

Trasplante de hígado

- Cirugía experimental en cerdos -

Dr. Alejandro Giménez V, Guido Parquet V, David Brunstein, Oscar Doria, Omar Aguayo, D. Rodney Díaz, Rosa Sánchez A, Rubén Rojas, Oscar Torres, Miguel Caballero, Pablo Goto, Waldor Acuña A, Heidi Cáceres, Roberto Rodríguez, Julio Canata, Fernando Centurión, Luis Leonardo López, Emanuel Llano, Aníbal Filártiga L. * * * *, Guillermo Aguero G. * * * * *

**** Jefe de Servicio y Cátedra. Primera Cátedra de Clínica Quirúrgica.
***** Jefe de Cátedra de Patología Médica I - Profesor Titular de Clínica Médica
Cirugía Experimental - Facultad de Medicina - Universidad Nacional de Asunción

Resumen

El presente proyecto de investigación fue llevado a cabo entre los meses de octubre 2004 - enero 2005, buscando consolidar a un equipo multidisciplinario de trasplante de hígado, a fin de encontrar una solución a la problemática de la insuficiencia hepática en fase terminal. En el mismo se han aplicado protocolos de ablación, Back Table, hepatectomías e implante, un protocolo de anestesia, respetando los preceptos de Bioética, para el manejo de animales de experimentación. Fueron utilizados 8 cerdos de raza Landrace, White Large o cruzas, el peso promedio fue de 31.25 kg. Tres animales fueron usados como donantes de hígado y sangre (promedio 1066 mL/animal) y tres fueron receptores; los otros dos fueron utilizados como banco de sangre. El tiempo operatorio de ablación utilizado fue en promedio de 1 hora y 23 minutos. Fueron utilizados 3000 mL de suero para el enfriado, empleándose en promedio 3 horas y 12 minutos de cirugía en la hepatectomía y el implante. El tiempo de isquemia fría para el órgano donado fue en promedio de 3 horas y 7 minutos. Las anastomosis vasculares fueron realizadas respetando estrictamente los protocolos y la anastomosis biliodigestiva del tercer cerdo se realizó mediante una colédocoyeyunoanastomosis en Omega.

Conclusiones: es posible realizar cirugía experimental en el ámbito Universitario y debe ser realizada en la Facultad de Medicina.

Introducción

El trasplante hepático abarca una sucesión de hechos que involucra a una gran variedad de profesionales. El acto central es la cirugía y su desenlace depende de un equipo médico multidisciplinario bien entrenado.

El trasplante de hígado surge como una posibilidad terapéutica para enfermos, cuya evolución natural es el óbito, con considerables gastos económicos y emocionales.

El primer trasplante heterotópico de hígado experimental se realizó en perros en 1955 en Nueva York. Desde aquellas experiencias y hasta nuestros días, el trasplante de hígado se ha consolidado como una realidad clínica, ya que en el año 1983 el Instituto Nacional de la Salud de EE.UU. determinó que se considere como un tratamiento convencional para pacientes afectados de insuficiencia hepática terminal.

En el Paraguay existe un número cada vez mayor de pacientes con hepatopatías de diversas etiologías y estadios, con todo el espectro de alteraciones funcionales y compromiso del estado general, sin que podamos darle solución definitiva a los casos irreversibles de insuficiencia hepática.

Sin embargo, en el MERCOSUR existen centros habituados a realizar trasplantes de hígado con resultados muy alentadores. A modo de ejemplo tenemos:

- Argentina: 8 centros - más de 80 trasplantes hepáticos al año,
- Bolivia: 2 centros - 0.3 trasplantes hepáticos por millón de habitantes a 2002,
- Brasil: 11 centros - más de 100 trasplantes hepáticos al año,
- Chile: 3 centros - 5.7 trasplantes por millón de población a 2006,
- Uruguay: 2 centros - 5 trasplantes hepáticos a 2002.

En la Facultad de Ciencias Médicas se ha conformado un grupo de médicos que en años anteriores efectuaron todas las etapas del trasplante hepático en cerdos con resultados alentadores. El interés de nuestro grupo radica actualmente en continuar con el entrenamiento del manejo de los protocolos quirúrgicos, para la implementación de la fase clínica del Trasplante Hepático prevista como siguiente fase de este programa.

Los objetivos de la investigación fueron:

- implementación de los protocolos quirúrgicos que se utilizan en las fases clínicas de un trasplante de hígado, aplicándolos en cirugías experimentales en cerdos.

- objetivar los tiempos utilizados en cada fase del trasplante hepático.

