

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
Departamento de Cirugía



TESIS DOCTORAL

**Trasplante ortotopico de hígado en la rata**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**José Antonio de Pedro Moro**

DIRECTOR:

**Hipólito Durán Sacristán**

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Medicina

Departamento de Cirugía

TP  
1988  
113



\* 5 3 0 9 8 7 5 0 3 0 \*

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

x - 53 - 117811 - 0

**TRASPLANTE ORTOPEDICO DE  
HIGADO EN LA RATA**

José Antonio de Pedro Moro

Madrid, 1988



**Colección Tesis Doctorales. N.º 115/88**

© José A. de Pedro Moro

**Edita e imprime la Editorial de la Universidad  
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía  
Noviciado, 3 - 28015 Madrid  
Madrid, 1988  
Ricoh 3700  
Depósito Legal: M-4086-1988**

J O S E A N T O N I O D E P E D R O M O R O

"TRASPLANTE ORTOTOPICO DE HIGADO EN LA RATA"

Director: Prof. Dr. D. Hipólito Durán Sacristán  
Catedrático de Patología y Clínica Quirúrgicas.

CATEDRA DE PATOLOGIA Y CLINICA QUIRURGICAS I  
FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

Madrid, Abril, 1956.





HOSPITAL CLINICO DE SAN CARLOS  
DE LA  
FACULTAD DE MEDICINA  
MADRID - 3  
CATEDRA DE PATOLOGIA QUIRURGICA  
PROF. DR. DURAN SACRISTAN

HIPOLITO DURAN SACRISTAN, CATEDRATICO DE PATOLOGIA Y CLINICA QUIRURGICAS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

C E R T I F I C A: Que la Tesis Doctoral presentada por el Sr. D. José Antonio De Pedro Moro, titulada: "TRASPLANTE ORTOTOPICO DE HIGADO EN LA RATA", ha sido realizada bajo mi dirección y tutela, en esta Cátedra de Patología y Clínica Quirúrgicas I y reúne todos los requisitos para optar al grado de Doctor.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo el presente en Madrid a Uno de Abril de mil novecientos ochenta y seis.

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. DURAN SACRISTAN, mi maestro.

Al Prof. titular ARIAS PEREZ, a quien hay que atribuir el inicio y el mantenimiento de esta línea de investigación.

A los Profs. LORENZO y SANZ ESPONERA que me han permitido trabajar en sus laboratorios.

A la Prof. titular ALSASUA DEL VALLE, por su apoyo en el laboratorio de Farmacología.

Al Prof. titular BRANDAU BALLNET en reconocimiento de admiración por su labor en el Servicio de Cirugía experimental

A mis compañeros de investigación M. A. ALLER, E. ESTEBANEZ, L. LORENTE, G. JIMENEZ, J. RODRIGUEZ y J.C. MEDINA.

A los Profs. titulares, LADERO ALVAREZ, ESTADES VENTURA, MORO CAMPAL, LOPEZ-DURAN, GOMEZ-CASTRESANA y FERNANDEZ-MIRANDA

A los Profs. no numerarios VAZQUEZ, ABELLANAS, ALIA, LARROQUE, ARNOLD y MONFORTE.

A mis compañeros Residentes y Médicos de la I Cátedra de Patología Quirúrgica del Hospital Clínico de Madrid.

En las observaciones Anatomopatológicas nos han auxiliado los Drs. ISPIZUA y ORTEGA. En las bioquímicas las Dras. MARUGAN y KRISNIK. En la informática, J.C. MORO. En la estadística I. BUSTURIA.

Recordamos por su gentileza a los Profs. TRAEGER y DUBERNARD (Lyon), CALNE (Cambridge), STARZL (Pittsburgh) y BERGMAN (Lund).

Por su ayuda inestimable a los Hospices Civils de Lyon, British Medical Council, Comisión Fulbright, Formación de Personal Investigador y Asociación Castellana del Aparato Digestivo.

INDICE

	<u>Pag.</u>
Agradecimientos.....	IV
Indice.....	VI
Indice de Tablas.....	IX
Indice de Figuras.....	XI
Abreviaturas.....	XIII
 HISTORIA	
- Historia del trasplante de hígado.....	4
I.a.- Homotrasplante hepático experimental heterotópico.....	5
1.- Trasplante heterotópico de hígado en el perro.....	5
2.- Trasplante heterotópico de hígado en el cerdo.....	22
3.- Trasplante heterotópico de hígado en la rata.....	24
I.b.- Trasplante heterotópico en el hombre.....	25
II.a.- Homotrasplante ortotópico de hígado experimental.....	26
1.- Trasplante ortotópico de hígado en el perro.....	26
2.- Trasplante ortotópico de hígado en el cerdo.....	30
3.- Trasplante ortotópico de hígado en la rata.....	31
III.a.- Xenoinjerto hepático experimental.....	33
III.b.- Xenoinjerto hepático en humanos.....	34
1.- Injertos heterotópicos.....	34
2.- Injertos ortotópicos.....	35
IV.- Trasplante múltiple de órganos abdominales..	36
- Historia del ATP.....	37
- Historia del ciclo de Krebs.....	39
- Historia de la fibronectina.....	40

## INTRODUCCION

- Generalidades del trasplante hepático.....	42
- Irrigación sanguínea hepática.....	55
- Simulacro de trasplante.....	56
- Patología del rechazo.....	57
- Respuesta de la rata al trasplante hepático.....	59
- Histología del trasplante de hígado en rata.....	60
- Sistema ATP.....	61
- Ciclo del ácido tricarbóxico y Producción de ATP.....	62
- Fosforilación oxidativa.....	64
- Función mitocondrial.....	66
- Patofisiología celular de la isquemia.....	67
- Efectos de la isquemia en la función mitocondrial Hígado de rata isquémico.....	68
- Disminución de los niveles de ATP.....	70
- Determinación de los adenín nucleótidos mediante bioluminiscencia.....	71
- Pruebas de función hepática.....	74
- Proteinograma.....	81
- Fibronectina.....	82
- Estructura de la fibronectina.....	84
- Síntesis de fibronectina.....	86
- Valores normales de la fibronectina.....	88
- Interacciones de la fibronectina.....	90
- Fisiopatología de la fibronectina.....	92
- Fibronectina, trauma e infección.....	95
- Fibronectina y enfermedades hepáticas.....	97
- Fibronectina y trasplante de órganos.....	99
- Hipótesis de trabajo.....	100
- Objetivos de trabajo.....	102

## MATERIAL Y METODOS

I.- Material.....	103
a.- Animales.....	103
b.- Instalaciones.....	104
c.- Instrumental.....	104
II.- Métodos.....	105

VIII.

a.- Trasplante ortotópico de hígado en rata.....	105
1.- Actividades previas a la Cirugía.....	105
2.- Técnica quirúrgica general.....	106
3.- Intervención en el donante.....	107
4.- Preparación "in vitro" del injerto.....	111
5.- Operación en el receptor.....	113
b.- Selección de grupos.....	121
c.- Técnica de extracción de sangre.....	122
d.- Evaluaciones control de funcionalismo hepático.....	122
1.- Determinaciones enzimáticas.....	122
2.- Determinación de bilirrubina.....	124
3.- Proteinograma.....	125
4.- Método de determinación de Fibronectina...	127
5.- Determinación de ATP.....	131
e.- Método estadístico.....	134
 RESULTADOS	
- De la técnica quirúrgica.....	137
- Parámetros bioquímicos.....	149
- Estudio intergrupos de los parámetros.....	155
- Estudio intragrupo de los parámetros.....	175
 DISCUSION	
- Generalidades.....	195
- Bilirrubina, transaminasas y fosfatasas alcalinas.....	202
- Gamma-GTP y proteinograma.....	207
- Fibronectina y ATP.....	210
 CONCLUSIONES.....	 221
 BIBLIOGRAFIA.....	 224

INDICE DE TABLAS

	<u>Pag.</u>
Tabla I.....	138
Tabla II.....	149
Tabla III.....	149
Tabla IV.....	150
Tabla V.....	150
Tabla VI.....	151
Tabla VII.....	151
Tabla VIII.....	152
Tabla IX.....	152
Tabla X.....	153
Tabla XI.....	153
Tabla XII.....	155
Tabla XIII.....	155
Tabla XIV.....	156
Tabla XV.....	156
Tabla XVI.....	157
Tabla XVII.....	157
Tabla XVIII.....	158
Tabla XIX.....	158
Tabla XX.....	175
Tabla XXI.....	176
Tabla XXII.....	177
Tabla XXIII.....	178
Tabla XXIV.....	179
Tabla XXV.....	179
Tabla XXVI.....	180
Tabla XXVII.....	180
Tabla XXVIII.....	181
Tabla XXIX.....	181
Tabla XXX.....	182
Tabla XXXI.....	182

Tabla XXXII.....	183
Tabla XXXIII.....	183
Tabla XXXIV.....	184
Tabla XXXV.....	184
Tabla XXXVI.....	185
Tabla XXXVII.....	185
Tabla XXXVIII.....	186
Tabla XXXIX.....	186
Tabla XL.....	187
Tabla XLI.....	187
Tabla XLII.....	188
Tabla XLIII.....	188
Tabla XLIV.....	189
Tabla XLV.....	189
Tabla XLVI.....	191
Tabla XLVII.....	191
Tabla XLVIII.....	191
Tabla XLIX.....	192
Tabla L.....	192
Tabla LI.....	192
Tabla LII.....	193
Tabla LIII.....	193
Tabla LIV.....	193
Tabla LV.....	194
Tabla LVI.....	194

INDICE DE FIGURAS

	<u>Page.</u>
Fig. 1.....	1
Fig. 2.....	3
Fig. 3.....	8
Fig. 4.....	10
Fig. 5.....	11
Fig. 6.....	12
Fig. 7.....	13
Fig. 8.....	15
Fig. 9.....	17
Fig. 10.....	19
Fig. 11.....	22
Fig. 12.....	23
Fig. 13.....	24
Fig. 14.....	25
Fig. 15.....	28
Fig. 16.....	29
Fig. 17.....	31
Fig. 18.....	32
Fig. 19.....	34
Fig. 20.....	36
Fig. 21.....	44
Fig. 22.....	49
Fig. 23.....	108
Fig. 24.....	109
Fig. 25.....	110
Fig. 26.....	112
Fig. 27.....	113
Fig. 28.....	114
Fig. 29.....	115
Fig. 30.....	116
Fig. 31.....	117

Fig. 32.....	118
Fig. 33.....	119
Fig. 34.....	120
Fig. 35.....	126
Fig. 36.....	128
Fig. 37.....	132
Fig. 38.....	133
Fig. 39.....	147
Fig. 40.....	148
Fig. 41.....	159
Fig. 42.....	160
Fig. 43.....	161
Fig. 44.....	162
Fig. 45.....	163
Fig. 46.....	164
Fig. 47.....	165
Fig. 48.....	166
Fig. 49.....	167
Fig. 50.....	168
Fig. 51.....	169
Fig. 52.....	170
Fig. 53.....	171
Fig. 54.....	172
Fig. 55.....	173
Fig. 56.....	174
Fig. 57.....	179
Fig. 58.....	180
Fig. 59.....	181
Fig. 60.....	182
Fig. 61.....	183
Fig. 62.....	184
Fig. 63.....	185
Fig. 64.....	186
Fig. 65.....	187
Fig. 66.....	188
Fig. 67.....	189

ABREVIATURAS

- ACL : Autotrasplante Con Ligadura de arteria hepática.
- ADP : Adenosín Difosfato.
- ALB : Albúmina.
- ALT : Alanín Amino-Transferasa (GPT).
- AMP : Adenosín Mono-Fosfato.
- ASL : Autotrasplante Sin Ligadura de arteria hepática.
- AST : Aspartato Amino-Transferasa (GOT).
- ATP : Adenosín Trifosfato.
- B : Coeficiente de regresión.
- Br : Bilirrubina.
- CTRL : Control.
- F : F de Snedecor.
- FA : Fosfatasa Alcalina.
- FAXH : Fase Anhepática.
- FN : Fibronectina.
- Gamma-GTP : Gamma-Glutamil Transpeptidasa.
- GOT : Transaminasa Glutámico Oxalacética.
- GPT : Transaminasa Glutámico Pirúvica.
- M : Media.
- MS : Media de cuadrados.
- PD : Peso del Donante.
- PR : Peso del Receptor.
- r : Coeficiente de correlación.
- SD : Sexo del Donante.
- SPVD : Supervivencia en días.
- SPVH : Supervivencia en horas.
- SPVM : Supervivencia en minutos.
- SR : Sexo del Receptor.
- SS : Suma de cuadrados.
- TD : Tiempo del Donante.
- TOS : Trasplante Ortotópico Singénico.
- TR : Tiempo del Receptor.

H I S T O R I A

### HISTORIA

La fábula de Esquilo (490 a. de J.C.) relata que Prometeo robó un poco de fuego del Sol y lo dió a la raza humana. Esta tradición parece de acuerdo con lo que nos dice Hesíodo, que irritado Zeus por la protección que Prometeo dispensa a los mortales, les oculta el uso del fuego; pero Prometeo robó la llama en una férula y se la dió nuevamente a los hombres. Júpiter (Saturno), enfadado y celoso por esta sospecha mantuvo a Prometeo amarrado con cadenas por la Fuerza y la Violencia, dirigidas por Vulcano, en una roca de los montes del Cáucaso, donde un águila comía su hígado durante el día. Según la leyenda, el hígado se regeneraba durante la noche, ESPASA-CALPE, (78). Sigue siendo un misterio cómo pudo el mitólogo original saber que el hígado tiene un irresistible impulso a regenerarse, BENGMARK, 1972 (8), Fig. 1.



