



## Original

# Estudio hemodinámico, metabólico e histopatológico de un modelo porcino de trasplante auxiliar heterotópico hepático con arterialización portal



Olga M Fernández-Rodríguez<sup>a</sup>, Antonio Ríos<sup>a,b,\*</sup>, Carlos Palenciano<sup>a,c</sup>, Pablo Ramírez<sup>a,b</sup>, José Luis Navarro<sup>d</sup>, Laura Martínez-Alarcón<sup>a</sup>, Carlos Martínez<sup>e</sup>, Teodomiro Fuente<sup>d</sup>, José Antonio Pons<sup>f</sup>, José Antonio Navarro<sup>e</sup>, Maruja Majado<sup>g</sup>, Pedro Martínez<sup>g</sup> y Pascual Parrilla<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Cirugía, Cirugía Experimental, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

<sup>b</sup>Departamento de Cirugía, Unidad de Trasplante Hepático, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

<sup>c</sup>Departamento de Anestesia, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

<sup>d</sup>Departamento de Medicina Nuclear, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

<sup>e</sup>Departamento de Patología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, España

<sup>f</sup>Departamento de Medicina Interna, Unidad de Trasplante Hepático, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

<sup>g</sup>Departamento de Hematología, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

## INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

## Historia del artículo:

Recibido el 2 de septiembre de 2015

Aceptado el 18 de septiembre de 2015

On-line el 23 de noviembre de 2015

## Palabras clave:

Trasplante auxiliar heterotópico hepático

Arterialización portal

Anastomosis vascular

Estudio histopatológico

Respuesta hemodinámica

Valoración bioquímica

## RESUMEN

**Introducción:** El trasplante auxiliar heterotópico hepático con arterialización de la vena porta (TAHH-AVP) es un modelo poco estudiado a pesar de su potencial terapéutico. El objetivo del estudio es valorar la respuesta hemodinámica y bioquímica durante el implante y analizar la repercusión de la arterialización portal en la funcionalidad y morfología hepática.

**Métodos:** Se realizó un estudio hemodinámico y bioquímico durante el implante auxiliar en un modelo porcino (n = 15 TAHH-AVP). Además, se analizaron las consecuencias de la arterialización portal sobre la arquitectura hepática mediante un estudio ultraestructural. **Resultados:** La reperfusión del injerto arterializado aumentó la frecuencia cardíaca (FC) respecto a los valores basales (p = 0,004) y a la fase del pinzamiento de la vena cava (p = 0,004) y disminuyó las resistencias vasculares sistémicas respecto a la fase del pinzamiento de la vena cava (p = 0,021). Al final del implante, el gasto cardíaco permaneció elevado (p = 0,001), al igual que la FC respecto a la fase basal (p = 0,002). La presión arterial media disminuyó con el pinzamiento venoso, pero no se vio afectada ni por la reperfusión del injerto ni por el cierre de la piel. Todas las muestras histológicas obtenidas a los 3, 10 y 21 días conservaron su morfología y arquitectura hepáticas. Si bien se observaron algunos focos de necrosis perilobular el día 3 (p = 0,049) y proliferación conectiva perilobular el día 10 (p = 0,007), respecto al hígado nativo.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: arzrios@um.es (A. Ríos).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ciresp.2015.09.007>

0009-739X/© 2015 AEC. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

**Conclusiones:** El trasplante del injerto hepático arterializado descrito minimiza el número de anastomosis vasculares respecto a los modelos previamente publicados, presenta una buena tolerancia hemodinámica y metabólica, y la arterialización portal del injerto no produce cambios significativos en la histología hepática.

© 2015 AEC. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

## A hemodynamic, metabolic and histopathological study of a heterotopic auxiliary swine liver graft with portal vein arterialization

### A B S T R A C T

#### Keywords:

Auxiliary heterotopic liver transplantation  
Portal vein arterialization  
Vascular anastomoses  
Histopathological study  
Haemodynamic responses  
Biochemical assessment

**Background:** Auxiliary heterotopic liver transplantation with portal vein arterialization (AHLT-PVA) is a model that has been hardly studied, despite its therapeutic potential.

**Methods:** Hemodynamic and biochemical characterization was carried out during graft implantation, in a pig-to-pig model (n = 15 AHLT-PVA). Furthermore a histopathological study was performed to establish microscopic alterations due to PVA.

**Results:** Reperfusion of the arterialized graft produced an increase in heart rate (HR) vs. baseline (P=.004) and vs. inferior vena cava clamping phase (P=.004); and a decrease in systemic vascular resistance vs. cava clamping phase (P=.021). At the end of implantation, cardiac output remained elevated (P=.001), likewise HR remained increased vs. baseline phase (P=.002). Mean arterial pressure decreased with cava clamping, but was not affected by the reperfusion of the graft, nor the skin closure. The histopathological study at 3, 10, and 21 days post-PVA revealed that functional liver structure was maintained although it is common to find foci of perilobular necrosis on day 3 (P=.049), and perilobular connective tissue proliferation at day 10 (P=.007), vs. native liver.

**Conclusions:** The described arterialized liver graft model minimizes the number of vascular anastomoses vs. previously described models. It is hemodynamically and metabolically well tolerated and the double arterial vascularization of the graft does not cause significant changes in liver histology.

© 2015 AEC. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

## Introducción

El trasplante ortotópico hepático (TOH) es el tratamiento de elección para enfermedades hepáticas crónicas en estadio terminal<sup>1-3</sup>. El trasplante auxiliar hepático (TAH) tiene unas indicaciones más limitadas, aunque puede ser una alternativa al TOH en determinadas situaciones como: a) hepatopatías metabólicas no cirróticas, o fallo hepático fulminante potencialmente reversible en el que se contempla la recuperación del hígado nativo<sup>4-9</sup>; b) injertos hepáticos extremadamente pequeños<sup>10,11</sup> y c) incluso en el xenotrasplante, como situación puente hasta la disponibilidad de un injerto humano compatible para TOH<sup>12</sup>.

