

## Trasplante experimental de hígado.

Dres. G Cervio, L Rojas, H Questa, S Gonzalez, V Wacholder, MT de Dávila, O Inventarza, G Bianco, E Williams.

Dirección de Docencia e Investigación, Area de Trasplante Hepático, Cirugía Experimental, Hospital de Pediatría "J.P. Garrahan", Buenos Aires, Argentina.

### Resumen

Se presenta la experiencia de 25 trasplantes ortotópicos de hígado realizados en cerdos. Los animales utilizados pesaron entre 25 y 35 kg. y fueron apareados por prueba de compatibilidad directa, siendo el donante siempre el de menor peso. Se describen las técnicas utilizadas para el donante y para el receptor. Se destaca el uso de by-pass veno-veno (porto-iliaco-yugular) utilizando una bomba centrífuga. En cada operación se tomaron 3 biopsias hepáticas: B1 previa a la ablación, B2 ex vivo y B3 posterior a la reperfusión. Las anastomosis arteriales fueron término-terminales entre ambos troncos celiacos, donante y receptor. La sobrevida global fue del 68% pero a partir del octavo trasplante se elevó al 82%. De los 25 hígados trasplantados 2 presentaron falla primaria del órgano, en los 23 restantes la B3 demostró que el hígado era viable, a pesar que 7 de los cerdos fallecieron en el intraoperatorio. La principal causa de muerte postoperatoria fue la úlcera gástrica por estrés. Se concluye destacando la minuciosidad con la que se debe realizar esta compleja cirugía ya que un pequeño error puede condenar al fracaso de todo el procedimiento.

**Palabras clave** Trasplante hepático - Cirugía experimental.

### Summary

This paper shows the experience of 25 orthotopic liver transplantations in pigs. The animals weighted between 25 and 35 kg. and were matched with the direct cross-compatibility method. The donor was always the smaller one. The technique for the donor and the recipient is described; the use of veno-venous by-pass (porta-iliac-yugular) with centrifuge pump is emphasized. Three liver biopsies were obtained: "B1" during the harvesting, "B2: ex-vivo and "B3" post-reperfusion. The arterial anastomosis were of termino-terminal type between both celiac trunks. The overall survival rate was 68%, but after the eighth procedure the survival rate raised to 82%. Two out of the 25 transplanted livers presented primary non function. In the remaining 23 the "B3" showed liver viability although 7 animals died in the operatory room. In most cases the postoperative death diagnosis was a gastric ulcer related to stress. We conclude emphasizing that each step of this complex procedure should be done with care to achieve success.

**Index words** Liver transplantation

### Resumo

É apresentada a experiência de 25 transplantes ortotópicos de fígado em porcos. Os animais utilizados pesaram entre 25 e 35 Kg e foram selecionados em pares por provas de compatibilidade direta, sendo o doador sempre o de menor peso. São descritas as técnicas utilizadas para o doador e para o receptor. É destacado o uso de "bypass" venoso-veno (porto-iliaco-jugular) utilizando bomba centrífuga. Em cada operação foram feitas 3 biópsias: B1 previamente à ablação; B2 ex-vivo e B3 posterior à reperfusão. As anastomoses arteriais foram término-terminais entre ambos troncos celiacos, do doador e do receptor. A sobrevida global foi de 68%, mas a partir do oitavo transplante elevou-se a 82%. Dos 25 fígados transplantados 2 apresentaram falência primária do órgão. Nos 23 restantes a B3 demonstrou que o fígado era viável, apesar de 7 animais falecerem no intraoperatório. A principal causa de morte posoperatória foi úlcera gástrica por estresse. Como conclusão é destacado com que se deve realizar esta cirurgia complexa com atenção a detalhes técnicos e que um pequeno erro pode determinar o fracasso do procedimento.

**Palavra chave** Transplante de fígado

### Introducción

El trasplante ortotópico de hígado (TOH) es el tratamiento más eficaz para los pacientes que presentan enfermedad hepática terminal.

La operación hecha en forma experimental en animales, en este caso en cerdos, permite lograr la experiencia necesaria para realizar este procedimiento en el ser humano.

El propósito de este trabajo es describir detalladamente la técnica quirúrgica y mostrar evolución de los cerdos sometidos a TOH.

### Material y método

Entre el 5 de diciembre de 1991 y el 31 de julio de 1992 se realizaron 25 TOH en cerdos de razas Landrace, Hampshire y Duroc Jersey. El peso de los mismos osciló entre 25 y 35 kg (Tabla 1).