Fig. 1.: Prometeo encadenado  
Pintado por P.P. Rubens.

En el concepto de enfermedad de los pueblos mesopotámicos, señala ZARAGOZA, 1972 (420), uno de los sistemas adivinatorios más usados fué el de la "hepatoscopia", el examen de la morfología del hígado de los animales sacrificados. El sacerdote o "barû", ruega a los dioses que manifiesten su voluntad por el hígado del animal sacrificado. Hecho esto, inspeccionaba primero el hígado "in situ", los detalles morfológicos más importantes del mismo y en sus relaciones con las partes adyacentes. Seguidamente extraía la víscera y la colocaba sobre sus manos de modo que pudiera ver su parte pósteroinferior.

Las primeras ratas en llegar a Europa fueron *Rattus rattus*, rata negra, rata de casa o de los barcos. Pudieron llegar errando entre el 400 y 1100 a. de J.C. con las hordas que se extendieron por Europa desde el Este, ZINSSER, 1963 (426). La rata noruega -*Rattus norvegicus*- se ha usado en el laboratorio de investigación desde hace más de medio siglo. En efecto, es el primer mamífero en ser domesticado con fines científicos, RICHTER, 1959 (299). *Rattus norvegicus* también vino desde el Este, probablemente desde la Mongolia china o la región Este del lago Baikal, donde se han encontrado formas indígenas que se le parecen. La *R. norvegicus* llegó a Noruega en 1762, y a Escocia y España poco tiempo después.

Las ratas noruegas se iniciaron en la cautividad como albinos y se conservaron con fines de ser mostradas y para la crianza, BARNETT, 1963 (5). En los años 1880 se las atrapaba con el fin de servir como cebos y poco tiempo después se introdujeron en los laboratorios. El ancestro exacto de muchas cepas de ratas de laboratorio permanece desconocido. Sin embargo las dos principales líneas, la Wistar y la Sprague-Dawley están bien documentadas, LINDSEY, 1979 (216) y POILEY, 1953 (282).

### HISTORIA DEL TRASPLANTE DE ORGANOS Y TEJIDOS

Los orígenes del injerto de órganos y tejidos están ligados al nacimiento de la Cirugía plástica. Dejando a un lado los caracteres mágicos para el trasplante de órganos encontrados en la historia china, Las referencias a las operaciones de trasplantes, ochocientos años antes de Cristo, de SURSHUTA y la un poco más autenticada historia del reemplazo total de una pierna por lo santos Cosme y Damián, Fig. 2; la moderna era comenzó con el trabajo clásico del cirujano de Bolonia, Gaspare TAGLIACOZZI, 1545-1599, "De Curtorum Chirurgia per Insitionem" (1597). En él se describe lo que posteriormente se denominaría el injerto de antebrazo, llevando un injerto de piel desde el antebrazo a la nariz, conservando sus originales conexiones durante algunas semanas.



Fig. 2.: San Cosme y San Damián.  
Siglo III. Württembergisches Landes-  
museum, Stuttgart.

TAGLIACOZZI nunca describió el uso de aloinjertos de piel o el trasplante de un donante vivo, dado que no sólo pensaba que esto era físicamente imposible sino que sentía una aversión a la idea de los aloinjertos por el "poder y la fuerza" del individuo, HAMILTON, 1982 (134).

En el reinicio del interés por estos temas hemos de citar a John HUNTER, a quien se atribuye el ser el primero en utilizar la palabra "trasplante" y a Theodor KOCHER que ganó el premio Nobel en 1909 por sus trabajos sobre alotrasplante de Tiroides para el mixedema.

La era moderna tuvo un claro destacado, Alexis CARREL -1873-1944-, premio Nobel en 1912 por sus estudios experimentales de suturas de vasos sanguíneos aplicados a diferentes series de trasplantes experimentales de órganos.

#### HISTORIA DEL TRASPLANTE DE HIGADO

El injerto hepático experimental fue el sustrato sobre el que se cimentó la aplicación clínica.

Tanto el trasplante ortotópico como heterotópico se han desarrollado paralela e independientemente desde la década de los 60. Es por tanto conveniente exponer por separado como se ha desarrollado la investigación según se haya empleado uno u otro modelo experimental.

El Prof. Thomas E STARZL, fue el primero en realizar un trasplante ortotópico de hígado en un ser humano el día 1 de Marzo de 1963.

## I.a.-HOMOTRASPLANTE HEPATICO EXPERIMENTAL HETEROTOPICO

### I.a.1.-TRASPLANTE HETEROTOPICO DE HIGADO EN EL PERRO

La primera publicación de una técnica experimental de trasplante de un hígado extra en disposición anormal fue hecha por WELCH, 1955 (408). El hígado extra fue acomodado en el abdomen inferior recibiendo sangre a través de la vena porta (VP) procedente de la vena cava inferior (VCI) del receptor y de la arteria hepática anastomosada a una arteria ilíaca. El drenaje venoso se llevó a cabo a través de la VCI y la vesícula biliar se drenaba al duodeno. WELCH, 1955 (408) publica una serie de 47 trasplantes obteniendo éxito en 14 casos, comprobándose producción de bilis hasta el cuarto día del postoperatorio. La máxima supervivencia obtenida fue de 4 semanas.

GOODRICH et al, 1956 publican la técnica quirúrgica de WELCH perfeccionada: el hígado recibe por vía portal sangre procedente de la VCI del receptor. El flujo arterial se procura anastomosando a la aorta un manguito aórtico en continuidad con tronco celíaco. Se liga la VCI del donante y el drenaje venoso del injerto se lleva a cabo a través de la VCI suprahepática. Con el fin de monitorizar la producción de bilis se practica una colecistostomía con un tubo al exterior. Para las anastomosis venosas se emplea el "cuff" de Blakemore-Lord.

En 1956, CANNON, empleando hipotermia y sin supervivencia presenta sus experiencias en perros.

Una pequeña laguna en el tiempo se presenta quizás debido a los desalentadores primeros resultados.

Estimulados por esta problemática THOMFORD et al, 1965 (388) comunican una variante que consiste en anastomosar la arteria ilíaca común izquierda del receptor al tronco celíaco del donante, en tanto que para el drenaje biliar se realiza una colecistoduodenostomía. Utiliza la azatioprina

como inmunosupresor y consigue supervivencias superiores a 7 días.

SICULAR et al, 1963 (328) emplean un aporte sistémico al injerto en 13 trasplantes heterotópicos de los que únicamente sobreviven 2.

MEHREZ et al, 1964 (244) emplean una técnica similar a la anterior variando el aporte portal mediante anastomosis término-terminal de la vena esplénica del receptor, lo que conlleva esplenectomía, con la vena mesentérica superior del hígado donante. Para favorecer el flujo portal del trasplante estenosan parcialmente la VP del receptor.

El drenaje vascular se efectúa por la VCI infrahepática a la vena ilíaca izquierda del receptor por lo que el hígado trasplantado se sitúa en la fosa ilíaca izquierda del huesped. Finaliza la intervención con el drenaje biliar al exterior por un catéter introducido en la vesícula biliar. La mayor supervivencia obtenida fue de 45 días, siendo la congestión hepática la causa más frecuente de fracaso.

La localización del implante en el lecho esplénico del receptor, tras esplenectomía, es una idea que se les ocurrió a HAGIHARA y ABSOLON, 1964 (131). En una serie de 27 perros se trasplantó el hígado con la vesícula biliar en pósterolateral y la VCI infrahepática dirigida hacia la línea media, practicándose las anastomosis como sigue:

- 1.- Anastomosis término-lateral de la VCI infrahepática del donante con la VCI infrarrenal del receptor.
- 2.- Anastomosis término-terminal de la arteria esplénica o renal izquierda del receptor con la arteria hepática del hígado donante.
- 3.- Anastomosis término-lateral de la VP del donante con la VP del receptor. En otros casos se procedió a la ligadura de la VP del donante, de manera que se prescindió del flujo portal.

En todos los trasplantes se practicó un drenaje biliar externo del alotrasplante por canulación de su colédoco.

Concluyen los autores que esta técnica permite la fácil extirpación del hígado propio, en un segundo tiempo quirúrgico. La máxima supervivencia alcanzada con ella fué de 21 días en un sólo caso.

HEYDE et al, 1966 (138) preparan "in vivo" la extracción de los lóbulos izquierdos. A continuación los trasplantan en la pelvis del perro receptor, anastomosando látero-lateralmente la VCI del donante a la VCI del receptor. Después realizan la anastomosis término-terminal entre la arteria hepática del donante y la ilíaca común derecha. La VP del donante se liga y no se revasculariza. El drenaje biliar puede ser interno (colecistoyeyunostomía) o externo (colecistostomía y ligadura del colédoco). Se completa la intervención con la extirpación del hígado del receptor. De la serie sólo 4 perros consiguen sobrevivir 5, 6, 8 y 12 días. Se utilizó azatioprina como inmunosupresor. Los autores llegan a la conclusión de que el trasplante parcial de hígado con aporte de sangre arterial y sin recibir sangre portal tiene capacidad para cubrir las necesidades metabólicas de la economía lo que consideran de gran valor ante su posible aplicación a la clínica humana, HEYDE, 1966 (140).

FONKALSRUD et al, 1967 (91) hace hincapié en la importancia de la perfusión, enfriando el hígado a 10-15°C. con 1000 cc de Ringer-Lactado; heparina; dextrano, 1000 ml; procaina, 2 gr.; bicarbonato sódico, 40 ml y penicilina, 1 millón de U.I. Utilizan el menoscabo de la función hepática provocado por la anastomosis porto-cava latero-lateral. En 9 perros no obtienen supervivencias.

Empleando una asociación de azatioprina (3-15 mg/Kg/día) y prednisona (50 mg/día), TRETBAR et al, 1967 (393) obtienen una supervivencia máxima de 41 días. Realizan una colecistostomía cutánea, Fig. 3.

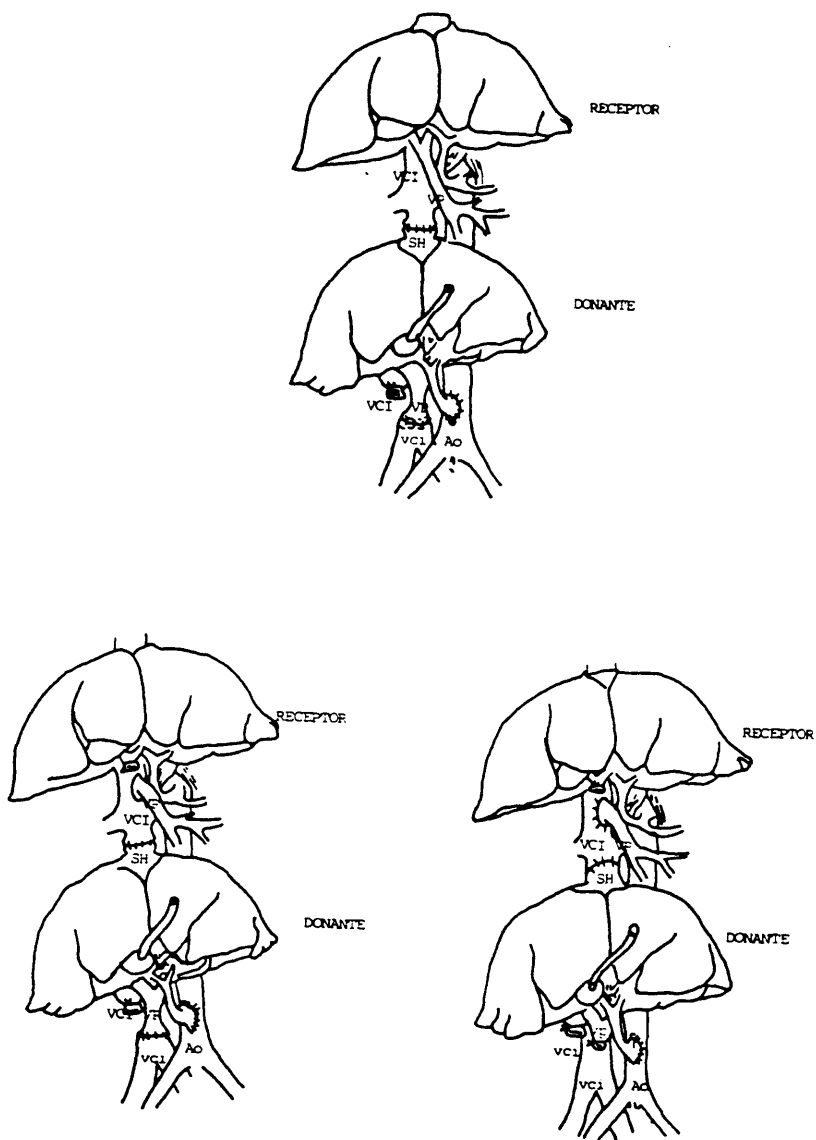


Fig. 3.: TRETBAR et al, Surgery, 1967.

BENGOECHEA et al, 1967 (9) con el fin de estudiar la influencia del menoscabo funcional del hígado propio sobre el auxiliar implantan hígados en perros en el hemiabdomen superior derecho con su cara posterior sobre la pared abdominal posterior y el hilio orientado hacia la línea media. Realizan tres anastomosis término-laterales:

- 1.- VCI infrahepática del hígado donante con la VCI infrarrenal del receptor.
- 2.- Tronco celíaco del donante con la aorta abdominal del receptor.
- 3.- Vena mesentérica superior del donante con la vena mesentérica superior del receptor.