La arterialización de la vena porta (AVP) es una variante técnica, que asociada al trasplante auxiliar heterotópico hepático (TAHH) permite conservar el hilio hepático nativo intacto, evitando el fenómeno de competencia por el flujo portal entre los 2 hígados y proporcionando al hígado nativo unas condiciones óptimas para su potencial regeneración<sup>13-18</sup>. Si bien la arterialización portal va a someter al territorio portal hepático a un hiperflujo arterial a alta presión.

El objetivo es analizar las alteraciones hemodinámicas, electrolíticas y del equilibrio ácido base que se producen en un modelo porción de TAHH-AVP durante el implante en el receptor, y analizar los cambios histopatológicos que se generan en el injerto.

## Método

### Animales

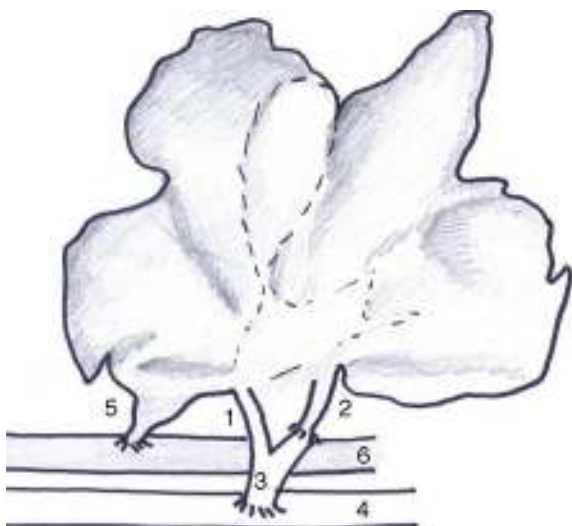
Se realizaron 15 TAHH-AVP para los que se emplearon cerdos hembras cruce de las razas Large White y Landrace, de 12 kg los donantes y 25 kg los receptores y los utilizados para la obtención de recursos hemoterápicos. Para determinar la compatibilidad donante-receptor se realizaron pruebas cruzadas de aglutinación<sup>19</sup>.

Todos los protocolos experimentales fueron aprobados por el Comité Ético de nuestra universidad, responsable de la aplicación de la Directiva 2010/63/UE. Los animales fueron anestesiados con isoflurano (1,5-2%) y fentanilo (0,03-0,05 mg/kg/h).

### Técnica quirúrgica

En el donante se realizó una hepatectomía estándar con la salvedad de la disección retrogástrica de la arteria hepática<sup>18</sup>.

El modelo de AHLT-PVA previamente descrito por nuestro grupo<sup>18</sup> sufrió 3 modificaciones: 1) anastomosis arterial a la aorta infrarrenal del receptor por la alta incidencia de trombosis (fig. 1); 2) sección de la vena cava infrahepática a nivel del lóbulo caudado para evitar acodamientos; 3) trasplante auxiliar completo por frecuencia de sangrado desde



**Figura 1 – Esquema del trasplante auxiliar heterotópico hepático con arterialización de la vena porta. 1) Arteria hepática del donante. 2) Vena porta del donante. 3) Aorta del donante. 4) Aorta del receptor. 5) Vena cava inferior del donante. 6) Vena cava inferior del receptor.**

la superficie de resección y 4) drenaje del conducto biliar común al exterior para valorar la producción biliar.

#### **Análisis hemodinámico**

Para el estudio hemodinámico se empleó un catéter venoso central en la vena yugular interna y un catéter en arteria femoral conectado al monitor Picco® (Pulsion Medical Systems, Feldkirchen, Alemania)<sup>20</sup>, que mide el gasto cardiaco (GC) usando la termodilución transpulmonar y la onda de pulso arterial.

Las variables hemodinámicas analizadas fueron la presión arterial media, la presión venosa central, el GC, las resistencias vasculares sistémicas (RVS), el volumen telediastólico global, el volumen sanguíneo intratorácico, el volumen pulmonar extravascular y la frecuencia cardiaca (FC). Las mediciones se realizaron en 4 momentos del implante: A) tras la incisión de la piel (basal), B) tras el pinzamiento de la vena cava caudal infrahepática, C) tras la reperfundición y D) al cierre de la piel<sup>21</sup>. Se utilizaron como control los valores basales.

#### **Análisis bioquímico y de gases en sangre**

Como líquido de mantenimiento y tras la reperfundición, se empleó suero salino fisiológico. Se transfundió sangre total anticoagulada con citrato sódico si la hemoglobina era <10 g/dl.

Las gasometrías se realizaron en el analizador de gases Irma® (Diametrics Medical, Minnesota, EE. UU.), midiéndose pH arterial, presión parcial de oxígeno (pO<sub>2</sub>), presión parcial de dióxido de carbono (pCO<sub>2</sub>), bicarbonato estándar (HCO<sub>3</sub>), exceso de bases, potasio (K<sup>+</sup>), sodio (Na<sup>+</sup>), calcio ionizado (Ca<sup>++</sup>) y hemoglobina (Hb).

Los parámetros bioquímicos y de gases se analizaron en las mismas fases en las que se determinaron las variables hemodinámicas, utilizando como control los valores basales.

#### **Protocolo inmunosupresor**

El protocolo inmunosupresor seguido fue el previamente descrito<sup>22</sup>.

#### **Protocolo de seguimiento**

Se midió diariamente la producción biliar, y se realizaron analíticas sanguíneas diarias (hemograma, coagulación y perfil hepático) hasta el día 4 post-TAHH y, posteriormente, con una periodicidad semanal y siempre que se presentó alguna complicación.

Como técnicas diagnósticas se realizaron:

1. Controles ecográficos con un ecodoppler color bidimensional ECCO-GEE® (Toshiba Corporation Medical Systems Division, Tokio, Japón) a los 3 y 10 días, y ante sospecha de disfunción del injerto.
2. Para la valoración de la integridad y funcionalidad hepática del injerto se realizó un estudio gammagráfico con una gammacámara E.CAM Single® (Siemens, Erlangen, Alemania) de 2 tipos: a) gammagrafía con microagregado de albúmina humana coloidal marcada con <sup>99m</sup>Tc, y b) gammagrafía dinámica con ácido di-iso-propil-imino-diacético (DI-sida) marcado con <sup>99m</sup>Tc. Los controles se realizaron a los 7 y 14 días o ante deterioro del animal.