	R	x
Peso donante (Kg)	16-35	22,6
Peso receptores (Kg)	18-35	24,6

Tabla 1: peso de los cerdos utilizados para trasplantes.  
R: rango x: promedio.

Se agruparon las parejas donante-receptor por prueba sanguínea de compatibilidad directa, siendo siempre el donante de menor peso. Se completó el estudio preoperatorio con hemograma y proteinograma.

Luego de 24 horas de ayuno se premedicaron los animales con ketamina a 10 mg/kg y la inducción anestésica se realizó con tiopental sódico a 10 mg/kg por una de las venas de la oreja. Todos fueron intubados y ventilados con oxígeno al 100%; y luego mantenidos con isoflurano.

En los cerdos donantes, se controló la tensión arterial media (TAM), y los receptores contaban con monitoreo electrocardiográfico (ECG.) control de temperatura rectal y nasal, TAM, presión venosa central (PVC), diuresis horaria por medio de la colocación de una sonda vesical y sonda orogástrica.

#### Técnica quirúrgica en el donante

Se canalizaron la vena yugular externa por medio de una sonda K9 para infusión de líquidos y la arteria cervical transversa con una sonda K31, para medir TAM.

Se utilizó laparotomía mediana xifopubiana, colocándose un separador de Balfour con la máxima apertura posible. Se efectuó una biopsia hepática por punción (B1). El intestino fue envuelto con una gasa húmeda y se seccionaron los ligamentos triangular y el falciforme con poca movilización del hígado, procedién-

dose luego a la apertura de la vesícula y a su lavado con solución fisiológica. El colédoco fue seccionado distalmente al hígado.

La vena porta se liberó hasta la desembocadura de la vena esplénica que fue reparada. Se disecó la arteria hepática y se ligaron las arterias gástrica izquierda y gastroduodenal. Luego se desplazó el intestino hacia la derecha exponiendo la aorta a nivel del nacimiento del tronco celíaco, para permitir la disección del trayecto que se encuentra por debajo y a la izquierda de la vena porta, ligando la arteria esplénica.

La aorta se reparó a nivel supracelíaco y en su bifurcación. Posteriormente se canalizó la vena esplénica con una sonda K9 y se enfrió lentamente el hígado con Ringer Lactato a 4 °C (Fig. 1). Se canuló la aorta infrarrenal con una sonda K10 por donde se exanguinó al cerdo. La sangre obtenida sería luego utilizada en el receptor.

Cuando la TAM descendió de 60 mm Hg. se dió por finalizada la extracción de sangre e inmediatamente se comenzó a enfriar en forma rápida el hígado a través de la vena esplénica; se abrió la vena cava inferior suprahepática (VCI-SH) un centímetro por encima del diafragma, se clamepó la aorta supracelíaca y se ligó la vena mesentérica superior (Fig. 2).

Luego de pasar 1000 cc. de solución fría a través de la vena esplénica y la aorta, se seccionó un parche en la aorta a nivel del tronco celíaco, se cortó el diafragma que rodea el hígado, se incidió sobre la vena cava inferior infrahepática (VCI-IH) por encima de las venas renales y se terminó la hepatectomía separando el hígado de la pared posterior del abdomen.

#### Cirugía de banco

Colocado el hígado en un recipiente con hielo y solución Ringer Lactato a 4 grados centígrados, se separó el diafragma de la cara superior del hígado, quedando expuesta la VCI-SH que se abrió a nivel de las venas frénicas y se recortó a la altura del repliegue diafragmático logrando de esta manera una buena boca para ofrecer la vena cava del receptor.

Se limpió la vena porta y la arteria hepática de tejidos que habitualmente los rodean y se constató su impermeabilidad inyectando líquidos.

Se realizó una segunda biopsia hepática (B2).

#### Técnica quirúrgica en el receptor

El animal fue canalizado en la yugular externa derecha, donde se colocó una sonda K9 para infundir líquidos, se cateterizó la arteria cervical transversa con una sonda K31 para TAM y se colocó en la yugular interna una sonda K33 para medir PVC.

En el lado izquierdo se dejó reparada la vena yugular externa para ser utilizada posteriormente en el by-pass veno-venoso.

