

Modelo experimental de trasplante hepato-intestinal auxiliar heterotópico*

J. Bueno, E. López, A. Centeno, C. Ramil, L. García-Alonso, E. Pais, P. Filgueira, F. Arnal, M. Gómez, J.G. Buitrón.

Unidad de Trasplantes, Unidad de Cirugía Experimental y Servicio de Cirugía Pediátrica. Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo.

RESUMEN: El trasplante hepato-intestinal (TXHI) ortotópico en el cerdo posee una gran morbi-mortalidad perioperatoria, debido esencialmente a los trastornos hemodinámicos, de coagulación y metabólicos ocasionados por la exclusión vascular total hepática durante la hepatectomía del hígado nativo. La diarrea postoperatoria por disfunción inicial del injerto y la enterectomía del intestino nativo también contribuyen. Para evitar estos trastornos y aumentar la supervivencia a la técnica quirúrgica y perioperatoria, hemos desarrollado un modelo porcino de TXHI heterotópico auxiliar. El injerto se compone del hígado, y en continuidad duodeno, cabeza de páncreas y yeyuno (1.5 m) con una porción de aorta abdominal conteniendo la arteria mesentérica superior y tronco celiaco. Preservando el hígado e intestino del receptor, el injerto se implanta de forma heterotópica, caudal al hígado nativo. El drenaje venoso se realiza con anastomosis termino (T)-lateral (L) de la vena cava infrahepática del donante a la del receptor y la arterialización con anastomosis T-L del conducto aórtico a la aorta infra-renal del receptor. La continuidad intestinal se restablece con anastomosis de ambos yeyunos.

El experimento se realizó en 16 animales sin exitos intraoperatorios, con estabilidad hemodinámica y sin transfusión sanguínea. Los 4 animales en que se realizó supervivencia de 7 días, sobrevivieron con injertos funcionantes sugiriendo la viabilidad del modelo.

PALABRAS CLAVE: Trasplante de hígado auxiliar; Trasplante intestinal; Cerdos.

EXPERIMENTAL MODEL OF AUXILIARY HETEROTOPIC LIVER-INTESTINAL TRANSPLANTATION

ABSTRACT: In pigs, orthotopic liver-intestine transplantation (LITX) has high per operative morbidity and mortality. It is due to hemodynamic, coagulation and metabolism disorders during native liver hepatectomy (total hepatic vascular exclusion) and the postoperative diarrhea secondary to initial dysfunction of the graft and enterectomy of native intestine. To avoid those disturbances and to increase the survival,

we have developed a porcine model of auxiliary heterotopic LITX. The allograft was harvested in-bloc, containing the liver, duodenum, pancreas, and jejunum. In the recipient, the liver and intestine were left intact. The allograft was implanted heterotopically, caudal to the native liver. Venous drainage was achieved with anastomosis of donor (D) to recipient (R) infrahepatic cava; and arterialization with anastomosis of D aortic conduit containing the celiac axis and SMA to infra-renal R aorta. The D jejunum was hooked-up to R jejunum.

The experiment was performed in 16 animals without intraoperative deaths, hemodynamic stability and no blood requirements. Four animals were left alive 7 days with functioning grafts, suggesting the model viability.

KEY WORDS: Running words auxiliary liver transplantation; Intestinal transplantation; Pig.

INTRODUCCIÓN

Desde la introducción del tacrolimus como principal inmunosupresor a principios de la década de los años 90, el trasplante intestinal se convirtió en una opción terapéutica eficaz para el tratamiento del fallo intestinal. Sin embargo, más de la mitad de los pacientes en edad pediátrica que requieren un injerto intestinal, han desarrollado fallo hepático secundario a la nutrición parenteral, y por tanto necesitan de un trasplante combinado de hígado-intestino⁽¹⁾.

