ESTE TIPO DE DONACIONES.

# PREGUNTAS