#### **Estudio histopatológico hepático**

Se tomaron muestras del injerto los días 3 (estudio precoz), 10 (estudio intermedio) y 21 (estudio tardío) y se utilizó como tejido control una muestra del hígado nativo. Las muestras hepáticas se obtuvieron con un *trucut* ecoguiado o mediante biopsia abierta en los casos en los que el día de la toma de muestra coincidió con una laparotomía. Debido al riesgo de hemorragia, las muestras de endotelio portal solo se tomaron el día 21, antes de sacrificar a los animales<sup>15</sup>. Todas las muestras se tiñeron con hematoxilina-eosina y tricómico de Masson y fueron evaluadas por 2 patólogos que desconocían los códigos de las muestras.

Para determinar el porcentaje de tejido dañado, se calculó el área de parénquima afectado de una superficie conocida (10 campos a 4x, 800.000 μm<sup>2</sup>/campo). Para analizar otros parámetros, seguimos la siguiente puntuación:

1. Dilatación sinusoidal y congestión: (–) negativo; (+) 0-10% del parénquima afectado; (++) 10-20%; (+++) más del 20%.
2. Infiltrado inflamatorio mononuclear inespecífico: (–) negativo; (+) manguitos perivasculares con localización periportal.
3. Hiperplasia de conductos biliares: (–) negativo; (+) neoformación de conductos biliares en áreas periportales.

#### **Análisis estadístico**

En las mediciones hemodinámicas y bioquímicas, para asegurar la reproducibilidad, se calculó la media de 3 mediciones consecutivas<sup>23</sup>. Para determinar si cambiaban a

lo largo de la cirugía, se comparó cada fase con la fase previa y con el valor basal por medio de la prueba T de Student.

Respecto al estudio histopatológico, para valorar los cambios a lo largo del tiempo, cada fase se comparó con las otras mediante el test de Wilcoxon. Además, cada fase se comparó con las muestras del hígado nativo mediante el test de Mann-Whitney.

## Resultados

### Análisis hemodinámico (n = 15)

Al acabar la cirugía se consideró un trasplante exitoso si se objetivaba flujo arterial al injerto, un drenaje venoso adecuado y producción biliar.

La reperusión del injerto arterializado produjo un aumento de la FC respecto a la basal (p = 0,004) y a la fase de pinzamiento venoso (p = 0,004); y una disminución de las

resistencias vasculares respecto a la fase de pinzamiento (p = 0,021). Al final del implante, el GC permaneció elevado (p = 0,001), al igual que la FC respecto a la fase basal (p = 0,002) (tabla 1).

### Estudio bioquímico (n = 15)

Durante la reperusión del injerto el sodio aumentó (p = 0,014) respecto al valor previo; el bicarbonato (p = 0,009) y el exceso de bases (p = 0,03) disminuyeron respecto a valores basales. Al final de la cirugía, la pO<sub>2</sub> permaneció elevada (p = 0,01) y el bicarbonato disminuido (p = 0,037) respecto a valores basales (tabla 2).

### Estudio histopatológico (n = 15)

Con la excepción de un animal que tuvo trombosis en la anastomosis arterial, en el resto la gammagrafía demostró claramente la funcionalidad del injerto arterializado (fig. 2).

**Tabla 1 – Mediciones hemodinámicas en la fase basal (A), tras el pinzamiento de la vena cava inferior (B), tras la reperusión (C) y al cierre de la piel (D)**

|                               | A              | B               | C                | D               |
|-------------------------------|----------------|-----------------|------------------|-----------------|
| PAM (mmHg)                    | 96,1 ± 18,4    | 81,2 ± 16,7*    | 81,8 ± 24,7      | 94,0 ± 13,4     |
| GC (l/min)                    | 2,3 ± 0,6      | 1,9 ± 0,5*      | 2,4 ± 0,8        | 2,8 ± 0,7**     |
| FC (latidos/min)              | 143,8 ± 20,6   | 145,0 ± 38,3    | 168,7 ± 29,0***  | 170,4 ± 18,1*** |
| RVS (dyn/s/cm <sup>-5</sup> ) | 3015,0 ± 285,4 | 3630,0 ± 657,3* | 2.660,0 ± 866,6* | 2.936,7 ± 621,0 |
| PVC (mmHg)                    | 8,4 ± 3,2      | 8,3 ± 3,5       | 8,3 ± 3,7        | 10,3 ± 3,2***   |
| GEDV (ml)                     | 260,1 ± 67,4   | 222,7 ± 59,6*   | 276,9 ± 93,9     | 258,0 ± 54,4    |
| ITBV (ml)                     | 333,1 ± 84,0   | 282,0 ± 71,7*   | 338,7 ± 112,9    | 329,1 ± 68,1    |
| EVLW (ml)                     | 177,3 ± 35,2   | 174,2 ± 36,7    | 191,4 ± 41,1     | 209,5 ± 65,0    |

T de Student. Valores expresados como media ± DE.

EVLW: volumen pulmonar extravascular (EVLW); FC: frecuencia cardiaca; GC: gasto cardiaco; GEDV: volumen telediastólico global; ITBV: volumen sanguíneo intratorácico; PAM: presión arterial media; PVC: presión venosa central; RVS: resistencias vasculares sistémicas (RVS).

\* p < 0,05 respecto a valores previos.

\*\* p < 0,05 respecto a valores basales.