Finalizan la intervención con una colecistoduodenostomía en dos planos. En base a esta técnica realizan tres grupos experimentales según que la VP del hígado propio del huésped quede totalmente permeable, estenosada o ligada, respectivamente. La mayor supervivencia (55 días) se obtuvo cuando se ligaba la vena mesentérica superior por encima de la anastomosis con la vena mesentérica del hígado donante. En los dos últimos grupos se utilizó azatioprina como terapia inmunosupresora postoperatoria.

En 1968, HEYDE y SCHALM (144), obtienen supervivencias superiores a las 5 semanas con autotrasplante de lóbulos izquierdos de hígado. El hígado auxiliar podrá cubrir funcionalmente las necesidades metabólicas corporales, aunque su vascularización tenga lugar a expensas de sangre arterial, pero con la condición de que el hígado propio del huésped presente un considerable déficit funcional, Fig. 4.

El Prof. Thomas E. STARZL mantiene en paralelo dos líneas de investigación desde los años 50: los factores hepatotróficos y técnica quirúrgica del trasplante de

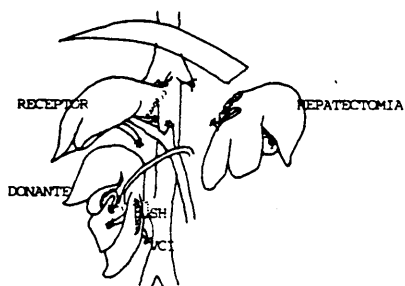


Fig. 4.: HEYDE et al, Br. J. Surg., 1968.

hígado, STARZL, 1983 (337). La sangre procedente del territorio esplácnico se pudo demostrar que poseía una actividad hepatotrófica en contraste con lo que ocurría con la sangre sistémica arterial y venosa. MARCHIORO et al, 1965 (228) publica los modelos experimentales que han conducido a estos resultados, Fig. 5.

En 1966, FARIS (81), presenta 3 métodos fundamentales de revascularización de injertos hepáticos en perros: A.- La arteria hepática recibe flujo de la iliaca. La VCI suministra a la VP. Se completa con shunt porto-cava y ligadura de colédoco. B.- La técnica de WELCH con ligadura del conducto biliar. C.- La arteria iliaca suministra a la hepática y su porción distal se anastomosa a la VP del injerto, Fig. 6.

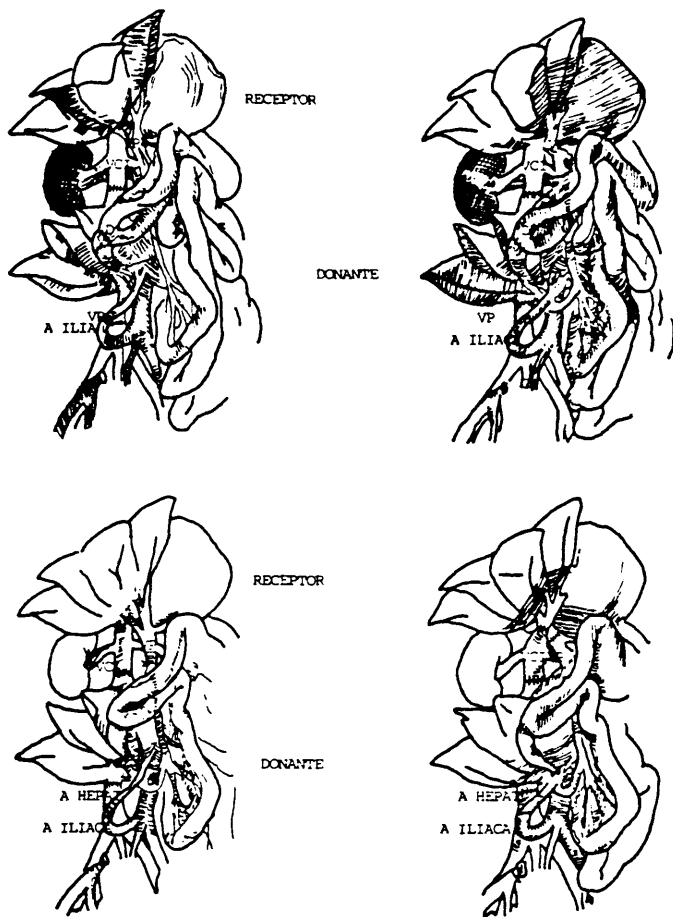


Fig. 5.: MARCHIORO et al, S.G.O., 1965.

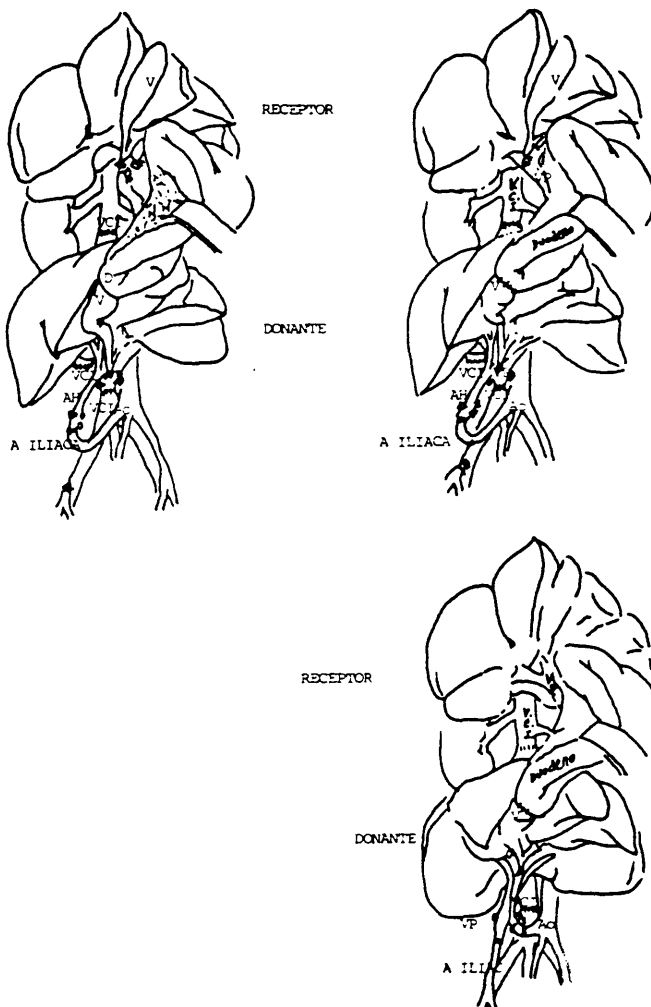


Fig. 6.: FARIS et al, S.G.O., 1966.

DALOZE, 1968 (63), del grupo experimental de la Universidad de Colorado, presenta el modelo experimental desarrollado modificando el de WELCH y GOODRICH. Fenómeno importante es que la sangre que abandona el injerto no pasa a través del sistema portal del hígado del receptor, ya que se deriva en su totalidad hacia el injerto, Fig. 7.

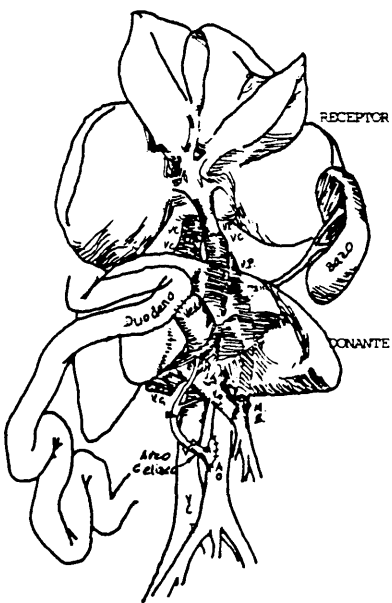


Fig. 7.: DALOZE et al. Surgery, 1968.

El grupo de STARZL anastomosa terminolateralmente, en una serie de animales, la VP del hígado donante con la vena mesentérica superior del receptor y ligan la VP del receptor en su extremo proximal. De esta forma el hígado trasplantado recibe flujo esplácnico y el hígado propio queda únicamente vascularizado por la arteria hepática. En una segunda serie se liga la vena mesentérica superior justo debajo de su fusión con la vena esplénica. De esta forma el hígado propio recibe sangre de los territorios esplénico y pancreático-duodenal, mientras que el injerto recibe flujo portal procedente del intestino. En una tercera serie, 3 á 9 meses antes del trasplante, someten al animal a una anastomosis porto-cava.

Se demostró que existía un estado competitivo entre el hígado trasplantado y el propio del huésped, por los sustratos portales, de manera que para asegurar la supervivencia del alotrasplante era necesario que su flujo venoso por vía portal, consistiera en sangre procedente del territorio esplácnico. Todos los animales receptores fueron tratados con azatioprina a dosis de 2 a 8 mg/Kg/día, STARZL, 1969 (341).

Entre sus efectos hepáticos se constataron la hipertrofia, la hiperplasia, la regeneración, las funciones de síntesis y el mantenimiento de una estructura normal y el almacenamiento de glucógeno, todos ellos mediados por una serie de factores entre los que cabe destacar la insulina y el glucagón, STARZL et al, 1978 (373).

Desde ese momento se han producido muchas publicaciones de una gran variedad de técnicas para el injerto de un hígado en un sitio heterotópico, con o sin retirada del hígado del receptor, STARZL, 1969 (336) y GUGENHEIM et al, 1981 (129).

Entre 1965 y 1975 se produjo una fuerte controversia. El hígado donante sería discriminado porque fallaba en recibir factores hepatotróficos de la VP o porque su aflujo de sangre fuera deficiente, STARZL, 1969 (336).

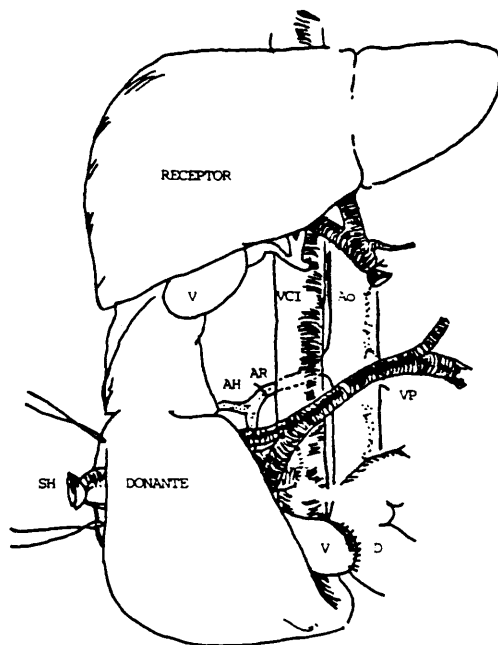


Fig. 8.: FONKALSRUD et al, Surgery, 1969.

Para intentar solventar este problema se idearon muchos e ingeniosos experimentos.

En 1969, FONKALSRUD (93) presenta su modelo consistente en practicar una nefrectomía derecha y anastomosis entre arteria renal y hepática término-terminal, Fig. 8.

Sin emplear inmunosupresión en el postoperatorio, SLAPAK et al, 1970 (332), idean una nueva variante técnica de trasplante heterotópico en el perro. El drenaje del hígado donante se hace a través de la VCI infrahepática. El tronco celíaco del donante se anastomosa a la arteria ilíaca izquierda del receptor. La VCI suprahepática del donante se anastomosa a la VCI del receptor por encima de su bifurcación. La vena mesentérica superior del donante se anastomosa término-terminal con la VP del huesped y por último, se hace una coledocoyeyunostomía previa tunelización de un trayecto entre el plano seromuscular y el mucoso de la pared intestinal. En los últimos animales se realiza una coledocoyeyunostomía y se liga el colédoco del hígado propio del huesped.

De una serie de 18 animales, 1 perro sobrevive 44 días y 5 consiguen superar 10 días. La mortalidad peroperatoria fué del 22%. La demostración de que había cesado la competitividad entre los hígados vino dada porque en las necropsias el peso del hígado injertado era superior al receptor.

En nuevas series del mismo grupo de SLAPAK, empleando inmunosupresión con azatioprina obtienen supervivencias máximas de 118 y 182 días.

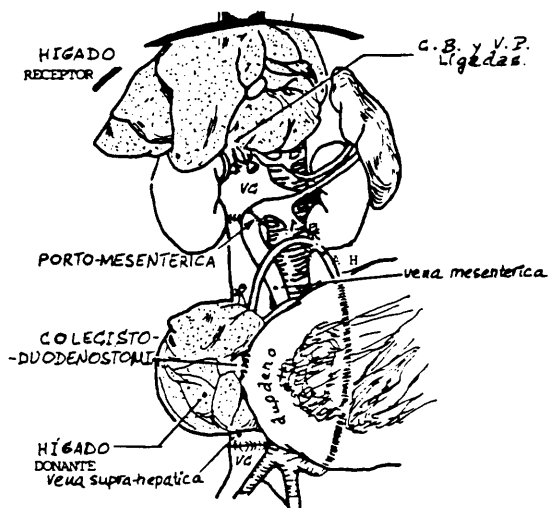


Fig. 9.: BEAUDOIN et al, S.G.O., 1972.

BEAUDOIN et al, 1968, 1970 (7), colocan el hígado en el flanco derecho del receptor en posición invertida. La VCI del receptor se divide 3 ó 4 cm debajo de las venas renales y el extremo proximal se anastomosó a la VCI infrahepática del donante. La VC suprahepática se suturaba a la porción distal de la VC del receptor. La arteria ilíaca se anastomosó al tronco celiaco del donante. La VP del receptor se divide y se sutura término-termini a la vena mesentérica del donante. Demuestran que la ligadura del colédoco del hígado del huésped dos semanas antes del trasplante permite obtener una mejor función del hígado auxiliar y concluyen que el flujo portal para el hígado trasplantado puede no ser fundamental, siempre que no exista la competencia funcional del hígado propio, Fig. 9.

