

Conservación de órganos

MORENO SIERRA, J.; JIMÉNEZ PENICK, F.J.; REDONDO GONZÁLEZ, E.;
BOCARDÓ FAJARDO, G.; SILMI MOYANO, A. Y L. RESEL ESTÉVEZ.

Cátedra y Servicio de Urología
Hospital Clínico San Carlos - Madrid

INTRODUCCIÓN

El éxito de un trasplante renal depende de múltiples factores, debiendo ser exquisitos en la selección y conservación de órganos. En este sentido, deberemos poseer los conocimientos necesarios sobre isquemia renal que permitan una adecuada conservación, ya que es de todos conocido que el tiempo de isquemia es un factor fundamental que puede condicionar el resultado del trasplante. El riñón es un órgano muy sensible a la isquemia, pudiéndose producir importantes lesiones en relación con el tiempo y con los métodos de conservación. Cuando se extrae un órgano debe considerarse iniciada la cuenta atrás de un complejo mecanismo de relojería, reto para cualquier equipo de trasplante renal.

Diferentes trabajos de investigación se han interesado en comprender los mecanismos lesivos de la isquemia, con la finalidad de poder contrarrestarlos en la búsqueda de un método de preservación eficaz para estos órganos. La preservación del órgano ha de iniciarse en el mismo momento en que se certifica la muerte del donante, describiéndose dos fases hasta la implantación del órgano:

1. *Tiempo de isquemia caliente.* Comprendido entre el cese del flujo sanguíneo por el órgano y la colocación del mismo en un medio de preservación. En los riñones el tiempo de isquemia caliente oscila entre 20 y 30 minutos, aproximadamente.
2. *Tiempo de isquemia fría.* Se trata del tiempo en que el órgano queda almacenado hasta el momento de su implantación en el receptor. Este tiempo oscila entre 48 y 72 horas y depende del tipo de preservación que utilicemos.

BASES FUNDAMENTALES DE LA LESIÓN RENAL POR ISQUEMIA

Como hemos comentado anteriormente el riñón es un órgano muy sensible a la isquemia e inmediatamente después de la parada circulatoria se inician cambios bioquímico-estructurales, que con el tiempo terminaran por hacerse irreversibles y provocaran la muerte celular. En primer lugar, como consecuencia de la hipoxia, se produce una afectación de la respiración aeróbica (fosforilación oxidativa mitocondrial), con disminución en la producción de ATP, que es el sustrato energético del que se sirve la célula. Para ello utiliza la bomba Na/K ATPasa que mantiene las concentraciones de iones intracelulares.

Cuando se afecta la bomba se produce un movimiento de iones cuyo resultado es la pérdida de K y Mg del interior celular y entrada de ClNa y Ca. Este fenómeno arrastra agua hacia el interior de la célula y produce el denominado «edema celular», que conjuntamente con el edema del retículo endoplasmático rugoso (RER) y la dispersión de ribosomas del RER (cuyas uniones también dependen del ATP) son las primeras alteraciones celulares detectables a nivel microscópico.

Por otra parte, la caída de los niveles de ATP y las condiciones de hipoxia activan la glicólisis anaerobia produciéndose un acúmulo de ácido láctico con el consiguiente descenso del pH. Esta acidosis intracelular produce contracción de la cromatina nuclear, afectando la estabilidad de los lisosomas con liberación y activación de enzimas líticas que provocan lisis celular. En una fase más avanzada de isquemia aparecen vesículas en la superficie celular (resultado de la lesión de la membrana), se pierden las microvellosidades de la superficie celular (en el túbulo contorneado proximal) y aparecen las «figuras de mielina» citoplasmáticas (acúmulos de restos de membrana celular y estructuras intracelulares). Finalmente, las lesiones terminan por hacerse irreversibles desembocando en la muerte celular. Esta irreversibilidad se manifiesta morfológicamente por vacuolización mitocondrial, intensas alteraciones de la membrana celular e hinchazón de los lisosomas.