**Tabla 2 – Cambios metabólicos durante la fase basal (A), tras el pinzamiento de la vena cava inferior (B), tras la reperusión (C) y al cierre de la piel (D)**

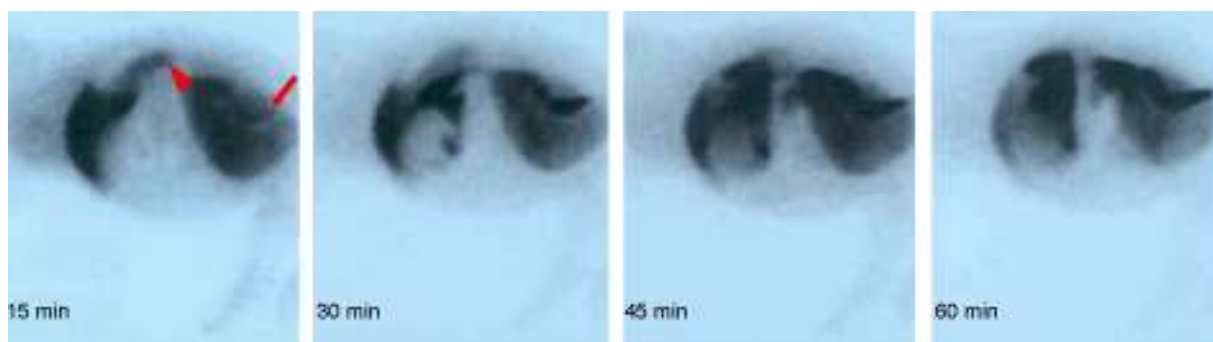
|  | A            | B             | C             | D              |
|--|--------------|---------------|---------------|----------------|
| Ph                                     | 7,4 ± 0,1    | 7,4 ± 0,1**   | 7,3 ± 0,1     | 7,4 ± 0,1      |
| pCO <sub>2</sub> (mmHg)                | 44,9 ± 19,3  | 39,8 ± 16,7** | 44,3 ± 14,4   | 37,1 ± 6,0     |
| pO <sub>2</sub> (mmHg)                 | 497,3 ± 92,2 | 532,1 ± 101,0 | 559,3 ± 103,6 | 555,9 ± 82,8** |
| Htc %                                  | 29,1 ± 4,6   | 28,5 ± 2,9    | 30,4 ± 2,7    | 30,6 ± 7,2     |
| Na <sup>+</sup> (mmol/l)               | 135,7 ± 5,0  | 132,5 ± 4,1** | 136,6 ± 3,2*  | 135,7 ± 3,9    |
| K <sup>+</sup> (mmol/l)                | 4,1 ± 3,2    | 6,2 ± 5,0     | 3,7 ± 2,3     | 5,6 ± 3,8      |
| iCa <sub>2+</sub> (mmol/l)             | 1,1 ± 0,1    | 1,0 ± 0,2     | 1,1 ± 0,2     | 1,1 ± 0,3      |
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l) | 27,3 ± 2,7   | 26,0 ± 2,7**  | 22,8 ± 4,6**  | 23,8 ± 3,2**   |
| TCO <sub>2</sub> (mmol/l)              | 28,7 ± 3,2   | 27,1 ± 3,0**  | 24,1 ± 4,9**  | 25,0 ± 3,3**   |
| BEb (mmol/l)                           | 2,6 ± 1,1    | 1,9 ± 2,2     | -3,0 ± 4,0**  | -0,5 ± 3,6     |
| BEecf (mmol/l)                         | 2,8 ± 1,4    | 2,1 ± 2,2     | -5,0 ± 5,4    | -1,7 ± 4,4     |
| O <sub>2</sub> Sat %                   | 99,8 ± 0,1   | 99,9 ± 0,1    | 99,8 ± 0,0    | 99,9 ± 0,7     |
| tHb (g/dl)                             | 9,9 ± 1,5    | 10,0 ± 1,4    | 10,3 ± 0,9    | 10,4 ± 2,4     |

T de Student. Valores expresados como media ± DE.

BEb: exceso de bases; BEecf: exceso bases fluido extracelular; HCO<sub>3</sub>: bicarbonato estándar; Htc: hematocrito; iCa<sub>2+</sub>: calcio ionizado; O<sub>2</sub> Sat: saturación de oxígeno; pCO<sub>2</sub> presión parcial de dióxido de carbono; Ph: Ph arterial; pO<sub>2</sub>: presión parcial de oxígeno; TCO<sub>2</sub>: concentración CO<sub>2</sub> total en plasma; tHb: hemoglobina total.

\* p < 0,05 respecto a valores previos.

\*\* p < 0,05 respecto a valores basales.



**Figura 2 – Gammagrafía hepatobiliar, 14 días post-TAHH. Estudio dinámico a los 15, 30, 45 y 60 min. Captación similar del radioisótopo en injerto e hígado nativo y eliminación similar desde el injerto (flecha) y desde el hígado nativo (cuña).**

#### Estudio histopatológico precoz (n = 12)

Todas las muestras conservaban la arquitectura y morfología hepáticas. El principal hallazgo fue un aumento en el porcentaje de tejido con focos de necrosis perilobular junto con hemorragias y trombosis, comparado con el hígado nativo ( $p = 0,048$ ) (tabla 3; fig. 3.1). También se observó infiltrado inflamatorio mononuclear inespecífico, congestión y dilatación sinusoidal.

#### Estudio histopatológico intermedio (n = 10)

Todas las muestras conservaron la arquitectura y morfología hepáticas. Los principales hallazgos fueron: 1) aumento significativo de proliferación conectiva perilobular vs. hígado nativo ( $p = 0,007$ ) y 2) aumento significativo de áreas con regeneración posnecrótica vs. hígado nativo ( $p = 0,046$ ) (tabla 3; fig. 3.2). Además, se observó infiltrado inflamatorio mononuclear inespecífico, congestión y dilatación sinusoidal persistente, junto con hiperplasia de conductos biliares asociada a las áreas de regeneración posnecrótica.

#### Estudio histopatológico tardío (21 días postrasplante, n = 10)

Todas las muestras conservaron la arquitectura hepática, y el infiltrado inflamatorio mononuclear inespecífico, la congestión y la dilatación sinusoidal continuaron presentes (tabla 3; fig. 3.3).

#### Estudio histopatológico de la vena porta

El análisis histopatológico de la vena porta a los 21 días no reveló cambios significativos (fig. 3.4).

#### Estudio histopatológico del hígado nativo

En ninguna de las fases del estudio histopatológico se objetivó atrofia.