Material y métodos

Entre el 4 y el 11 de enero de 2005 en el Hospital de Pequeños Animales de la Facultad de Ciencias Veterinarias, realizamos las sesiones de cirugía experimental utilizando 8 cerdos para la ejecución de cirugías experimentales; 6 de los mismos fueron destinados para los trasplantes y 2 cerdos fueron donantes de sangre.

En todos los casos tratamos de adquirir cerdos provenientes de granjas reconocidas, libres de enfermedades, cuyo destino de cría es la faena para alimentación humana.

Fueron aplicados modelos protocolizados de cirugía experimental para trasplante de hígado en cerdos, acordes a las correspondientes normas de Bioética.

Se utilizaron 8 cerdos de raza Landrace, White Large o cruzas para la implementación de las cirugías experimentales. En cada cerdo consignamos los siguientes datos:

- procedencia,
- sexo,
- peso,
- tiempo de ayuno,
- premedicación.

Implementamos protocolos de anestesia en cirugía experimental en cerdos para los donantes y receptores.

En los donantes aplicamos el protocolo clásico de ablación rápida y obtuvimos además, los siguientes datos:

- duración del periodo operatorio,
- anomalías de las estructuras anatómicas,
- cantidad de sangre recogida para trasfudir,
- cantidad de volúmenes de suero frío usados.

Tabla 1

| Resultados de los datos analizados en el cerdo donante | | | | |
|--|---------------|-----------------|-----------------|------------|
| Cerdo N° | T° Operatorio | Anomalías | Sangre p/trasf. | Suero frío |
| 1 | 90 min. | No | 800 ml | 3000 ml |
| 2 | 85 min. | Doble art. hep. | 1200 ml | 3000 ml |
| 3 | 75 min. | Doble art. hep. | 1200 ml | 3000 ml |

En los animales receptores utilizamos el protocolo de hepatectomía e implante donde además recabamos los siguientes datos:

- duración del periodo operatorio,
- duración del periodo de isquemia fría,
- duración del periodo anhepático,
- duración de las anastomosis,
- cantidad de sangre trasfundida,
- técnica de reconstrucción biliar,
- tiempo de sobrevida.

Cirugía en el donante

En los cerdos donantes se aplicaron rigurosamente los protocolos de ablación rápida para el enfriamiento y ablación del hígado, y previo a esto se extrajo sangre de los mismos para trasfundirlos al receptor. En todos los casos el donante fue macho y el de menor peso que teníamos en ese momento.

Las estructuras anatómicas fueron disecadas con pericia, de modo de no tener lesiones en las estructuras vasculares. Posteriormente a la ablación, los hígados fueron llevados al Back Table para prepararlos para el injerto donde no se registraron problemas de consideración. El resultado de los datos analizados en

la cirugía del donante se ilustra en la Tabla 1.

Cirugía en el receptor

En los animales receptores, una vez anestesiados según protocolo, se realizaron accesos venosos y arteriales del lado derecho, para lo cual se disecó la vena yugular interna y la arteria cervical media, canalizándolas con catéteres K33 (de 0.3 cm de diámetro) para suministro de líquidos y medición de presión arterial media (T.A.M.). Además se disecó la vena yugular interna del lado izquierdo, usándola para el By-pass vena-venoso.

El protocolo de anestesia implementado fue el mismo para todos y las correcciones del equilibrio ácido-base, calcio y electrolitos las hicimos empíricamente ya que no contamos con laboratorio para estas determinaciones.

Todos los animales fueron conectados a máquinas de anestesia y monitores intraoperatorios con ritmo electrocardiográfico, presiones venosas y presión arterial invasiva. El resultado de los datos analizados se demuestra en la Tabla 2

Tabla 2

| Datos analizados en el cerdo receptor | | | | | | | |
|---------------------------------------|---------|---------|---------|----------|--------|----------|---------|
| Cerdo | T° Op | T° Isq | T° Anh | T° Anast | Trasf. | Anas Bil | T° Sobr |
| 1 | 170 min | 180 min | 80 min | 60 min | 2 vol | No | Óbito |
| 2 | 190 min | 220 min | 70 min | 75 min | 6 vol | No | Óbito |
| 3 | 220 min | 162 min | 140 min | 54 min | 4 vol | Col-Yey | 120 min |

Protocolo de anestesia de trasplante ortotópico de hígado en cerdos

Preoperatorio

- Ayuno de 48 hs., sólo agua
- MAP: Ketamina a 7.5 mg/kg I/M
- Canalización de vena de oreja con Punzocath N° 22
- Pre-oxigenación con O₂ al 100% durante 5'
- Halotano al 3% durante 5'