SHEIL et al, 1970 (320) obtienen una supervivencia máxima de 3 meses en su serie de perros a los que someten a una variante técnica de la de BENGOCHEA consistente en realizar el drenaje venoso del hígado auxiliar a través de la VCI suprahepática que anastomosan término-lateralmente a la VCI infrarrenal del receptor. A todos los animales les administran azatioprina e hidrocortisona y les ligan el colédoco del huesped y solamente a 4 de 16 les ligan la VP del huesped.

Otra variante de la técnica de BENGOCHEA es la llevada a cabo por UCHIDA et al, 1970 (398), sometiendo al hígado propio a menoscabo funcional por deprivación de sangre total, estenosis de la arteria hepática, obstrucción del colédoco o por combinación de los métodos descritos. Como terapia inmunosupresora post-operatoria utilizaron azatioprina y metilprednisolona.

La máxima supervivencia postoperatoria y el menor grado de atrofia del hígado auxiliar se consiguió cuando el hígado del huesped se le priva de sangre portal y además se liga el colédoco.

La utilización de la vena renal izquierda del receptor y la VP del donante como vasos a anastomosar para el aporte sanguíneo es la técnica que idearon WEXLER et al, 1972 (409). El menoscabo funcional del hígado propio del huesped se llevó a cabo practicando una hepatectomía del 70% así como sección entre ligaduras del colédoco, 48 a 72 horas antes del trasplante. 8 perros de los 10 intervenidos sobrevivieron sin incidencias 4 semanas. A pesar de que de estos resultados podría suponerse que no es necesario el flujo portal para el hígado injertado, MAKI y SLAPAK, 1974 (224) demostraron que el empleo del flujo renal para la perfusión portal sólo puede ser considerado para uso temporal como sostén de la función hepática y en tanto exista gran déficit del funcionalismo del hígado propio del huesped. Aún empleando un 40% del parénquima hepático el flujo renal venoso ha demostrado ser suficiente para procurar un adecuado flujo portal que permita la superviviencia en el perro, Fig. 10.

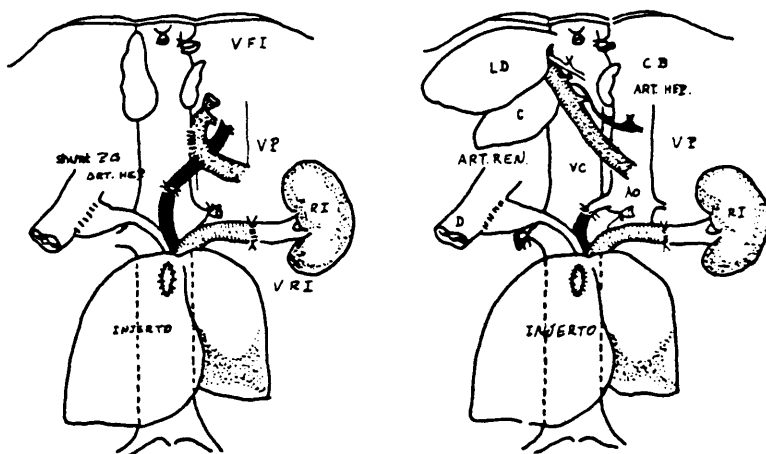


Fig. 10.: MAKI et al, Br. J. Surg., 1974.

STARZL et al, 1973 (343) han demostrado que la insulina y otros factores hepatotróficos que caminan por el drenaje venoso pancreático son importantes en el mantenimiento de un funcionamiento hepático normal.

GARCIA-MORAN, 1973 (106), ensaya la situación del alotrasplante hepático en el lugar del bazo. Se coloca verticalizado con el lóbulo derecho en situación inferior, en tanto que el hilio se orienta hacia dentro y delante. Los animales donantes pesaban 4 a 5 Kgs y los receptores 18 a 20 Kg.

El orden de las anastomosis era:

- 1.- Anastomosis término-lateral de la VCI infrahepática del donante con la VCI infrarrenal del receptor.
- 2.- Anastomosis término-terminal de la arteria esplénica del receptor con el tronco celiaco del donante.
- 3.- Anastomosis término-terminal de la vena esplénica del receptor con la vena porta del hígado donante.

Para la revascularización portal emplea flujo sanguíneo venoso procedente del bazo y territorio pancreático duodenal del receptor, sangre venosa intestinal y sangre venosa sistémica.

Para la vía biliar practica una colecisto-yeyunostomía y utiliza el rodete diafragmático del hígado donante a la pared abdominal del receptor, para fijarlo en una posición correcta. De una serie de 26 perros, sólo 2 vivieron más de 48 horas, con una superviviencia máxima de 10 y 35 días. El animal que fallece a los 35 días del postoperatorio presentaba en la necropsia una franca atrofia.

En 1974, GOLDSMITH et al. (116), emplearon la localización en hipocondrio izquierdo para el autotrasplante del lóbulo izquierdo en una serie de 11 perros. El autotrasplante sólo recibía vascularización por la arteria esplénica del receptor y no se procuró drenaje biliar, en tanto que el venoso se efectuaba a la VCI del huesped, excepto en un caso en que la vena suprahepática del lóbulo trasplantado se anastomosó término-terminal con la vena renal izquierda, lo que exigió nefrectomía previa. Practicada autopsia de los 6 animales supervivientes a los 10 meses se apreció una marcada disminución de tamaño y atrofia del autotrasplante, así como fibrosis portal.

Intentando mejorar unas presuntas condiciones hemodinámicas desfavorables que serían causa del fracaso del trasplante hepático heterotópico, LE COMPTE et al, 1974 (192), diseñan una nueva técnica quirúrgica con la que aumentar la presión de perfusión sanguínea al hígado donante y favorecer su drenaje. En esencia, consiste en disponer el hígado auxiliar en el hemitórax derecho del perro, en el espacio que previamente se consigue al efectuar una lobectomía superior. La VCI suprahepática del donante es anastomosada a la aurícula derecha; un segmento aórtico del donante, en continuidad con el tronco celíaco y la arteria hepática, se anastomosa término-lateralmente con la aorta ascendente del receptor y la VP del donante se anastomosa a la rama ápico dorsal de la arteria pulmonar del receptor. Un catéter en la vesícula biliar exterioriza su drenaje a través del tercer espacio intercostal. Así se consigue un flujo portal en el hígado donante con presión superior a la suministrada cuando se vasculariza con sangre venosa sistémica o esplácnica del huesped y además se facilita el drenaje venoso por la proximidad de las venas suprahepáticas a la aurícula derecha del receptor. 24 horas después del implante se procede a retirar el hígado propio, en una serie de 3 perros. En estas condiciones y sin administrar inmunosupresores, sólo 2 perros consiguen alcanzar una supervivencia de 7 días, falleciendo por rechazo del injerto.

I.a.2.-TRASPLANTE HETEROTOPICO DE HIGADO EN EL CERDO

CALNE, 1969 (33), basándose en la técnica de BENGOCHEA, lleva a cabo una serie de trasplantes heterotópicos de hígado en el cerdo. El espacio subhepático derecho es el lugar elegido para situar el hígado auxiliar. El flujo portal se restaura a través de una anastomosis término-lateral entre las VP del donante y receptor. El flujo arterial se procuró mediante anastomosis de un segmento aórtico del donante, en continuidad con el tronco celiaco, con la aorta abdominal del receptor. El drenaje se efectuaba por la VCI infrahepática del receptor. Se liga el colédoco donante y se anastomosan las vesículas del donante y receptor, de esta forma el drenaje biliar auxiliar tiene lugar a través de la vía biliar intacta del receptor. La serie consta de 6 trasplantes. 2 sobreviven menos de 1 semana y de los 4 restantes, 3 sobreviven más de 500 días. En la autopsia se observó que los injertos habían sufrido una completa atrofia, CALNE, 1972 (32), Fig. 11.

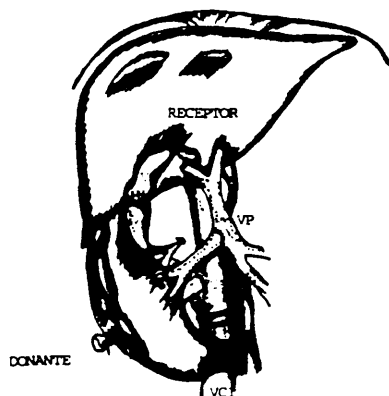


Fig. 11.: CALNE et al, Br. J. Surg., 1972.

En 1985, REUVERS et al (297) presentaron un modelo experimental de trasplante de un 60% de parénquima para el tratamiento del fallo hepático agudo. El grupo control consistió en división de la arteria hepática y shunt porto-cava término-lateral. El trasplante se colocó en el espacio subhepático derecho. La revascularización del injerto se obtuvo mediante una anastomosis término-lateral entre la vena suprahepática del injerto y la VC infrahepática del receptor. Se recuperó el flujo portal mediante anastomosis término-lateral entre la arteria hepática y la aorta infrarrenal del receptor. La restauración del flujo biliar se llevó a cabo mediante colédocoduodenostomía. Los resultados indican que el trasplante auxiliar de un segmento hepático es capaz de proporcionar sostén metabólico y mayor supervivencia en animales a los que se indujo insuficiencia hepática aguda, Fig. 12.

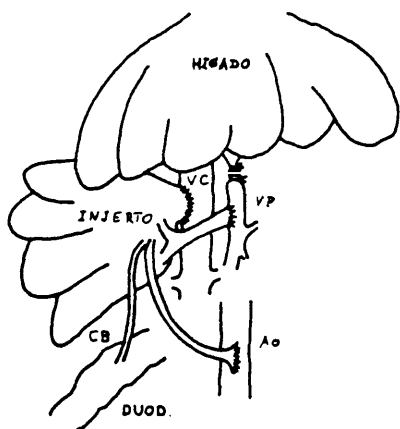


Fig. 12.: REUVERS et al, Transpl., 1985.

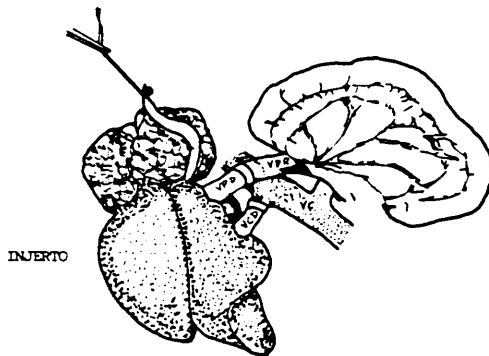


Fig. 13.: MARNI et al, Transpl., 1985.

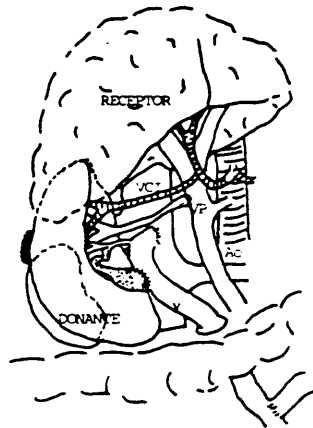
#### I.a.3.-TRASPLANTE HETEROTOPICO DE HIGADO EN LA RATA

LEE y EDGINGTON, 1968 (193) fueron los pioneros en aplicar técnicas microquirúrgicas para la puesta a punto de esta técnica. En 1971, FISHER et al (83), del mismo grupo de investigación, demuestran la necesidad en este animal del flujo portal para el adecuado metabolismo del hígado auxiliar, así como para evitar su atrofia, FISHER et al, 1971 (88).

HESS et al, 1972 (137) demostraron que existía una incompatibilidad entre el hígado auxiliar y el propio del receptor por lo que era necesario menoscabar la función del segundo para asegurar la viabilidad del primero.

MARNI, en 1985 (234), empleando las técnicas "cuff" ha simplificado este modelo experimental. Practica una hepatectomía del 70%, empalma término-terminalmente la VP y la VCI infrahepática a la vena renal derecha, tras nefrectomía, Fig. 13.

Fig. 14.: HOUSSIN et al,  
Lancet, 1980.



#### I.b.-TRASPLANTE HETEROTOPICO EN HOMBRE

La supervivencia más larga de un hígado extra funcionando fue un paciente de FORTNER et al, 1977 (97) que sobrevivió 5 años.

En 1980, HOUSSIN (156), ha publicado su experiencia con un caso de cirrosis y una supervivencia de 28 meses. El injerto se colocó debajo del lóbulo derecho. La VP y arteria hepática se sutura en término-lateral a la parte infrahepática suprarrenal de la VCI, Fig. 14.

## II.a.-HOMOTRASPLANTE ORTOTOPICO DE HIGADO EXPERIMENTAL

### II.a.1.-TRASPLANTE EN PERRO

El trasplante ortotópico experimental de hígado fué llevado a cabo como pioneros independientemente por Francis D. MOORE et al, 1959 (250), 1960 (252) del Peter Bent Brigham Hospital en Boston y Thomas E. STARZL et al, 1960 (354) en la North Western University en Chicago.

Estaba claro que en los perros el éxito de la intervención pasaba por solventar el problema del drenaje venoso del territorio esplácnico y de la VCI. MOORE, 1959 (250) idea un sistema de "by pass" externo. STARZL, 1960 (354) realiza una sutura látero-lateral portocava y una vez unidos los dos sistemas se drena la sangre a través de la vena femoral por un "shunt" externo a la vena yugular externa.