### Discusión

El TAHH fue la técnica empleada durante los inicios del trasplante hepático, si bien no tuvo una amplia difusión al asociarse a problemas de competencia de flujo portal entre hígado nativo e injerto, obstrucción de drenaje venoso y falta de espacio en el abdomen<sup>4</sup>. La AVP asociada al TAHH constituye una variante técnica que evita el fenómeno de competencia por el flujo portal entre los 2 hígados y deja el hilio hepático nativo intacto<sup>13-16,18</sup>. Nuestro modelo actual disminuye el número de anastomosis vasculares respecto a otros modelos<sup>13,15-17</sup>, lo cual disminuye el riesgo de trombosis, que resulta especialmente importante en el contexto del xenotrasplante, ya que la sangre porcina muestra una alta tendencia a la coagulación<sup>24</sup>.

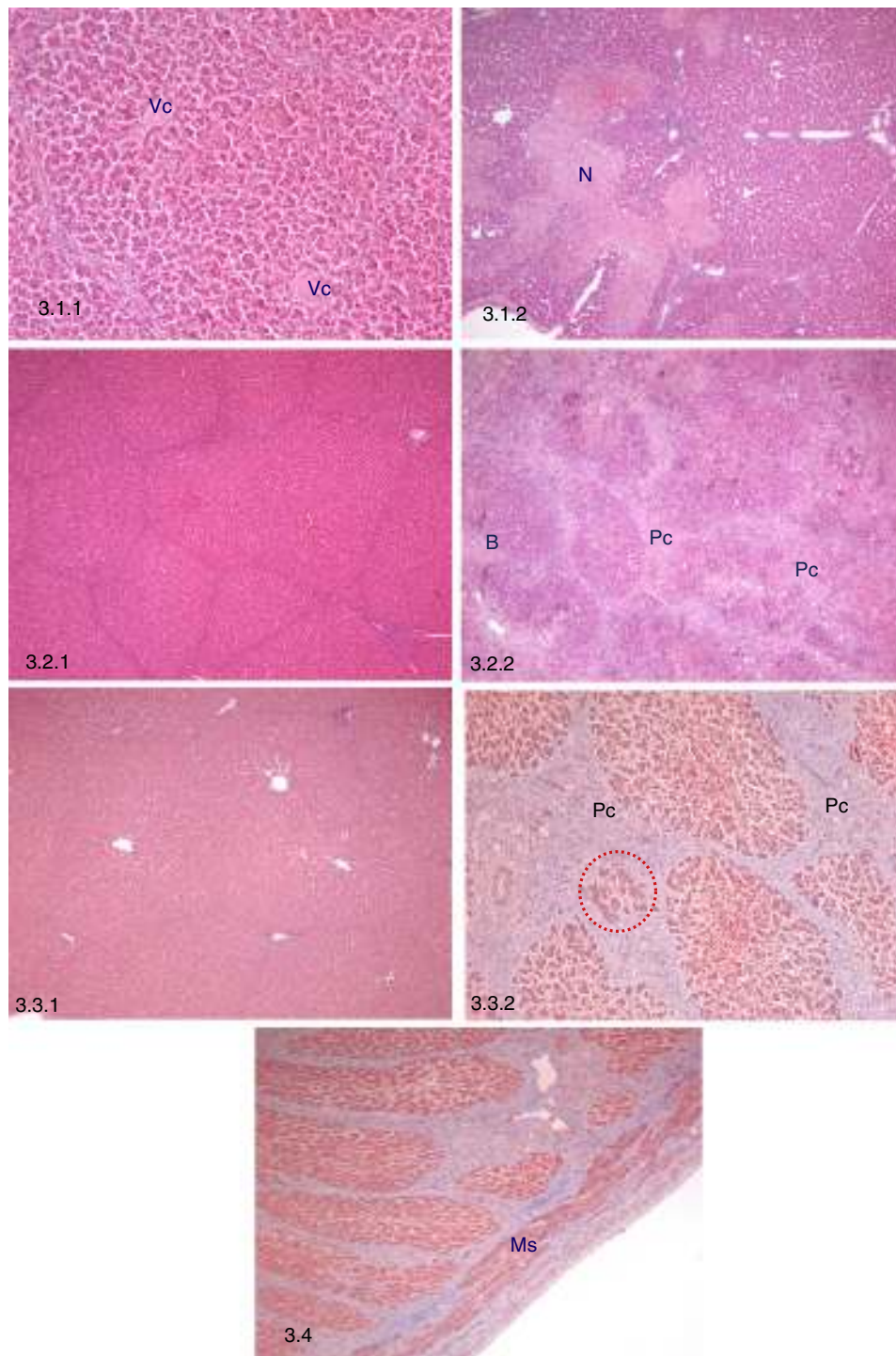
En el estudio hemodinámico, durante el pinzamiento de la vena cava infrahepática se observa un descenso de la precarga por disminución del retorno venoso, que se refleja en el descenso del volumen telediastólico global y del volumen sanguíneo intratorácico. A su vez, el descenso de la precarga provoca la disminución del GC y, como consecuencia, de la presión arterial media. Esta situación se intenta compensar con un aumento de las RVS<sup>25</sup>. Durante la reperfusión, la liberación del pinzamiento aórtico y la incorporación del injerto disminuyen las RVS, además, la precarga aumenta por incorporación del volumen retenido<sup>25,26</sup>. Estos 2 hechos

**Tabla 3 – Hallazgos histopatológicos en el modelo de TAHH-AVP**

|   | Control    | 3 días     | 10 días     | 21 días    |
|---|------------|------------|-------------|------------|
| Proliferación conectiva perilobular (%) | 10,6 ± 1,0 | 15,5 ± 7,5 | 15,6 ± 3,7* | 16,3 ± 8,1 |
| Necrosis (%)                            | 0,0 ± 0,0  | 7,9 ± 9,7* | 0,0 ± 0,0   | 0,0 ± 0,0  |
| Áreas posnecróticas (%)                 | 0,0 ± 0,0  | 0,0 ± 0,0  | 7,6 ± 8,5*  | 6,0 ± 7,5  |
| Dilatación sinusoidal                   | -          | ++         | +++         | ++         |
| Congestión                              | -          | +          | ++          | +          |
| Infiltrado inespecífico mononuclear     | -          | +          | +           | +          |
| Hiperplasia de conductos biliares       | -          | -          | +           | +          |

Valores expresados como media ± DE.  
Test de Mann-Whitney. \*  $p < 0,05$  respecto a control.