Se realizó una incisión mediana xifopubiana; se envolvió el intestino con una gasa húmeda y se desplazó levemente hacia la izquierda. Con suaves movimientos

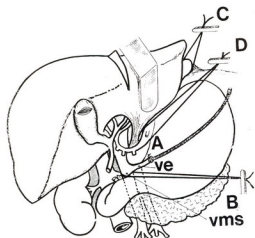


Fig. 1: técnica quirúrgica en el hígado donante, reparos vasculares:

- A: canalización de vena esplénica (VE)  
 B: reparo de vena mesentérica superior (VMS)  
 C: reparo de la aorta por encima del diafragma.  
 D: reparo de la aorta a nivel supracelíaco

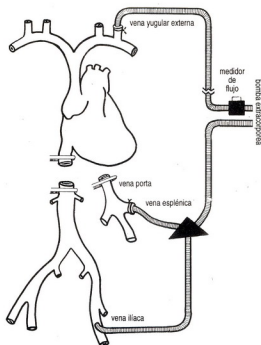


Fig. 3: bypass venovenoso en Y porto-ilíaco-yugular del hígado receptor.

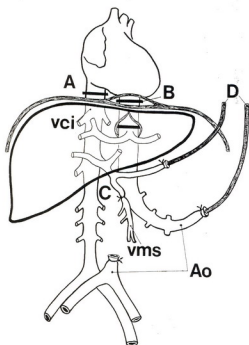


Fig. 2: técnica quirúrgica en el hígado donante, enfriamiento del hígado:

- A: apertura de la vena cava inferior suprahepática (VCI)  
 B: clampeo de aorta supracelíaca  
 C: ligadura de vena mesentérica superior (VMS)  
 D: irrigación con Ringer Lactato a 4°C por vena esplénica (VE) y aorta (Ao).

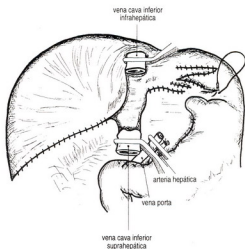


Fig. 4: clampeo de grandes vasos y hepatectomía en el hígado receptor.

sobre el hígado se cortó el ligamento falciforme y triangular izquierdo. Debido a la anatomía del cerdo al cortar el ligamento triangular derecho queda expuesta la vena cava inferior, tanto a nivel suprahepático como infrahepático.

El cóleddo se ligó y seccionó cercano al hígado; se incidió sobre el peritoneo en el epiplón menor accediendo de esta manera a las ramas de la arteria hepática que también se ligaron y se seccionaron. Se diseccionó la vena porta separándola completamente de los tejidos adyacentes y se esqueletizó la arteria hepática hasta el nacimiento de la gástrica izquierda y la gastroduodenal.

La vena esplénica se reparó para utilizarla en el by-pass veno-venoso. Los vasos cortos se ligaron y seccionaron. Previamente se ligó la arteria esplénica para impedir su colapso al disminuir bruscamente el flujo. Se reparó la vena ilíaca izquierda para ser usada en el by-pass.

Finalizada la cirugía de banco en el hígado donante se colocó al receptor en by-pass veno-venoso en "Y" porto-ilíaco-yugular (Fig. 3).

Se efectuó el clampo en el siguiente orden: vena porta, VCI-IH y VCI-SH, completándose la hepatectomía tomando la precaución de dejar las venas de la mayor longitud posible (Fig. 4).

Se suturó primero la VCI-SH, con dos hebras de Polypropilene monofilamento 4/0 con doble aguja y en forma continua; primero en la cara posterior y luego en la anterior, intentando que sus bordes queden evertidos y de esa forma, en contacto íntima con íntima.

Luego se anastomosó la VCI-IH con Polypropilene monofilamento 5/0 con la misma técnica. En la vena porta se utilizó Polypropilene monofilamento

6/0 y se tomó la precaución de que no quede ni tensa ni redundante. Se utilizó la técnica del factor de crecimiento de la sutura descrito por Starzl (1).

Finalizada esta etapa se retiraron los clamps y se reperfundió el hígado. Se salió de by-pass y se efectuó la esplenectomía.

Controlada la hemostasia, se prosiguió con la anastomosis arterial en forma termino-terminal con Polypropilene monofilamento 7/0, a nivel de ambos troncos celiacos. Frente a la ausencia de sangrado, se esperaba unos minutos para mejorar la hemodinamia del animal.