El drenaje biliar en los primeros experimentos en perros se llevó a cabo mediante una colédoco-duodenostomía. Esta técnica daba lugar a una elevada incidencia de colangitis en el perro lo que se redujo marcadamente cuando el esfínter de Oddi se preservaba usando un drenaje biliar directo conducto a conducto.

Sucesivas técnicas de trasplante ortotópico de hígado fueron descritas por MOORE et al, 1959, 1960 (252), KAUPP et al, 1960 (187) y STARZL et al, 1960 (354) lo que hizo posible un estudio del rechazo de hígados injertados.

La técnica quirúrgica empleada por MOORE consiste en una anastomosis término-terminal entre la VCI suprahepática del donante y receptor, seguido por la de la VP y arterias

hepáticas. La vía biliar se soluciona mediante colecistoduodenostomía y en algunos animales colecistostomía.

Practica el grupo de MOORE la hipotermia corporal del donante mediante solución salina isotónica fría en la cavidad peritoneal del perro, así como por perfusión portal e inmersión en dicha solución del hígado una vez realizada la hepatectomía. Durante la fase anhepática del receptor se emplean dos shunts de baja presión que drenan ambos sistemas vasculares a la vena cava superior.

Con la técnica antes mencionada, obtienen en una serie de 31 perros, 15 supervivientes de más de 24 horas y de ellos, 4 consiguen sobrevivir 5, 6, 8 y 12 días, respectivamente.

Para evitar el estasis portal durante la fase anhepática en el receptor, STARZL, 1960 (354), ideó construir una anastomosis porto-cava látero-lateral en el receptor, con el fin de descomprimir el sistema esplácnico y mediante un by-pass externo, entre la vena femoral izquierda y la vena yugular externa homolateral, drenaba la sangre de VCI al sistema de la vena cava superior, Fig. 15.

Todos los animales supervivientes, post-trasplante empleando la técnica antedicha presentaron infiltración hepática por mononucleares a partir del cuarto día del postoperatorio en diferente grado, así como en pulmón, riñón, médula y ganglios linfáticos, BROCK y STARZL, 1962 (14).

En una serie posterior de perros realizados por el mismo grupo, el drenaje biliar se efectuaba a través de una colecistoduodenostomía y todos los supervivientes fueron tratados con azatioprina hasta los 120 días del postoperatorio. Los resultados no dejaron lugar a dudas sobre el efecto del Imuran en el trasplante de hígado, consiguiendo que de 116 perros, 84 superaran los 7 días de vida y que, 15

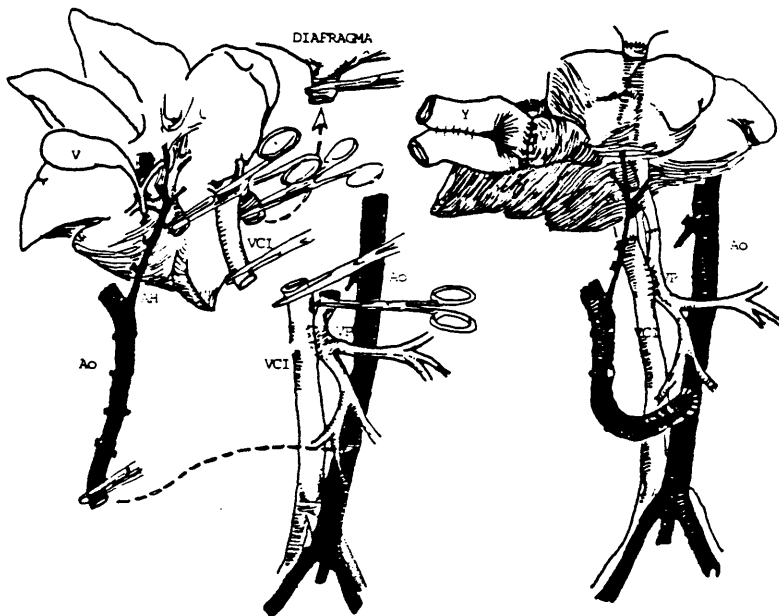
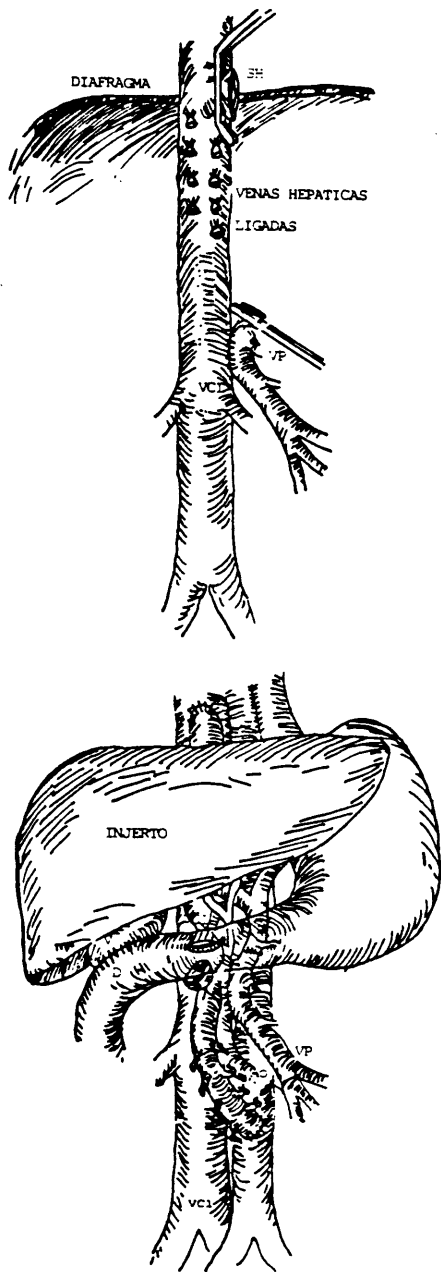


Fig. 15.: STARZL et al, S.G.O., 1960.

comprendido entre los 62 y los 342 días, STARZL et al, 1965 (366).

FONKALSRUD, 1967 (90), presenta su modelo experimental en el cual la VC del receptor no se interrumpe no siendo necesarios los shunts externos, Fig. 16.



F.g. 16.: FONKALSRUD et al, S.G.O., 1967.

#### II.a.2.-TRASPLANTE ORTOTOPICO DE HIGADO EN EL CERDO

La primera referencia a esta técnica es la presentación el día 24 de Mayo de 1965 por GARNIER et al (107) a la Academia Francesa de las Ciencias, en la que exponían sus resultados en 23 autotrasplantes de hígado utilizando el cerdo como animal de experimentación.

La técnica quirúrgica que emplearon se basaba en la descrita en el perro por STARZL et al, 1965 (362) y los cerdos, de raza large-White, tenían un peso corporal aproximado de 60 Kg.

Aunque 18 animales fallecen durante la intervención y sólomente uno sobrevive más de 26 días. Obtienen la experiencia necesaria para realizar con posterioridad una serie de 20 trasplantes ortotópicos de hígado en dicho animal que fue elegido por la gran similitud anatómica y fisiológica de este órgano con el del hombre, CORDIER et al, 1966 (62).

En el año 1967 un grupo de investigación de la Universidad de Bristol, dirigido por PEACOK y TERBLANCHE (277), publica los resultados obtenidos en el trasplante ortotópico de hígado utilizando como animal experimental el cerdo. Justificaban la elección de este animal en que, a similitud del hombre, es omnívoro y sus venas hepáticas no tienen esfínteres.

En la fase anhepática colocan 2 sistemas by-pass entre las venas ilíacas y esplénica, en el abdomen, y las venas yugulares externas, en el cuello y hacen especial hincapié en la importancia que tiene el buen funcionamiento del by-pass portal, puesto que el cerdo tolera peor que el perro el estasis.

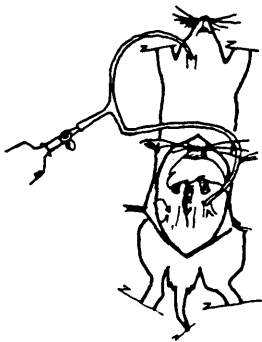


Fig. 17.: LEE et al, Transpl., 1973. Representa la disposición del by pass porto-yugular y la anastomosis de la suprahepática.

#### II.a.3.-TRASPLANTE ORTOTOPICO DE HIGADO EN LA RATA

El trasplante ortotópico de hígado en la rata fué originalmente descrito, para un método de sutura manual por LEE et al, 1973 (194), Fig. 17. Posteriormente KAMADA, 1979 (177); MIYATA et al, 1980 (247), Fig. 18; LIMMER y CALNE, 1981 (215) y KAMADA y CALNE, 1983 (176) introducen la técnica del "cuff" para la construcción de las anastomosis vasculares, con lo que mejoran considerablemente la supervivencia.

El empleo de los "cuff" para las anastomosis vasculares se remonta a NITZE, en 1897 (272) y PAYR, en 1900 (276), cuyas técnicas originales se han aplicado al trasplante experimental de órganos por GOODRICH, 1956 (119); HERON, 1970 (136); DUNN, 1976 (70) y recientemente por KAMADA, 1979 (177) que las ha rescatado para la microcirugía.

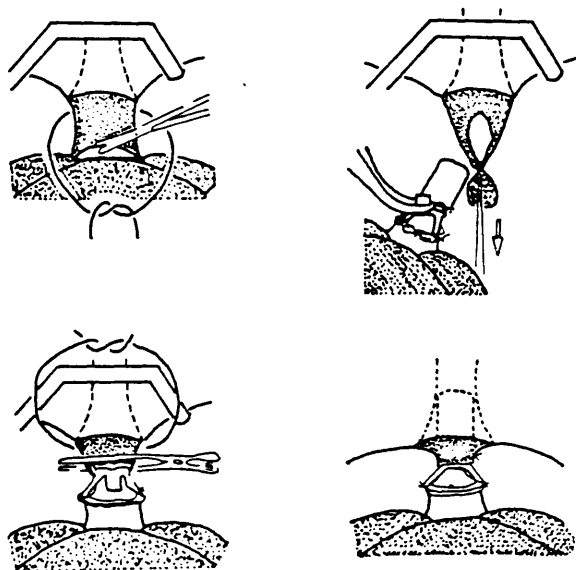


Fig. 18.: MIYATA et al, Transpl., 1980.

Estas técnicas han permitido utilizar este modelo experimental en rata para estudiar nuevos métodos de preservación, KAMADA et al, 1980 (178) y de inmunosupresión, ZIMMERMANN et al, 1979 (422) así como para la investigación de los mecanismos inmunológicos por los que el alotrasplante hepático procura tolerancia, ZIMMERMANN et al, 1979 (422).

MIYATA, 1980 (247) preconiza el empleo de los "cuff" en las tres anastomosis vasculares, incluido la VCI suprahepática. Con esta mejora técnica obtiene supervivencias del 85%, Fig. 18.

### III.a.-XENOINJERTO HEPATICO EXPERIMENTAL

En 1970, CALNE (27) llevó a cabo 7 trasplantes de cerdo a baboon. Todos los animales sobrevivieron a la intervención. 4 animales de la serie murieron de hemorragia difusa entre 6 y 30 horas. Los otros 3, tras recibir fibrinógeno humano no padecieron hemorragia. 1 animal que murió de bronconeumonía 3 días y medio después del trasplante presentaba un parénquima hepático normal, aparte de una fuerte infiltración de los espacios porta por células mononucleares. En 6 injertos se evidenció signos histológicos de necrosis centrolobulillar en el examen post-mortem.

CALNE, en 1970 (27), trasplantó hígados de cerdos a 3 macacos previamente tratados con suero de conejo anti-timocitos de macaco. Un chimpancé no fué tratado y también recibió un hígado de cerdo. No hubo ninguna supervivencia superior a 3 horas. En todos los casos existieron signos de rechazo con coagulación intravascular.

Por otro lado, el mismo grupo en 1970 realiza 3 trasplantes hepáticos de macaco fasciculata a macaco mulatta tratados con suero antilinfocito. Un animal murió en la 19 hora y se descubrió una necrosis hepática focal y una infiltración mononuclear moderada. Otro animal sobrevivió 3 y medio día, hallándose marcados signos de rechazo en el hígado post-mortem. El tercer animal sobrevivió 20 días.

Otros casos descritos en la literatura fueron trasplantes de hígado de conejo a rata, JERUSALEM, 1971 (171). Baboon a cerdo, TERBLANCHE, 1970 (385). Perro a cerdo, JERUSALEM, 1971 (171). Zorro a perro; dingo a perro; coyote a perro; cerdo a perro, PANGAN, 1966 (275) y GLIEDMAN, 1967 (114) y cerdo a perro, JERUSALEM, 1971 (171).

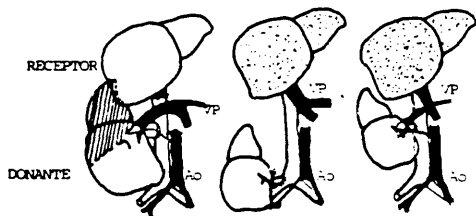


Fig. 19.: POUYET et al, Lyon Chir., 1971.

### III.b.-XENOINJERTO HEPATICO EN HUMANOS.

#### III.b.1.-INJERTOS HETEROTOPICOS

Representa uno de los métodos usados en la historia para el mantenimiento temporal de la función hepática en el fallo hepático agudo en hombres. Los casos no han sido muchos y esto se explica por los pobres resultados obtenidos cuando se compara con los éxitos relativos de los aloinjertos ortotópicos hepáticos, STARZL, 1971 (344). EN 1966, STARZL (359) Practicó un trasplante procedente de un chimpancé que secretó bilis durante 12 horas hasta que se rechazó. El rechazo o complicaciones técnicas explica los fallos observados en la mayoría de los otros casos, LEGER, 1970 (202); POUYET, 1971 (239), Fig. 19 y MARION, 1970 (233).