En recientes estudios se ha dado especial importancia al daño paradójico que se produce con la reperfusión de los tejidos. Por una parte, con la reperfusión existe una oferta muy importante de calcio a las células. Las membranas celulares, dañadas por la hipoxia, no pueden impedir su entrada masiva al interior celular. Este aumento súbito del calcio intracelular activa las fosfolipasas citosólicas que degradan los fosfolípidos de la membrana celular provocando su lisis. Por otra parte, otro mecanismo lesivo importante que ocurre con la reperfusión es la formación de radicales libres de oxígeno (RLO), que provocan una cadena de reacciones oxidativas de sustancias (oxidación de los lípidos de

membrana celular, etc) hasta que son neutralizadas por los mecanismos de defensa celulares. Los RLO que se producen en la reperfusión provienen, en parte, de las enzimas de las células PMN que acuden a la zona de la lesión, y por otra parte como resultado del metabolismo de los productos de degradación de las purinas (degradación del ATP) con la participación de la enzima Xantino Oxidasa (que transforma hipoxantina en xantina y posteriormente en urato con la formación de iones superóxido).

CONTROL DE LAS LESIONES ISQUÉMICAS

Para mantener la viabilidad de los injertos se han evaluado diferentes sistemas que persiguen minimizar y controlar las lesiones isquémicas. En este apartado deben tenerse en cuenta la protección «in situ» y la conservación «ex vivo». En el primero de los casos se utiliza la resucitación del donante durante la fase agónica (ventilación del donante previa a nefrectomía) y la preparación del riñón por medios farmacológicos frente a la anoxia (fármacos que mejoren la función miocárdica y gasto, incrementen la tensión arterial e incrementen la perfusión renal, dopamina), evitándose así el fallo renal. Debemos considerar que existen una serie de medidas farmacológicas que pretenden actuar sobre la isquemia caliente, este es el caso de la inosina y agonistas del calcio.

La conservación «ex vivo» tiene como objetivo frenar el metabolismo, utilizando la hipotermia simple, oxígeno hiperbárico y perfusión continua (con sangre o con plasma).

MÉTODOS DE CONSERVACIÓN METABÓLICA

Con éstos, se pretende mantener la actividad metabólica del órgano intentando asemejarse lo más posible a las condiciones del órgano en vida. Es por tanto el método más fisiológico. Son métodos por lo general más complicados y más caros donde sólo se ha podido instaurar de forma más importante la perfusión hipotérmica de plasma homólogo con bomba pulsátil asociado a un oxigenador de membrana. La intermitencia del flujo mantiene el estado vascular del órgano, disminuyendo el daño que produce el flujo continuo. Además al estar el órgano en perfusión constante, se eliminan los metabolitos tóxicos que se producen durante el metabolismo hipotérmico. Con este sistema, se han conseguido trasplantar con éxito riñones tras 72 horas de isquemia fría.

MÉTODOS DE INHIBICIÓN METABÓLICA

Pretenden enlentecer el catabolismo normal de la célula hipóxica retrasando así la lesión grave e irreversible de los tejidos. Se ha demostrado que la disminución de la temperatura enlentece la actividad enzimática (metabolismo) con disminución de los requerimientos de oxígeno llegando incluso a paralizarla con temperaturas inferiores a los 0 °C (congelación). La congelación no ha sido útil para la preservación de vísceras porque produce la formación de cristales de hielo que destruyen la célula; problema que no se ha conseguido todavía controlar. Esto no ocurre con la hipotermia a 4 °C. Sin embargo, la hipotermia no está exenta de efectos adversos. A su capacidad de disminuir la actividad metabólica y por tanto el consumo de ATP hay que añadir que también afecta a la actividad de la enzima Na/K ATPasa. Esto quiere decir que la hipotermia va a favorecer el edema celular. Para conseguir la hipotermia, se realiza la infusión vascular de líquidos fríos, de manera que además de conseguir un enfriamiento homogéneo del órgano proporciona un lavado intravascular con arrastre de elementos formes, isoaglutininas y factores de coagulación que dificultan la microcirculación. Estos líquidos empleados para enfriar el órgano, han ido variando su composición, añadiendo nuevos aditivos, para conferir al órgano una protección frente a los efectos de la isquemia y de la hipotermia, constituyendo los diferentes líquidos de preservación.