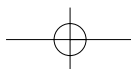
En el campo experimental y en el animal grande, el trasplante hepato-intestinal ortotópico es complejo, de larga duración y alta mortalidad intra y peroperatoria^(2,3). La causa principal es la necesidad de exclusión vascular total hepática (clampaje total de la vena porta y de la vena cava) durante la hepatectomía del hígado nativo y fase anhepática. Dicha maniobra se asocia a grandes cambios hemodinámicos, metabólicos, y de coagulación⁽⁴⁻⁷⁾. Estos trastornos son agravados por el síndrome de reperfusión tras el desclampaje. En los modelos convencionales de trasplantes de intestino, asociados o no con el hígado se realiza enterectomía del intestino nativo. La diarrea producida por la disfunción inicial del injerto intestinal y ausencia del intestino nativo, complican aun más el manejo clínico^(6,7). En este trabajo, describimos

Correspondencia: Javier Bueno. Servicio de Cirugía Pediátrica. Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo. As Xubias 84, 15006 La Coruña. E-mail: jbueno@canalejo.org

*Presentado en XLII Congreso de la Sociedad Española de Cirugía Pediátrica. Trabajo financiado con ayudas para realización de proyectos de investigación en establecimientos sanitarios públicos de la Comunidad Autónoma Gallega. (PR425R 2002/43-0).

Recibido: Noviembre 2003

Aceptado: Noviembre 2003



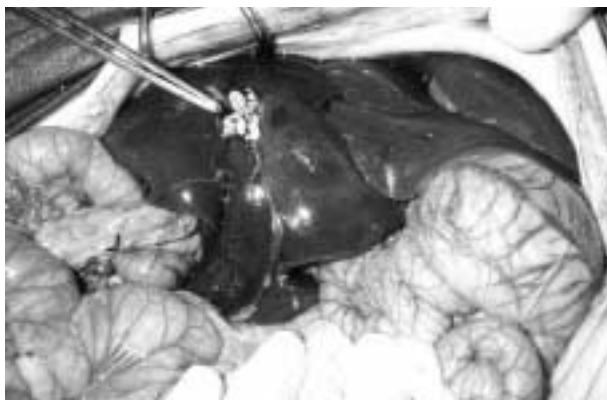


Figura 1. El injerto se implanta de forma heterotópica, caudal al hígado nativo.



Figura 2. El drenaje venoso se realiza mediante anastomosis de la vena cava infrahepática del injerto a la vena cava infrarenal del receptor. La arterialización se obtiene a través de la anastomosis del conducto aórtico del injerto a la aorta infrarenal del receptor.

un modelo porcino de trasplante hepato-intestinal auxiliar heterotópico que evita estos problemas y aumenta la supervivencia a la técnica quirúrgica.

MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron 32 cerdos de raza large-white híbridos, no emparentados, con un peso medio de 13 kilos (rango: 6-20 kg) procedentes de un centro de cría. Permanecían en las instalaciones del laboratorio al menos 10 días, antes del procedimiento como periodo de cuarentena y adaptación. Dieciseis cerdos se utilizaron como donantes y 16 como receptores.

Técnica anestésica

Previo ayunas de 12 horas, y premedicación con ketamina y azaperona, se procedía a la intubación después de canalizar la vena marginal de la oreja, utilizando atracurio como inductor anestésico, sevoforane y oxígeno para anestesia de mantenimiento y analgesia con remifentanilo. Tras canalizar la vena yugular externa y arteria carótida para manejo anestésico y monitorización analítica intra-operatoria se procedía a la intervención. Una vez finalizada la cirugía se retiraban las vías.

Técnica quirúrgica en donante

A través de una laparotomía media, se moviliza el duodeno y la cabeza pancreática, exponiendo la vena cava inferior y la aorta infrarenal. El hígado se moviliza seccionando los ligamentos falciforme, triangular izquierdo y hepato-gástrico. El pedículo hepático, incluyendo la vía biliar, se deja intacto. Tras seccionar el píloro, se libera el colon del intestino y páncreas y se realiza colectomía total y enterectomía parcial del intestino delgado, preservando aproximadamente 1,5 m de yeyuno. Si se utiliza la cabeza del páncreas, se sec-

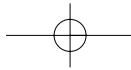
ciona a nivel del eje de la vena porta y mesentérica superior, y previa ligadura de la arteria y vena esplénica, se extirpa el cuerpo y cola del páncreas junto al bazo. En 2 ocasiones hemos incluido el páncreas completo con el injerto. Tras heparinización sistémica se clampa la aorta intratorácica a través de una incisión en la cúpula diafragmática izquierda y se perfunden los órganos con solución de preservación (Eurocollins) a través de una cánula de perfusión en la aorta infrarenal y se secciona la vena cava suprahepática para drenaje tras apertura del diafragma derecho. Posteriormente se procede a la extracción en bloc del hígado, y en continuidad duodeno, páncreas e intestino delgado proximal (1,5 m) con una porción de aorta abdominal conteniendo la arteria mesentérica superior y tronco celiaco (Fig. 1).