### III.b.2.-INJERTOS ORTOTOPICOS

STARZL, 1969 (338) y GILES, 1970 (112) realizaron dos casos de heteroinjertos ortotópicos de hígado de chimpancés a niños con atresia biliar intrahepática.

En el primer paciente la función hepática fué relativamente satisfactoria hasta el momento de la muerte, 9 días después del trasplante, debida a una septicemia por peritonitis. La azatioprina los esteroides y el suero antilinfocito fue la inmunosupresión que se llevó a cabo. En la necropsia se descubrieron múltiples focos hemorrágicos al corte del hígado. Los cambios histológicos se caracterizaron por una infiltración de células linfoides en los tractos portales. No se apreció lesión de las paredes arteriales. La mayoría de los hepatocitos aparecían como normales y "era difícil de creer que la muerte del niño había sido por el fallo hepático, producido por el rechazo, como causa directa", PORTER, 1969 (287). El donante era un tipo sanguíneo O. El suero anti-linfocito humano detectó antígenos del tipo HLA-5 presente en el donante y ausente en el receptor.

El segundo paciente murió de shock a las 26 horas después del trasplante. El hígado apareció macroscópica y microscópicamente normal.

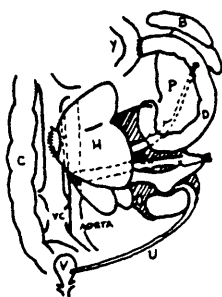


Fig. 20.: MAKI et al, Transpl., 1977.

#### IV.-TRASPLANTE MULTIPLE DE ORGANOS ABDOMINALES

El hígado también se ha trasplantado en posición anatómica conjuntamente con el resto de los órganos intrabdominales consiguiéndose una supervivencia máxima de 9 días, STARZL y KAUPP, 1960 (352).

En el año 1977, MAKI (223) presentó su experiencia en la rata con el trasplante simultáneo de hígado, páncreas, duodeno, bazo y riñón. De 23 trasplantes 14 superaron las 24 horas de vida, Fig. 20.

#### HISTORIA DE LAS ENZIMAS HEPATICAS

En 1943, WARBURG Y CHRISTIAN (405), comunican el hallazgo en el plasma de enzimas vinculadas exclusivamente con el metabolismo celular, en ciertos estados patológicos. Nace la enzimología clínica tal como se la estudia en la actualidad.

Los trabajos de LA DUE y WROBLEWSKI, 1954 (189) desencadenan un importante interés sobre la relación entre GOT, GPT y LDH en las hepatopatías, con lo que se introdujo el concepto de la relación entre la concentración sanguínea de esas enzimas y sufrimiento y/o necrosis celular.

En 1959, BODANSKY (12) da a conocer sus trabajos sobre la fosfatasa alcalina en colestasis.

Como colofón de sus estudios, en 1954, LA DUE (189) anuncia como viable la realización de una "biopsia bioquímica", a través de fluidos corporales, por medio de parámetros enzimáticos.

#### HISTORIA DEL ATP

El ATP fué aislado por vez primera en 1924 por FISKE y SUBBAROW de los extractos ácidos del músculo. Posteriormente la estructura fué totalmente definida por TODD et al en 1948.

LIPMANN et al (1939-1941) (217) propusieron que el ATP desempeñaba un papel en la transferencia de la energía celular.

El primer autor que postuló que la fosforilación oxidativa está acoplada con la transferencia de un par de electrones desde el NAD<sup>+</sup> al oxígeno molecular a lo largo de la cadena respiratoria fué BELISTER. Posteriormente en 1941-51, LEHNINGER et al (207) demostraron la anterior hipótesis. Se observó que la oxidación de los sustratos ligados al NAD por el oxígeno molecular, en las mitocondrias, va acompañada de la formación de tres moléculas de ATP durante el transporte electrónico entre el NADH y el oxígeno.

#### FIREFLY BIOLUMINISCENCIA

El mayor descubrimiento en entender la química de los animales luminosos fue el resultado de los experimentos de R. DUBOIS (1885-1914) trabajando primeramente con un escarabajo luminoso, "pyrophorus", y posteriormente con un molusco, "pholas dactylus". Demostró que los órganos luminosos contenían un factor estable al calor y un factor lábil que en presencia de oxígeno producían luz. Estos factores fueron denominados luciferina y luciferasa respectivamente, CAMPBELL, 1985 (50).

La reacción "firefly" comenzó a ser utilizada con fines analíticos en 1947 cuando McELROY descubre que en esta reacción intervenía el ATP, LUNDIN, 1982 (221). El hecho de que McELROY descubriese que la adición de ATP al extracto de luciérnaga provocaba bioluminiscencia fue un gran acontecimiento debido a que el ATP fue descubierto en 1929 pero no fue definitivamente sintetizado hasta 1948, CAMPBELL, 1985 (50).

STREHLER y TOTTER en 1952 realizan la primera aplicación de reacciones bioluminiscentes "in vitro" para la determinación de intermediarios metabólicos.

### HISTORIA DEL CICLO DE KREBS

Desde los trabajos de THUNBERG y de BATELLI y STERN en el período comprendido entre 1910-1920 se sabe que las suspensiones anaerobias de tejidos animales triturados contenían enzimas capaces de transferir átomos de hidrógeno de ciertos ácidos orgánicos, cuya presencia en las células era previamente conocida, al colorante reducible azul de metileno transformándolo en su forma reducida. Tales enzimas se denominaron deshidrogenasas, LEHNINGER, 1972 (207).

Posteriormente en el comienzo de los años 1930 diversos investigadores hallaron que el succinato, el fumarato y el citrato también son rápidamente oxidados a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O por el oxígeno molecular.

en 1935, SZENT-GYORGYI realizó el descubrimiento extremadamente importante de que la adición de pequeñas cantidades de fumarato, malato o succinato a suspensiones de papilla muscular, inducían el consumo de cantidades de oxígeno mucho mayores que las que se necesitaban para oxidar a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O el ácido dicarboxílico añadido. Llegó a la conclusión de que cada uno de estos ácidos estimula la oxidación de algún sustrato hidrocarbonado endógeno en el tejido, posiblemente del glucógeno y que este efecto es catalítico. Una molécula de succinato era capaz de inducir la oxidación de muchas moléculas del sustrato endógeno. El anterior autor también demostró que la oxidación del succinato por la acción de la succinato deshidrogenasa debía ocurrir en la corriente principal del metabolismo oxidativo del músculo.

Partiendo de estas observaciones, KREBS estudió las interrelaciones del metabolismo oxidativo de diversos ácidos orgánicos empleando como material experimental suspensiones de papilla de músculo pectoral de paloma que poseen un ritmo respiratorio elevado, ZAKIM, 1982 (419).

### HISTORIA DE LA FIBRONECTINA

En 1948, MORRISON, EDSALL y MILLER (254), observaron que junto a la precipitación del criofibrinógeno ocurría la precipitación de una proteína plasmática de alto peso molecular cuando se hacía una incubación en frío. En principio esta proteína, debido a la característica anteriormente citada, se denominó globulina insoluble en frío (GIF).

Por muchos años esta proteína se distinguía por sus propiedades bioquímicas pero sin un claro papel fisiológico, SHERMAN, 1983 (324).

Aunque múltiples estudios de la GIF fueron publicados en 1955 la interpretación de los mismos fue poco esclarecedora ya que no se sabía si esta GIF era una única proteína o un dímero de fibrinógeno o incluso se llegó a postular si sería una proteína del mieloma que fortuitamente se había incluido en los "pools" de los plasmas que fueron objeto de estudio, MOSHER, 1984 (262).

MOSESSON et al, 1968 (257), dará luz a las anteriores investigaciones cuando estudiando a una paciente que presentaba carcinoma de ovario, trombosis recurrente y criofibrinogenemia, observó que se formaba un precipitado en el plasma cuando se incubaba a 0-4°C. pero que este precipitado no se formaba en el suero cuando este se incubaba a la misma temperatura. En el precipitado del plasma encontraron fibronógeno y otra proteína. El fibrinógeno se demostró que estaba presente, ya que el criofibrinógeno solubilizado fue parcialmente coagulable por la trombina. Sin embargo, en el precipitado había otra fracción que no era coagulable por la trombina. La GIF sufría una migración electroforética más rápida así como un coeficiente de sedimentación más alto que el fibrinógeno.

Posteriormente esta GIF fue purificada y se halló que su concentración normal en plasma era de aproximadamente 300 microg/ml, MOSESSON et al, 1970 (258).

Desde entonces numerosas técnicas bioquímicas e inmunoquímicas se han llevado a cabo en orden a identificar completamente a esta glicoproteína.



I N T R O D U C C I O N

### INTRODUCCION

El trasplante ortotópico de hígado es un método terapéutico aceptado en la actualidad en la clínica humana. La enfermedad hepática terminal es un evento relativamente frecuente. 2.000-3.000 españoles mueren cada año con una edad inferior a 55 años.

Un requisito previo y fundamental para realizar estas intervenciones quirúrgicas en el ser humano, lo constituye la experiencia obtenida en el campo experimental. Este es el objetivo fundamental en el presente trabajo de investigación utilizando la rata como animal de experimentación.

Su elección se ha basado en la economía, la autonomía de medios y la posibilidad de obtener un número amplio de casos.

Se prefieren las ratas macho por su mayor docilidad, su estabilidad endocrinológica, crecimiento más pronunciado y por último la facilidad de llevar a cabo inyecciones por la vena dorsal del pene. Su peso más deseable es de 300 g. En cuanto a su edad lo ideal es que esté entre las 14 y las 16 semanas. Una rata más joven puede plantear problemas técnicos debido a la menor talla de sus vasos y por otra parte una rata más vieja es más susceptible de infecciones respiratorias y de acumulación de grasa en la capa retroperitoneal.

En la rata una presión de perfusión similar a la presión portal se obtiene colocando la botella de perfusión a 20 cm de la mesa de operación.

El trasplante ortotópico de hígado en animales de talla mayor está condicionado por frecuentes fallos técnicos y por la necesidad de un gran equipo técnico o por ambos, COOPERMAN, 1971 (61).

El trasplante de hígado es en la actualidad un procedimiento clínico común y las técnicas para procurar implantar órganos están lo suficientemente bien establecidas, de manera que el único obstáculo mayor para llevarlo a cabo lo constituye una reserva insuficiente de órganos de cadáver. Sin embargo, un elevado porcentaje de injertos de hígado no han tenido éxito, en especial cuando el donante del órgano trasplantado no está relacionado genéticamente con el receptor. Estos fracasos están relacionados con la respuesta inmunológica del receptor ante los antígenos de histocompatibilidad del órgano del donante.

Los intentos para suprimir la respuesta inmunitaria del receptor con altas dosis de esteroides o agentes citotóxicos pueden resultar en la muerte de los enfermos, provocada por las complicaciones relacionadas con dichos agentes. Actualmente parece estar bien reconocido que el rechazo decisivo generado contra los trasplantes de hígado es principalmente un proceso inmune de tipo celular aunque un importante papel puede atribuirse también a los anticuerpos humorales en la destrucción de los tejidos en algunas circunstancias, WILLIAMS, 1977 (411) y ROSER, 1983 (305).

Cuidadosas observaciones llevadas a cabo por STARZL et al, han demostrado que el rechazo típico mediado por células es la principal causa de fallo del trasplante en todas las etapas, ROSER, 1983 (305) y STARZL, 1981 (356).

Los anticuerpos previamente existentes en el suero del receptor pueden reaccionar con células del donante. El rechazo inmediato (hiperagudo) o acelerado va acompañado por el depósito de plaquetas y de fibrina en los vasos del injerto y por la invasión de los tejidos circunvecinos por granulocitos, Fig. 21, PERKINS, 1982 (280).

El grado de susceptibilidad de los trasplantes de hígado al ataque inmune permanece incierto. La aparente ausencia de

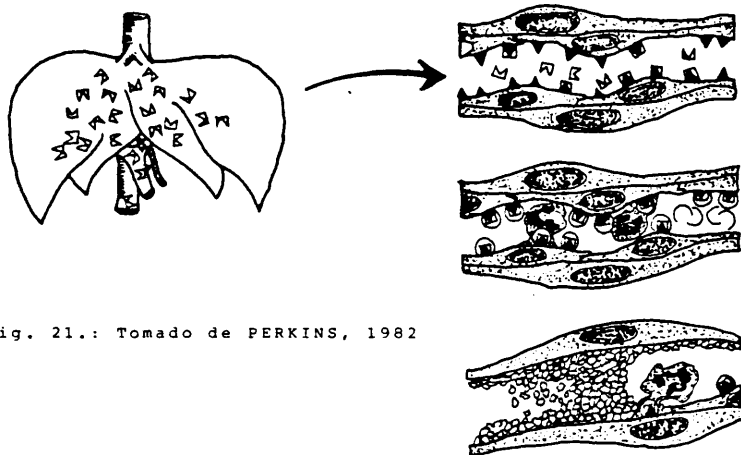


Fig. 21.: Tomado de PERKINS, 1982

rechazo hiperagudo podría sugerir especiales propiedades inmunitarias del hígado.

En el hígado, el fenómeno de rechazo se traduce en la muerte del receptor que ocurre casi constantemente alrededor del décimo día, STARZL, 1964 (370) y STARZL, 1968 (345). En la autopsia se encuentra la víscera aumentada de tamaño, peso y consistencia; de color oscuro y con sensación de dureza al tacto.