CARACTERÍSTICAS DE LOS LÍQUIDOS DE PRESERVACIÓN

Como hemos comentado, las soluciones de preservación han evolucionado mucho según se han ido conociendo los mecanismos patogénicos de las lesiones por isquemia y los métodos para contrarrestarlas. En un principio, se usaban «soluciones cristaloides» que se comprobó que favorecían el edema celular al aportar gran cantidad de sodio a la célula hipóxica. Por eso se empezaron a utilizar «soluciones hiperosmolares» para intentar contrarrestar este edema, surgiendo así la solución de Sacks (usaba manitol como componente osmótico), de Collins (glucosa y fosfatos), de Calne (con PPF o fracción proteica del plasma, principalmente albúmina), de Lambotte (sucrosa), etc. Más tarde, se fueron retocando estas soluciones para evitar la transmineralización de iones celulares, asemejándose su composición de iones a las del líquido intracelular. Así surgen las «soluciones intracelulares» (Collins C1, C2, C3, C4 y EuroCollins), a las que luego se han ido introduciendo nuevos aditivos para perfeccionarlas y llegar así a producir otras soluciones más complejas entre las que se encuentra la solución de la Universidad de Wisconsin (UW), que es una de las más usadas en la actualidad.

Con los diferentes componentes de los líquidos de preservación se consigue:

MINIMIZAR EL EDEMA CELULAR

El edema celular se produce, como ya hemos dicho, como consecuencia del paso de iones a favor de los gradientes de concentración a uno y otro lado de la membrana celular, resultado de la disminución de la actividad de la Na/K ATPasa. Para evitar en lo posible esta translocación iónica, los líquidos de preservación intentan disminuir estos gradientes asemejándose en su contenido iónico a la composición de iones intracelular (alto en K y pobre en Na). Además, para evitar el paso de agua al interior de la célula, contienen sustancias osmóticamente activas como azúcares (glucosa, sucrosa, manitol) o lactobionato, trisacáridos, rafinosa, etc.

MINIMIZAR LA ACIDOSIS INTRACELULAR

La acidosis intracelular se produce como resultado de la glicolisis anaerobia. La hipotermia, en parte, disminuye ya de por sí esta glicolisis. Para contrarrestarla se introducen sustancias tampón que mantienen el pH como: bicarbonato, citrato, fosfatos, lactobionato, histidina, etc. Hay que tener en cuenta, en cuanto a este mecanismo, que la inclusión de glucosa como sustancia osmótica en las soluciones de preservación puede ser perjudicial en tejidos con gran capacidad glicolítica (como el hígado), ya que estimula la glicolisis anaerobia y por tanto aumenta la acidosis.

PREVENIR EL EFECTO DE LOS RADICALES LIBRES DE OXÍGENO (RLO)

Así se añaden sustancias antioxidantes con actividad «scavenger» para frenar el efecto de los RLO, como por ejemplo: glutatión, manitol, dimetilgliourea, quelantes de hierro (desferroxamina). También se pueden añadir enzimas como la superóxido dismutasa que metaboliza iones superóxido y cuya infusión por la arteria renal en el momento de la reperusión ha demostrado una mejoría significativa de la función renal postrasplante para riñones con tiempos de isquemia fría moderados (25-28 horas). A nivel de la génesis de RLO por la vía de degradación de las bases purínicas se puede actuar añadiendo inhibidores de la xantina oxidasa (como el alopurinol).

APORTAR PRECURSORES DE ATP

Así se añade inosina, adenosina, etc., que permiten una rápida reposición de los niveles de ATP. Sin embargo, estos compuestos se han mostrado perjudiciales en órganos con gran actividad de la xantina oxidasa, como el pulmón y el intestino delgado, ya que favorecen la formación de RLO.

DISMINUIR LA ENTRADA DE CÁLCIO DURANTE LA REPERFUSIÓN

Esta entrada de calcio es muy dañina ya que activa la fosfolipasa citosólica que ataca a la membrana celular. Por eso se añaden sustancias bloqueantes de los canales de calcio como el verapamilo, el nifedipino o el diltiazem. Estas sustancias también se han mostrado útiles como tratamiento de la insuficiencia renal postrasplante. A este nivel, también se puede actuar con sustancias inhibitoras de la calmodulina (trifluoperacina) que es la proteína citosólica receptora de calcio.