Cirugía de banco

Con los órganos inmersos en solución de preservación fría, se ligan las arterias lumbares del segmento aórtico y se sutura el orificio del extremo de la aorta proximal inmediatamente por encima del tronco celiaco con monofilamento irreabsorbible.

Implante

A través de una laparotomía media se expone la vena cava y aorta infrarenales, dejando intacto el hígado e intestino nativo. El injerto se implanta de forma heterotópica, caudal al hígado nativo (Fig. 1). La anastomosis termino (T)-lateral (L) de la vena cava infrahepática del injerto a la vena cava infrarenal del receptor permite el drenaje venoso de los órganos. Su arterialización es a través de anastomosis T-L del conducto aórtico del injerto a la aorta infrarenal del receptor (Fig. 2). Tras desclampaje arterial, se lava el injerto con sangre a través de la vena cava suprahepática, para disminuir el síndrome de reperfusión. Una vez reperfundido el órgano se desclampa la vena infrahepática y se liga la vena cava suprahepática. La continuidad intestinal se restablece con



anastomosis del intestino distal del donante al yeyuno del receptor de forma T-L.

Manejo postoperatorio

No se utilizó inmunosupresión postoperatoria en ningún experimento. Los cerdos fueron alojados en jaulas y parques diseñados para animales; en salas con temperatura entre 14 y 24 °C, y humedad relativa entre 45 y 70%, con ciclos de luz-oscuridad en periodos de 12 horas. Si se realizó supervivencia, la analgesia administrada fue buprenorfina intramuscular cada 12 horas y profilaxis antibiótica con cefotaxima en las primeras 72 horas. Se introdujo alimentación estandar para cerdos ad libitum a las 16 horas.

RESULTADOS

La duración media del experimento, incluidos donante y receptor fue de 4,5 horas, y el tiempo medio de isquemia fría de 2,15 horas. Todos los animales receptores sobrevivieron al procedimiento quirúrgico con estabilidad hemodinámica. Solo se produjo un síndrome de post-reperfusión leve en 1 animal. Ningún cerdo precisó de transfusión sanguínea.

El experimento se dividió en tres fases. En la primera fase (6 animales) se comprobó la viabilidad de la técnica. Se sacrificaron inmediatamente al final de la cirugía. En la segunda fase, con 6 animales, se realizó supervivencia de 24 horas. En esta fase, 3 animales murieron en las primeras 24 horas. La necropsia reveló que fueron debidas a causas médicas (n=2), pues el injerto no presentaba alteraciones, y trombosis del conducto aórtico (n=1) con necrosis secundaria del injerto. De los 3 animales que sobrevivieron, 2 lo hicieron con injerto funcional; el animal restante había desarrollado una trombosis de la arteria hepática. El trombo se había desarrollado en el extremo del conducto aórtico, inmediatamente por encima del origen del tronco celiaco y la arteria mesentérica superior permanecía permeable. En estas 2 fases, se utilizaron donantes y receptores de igual peso (10 kg).

En la tercera fase con 4 animales, se realizó supervivencia de una semana y posterior sacrificio. Se utilizó discrepancia de peso 1 a 2 entre donante (rango 6-10 kg) y receptor (rango 15-20 kg). Su objetivo fue el de evitar tensión en el cierre de la cavidad abdominal y disminuir alteraciones en el retorno venoso. En este grupo se administró fraxiheparina (950 U) durante tres días como profilaxis de trombosis arteriales. Todos los animales sobrevivieron con injerto funcional. Solo un animal desarrolló diarrea leve.