**Figura 3 - Estudio histopatológico. 3.1 Estudio histopatológico precoz (3 días post-TAHH). 3.1.1: Preservación de la arquitectura hepática, vena centrolobulillar (Vc), H-E, 10x. 3.1.2: Necrosis focal perilobular (N), H-E, 5x. 3.2. Estudio histopatológico intermedio (10 días post-TAHH). 3.2.1: Persistencia de la arquitectura hepática, H-E, 5x. 3.2.2: Proliferación conectiva (Pc) e hiperplasia de conductos biliares (B), H-E, 5x. 3.3. Estudio histopatológico tardío (21 días post-TAHH). 3.3.1: Persistencia de la arquitectura hepática, H-E, 5x. 3.3.2: Regeneración nodular posnecrótica, proliferación conectiva (Pc) e hiperplasia de hepatocitos entre el tejido conectivo (punteado rojo), tricrómico de Masson, 10x. 3.4 Porta intrahepática en una muestra obtenida el día 21, fibras musculares lisas (Ms), tricrómico de Masson, 5x.**

producen un aumento compensatorio del GC al que también contribuye el aumento de la FC.

Finalizado el trasplante, el GC aumenta respecto al valor basal, asegurando la reperfusión del injerto. El incremento del

GC ocurre fundamentalmente a expensas de la FC, que aumenta sus valores tras la reperfusión, y este hecho podría deberse a una reposición conservadora de la volemia. El que los marcadores de la precarga, volumen telediastólico global y

volumen sanguíneo intratorácico únicamente varíen tras el pinzamiento vascular parece corroborarlo. Así, una reposición de la volemia más agresiva habría elevado el GC con una menor elevación de la FC. Se podría señalar que un aumento del GC podría ser perjudicial en un fallo hepático agudo donde el GC permanece elevado. Sin embargo, este fenómeno se ha visto también en la clínica del trasplante hepático tras la reperfusión del injerto y normalmente es bien tolerado por los receptores<sup>25</sup>. Por otro lado, la presión venosa central aumenta al final de la cirugía, lo que podría deberse al cierre de la cavidad abdominal más que a cambios en la volemia, mostrándose un indicador poco fiable de la precarga.

Las variaciones bioquímicas son poco importantes debido, probablemente, a la funcionalidad del hígado nativo y a la menor infusión de fluidos que en un trasplante hepático clínico<sup>27</sup>. Además, tanto las variaciones del sodio como las del bicarbonato y pCO<sub>2</sub> están dentro de los valores de referencia. Aunque el hígado nativo dificulta el estudio de la respuesta bioquímica, el implante del injerto arterializado no provoca, por sí mismo, cambios metabólicos significativos.

Respecto al estudio histopatológico todas las muestras, en las 3 fases del estudio, conservan la arquitectura y morfología hepáticas. El principal hallazgo histopatológico precoz es la presencia de focos de necrosis perilobular. Este hallazgo se ha descrito en modelos en ratas<sup>28</sup> y en estudios de regeneración hepática<sup>29</sup>. Schleimer et al. indican que la elevada concentración de oxígeno del flujo portal arterializado podría ser la causa, ya que los radicales libres de oxígeno no neutralizados por el glutatión podría iniciar la cascada de la apoptosis<sup>29</sup>. En nuestro modelo el origen de los focos de necrosis parece ser multifactorial, sobre todo por la isquemia-reperfusión y el hiperflujo arterial portal.

A los 10 días el principal hallazgo es la proliferación conectiva perilobular, que está asociada históricamente a la AVP y aparece descrita tanto en la cirugía de la hipertensión portal como en modelos de TOH-AVP<sup>30-33</sup>. Probablemente es consecuencia de la adaptación del injerto al hiperflujo. En los modelos clínicos de TAHH-AVP, la arterialización se realiza interponiendo un injerto vascular similar al descrito por nuestro grupo<sup>13-15</sup> y, aunque estos autores no objetivan proliferación conectiva en sus injertos, debemos tener en cuenta que el estroma hepático en el cerdo está mucho más desarrollado que el estroma hepático humano<sup>34</sup>.

De igual manera, en nuestro modelo se observa un aumento significativo de áreas con regeneración posnecrótica, como evolución de la necrosis perilobular evidenciada en el estudio precoz. Además, y asociada a estas áreas posnecróticas, objetivamos hiperplasia de conductos biliares, que no pensamos que se relacione con una obstrucción parcial del drenaje biliar, ya que la producción biliar fue continua y la escintigrafía dinámica mostró una adecuada eliminación biliar por parte del injerto. El daño por isquemia-reperfusión que origina una colangiopatía isquémica asociada con estenosis de canalículos podría ser el origen de la proliferación de nuevos conductos biliares.

El estudio histopatológico tardío reveló áreas de regeneración nodular posnecrótica (lóbulos desorganizados con hepatocitos atroficos y grupos de hepatocitos dentro del tejido conectivo), junto con una disminución de la hiperplasia de colangiomas.

En todas las fases del estudio histopatológico se objetivó dilatación sinusoidal, congestión e infiltrado mononuclear inespecífico. La dilatación sinusoidal coincide con la descrita en modelos clínicos y experimentales de TAHH-AVP<sup>15,28</sup> y la congestión, también aparece detallada en un modelo de regeneración hepática tras una resección del 70% del hígado asociada a una AVP con regulación del flujo<sup>29</sup>. Estos hallazgos probablemente sean debidos al hiperflujo. En cuanto al infiltrado mononuclear de tipo inespecífico, no asociado a rechazo<sup>35</sup>, también se ha descrito en hígados arterializados de rata<sup>30,36</sup> y perro<sup>37</sup>, y Erhard et al. describieron infiltrado linfocítico en los sinusoides de un modelo clínico de TAHH-AVP<sup>14</sup>.