Durante las primeras 48 horas del trasplante se observan necrosis de algunos hepatocitos centrolobulillares, edema intersticial y prominencia de las células de Kupffer, cambios que no son específicos y que se deben relacionar con la isquemia.

A partir del tercer día se produce casi invariablemente la infiltración por células redondas de los vasos portales y venas centrolobulillares. A partir del sexto día la infiltración es densa en todos los tractos portales y contiene gran cantidad de células plasmáticas, con necrosis de los hepatocitos en las zonas centrales y media de los lóbulos hepáticos.

Al final, las zonas centrales presentan gran distorsión de los sinusoides con infiltración de células rojas y mononucleares adheridas al endotelio. Se observa estasis biliar y destrucción de los conductos biliares, dilatación de las paredes de los conductos linfáticos y necrosis fibrinoide de las arterias. Las células de Kupffer, están hipertróficas por depósitos de hemosiderina y condensación de la trama reticular con fibrosis en los animales de más larga supervivencia.

En la serie de MARCHIORO, 1965 (230), la mayoría de los hígados trasplantados mostraron evidencia de reacción celular al injerto con infiltración de células linfoides alrededor de las venas centrales. La infiltración tiende a disminuir con el tiempo.

También se aprecia fibrosis centrolobular y fleboesclerosis y fibrosis periportal. Esto se considera un rechazo grado medio, crónico por el bloqueo de la salida hepática en el postoperatorio de los perros.

En los casos de mayor supervivencia -50 días- los cambios progresan hacia el desarrollo de bandas fibrosas que afectan las zonas centrales.

También se puede observar pérdida de conductos biliares pequeños con acumulación consecuente de bilis en los canaliculos centrolobulares. La necrosis fibrinoide de ramas de la arteria hepática se considera como rara.

MARCHIORO, 1965 (228), atribuye los cambios ocurridos a la acción de anticuerpos adheridos a las células circulantes producidos por el huésped.

Las cosas no siguen siempre este camino, ni las respuestas son uniformes debido a la posibilidad de desviación del fenómeno en dos sentidos: hipersensibilidad y tolerancia, RODRIGUEZ-ALVAREZ, 1974 (300).

La posibilidad de que el rechazo en el homotrasplante sea mediado por un ataque inmunológico sobre el sistema vascular ha sido estudiado por varios investigadores. En 1953, SIMONSEN (329) realizaron grandes series de trasplantes renales en perros y estudiaron cuidadosamente los datos histológicos del rechazo apreciando cambios vasculares en los riñones que comenzaban al tercer o cuarto día del trasplante. Estas lesiones vasculares las describen como similares a las de la periarteritis nodosa.

DEMPSTER en 1953 (68) postula que el rechazo del homotrasplante de riñón puede tener lugar como resultado de espasmos vasculares irreversibles secundarios a la reacción antígeno-anticuerpo.

HUME en 1955 (160) describe los resultados de 9 homotrasplantes renales realizados en humanos encontrando en algunos de ellos un marcado adelgazamiento de la íntima en grandes arterias intrarrenales. La mayoría de los trasplantes presentaron una disminución del flujo glomerular.

La aparición de cambios vasculares como una parte muy importante del cuadro histológico de rechazo fue confirmado por EDGAHL y HUME en 1956 (75).

PORTER et al en 1963 (288) presentan los datos de cuatro trasplantes renales realizados en humanos tratados con drogas que fueron rechazados entre 38 y 45 días. Observaron en todos los casos la presencia de varias lesiones vasculares caracterizadas por adelgazamiento de la íntima y cambios en la

media a lo largo de todo el árbol arterial. Concluyen postulando que estos cambios son de base inmunológica.

HOROWITZ, en 1962 (152), en una serie de homotrasplantes caninos aprecia vacuolización de la media en los vasos sanguíneos intrarrenales a las 72 horas. Mediante estudios inmunohistoquímicos demostraron la presencia de gammaglobulina y alfa-2-globulina en las vacuolas previamente descritas. Basándose en estos resultados, proponen que los complejos Ag-Ac en las paredes de los vasos sanguíneos son debidos al rechazo del trasplante.

JACKSON, 1964 (166), mediante el estudio del flujo sanguíneo renal por ondas electromagnéticas observó que éste se encuentra importantemente reducido en presencia de rechazo. Esta reducción se evidenció al tercer o cuarto día de manera gradual. Observaciones similares se han realizado en perros receptores de trasplante ortotópico de hígado mediante el uso de Xenon isotópico. Los cambios del rechazo celular agudo son comparables tanto en los componentes celulares como en relación a los cambios de los pequeños vasos a los vistos anteriormente en el rechazo celular agudo renal, GROTH, 1968 (125). Estos datos confirman la sospecha de que hay un importante componente de isquemia en el rechazo de los homoinjertos de hígado. Lo primero que fue especulado es que el flujo sanguíneo puede ser obstaculizado a nivel sinusoidal, McBRIDE, 1962 (240) o alternativamente en los vasos dentro de los tractos portales intrahepáticos. La isquemia mediada inmunológicamente produce lesión de las venas y lechos sinusoidales en el homotrasplante hepático y no se influencia por la administración de agentes vasodilatadores, MOORE, 1964 (251).

STARZL et al, 1969 (372), en siete perros que murieron de rechazo a los 6-10 días del trasplante encontró una disminución tanto en el flujo hepático arterial como en el portal con concomitante deterioro de la función hepática. En los animales que no se evidenció rechazo no apareció disminución en el flujo sanguíneo hepático.

Los cambios vasculares del rechazo crónico también son muy similares a los vistos en alotrasplantes renales y hay las mismas dificultades en entender su patogenia, CALNE, 1983 (24).

La lesión de los conductos biliares vista en la enfermedad injerto-versus-huesped es de considerable interés a causa de su similitud con la lesión vista en los alotrasplantes hepáticos. En ambos casos hay un progreso hacia la completa desaparición de los pequeños conductos biliares y es tentador especular si podría ser la causa de colestasis, SHULMAN, 1980 (326). No hay evidencia de que la colestasis sea debida a la isquemia; pero este mecanismo ha sido invocado para explicar algunos de los otros cambios vistos en la zona centrolobulillar. La necrosis hepatocítica y la atrofia pueden por ejemplo ser atribuidas a la disminución del flujo sanguíneo causado por el estrechamiento vascular en los tractos portales o bien a la disminución del flujo sinusoidal por el infiltrado celular en el espacio de Disse, WILLIAMS, 1973 (414).

De los estudios de GROTH, 1968 (128) se desprende que durante el rechazo no todas las zonas del hígado sufren igual disminución de su flujo sanguíneo. Presumiblemente las zonas más deprimidas fisiológicamente de flujo serían las únicas que sufrirían necrosis isquémica. El primer autor en sugerir esta hipótesis fue MOORE, 1960 (252).

Siguiendo la unidad estructural y funcional propuesta por RAPPAPORT, Fig. 22, denominada acino hepático se describen 3 zonas circulatorias: Zona 1 o región periportal. Zona 2 y zona 3 o región centrolobulillar. Existe una relación por zonas entre las células que constituyen los acinos y sus vasos sanguíneos. Así los hepatocitos situados cerca de las ramas vasculares terminales axiales (zona 1) son las primeras en recibir sangre fresca rica en oxígeno y elementos nutritivos. Son las últimas en morir y las primeras en regenerarse. Cuanto más distantes se hallen las células del sitio donde las ramas portales y arteriales se vacían en los sinusoides, tanto más pobre es la calidad de la sangre que las baña y tanto menor la resistencia a la lesión.

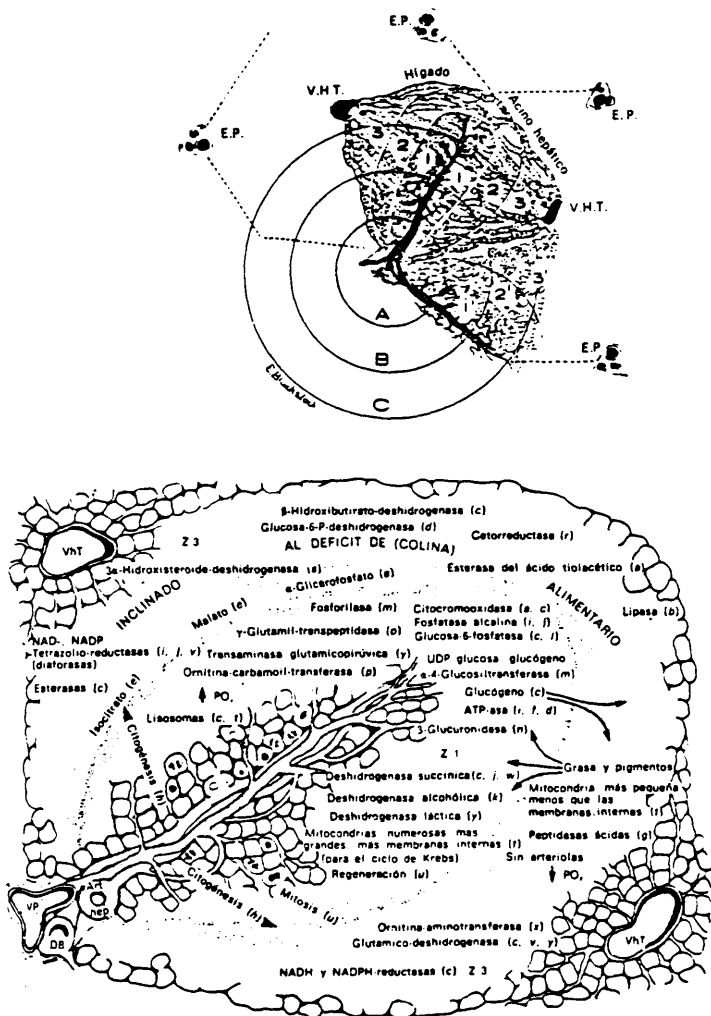


Fig. 22.: Irrigación sanguínea del acino hepático y disposición zonal de las células, basado en el esquema de RAPPAPORT. Areas metabólicas y su patrón enzimático. Tomado de SCHIFF, 1980.

El diagnóstico preciso de rechazo en el trasplante de hígado es difícil y la evidencia no está siempre a disposición. Por esta razón se emplean la institución de regímenes de terapia para el rechazo como una medida: Número de bolus de esteroides; frecuencia de retrasplante y asociación de infección viral y bacteriana, WAJSZCZUK, 1985 (404).

Algunos llegan más lejos al afirmar que es difícil distinguir las lesiones mediadas por la inmunidad de aquellas que resultan de factores mecánicos u otros.

El hepatograma isotópico es una técnica standard para la detección de una serie de enfermedades hepáticas y desde 1968, GROTH (125), para evaluar eventos en el trasplante ortotópico de hígado.

Por causas desconocidas hasta ahora los trasplantes ortotópicos de hígados de ratas, al igual que de cerdos, VAIMAN, 1976 (399), presentan un bajo rechazo frente a otros órganos y tejidos.

La Ciclosporina y los esteroides son los inmunosupresores más usados en el trasplante de hígado.

La concentración biliar de Ciclosporina A, según los estudios de VENKATARAMANAN, 1985 (402), osciló de 32 ng/ml en un paciente con enfermedad hepática severa a 5.212 ng/ml en un trasplante de hígado en humano con función normal. La determinación se practica mediante técnica RIA y cromatográfica de alta resolución, SANGHVI, 1986 (311).

Se ha descubierto una correlación lineal negativa entre la bilirrubina sérica y la cantidad total de Ciclosporina A excretada en la bilis.

La cantidad total de Ciclosporina A excretada en la bilis por encima de una dosis-intervalo representa menos del 1% de la dosis administrada en todos los pacientes.

La ciclosporina A es un polipéptido cíclico con propiedades potentes de inmunosupresión. Ha conseguido hacer el trasplante de hígado una práctica y método generalmente aplicado para el tratamiento de enfermedades terminales del hígado, WILLIAMS, 1983 (412).

Esta droga se elimina primariamente del cuerpo por el metabolismo hepático y la excreción biliar es la ruta mayor de eliminación en animales.

En humanos el reciclaje enterohepático de Ciclosporina A se sugirió por la presencia de un segundo pico de ciclosporina T (Ciclosporina A + metabolitos medidos por RIA), concentraciones plasmáticas y la aparición de la droga en el drenaje de ileostomía de un paciente, VENKATARAMANAN, 1985 (402).

La asociación terapéutica de Ciclosporina A, corticosteroides, cefalosporinas, penicilina y/o un aminoglucósido se ha correlacionado con una alta incidencia de infecciones por hongos.

En la serie de WAJSZCZUK, 1985 (404), analizando 62 pacientes durante 170 días, 26 enfermos (42%) tuvieron 33 episodios de infecciones por hongos y de los fallecidos, un 69% estuvieron infectados.

Se concluye que tras las observaciones la administración de antibióticos 2 semanas antes del trasplante y de corticoides 3 meses antes se asocia a infección por hongos.

Dado que el trasplante de hígado supone una ruptura de intestino y tracto biliar, las candidas podrían ser adquiridas durante el proceder quirúrgico.

El grupo de Pittsburgh suele asociar a su tratamiento, nistatina 400.000 UI oral 4 veces al día, comenzando el día del trasplante.

Cuando se hace necesario administrar altas dosis de esteroides demasiado a menudo se degrada la calidad de vida.

Esto ha llevado a STARZL en 1982 (350) a preconizar un método alternativo de inmunosupresión con Ciclosporina A y bajas dosis de esteroides.