DISCUSIÓN

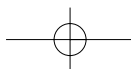
La raza porcina, a pesar de poseer una gran similitud anatómica con la raza humana, presenta diferencias importantes. A nivel hepático, imposibilita la hepatectomía con preserva-

ción de la vena cava retrohepática (técnica de piggy-back). Se precisa por tanto clampaje del pedículo hepático y la vena cava. Esta maniobra puede reducir el gasto cardiaco del animal hasta un 70%, con descenso en la presión sistémica arterial y de la arteria pulmonar y aumento en las resistencias vasculares pulmonares y sistémicas^(4,5,8). Para disminuir los efectos deletéreos de la exclusión vascular y la congestión del territorio esplácnico, se introdujo el bypass veno-venoso, generalmente de la vena porta a una de las yugulares, maniobra que prolonga la cirugía y no está exenta de riesgos⁽⁶⁻⁸⁾. En la fase anhepática también se producen trastornos severos de la coagulación que favorece el sangrado quirúrgico y contribuye a la necesidad de transfusiones sanguíneas⁽⁹⁾. En el modelo descrito, al preservar el hígado nativo, se obvian estos efectos adversos, además de los derivados de la propia cirugía hepática y transfusiones sanguíneas, simplificando significativamente el manejo anestésico, lo cual resulta en una supervivencia intraoperatoria del 100%.

Por otro lado, la finalidad íntima del trasplante hepático auxiliar es suplir la función del hígado nativo enfermo hasta que esta se recupere. Aunque no hay experiencia en revertir con trasplante de hígado auxiliar el fallo hepático por nutrición parenteral, esta técnica presenta el potencial de poder hacerlo.

Estudios experimentales han puesto de manifiesto que el trasplante hepático puede tener un efecto tolerogénico sobre otros órganos trasplantados conjuntamente⁽¹⁰⁾. En la rata, el trasplante intestinal realizado después del trasplante hepático, presenta una supervivencia prolongada aun sin inmunosupresión, mientras que si no se ha implantado el hígado los animales fallecen a los pocos días^(11,12). En el cerdo, el efecto protector del hígado sobre el intestino no se ha apreciado de forma tan clara⁽¹³⁾. En el campo clínico, si se ha observado que la incidencia del rechazo intestinal es menor y de menor severidad si el intestino se trasplanta conjuntamente con el hígado que aislado, lo que sugiere un efecto protector inmunológico del injerto hepático sobre el intestinal⁽¹⁴⁾.

Existen diferentes modelos de trasplante auxiliar de hígado en animal grande asociados a trasplante intestinal.^(15,16) Técnicamente difieren en varios aspectos del aquí descrito. No utilizan el duodeno y la vía biliar en continuidad, y por tanto, el manejo del conducto biliar difiere, canalizándolo al exterior o realizando una anastomosis bilio-entérica^(15,16). En la clínica, la utilización del duodeno y vía biliar en continuidad con el injerto es una técnica estandarizada, pues evita realizar la anastomosis bilio-entérica; se convierte en funcional la porción desfuncionalizada de intestino utilizada para la anastomosis bilio-entérica; y facilita técnicamente la posible partición del hígado⁽¹⁷⁾. También difieren en que el intestino nativo es sacrificado. Su ausencia, junto al daño isquémico del injerto y el desarrollo de rechazo favorece la diarrea con cambios metabólicos e hidroelectrolíticos. Al preservar el intestino nativo, se amortiguan esos efectos no deseados, y permite una nutrición adecuada y precoz.



La sencillez de la técnica quirúrgica del trasplante reduce los tiempos quirúrgicos, y facilita el manejo postoperatorio del animal, con el consiguiente beneficio sobre los recursos del laboratorio. Sin embargo, una desventaja de este modelo es la falta de espacio en la cavidad abdominal. Inicialmente utilizamos cerdos donantes y receptores de igual tamaño, y bajo peso, que son más lábiles al postoperatorio. El cierre a tensión de la pared abdominal puede interferir con el retorno venoso y pudo contribuir a la muerte de los animales del grupo 2. Por ello, la decisión de utilizar donantes de menor peso que el receptor en el grupo 3.