Finalmente, en nuestro modelo no observamos ni dilatación, ni aumento de las fibras de colágeno en la vena, portal y como describieron Li et al.<sup>38</sup>. Tampoco objetivamos esteatosis en ninguna de nuestras preparaciones, aunque sí que aparece descrita en modelos similares<sup>15,32</sup>.

En conclusión, el TAHH-AVP se tolera bien hemodinámicamente, y conlleva un ligero incremento del GC. Las variaciones en el metabolismo y equilibrio ácido-base son mínimas, y son debidas más a la técnica quirúrgica que a la reperfusión del injerto arterializado. Este modelo no condiciona cambios importantes en la histología hepática, y mantiene la arquitectura y estructura hepática funcional, si bien es común encontrar focos de necrosis perilobular a los 3 días y proliferación conectiva perilobular a los 10 días.

## Autoría/colaboradores

Contribución específica de cada autor:

Olga M. Fernandez-Rodriguez participó en el desarrollo de la investigación, diseño experimental, redacción del artículo y análisis de datos. Dirección: Animalario. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar, 30120, Murcia, España.

Antonio Ríos participó en el desarrollo de la investigación, diseño experimental y redacción del artículo. Dirección: Departamento de Cirugía. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar, 30120, Murcia, España.

Carlos G. Palenciano participó en el desarrollo de la investigación, diseño experimental, y análisis de datos. Dirección: Departamento de Anestesia. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar, 30120, Murcia, España.

Pablo Ramírez participó en el diseño experimental. Dirección: Departamento de Cirugía. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar, 30120, Murcia, España.

José Luis Navarro participó en el desarrollo de la investigación. Dirección: Departamento de Medicina Nuclear. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar, 30120, Murcia, España.

Laura Martínez-Alarcón participó en el desarrollo de la investigación. Dirección: Departamento de Cirugía. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar, 30120, Murcia, España.

Carlos Martínez participó en el desarrollo de la investigación y análisis de datos. Dirección: Unidad de Cirugía Experimental.

Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar, 30120, Murcia, España.

Teodomiro Fuente participó en el desarrollo de la investigación. Dirección: Departamento de Medicina Nuclear. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar, 30120, Murcia, España.

José Antonio Pons participó en el desarrollo de la investigación. Dirección: Departamento de Medicina Interna. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar, 30120, Murcia, España.

José Antonio Navarro participó en el desarrollo de la investigación y análisis de datos. Dirección: Departamento de Enfermedad Animal. Facultad de Veterinaria. Espinardo, 30100, Murcia. España.

Maruja Majado participó en el desarrollo de la investigación. Dirección: Departamento de Hematología. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar, 30120, Murcia, España.

Pedro Martínez participó en el desarrollo de la investigación. Dirección: Departamento de Análisis Clínicos. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar, 30120, Murcia, España.

Pascual Parrilla participó en el diseño experimental. Dirección: Departamento de Cirugía. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. El Palmar, 30120, Murcia, España.

## Conflicto de intereses

Sin conflicto de intereses.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Pedro Luis Tornel, Dr. Pablo Pelegrin, Dr. Manuel Canteras y a la Dra. Guadalupe Ruiz Merino su contribución esencial en el trabajo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Starzl TE, Fung JJ. Themes of liver transplantation. *Hepatology*. 2010;21:1869.
- Khalid SK, Crippin JS. Management of hepatitis C in the setting of liver transplantation. *Clin Liver Dis*. 2006;10:321.
- Zetterman RK. Liver transplantation for alcoholic liver disease. *Clin Liver Dis*. 2005;9:171.
- Terpstra OT, Schalm SW, Weimar W, Willemse P, Baumgartner D, Groenland T, et al. Auxiliary partial liver transplantation for end-stage chronic liver disease. *N Engl J Med*. 1988;319:1507.
- Terpstra OT. Auxiliary liver grafting: A new concept in liver transplantation. *Lancet*. 1993;342:758.
- Terpstra OT, Metselaar HJ, Hesselink EJ, de Rave S, Groenland TH, Stibbe J, et al. Auxiliary partial liver transplantation for acute and chronic liver disease. *Transplant Proc*. 1990;22:1564.
- Kaibori M, Egawa H, Inomata Y, Uemoto S, Asonuma K, Kiuchi T, et al. Selective portal blood flow diversion in auxiliary partial orthotopic liver transplantation to induce regeneration of the graft. *Transplantation*. 1998;66:935.
- Whittington PF, Emond JC, Heffron T, Thistlethwaite JR. Orthotopic auxiliary liver transplantation for Crigler-Najjar syndrome type 1. *Lancet*. 1993;342:779.
- Uemoto S, Yabe S, Inomata Y, Nishizawa H, Asonuma K, Egawa H, et al. Coexistence of a graft with the preserved native liver in auxiliary partial orthotopic liver transplantation from a living donor for ornithine transcarbamylase deficiency. *Transplantation*. 1997;63:1026.
- Yabe S, Egawa H, Inomata Y, Uemoto S, Asonuma K, Kiuchi T, et al. Auxiliary partial orthotopic liver transplantation from living donors: Significance of portal blood flow. *Transplantation*. 1998;66:484.
- Sato Y, Yamamoto S, Takeishi T, Kobayashi T, Kato T, Watanabe T, et al. Living related heterotopic auxiliary partial liver transplantation for extremely small-for-size graft in fulminant liver failure. *Hepatogastroenterology*. 2003;50:1220.
- Ramirez P, Chavez R, Majado M, Munitiz V, Muñoz A, Hernandez Q, et al. Life-supporting human complement regulator decay accelerating factor transgenic pig liver xenograft maintains the metabolic function and coagulation in the nonhuman primate for up to 8 days. *Transplantation*. 2000;70:989.
- Erhard J, Lange R, Giebler R, Rauen U, de Groot H, Eigler FW. Arterialization of the portal vein in orthotopic and auxiliary liver transplantation. A report of 3 cases. *Transplantation*. 1995;60:877.
- Erhard J, Lange R, Rauen U, Scherer R, Friedrich J, Pietsch M, et al. Auxiliary liver transplantation with arterialization of the portal vein for acute hepatic failure. *Transpl Int*. 1998;11:266.
- Margarit C, Bilbao I, Charco R, Lázaro JL, Hidalgo E, Allende E, et al. Auxiliary heterotopic liver transplantation with portal vein arterialization for fulminant hepatic failure. *Liver Transpl*. 2000;6:805.
- Charco R, Margarit C, López-Talavera JC, Hidalgo E, Castells L, Allende H, et al. Outcome and hepatic hemodynamics in liver transplant patients with portal vein arterialization. *Am J Transplant*. 2001;1:146-51.
- Lange R, Rauen U, Janssen H, Erhard J, de Groot H. Temporary heterotopic auxiliary liver transplantation with arterialization of the portal vein as treatment of acute liver failure. *Transpl Int*. 2007;20:473.
- Fernández-Rodríguez OM, Ríos A, Montoya M, Ramírez P, González F, Ruíz de Angulo D, et al. Description of a new auxiliary heterotopic partial liver transplantation technique with portal vein arteriolization of applicability in heterotopic liver xenotransplantation. *Transplant Proc*. 2003;35:2051.
- Mollison P. Técnicas para detectar antígenos y anticuerpos eritrocitarios. En: Mollison P, editor. *Transfusión de sangre en medicina clínica*. 1.ª ed. Barcelona: Reverté; 1987. p. 567.
- Von Spiegel T, Wietasch G, Bursch J, Hoefl A. [Cardiac output determination with transpulmonary thermodilution. An alternative to pulmonary catheterization?] [en alemán] *Anaesthesist*. 1996;45:1045.
- Fernández-Rodríguez OM, Palenciano CG, Ríos A, Martínez L, Arance M, Segura B, et al. Hemodynamic assessment during auxiliary heterotopic liver transplantation with portal vein arterialization in a swine model: Preliminary report of 10 transplants. *Transplant Proc*. 2006;38:2603.
- Fernández-Rodríguez OM, Ríos A, Navarro JL, Pons JA, Palenciano CG, Mota R, et al. Doppler ultrasonographic and scintigraphic assessment of an auxiliary heterotopic liver transplantation with portal vein arterialization in pigs. *Transplant Proc*. 2006;38:963.
- Della Rocca G, Costa MG, Cocia C, Pompei PP. Preload and hemodynamic assessment during liver transplantation: A