APORTAR SUSTANCIAS PROTECTORAS DE MEMBRANA CELULAR

Los líquidos de preservación pueden incluir también corticoides (dexametasona) o clorpromacina que han demostrado sus cualidades protectoras de la membrana.

APORTAR SUSTANCIAS VASOACTIVAS

Con estas sustancias se consigue una mejor perfusión del órgano trasplantado. Así, pueden contener isoproterenol, dopamina, antagonistas de los receptores de endotelina (sustancia enormemente vasoconstrictora que aumenta durante la isquemia renal), etc.

DISMINUCIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA PRODUCIDA POR LA ISQUEMIA

Esta respuesta inflamatoria puede desencadenar un círculo vicioso al desarrollar nuevas lesiones mediante sus mecanismos humorales o aporte de RLO de los PMN. Existen sustancias inmunomoduladoras que pueden controlar este efecto. Así, se está investigando con la incorporación de anticuerpos monoclonales frente a CD11/CD18 de los PMN, frente al

ICAM-1 de las células endoteliales, y sustancias antagonistas del receptor del PAF (BN52021).

OTROS ADITIVOS

- **Prostaglandinas:** tienen efecto vasodilatador, citoprotector e inmunomodulador (inhibiendo la adhesión de PMN).
- **Cloruro magnésico:** tiene capacidades protectoras funcionales y morfológicas relacionadas con el aumento del Mg mitocondrial.
- **Taurina:** disminuye el edema celular, tiene efecto sobre la homeostasis del calcio y sobre la recuperación metabólica tras la reperfusión.
- **Hormonas tiroideas (T3):** tienen efectos beneficiosos a dosis fisiológicas al aumentar la fosforilación oxidativa.

PRINCIPALES LÍQUIDOS DE PRESERVACIÓN RENAL

Solución de Euro Collins (EU)

Es una solución de tipo «intracelular» (ya que su concentración de diferentes iones se asemeja a la del líquido intracelular) resultado de la evolución de la solución creada por Collins en los años 70. Se caracteriza por su sencillez y por presentar un alto contenido en glucosa como componente osmótico, además de K, Na, Cl y CO₃H. Con este líquido de preservación, los estudios han demostrado una buena conservación de los riñones en hipotermia de hasta 48 horas.

Solución de la Universidad de Wisconsin (UW)

Esta solución fue creada por Beltzer durante los años 80 cuando buscaba una solución que pudiera ser más efectiva a cualquier órgano (solución universal). Así suprimió en primer lugar la glucosa para no favorecer la glicolisis anaerobia con el consiguiente aumento de la acidez intracelular (vía metabólica especialmente importante en el hígado). Para sustituir las cualidades osmóticas de la glucosa, introdujo el lactibionato, la rafinosa y el HES (siglas del Hydroxethyl starch o almidón sintético). Además contiene sustancias tampón (fosfato y sulfato), precursores de la síntesis de ATP (adenosina), sustancias con actividad anti-RLO (el glutatió como sustancia «scavenger» y el alopurinol que es un inhibidor de la xantino oxidasa) y citoprotectores (magnesio,

dexametasona e insulina). Estudios de preservación renal con solución UW han conseguido buenos resultados en trasplantes de riñones con unos tiempos de isquemia fría de 72 horas (Southard et al.,1990).

Costudiol o solución HTK

Es una solución de preservación diseñada por el profesor Bretschneider (1961) que se usa especialmente en países germanos. Como sustancias osmóticas usa el manitol y la histidina (también con efecto tampón). También incorpora sustancias estabilizadoras de la membrana celular como el triptófano y el ketoglutarato (éste último también útil como componente energético). Sus resultados en el trasplante renal son similares a los obtenidos con la solución UW.

CONCLUSIONES

A continuación, en la tabla 1 podemos valorar comparativamente las principales soluciones utilizadas.