En conclusión, este modelo porcino de trasplante hepato-intestinal auxiliar heterotópico se caracteriza por su simplicidad, viabilidad técnica, y el potencial para realizar estudios fisiológicos e inmunológicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Reyes J, Bueno J, Kocoshis S, Green K, Abu-Elmagd H, Furukawa EM, Barksdale S, Todo TE. Starzl Current status of Intestinal Transplantation in children. *J Pediatr Surg* 1998;**33**:243-254.
2. Starzl TE, Kaupp HA Jr. Mass homotransplantation of abdominal organs in dogs. *Surg Forum* 1960;**11**:28-30.
3. Gatti S, Rossi G, Albani AP, Reggiani P, Caccamo L, Gridelli B, Lucianetti A, Paone G, Campanati L, Melada E. Orthotopic liver-small bowel allotransplantation-surgical technique in the pig. *Transplant Proc* 1994;**26**:1627-8.
4. Delva E, Barberousse J, Nordlinger B, Olliver J, Vacher B, Guilmet C, Huguet C. Hemodynamic and biochemical monitoring and during major liver resection with use of hepatic vascular exclusion. *Surgery* 1984;**95**:309-318.
5. López Santamaria M, Gamez M, Murcia J, Paz Cruz JA, Bueno J, Canser E, Qu B, Lobato R, Martinez L, Jara P, Tovar J. The effect of Hepatic vascular exclusion on hepatic blood flow and oxygen supply-uptake ration in the pig. *Eur J Pediatr Surg* 1997;**7**:270-274.
6. Benedetti E, Pirenne J, Moon Chul S, Fryer J, Fasola C, Hakim N, Troppman C, Beebe D, Carr R, Belani K, Gruessner R. Simultaneous en bloc transplantation of liver, small bowel, large bowel in pigs-technical aspects. *Transplant Proc* 1995;**27**:341-3.
7. Pirenne J, Benedetti E, Gruessner A, Moon C, Hakim N, Fryer J, Troppman C, Nakhleh R, Gruessner R. Combined transplantation of small and large bowel. FK506 versus Cyclosporine A in a porcine model. *Transplantation* 1995;**59**:164-71.
8. Blankensteijn J, Groenland T, Baumgartner D, Vos L, Kerkhofs L, Terpstra O. Intraoperative hemodynamics in liver transplantation comparing orthotopic with heterotopic transplantation in the pig. *Transplantation* 1990;**19**: 667.
9. Porte R, Blankensteijn J, Knot E, de Maat M, Groenland T, Terpstra O. A comparative study on changes in hemostasis in orthotopic and auxiliary liver transplantation in pigs. *Transplant Int* 1991;**4**:12-17.
10. Calne RY, Sells RA, Pena JR, Davis DR, Millard PR, Herbertson RM, Binns RM, Davies DA. Induction of immunological tolerance by porcine liver allografts. *Nature* 1969;**223**:472-476.
11. Sarnacki S, Cerf Bensussan N, Revillon Y, Calise D, Goulet O, Ricour C et al. Long-term small bowel graft survival induced by spontaneously tolerated liver allografts in inbred rat strains. *Transplant Proc* 1992;**24**:1210.
12. Zhong R, He G, Sakai Y, Li XC, Garcia B, Wall W et al. Combined small bowel and liver transplantation in the rat: possible role of the liver in preventing intestinal allograft rejection. *Transplantation* 1991;**52**:550-552.
13. Toledo Pereyra LH. Small bowel preservation: evolution of methods and ideas, and current concepts. *Transplant Proc* 1992;**24**:1083-1084.
14. Abu-Elmagd K, Reyes J, Todo S, Rao, Lee R, Irish W, Furukawa H, Bueno J, McMichael J, Fawzy A, Murase N, Demetris J, Rakela J, Fung J, Starzl T. Intestinal transplantation. New perspectives and Immunologic considerations. *J Am Coll Surg* 1998;**186**:512-527.
15. Calleja J, Martín J, Vazquez J, Alvarez E. Modelo de trasplante de intestino asociado a un injerto hepático reducido en situación heterotópica. *Rev Esp Enf Digest* 1997;**89**:375-379.
16. Theal M, McAlister VC, He G, Wright J, MacDonald AS, Bitter-Suermann H, Lee TD. Effect of auxiliary liver transplantation on the simultaneous transplanted small bowe allograft. *Transplant Proc* 1994;**26**:1620.
17. Bueno J, Abu-Elmagd K, Mazariegos G, Madariaga J, Fung J, Reyes J. Composite liver-small bowel allografts with preservation of donor duodenum and hepatic biliary system in children. *J Pediatr Surg* 2000;**35**:291-296.