Intubación sin ventilar con tubo n° 7 con manguito

- Mantenimiento:
 - Halotano al 0.5 - 1%
 - Ketamina al 1% (500 mg en 50 mL) por oreja. Gotear 1ug/kg/min
 - Dormicum 1 mL en 5 mL para reforzar la hipnosis
- SNG K11
- Ventilación: 12 - 15 mL/kg, frecuencia 12 x minuto
- Canalización:
 - Venosa:
 - Para Presión Venosa Central: Yugular Externa Derecha - Catéter K33
 - Para líquidos, otra vena respetando la Yugular Interna - Catéter K33
 - Arterial: Para Presión Arterial Media y muestras: Subclavia Derecha - Punzocath 20
- Disección de la Arteria Carótida izquierda
- Sangría:
 - Volumen sanguíneo = Kg. X 70 mL
 - Presión Arterial Media: Lavado con heparina 2500 u (0.5 mL) en 500 mL
- Monitoreo ECG - Oxímetro en oreja rasurada previamente.

Intraoperatorio

- Hidratación: SF 10 mL/Kp/h
- Catéter K30 en vejiga
- Sangre 500 mL antes del clampaje de las grandes venas
- Monitoreo: ECG - TAM - PVC - OXIMETRIA - DIURESIS

Protocolo operatorio de hepatectomías

- 1) Laparotomía:
 - a) xifopúbica
 - b) bisubcostal
- 2) Ampliación
 - a) transversa derecha
 - b) transversa izquierda
 - c) xifoidea
 - d) infraumbilical
- 3) Apertura del epiplón gastrohepático hasta el diafragma
- 4) Disección de la VBP y sección de la misma
- 5) Disección y referencia de la VP
- 6) Disección de la hepática y tronco celiaco hasta la aorta y disección de la misma en al menos 5 cm con referencias proximales y distales; ligadura y sección de las hepáticas.
- 7) Disección de la VCIH y referencia
- 8) Disección de la VCISH
- 9) Clampaje y sección de la VP -VCISH - VCIH
- 9) Hepatectomía.

Indemnidad de las estructuras: VCISH:

- d) Art. Receptor: VCIH
- e) VBP: VP:

Análisis de resultados

Los cerdos obtenidos de las dos diferentes granjas fueron del peso y tamaño necesarios y el ayuno al que fueron sometidos, a pedido nuestro, fue respetado a cabalidad.

La preparación para la **cirugía del donante** no ofreció mayores complicaciones, toda vez que el cerdo esté debidamente preparado para un buen manejo e higiene. Las estructuras a disecar en cerdos de este peso son las correctas y apropiadas. Las cirugías en el donante no presentan problemas, y en el caso de una duplicación de la arteria hepática (cerdos 2 y 3) disecamos ambas y utilizamos la de mayor calibre. En el segundo y tercer cerdo hemos hiperhidratado a los animales antes del clampar el pedículo hepático y de esta manera conseguimos mayor volumen de sangre para trasfudir al receptor. Pusimos mucho empeño en mantener una buena hemodinamia durante todas las cirugías de ablación, a fin de preservar la función del hígado ablacionado. Es suficiente contar con 3 volúmenes de suero frío para conseguir buena decoloración y enfriamiento del hígado del donante.

La **cirugía en el receptor** emplea mucho tiempo de preparación entre la premedicación, higiene y lavado del animal y su intubación. En un caso (cerdo N° 2) tuvimos que cambiar de receptor ya que el que estaba siendo preparado fue imposible de intubar. La disección de los vasos cervicales no es problema, pero debe hacerse con personal que conozca la anatomía y esté acostumbrado a manejar accesos venosos y arteriales. En el tercer cerdo tuvimos mucho cuidado en manejar los tiempos operatorios entre el donante y el receptor de manera a acortar los lapsos de isquemia total (de más de 3 hs. a 2 hs. con 20 minutos). El tiempo empleado en las anastomosis también fue reducido, a poco más de 45 minutos, con lo

que conseguimos acortar el tiempo de fase anhepática.

El primer cerdo fue al óbito durante la re-perfusión (anastomosis de la cava suprahepática, infrahepática y vena porta terminadas) con una hipotensión sostenida por falta de un adecuado volumen de sangre trasfundida y un bypass venoso que no funcionó correctamente. En el segundo receptor tuvimos problemas en conseguir sangre en el momento necesario, por lo que a pesar de trasfudir al cerdo 6 volúmenes, no teníamos buen manejo de la hemodinamia y fue al óbito una vez terminadas las anastomosis venosas y de la arteria hepática; tampoco tuvimos buen funcionamiento del bypass venoso en este receptor.