- comparison between the pulmonary artery catheter and transpulmonary indicator dilution techniques. *Eur J Anaesthesiol.* 2002;19:868.
24. Velik- Salchner C, Schnürer C, Fries D, Müssigang PR, Moser PL, Streif W, et al. Normal values for thrombelastography (ROTEM) and selected coagulation parameters in porcine blood. *Thromb Res.* 2006;117:597.
  25. Mandell MS, Katz JJ, Wachs M, Gill E, Kam I. Circulatory pathophysiology and options in hemodynamic management during adult liver transplantation. *Liver Transpl Surg.* 1997;3:379.
  26. Walsh TS, Hopton P, Garden OJ, Lee A. Effect of graft reperfusion on haemodynamics and gas exchange during liver transplantation. *Br J Anaesth.* 1998;81:311.
  27. Merritt WT. Metabolism and liver transplantation: Review of perioperative issues. *Liver Transpl.* 2000;6:S76.
  28. Schleimer K, Stippel DL, Kasper HU, Tawadros S, Suer C, Schomäcker K, et al. Auxiliary liver transplantation with flow-regulated portal vein arterialization offers a successful therapeutic option in acute hepatic failure—investigations in heterotopic auxiliary rat liver transplantation. *Transpl Int.* 2006;19:581.
  29. Schleimer K, Stippel DL, Kasper HU, Prenzel K, Gaudig C, Tawadros S, et al. Portal vein arterialization increases hepatocellular apoptosis and inhibits liver regeneration. *J Surg Res.* 2008;149:250.
  30. Müller V, Ott R, Tannapfel A, Hohenberger W, Reck T. Arterialization of the portal vein in liver transplantation: A new microsurgical model in the rat. *Transplantation.* 2001;71:977.
  31. LeCompte Y, Franco D, Martin ED, Bismuth H. Liver arterialization with portacaval shunt in the cirrhotic rat. *Surgery.* 1974;75:161.
  32. Ott R, Böhner C, Müller S, Aigner T, Bussenius-Kammerer M, Yedibela S, et al. Outcome of patients with pre-existing portal vein thrombosis undergoing arterialization of the portal vein during liver transplantation. *Transpl Int.* 2003;16:15.
  33. Müller V, Brummer D, Kissler H, Yedibela S, Bauer M, Erhardt W, et al. Effects of portal vein arterialization on regeneration and morphology in liver transplantation: Investigations using the rat model. *Transplantation.* 2004;78:1159.
  34. Dellman D, Eurell J. *Textbook of veterinary histology*, 5th ed. Baltimore, Maryland (EE. UU.): Lippincott Williams & Wilkins. 1998.
  35. Lovell MO, Speeg KV, Half GA, Molina DK, Sharkey FE. Acute hepatic allograft rejection: A comparison of patients with and without centrilobular alterations during first rejection episode. *Liver Transpl.* 2004;10:369.
  36. Müller G. A simple technique for heterotopic auxiliary liver transplantation in the rat. *Transplantation.* 1983;36:221.
  37. Yamazoe K, Yanai T, Matsuki N, Bonkobara M, Ono K, Kudo T. Hepatic oxygen supply, energy charge, and histological findings in dogs with portal vein arterialization. *J Vet Med Sci.* 1997;59:1057.
  38. Li WG, Chen YL, Chen JX, Qu L, Xue BD, Peng ZH, et al. Portal venous arterialization resulting in increased portal inflow and portal vein wall thickness in rats. *World J Gastroenterol.* 2008;14:6681.