Se controló nuevamente la hemostasia y se comprobó si presentaba drenaje biliar. Se realizó la tercera biopsia hepática (B3). La anastomosis biliodigestiva más utilizada fue la colecistoduodenal en dos planos (Fig. 5). Se cerró la pared en un solo plano y la piel con una sutura intradérmica.

## Resultados

La sobrevivencia global postoperatoria inmediata fue del 68% (17 casos). Nueve (52%) sobrevivieron entre 4 y 7 días, 6 (35%) más de 10 días y 2 (11%) 24 horas. La mortalidad intraoperatoria fue de 32% (8 casos) debido a hipotensión irreversible y fibrilación ventricular no hemorrágica en 6, un infarto de miocardio y una falla primaria del injerto en el restante.

Uno de los cerdos, fallecido dentro de las 24 horas postoperatorias, presentó falla primaria del órgano, debido a hipotermia prolongada durante el intraoperatorio.

Cinco fallecieron por hemorragia digestiva debido a úlcera gástrica. Cuatro muertes se debieron a dehiscencia de la anastomosis biliodigestiva, 3 de los cua-

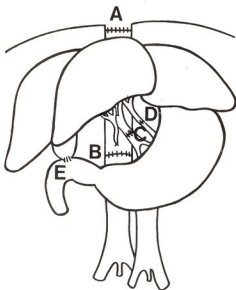


Fig. 5: situación final del trasplante hepático

A: anastomosis vena cava suprahepática

B: anastomosis vena cava infrahepática

C: anastomosis vena porta

D: anastomosis arteria hepática

E: anastomosis biliodigestiva colecisto duodenal

	R	x
Tiempo de ablación	1h. 14' - 4hs. 36'	2hs 14'
Tiempo de isquemia	58' - 1hs 41'	1hs 25'
Volumen de solución infundida (ml)	1.100 - 3.800	1.840
Tiempo de cirugía de banco	14' - 45'	26'

Tabla 2: variables en donantes (n=25)

R: rango. x: promedio. Método estadístico: regresión logística.

	R	x
Tiempo de cirugía (minutos)	3h. 30' - 10h. 50'	7h. 55'
Tiempo de bomba extracorpórea	28' - 80'	49'
Flujo de bomba extracorpórea (ml)	150 ml - 950ml	627 ml
Volumen de solución infundida	1250 ml - 12000ml	3911 ml
Tiempo de anastomosis vasculares	10' - 74'	38'

Tabla 3: variables en receptor (n=25)

R: rango. x: promedio. Método estadístico: regresión logística.

les presentaban trombosis de la arteria hepática. Otros cuatro tuvieron compromiso respiratorio. Un animal falleció por vólvulo de intestino delgado y otro se sacrificó en el día 21 del postoperatorio, presentando en la autopsia una úlcera gástrica. El cerdo restante vive hasta el momento de la presentación de este trabajo (43 días postoperatorio).

En las tablas 2 y 3 se muestran las variables halladas para el donante y el receptor.

### Discusión

En 1956 Cannon publica el primer trabajo sobre TOH experimental (2). En 1963 Starzl realiza el primer TOH en un paciente que presentaba una atresia de vías biliares (3). Desde esos años hasta la actualidad se ha utilizado el TOH experimental, como sustento de los continuos avances que se produjeron a nivel clínico (4-5-6-7).

El cerdo es un modelo experimental apto para el TOH, debido a sus semejanzas anatómicas con el hombre, y porque pese a ser inmunológicamente competente, tiene menor rechazo hepático que el perro, razón por la cual no se utilizó inmunosupresión (8-9-10).

Uno de los problemas del TOH es la éstasis venosa en el territorio de la vena porta y de la VCI, con disminución del retorno venoso a las cavidades derechas del corazón durante la fase anhepática del receptor (11-12-13). Para evitar tal situación utilizamos un by-pass externo veno-venoso con una bomba impulsora que cuenta con un sistema regulador de flujo adaptado al sistema. En 6 cerdos (24%) se usó un by-pass simple porto-yugular, en 18 (72%) un by-pass porto-cavo-yugular y en un caso no se utilizó. El by-pass demostró ser beneficioso, lográndose mejores flujos y mayor estabilidad hemodinámica (14).

Se realizó anastomosis arterial termino-terminal de tronco celiaco a tronco celiaco, a diferencia de la gran mayoría de los autores que la efectúan a la aorta abdominal del receptor (14). Preferimos esta técnica, porque obviarnos la disección aórtica, habitualmente rodeada por grandes vasos linfáticos que se lesionan fácilmente, produciendo una importante linforragia difícil de detener y que lleva al deceso del animal. Esta técnica es semejante a la que se utiliza en el ser humano. Su realización requiere métodos de magnificación y una precisa técnica quirúrgica debido al pequeño tamaño de ambas arterias.