En el tercer receptor contamos de entrada con 6 volúmenes de sangre para trasfudir, además de manejar el bypass de forma manual (con la ayuda del anestésista) con lo que controlamos la hemodinamia de manera mas ajustada; las anastomosis funcionaron perfectamente y el calentamiento y recoloración del hígado se hicieron adecuadamente. En este cerdo tuvimos un tiempo de sobrevida de 120 minutos, con parámetros hemodinámicos conformes (ritmo electrocardiográfico sin alteraciones, frecuencia aceptable, presiones arteriales normales) diuresis estándar, y posteriormente hemos desconectado el respirador ya que no contamos con terapia intensiva para estos animales, ha-

biendo completado los protocolos operatorios de forma correcta.

Conclusiones

- El cerdo es un buen modelo para utilizar en trasplante ortotópico experimental de hígado debido a la anatomía, resistencia a la manipulación y fácil obtención en granjas adecuadas.
- Deben utilizarse cerdos de peso alrededor de los 30 kg. para un mejor manejo de las estructuras vasculares y venosas.
- Se debe contar con un quirófano apropiado con los equipamientos necesarios para este tipo de cirugía.
- Es imprescindible tener un banco de sangre, con una disponibilidad de al menos 6 volúmenes por receptor.
- La cirugía en el donante es de fácil implementación aplicando el protocolo establecido de ablación rápida.
- Respetando las estructuras vasculares durante la ablación, el trabajo en el Back Table es fácil y de rápida ejecución.

- Es necesario contar con 3000 mL de suero frío (4 - 6° C) para un buen enfriamiento y descoloramiento del hígado.
- Ajustando los tiempos entre las cirugías del donante y del receptor se acortan al máximo los tiempos de isquemia del hígado donante.
- El bypass veno-venoso debe ser de simple ejecución y se debe controlar sistemáticamente durante todo el tiempo de su empleo.
- El manejo exitoso del bypass veno-venoso en este tipo de cerdos es de extraordinaria importancia para mantener constantes hemodinámicas correctas.
- Al ajustarse al protocolo de cirugía en el receptor, y respetando las estructuras, se consiguen buenas anastomosis y en corto tiempo.
- Es necesario poseer una terapia intensiva para mantener a estos animales en el postoperatorio.
- Se deben continuar con las siguientes fases de este proyecto, para evaluar resultados globales con sobrevivias alejadas.

Referencias:

| | |
|------------------|---------------------------------------|
| T° Op: | Duración del período operatorio |
| T° Isq: | Duración del período de isquemia fría |
| T° Anh: | Duración del período anhepático |
| T° Anast: | Duración de las anastomosis |
| Trasf: | Cantidad de sangre trasfundida |
| Anas Bil: | Técnica de reconstrucción biliar |
| T° Sobr: | Tiempo de sobrevida |

Bibliografía

1. Giménez A., Samaniego C., Wattiez C., Centurión F., Mallorquín M., Moreno R., et al "Trasplante hepático experimental en modelo animal: resultados preliminares de la fase I de un programa" Annual reports 1997; 86-93.
2. Khan D., Hickman R., Pienaar H., Terblanche J., Liver Transplantation in The Pig, en Handbook of Animals Models in Transplantation Research, CRC Press, Inc. 1994; 75 - 85.
3. Laino GM, Anastasi A, Fabbri LP, Gandini E, Valanzano R, Fontanari P, Venneri F, Mazzoni P, Ieri A, Spini S, Scalzi E, Battigiani G Experimental liver transplantation in pigs. Surgical technique and Complications, Minerva Chir. 1996 Oct;51(10):765-72.
4. Gruttadauria S, Marino G, Catalano F, Sgroi AV, Di Mauro GL, Basile F, et al Porcine orthotopic liver autotransplantation: facilitated technique. J Invest Surg. 2001 Mar-Apr;14(2):79-82.
5. Bonifoglio F, Anestesia en trasplante ortotópico de hígado experimental. Rev. Arg. Anest. 1988;46(2):99-126.
6. Tiberio L. C., Experiencia da Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica no programa de trapiante hepático do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Os primeiros 20 casos. Curitiba 1988.
7. Visa I Miracle J., Diseño, elaboración y puesta en marcha de un programa de Trasplante hepático, en El Trasplante Hepático en el Hospital Clinic de Barcelona, J.R.Prous S.A. 1991;9:9 - 16.
8. Kremer B. Standard techniques in Orthotopic Liver Transplantation, en Atlas of Liver, Pancreas, and kidney Transplantation, Thieme Medical Publishers, Inc. 1994; 36 - 54.
9. De Santibañes E., Pekol J., Grondona J., Ciardullo M., Sivori J., Mattered F., Programa de Trasplante Hepático en el hospital Italiano de Buenos Aires, Pren. méd.argen.1996;83: 622 - 626.