Perfusión pulsátil en bomba

La preservación renal mediante la perfusión pulsátil con bomba, es una técnica más compleja y costosa que en los estudios comparativos realizados, sólo ha demostrado ser más efectiva para riñones dañados previamente por un tiempo de isquemia caliente prolongado. No aporta ventajas en riñones con un mínimo tiempo de isquemia caliente y con períodos de preservación menores de 24 horas.

Queremos terminar diciendo que en la práctica diaria, el método más empleado para la preservación de los riñones tras su extracción, consiste en la perfusión intravascular con solución de preservación (generalmente solución UW) a 4 °C hasta obtener el efluyente claro. Tras esta maniobra, se sumerge el riñón en una bolsa estéril con solución fría en su interior para luego colocarla en una nevera portátil rodeada de hielo picado. Esto permite una conservación rápida, sencilla, barata y de fácil transporte.

Sobre el líquido de preservación a utilizar, los estudios practicados son de difícil interpretación dada la gran cantidad de factores que influyen en el resultado final del trasplante renal. Un estudio aleatorio prospectivo de 257 injertos renales de donante cadáver preservados en solución UW o EC ha demostrado que el empleo de la solución UW se acompaña de una reducción significativamente más rápida del nivel sérico de creatinina y se asociaba con una tendencia a una menor duración de la diálisis postoperatoria que la solución EC (Ploeg, 1990). Sin embargo otros estudios a gran escala no han podido constatar estas diferencias. Por tanto quedan a la elección del grupo de trasplantes y su experiencia.

TABLA 1

(mmol/l)	HTK	EC	UW	Efecto:
SODIO	15	10	30	Electrolito.
POTASIO	10	115	120	Electrolito.
MAGNESIO	4	–	5	Electrolito citoprotector.
CLORO	50	15	–	Electrolito.
BICARBONATO	–	10	–	Tampón.
FOSFATO	–	50	25	Tampón.
SULFATO	–	–	5	Tampón.
HISTIDINA	100	–	–	Tampón y osmótico.
GLUCOSA	–	195	–	Osmótico.
MANITOL	30	–	–	Osmótico.
RAFINOSA	–	–	30	Osmótico.
LACTOBIONATO	–	–	100	Osmótico y quelante de Fe y Ca.
ADENOSINA	–	–	5	Energético.
KETOGLUTARATO	1	–	–	Energético.
GLUTATIÓN	–	–	3	Anti-RLO.
ALOPURINOL	–	–	1	Anti-RLO. (inhib xantino oxidasa)
HES (gr/l)	–	–	50	Coloide sintético.
TRIPTÓFANO	2	–	–	Estabilizador de membrana.
DEXAMETASONA	–	–	8	Estabilizador de mambrana.
INSULINA (U/l)	–	–	100	Estabilizador de membrana.
MOsm/LITRO	310	355	320	
PH		7'3	7'4	

BIBLIOGRAFÍA

1. COLLINS, G; BRAVO, M; TERASAKI, P. Kidney preservation for transplantation. Initial perfusion and 30 hour ice storage. Lancet 1969; 2: 1219.
2. BELTZER, FO; SOUTHARD, JH. Principles of solid-organ preservation by cold storage. Transplantation 1988; 45: 673.

3. JONSON, R. El riñón del Donante, en: Chisholm, GD y Fair, W. Fundamentos científicos de Urología. Tomo I. Salvat 1991.
4. PLOEG, R; BOCKEL, J; LANGENDIJK, P. et al. Effect of preservation solution on results of cadaveric kidney transplantation. *Lancet* 1992; 340: 120.
5. SALADIE, JM Y PEYSACH, L. Extracción de órganos para trasplante, en: Jiménez, JF y Rioja, L. Tratado de Urología, tomo II. Ed. Prous, 1993.
6. SOUTHARD, JH. Improving early graft function: role of preservation. *Transplant. Proc.* 1997; 29: 3510.
7. SUÁREZ, J; RIERA, L; FRANCO, E. et al. Preservación mediante máquina de perfusión pulsátil: experiencia inicial. *Actas. Urol. Esp.* 1999; 23: 596.
8. MUHLNACHER, F; LANGER, F Y MITTERMAYER, C. Preservation solutions for transplantation. *Transplant. Proc.* 1999; 31: 2069