La sobrevida intraoperatoria fue de 68% (17/25). Debe recalcarce que de las 8 muertes, 5 se produjeron en los primeros 8 TOH. La sobrevida en los 17 restantes es de 82,3% (14/17). Estos resultados son muy semejantes a la experiencia internacional, que oscila entre el 40 y el 80% (6-8-15-16).

De los 25 TOH que se efectuaron, sólo 2 presentaron falla primaria del órgano. Los 23 restantes no presentaban lesiones significativas al realizarse la tercer biopsia (posterior a la reperfusión arterial), considerándose que ese órgano era viable, a pesar que 7 de ellos fallecieron en el intraoperatorio.

La principal causa de muerte postoperatoria fue la hemorragia digestiva debido a úlcera gástrica, producida por estrés, lo cual es frecuente en estos animales. Para evitar esta complicación algunos autores utilizan la vagotomía (12).

El TOH es una dificultosa y prolongada cirugía, pero que es bien tolerada por el cerdo. Cualquier error en algún paso tanto en la cirugía del donante como del receptor pueden llevar al fracaso total del procedimiento.

### Bibliografía

1. Starzl TE, Iwatzuki S, Shaw BW: A growth factor in fine vascular anastomosis. *Surg Gynecol Obstet* 159:164-165, 1984.
2. Cannon JA: Note on the transplantation of the liver. *Transplantation Bull* 3:7, 1956.
3. Starzl TE, Marchioro TL, Von Kaula KN et al: Homotransplantation of the liver in humans. *Surg Gynecol Obstet* 117:659, 1963.
4. Moore F, Wheeler H, Demissianos H: Experimental whole organ transplantation of liver and of spleen. *Ann Surg* 152:374, 1960.
5. Starzl TE, Kaupp HA, Brock DR et al: Reconstructive problems in canine liver homotransplantation with special reference to the postoperative role of hepatic venous flow. *Surg Gynecol Obstet* 111:733-743, 1960.
6. Cordier G, Garnier H, Clot JP: Lagreffé de foie orthotopique chez le porc. *Premiers resultats. Mem Acad Chir* 92:799-807, 1966.
7. De Santibañez E, Sivori J, Ciardullo MA et al: Técnica de ablación rápida en el trasplante ortotópico de hígado en el cerdo. *Rev Argent Cirug* 54:229-231, 1988.
8. Peacock JH, Terblanche J: Orthotopic homotransplantation of the liver in the pig. In: *The Liver* (Ed) Read A.E. Butterworth, London, 333-336, 1967.
9. Calne RY, White H, Yoffa DE et al: Prolonged survival of liver transplants in the pig. *Br Med J* 4:645-648, 1967.
10. Camprodón R, Jorner J, Salva JA et al: Trasplante hepático ortotópico en el cerdo. Estudio de los 25 primeros casos. *Rev Esp Enf Ap Digest* 40:115-126, 1973.
11. Catropia JC, Coratolo F, Spinetta A et al: Trasplante hepático experimental. *Rev Esp Enf Ap Digest* 38:553-570, 1972.
12. Shav B, Martin DJ, Marquez JM et al: Venous By-pass in clinical liver transplantation. *Ann Surg* 200:524-534, 1984.
13. Calne RY: Technique in the pig. In: *The liver transplantation. The Cambridge King College Hospital experience* (Ed) Calne R.Y. Grune & Stratton, New York, 9-15, 1983.
14. Bianco GR, Inventarza O, Cervio GL y col: Evaluación de dos tipos de by-pass veno-venoso en trasplante hepático experimental en cerdos. *Rev Argent Cirug*, en prensa.
15. Jaffe WP, Symes MO, Terblanche J: Observations on the immunological reactions of pigs. In: *The Liver* (Ed) Read A. Butterworth, London, 351-357, 1967.
16. Mazzoni G, Di Martino C, Maizza M et al: Orthotopic liver allografts in the pig. *Am J Surg* 125:300-303, 1973.

Trabajo presentado en el 26° Congreso Argentino de Cirugía Infantil, noviembre de 1992.

Dr. G Cervio

Pichincha 1850  
(1245) Buenos Aires  
Argentina