4 á 6 horas antes de la operación se administra una dosis simple de Ciclosporina de 17.5 mg/Kg; seguido en el postoperatorio con media dosis mañana y tarde vía IM o VO.

La Hidrocortisona por vía IV se administra intraoperatoriamente a dosis de 60-100 mg/día, pasando a 5-20 mg/día de mantenimiento.

De los 8, 7 viven entre 6 y 16 meses. 6 trasplantes tienen unas cifras de bilirrubina inferior a 1mg/dl.

WILLIAMS et al, 1983 (412), preconizan una pauta similar a base de 15 mg/Kg de CyA y 100mg de Metilprednisolona, que pasa a 20-30mg en el postoperatorio. Los mismo autores utilizando perros Mongrel con pesos comprendidos entre 14 y 20Kg han encontrado un aumento significativo de supervivencia a los 60 días utilizando Cy disuelta en aceite de oliva administrada oralmente a dosis de 20mg/Kg/día, durante 15-20 días; 10mg/Kg/día, dos semanas y 5mg/Kg/día, otras dos semanas.

Las pérdidas masivas de sangre en el intraoperatorio pueden ocurrir como resultado de diversos factores: Disminución en la síntesis de proteínas de la coagulación por la enfermedad hepática; Trombocitopenia secundaria a la hipertensión portal con hiperesplenismo; sangrado por extensas zonas varicosas, por vasos colaterales que se acompaña de cicatrices por Cirugía previa; sangrado durante la anastomosis vascular; sangrado secundario a la coagulopatía que resulta de la incapacidad del paciente a inactivar los precoagulantes, activadores fibrinolíticos y productos de la degradación de la fibrina, generados durante la Cirugía.

Esto ha llevado al grupo de Boston, DZIK, 1985 (71), como a otros, a preconizar el uso de un aparato "salva-células", para este tipo de intervenciones. En su serie, un 64% de los enfermos sobrevivieron más de un año y el ahorro de sangre fue de un 45%.

Un inconveniente de bastante difícil solución es el ligado al reflujo biliar. La mayor parte de los problemas se deben a la sepsis y a la estasis biliar irreversible. Para CALNE, 1977 (43), todo se centra en la infección ascendente canalicular por parte de cepas E. coli que determinan la precipitación de solutos -colesterol, bilirrubina- por el enzima glucuronidasa que cataliza la conversión del glucurónido en bilirrubina libre, insoluble. La bilirrubina libre ha sido el mayor componente de cálculos encontrados en tales pacientes.

Otra causa posible del espesamiento biliar sería la desepitelización de los conductos excretorios intrahepáticos debidos al daño isquémico ligado al rechazo crónico, no bien evidenciable en la clínica y difícilmente documentable en la histología, SABA, 1980 (308).

Según STARZL, 1981 (349) el futuro del trasplante de hígado dependerá de la selección de pacientes, del perfeccionamiento de la técnica quirúrgica, sobre todo en lo que concierne a la reconstrucción de la vía biliar y de la detección precoz del daño hepático mediante la técnica semiológica, de la colangiografía transhepática y la biopsia hepática.

Intentando solventar estos problemas en la Clínica Quirúrgica del Hospital de la Caridad en Berlín, cuya experiencia es de 28 trasplantes en humanos con una supervivencia de 8 pacientes entre 3 meses y 5 1/4 años, WOLFF, 1985 (415) emplean la microcirugía en la reconstrucción de la vía biliar. La esqueletización del colédoco debe ser evitada pues se compromete el aflujo de sangre. Utilizan un catgut de 7/0, gafas de magnificación y un drenaje en "T" durante 3 meses.

A los 3 meses la colangiografía por el tubo demuestra el buen estado de la sutura y practicada histología en 7 pacientes, la superficie interior se recubrió con epitelio normal.

Se concluye con los FACTORES DE BUENA FUNCION EN LA RECONSTRUCCION BILIAR:

- 1.- Aflujo sanguíneo intacto al colédoco donante y receptor o al extremo del conducto biliar a anastomosar.
- 2.- Técnica cuidadosa de adaptación de la mucosa.
- 3.- Mínima tensión de la anastomosis.

Los resultados favorables obtenidos con la técnica "cuff" para las anastomosis se deben a:

- 1.- Acortamiento del tiempo de clampaje de la VP que evita alteraciones ácido-base secundarios al estasis venoso largo en el territorio esplácnico.
- 2.- Acortamiento de la isquemia hepática con reducción de la malfunción postoperatoria del 30% de la masa hepática injertada.
- 3.- La ausencia de pérdida sanguínea que evita algún riesgo de shock hemorrágico.
- 4.- La ausencia de oclusión de la VCI o VP.
- 5.- La simplicidad y aplicabilidad de la técnica que requiere poco tiempo para aprender y no necesita gran experiencia en anastomosis microquirúrgicas, MARNI, 1985 (234).

### IRRIGACION SANGUINEA HEPATICA

La presión sanguínea de la vena porta es muy baja, alrededor de 10 mmHg. Esto es suficiente para perfundir el hígado, dado que la resistencia en las ramas de la vena porta y el sinusoides es muy baja. El escaso nivel de resistencia al flujo en los sinusoides es un aspecto importante en la fisiología hepática ya que una alta presión sinusoidal, como ocurre en la oclusión de las venas hepáticas o en la enfermedad parenquimatosa difusa, tiene serias consecuencias sobre su función.

La sangre que proviene de la arteria hepática entra también en los sinusoides. Sin embargo la presión elevada en la circulación arterial no aumenta la perfusión en los sinusoides, dado que se desvanece antes de llegar a ellos.

La tensión de oxígeno en la VP es relativamente baja en comparación con la circulación arterial. Indudablemente la mezcla de sangre arterial y venosa en los sinusoides aumenta el oxígeno disponible para las células. Las células hepáticas pueden sobrevivir a la baja tensión de oxígeno. La experiencia reciente en pacientes con traumatismos del abdomen, indica que la irrigación arterial sanguínea del hígado puede estar obstruida por completo sin que se produzca infarto, SCHIFF, 1980 (313); a menos que existan otros factores de riesgo -shock, sepsis-, SHERLOCK, 1981 (322).

Los efectos de la oclusión de la arteria hepática van a depender de la zona de oclusión y del desarrollo de colaterales de la vena frénica o a través de los vasos subcapsulares. La consecuencia patológica es el infarto del área afecta. Su extensión va a depender de la circulación colateral establecida. Las células hepáticas en el área infartada están desestructuradas formando una masa irregular con un citoplasma granular eosinófilo sin glucógeno ni

núcleos. Las áreas subcapsulares no van a presentar estas alteraciones porque tienen un flujo alternativo.

En la rata la casi totalidad de modelos experimentales que se han diseñado han prescindido de la revascularización arterial, LEE, 1973 (194); MIYATA, 1980 (247); LIMMER, 1981 (215) y KAMADA, 1980 (173). Las razones de los buenos resultados derivan de una menor proporción de volumen sanguíneo y concentración de oxígeno en la arteria hepática respecto a otros animales de talla mayor.

#### SIMULACRO DE OPERACION DE TRASPLANTE

Debemos tener presente los cambios estructurales que son encontrados en los hígados de animales que son sometidos a operaciones de simulacro y a autotrasplantes. El uso de estos dos grupos control es esencial para poder distinguir los artefactos quirúrgicos de los cambios que acontecen inmunológicamente, PORTER, 1969 (287).

En este procedimiento todos los enlaces vasculares del hígado son movilizados y son insertados shunts de plástico para la descompresión venosa durante el período de esqueletización hepática y además muchos de otros detalles de la operación del ortotópico son llevados a cabo incluyendo algunas de las anastomosis vasculares, HUTCHISON, 1968 (161) y MOORE, 1960 (252).

Los exámenes más detallados de las consecuencias histopatológicas de esta clase de operación fueron relatados por McBRIDE et al en 1962 (240), en base a estudios en 11 perros. Estos animales después de tener una buena recuperación fueron sacrificados en períodos por encima de 63 días. Algunos hígados contenían áreas de infarto causado por trombosis en la zona anastomótica de la arteria hepática.

En otros hubo evidencia en el postoperatorio precoz de obstrucción al flujo. Este último fenómeno es particularmente frecuente en perros y es usualmente causado por la construcción de las venas hepáticas con atrapamiento de grandes cantidades de sangre en el hígado, STARZL, 1960 (354). Se caracteriza por un órgano hinchado y cianótico. Los sinusoides centrolobulares se encuentran dilatados, los hepatocitos adyacentes sufren necrosis y hay acúmulo de gotas de grasa en las células hepáticas de la zona media de los lóbulos.

Técnicamente el autotrasplante de hígado es más difícil de llevar a cabo que el homotrasplante debido a que los vasos que van a ser anastomosados son más cortos. Consecuentemente hay pocos trabajos que recojan las alteraciones estructurales en grandes supervivientes de autotrasplante hepático. STARZL, 1969 (341). ALICAN y HARDY, 1967 (3), obtuvieron biopsias a los 17 meses confirmando que la única anomalía fue una pericolangitis de grado medio con células inflamatorias agudas en los tractos portales. Datos similares en el cerdo han encontrado GARNIER et al, 1965 (107).

#### PATOLOGIA DEL RECHAZO

El fallo de algunos injertos hepáticos a obedecer a las reglas normales del rechazo de aloinjertos donde primero se observó fué en el cerdo, GARNIER et al, 1965 (107). Estos autores mostraron que algunos receptores de injertos ortotópicos alogénicos de hígado sobrevivieron por un largo tiempo.

CALNE, en 1967 (41) demostró en cerdos que aloinjertos de piel y riñón fueron rechazados mientras que en esos mismos cerdos los injertos de hígado no lo fueron. Demostraron que el fallo en el rechazo de los injertos de hígado volvió al receptor hiporreactivo a posteriores injertos de piel o de riñón del mismo donante. Es por lo anterior que este autor postuló la posible existencia de la síntesis por parte del injerto de hígado de un antígeno que actuaría como factor protector frente al rechazo. ZIMMERMANN, 1979 (422), observó un fenómeno idéntico en la rata.

HOUSSIN, 1979 (155), estudia en las ratas la tolerancia espontánea al trasplante de hígado para lo cual trabaja con una serie de 14 ratas, 7 ratas Lewis y 7 BN; las cuales toleran el hígado de un híbrido (Lewis-BN) F1, en ausencia de tratamiento inmunosupresor. Además demuestra, frente a un grupo control, sin trasplante de hígado, que rata Lewis o BN con trasplante de hígado de ratas híbridas toleraron posteriores trasplantes de piel o de corazón de esos mismos híbridos, mientras que el grupo control los rechaza de forma constante.

Posteriormente, KAMADA, 1984 (181), demuestra que corazones de ratas DA, trasplantadas en ratas PVG, fueron completamente protegidos del rechazo si se practica simultáneamente trasplante de hígado del mismo donante. Incluso apreció que ratas PVG que recibieron trasplante de corazón de ratas DA y que el trasplante de hígado no se efectuó hasta 5 ó 6 días más tarde -del mismo donante-, hubo evidencia histológica de rechazo. A continuación 41% de los animales sobrevivieron indefinidamente, retornando el corazón a un estado normal.

HOUSSIN en 1985 (158), demuestra la ausencia de rechazo hiperagudo de los trasplantes de hígados en ratas previamente hipersensibilizadas. Para ello realizó trasplantes de piel de ratas LEWIS a ratas BN; hizo 3 trasplantes de piel a intervalos de 10 días, con ello hipersensibiliza las ratas y procede

posteriormente a realizar un trasplante de hígado o de corazón del mismo donante al mismo receptor.

La observación de los hechos anteriores así como el fenómeno de que hay una tolerancia específica y espontánea al trasplante de hígado en la rata hacen pensar que el hígado podría ejercer una verdadera función inmunosupresora. El mecanismo por el que un trasplante de hígado puede ser tolerado espontáneamente en la rata o en el cerdo es desconocido, se piensa que varios mecanismos diferentes podrían estar intrincados en los estados de inducción y/o mantenimiento de esta tolerancia, HOUSSIN, 1981 (154).

Varios trabajos han sugerido la existencia de un factor humoral supresor que podría tener un papel preponderante en la fase de mantenimiento de la tolerancia del trasplante de hígado. De hecho se ha demostrado la actividad supresora del suero de los animales tolerantes tanto "in vivo" como "in vitro", LIE, 1980 (213) y EBATA, 1985 (73).

Otros experimentos han ido encaminados a la formación de un modelo experimental para el estudio del rechazo hepático. EBATA, 1985 (72), en el intento de esclarecer el mecanismo de rechazo en el trasplante de hígado demuestra que hepatocitos trasplantados en el bazo de ratas singénicas pueden sobrevivir más de año y medio y formar un tejido hepático muy parecido al hígado normal mediante una marcada proliferación celular.

#### RESPUESTA DE LA RATA AL TRASPLANTE DE HIGADO

La rata, como algunas otras especies, cerdo y baboon, sobreviven largo tiempo, CALNE, 1969 (34) y ZIMMERMANN, 1979 (422); mientras que otras, perro, STARZL, 1965 (368), presenta patrones de rechazo claros. El rechazo puede ser agudo (11 á 18 días) o bien aparecer de una forma más retardada (32-52 días).

En la rata la supervivencia en los trasplantes de hígado va a depender de la cepa del donante y del receptor así KAMADA et al, 1983 (180) han observado que hígados de rata DA trasplantados en receptores PVG habitualmente no son rechazados, mientras que los mismos injertos DA trasplantados en receptores BN generalmente van a ser rechazados.

La existencia en la rata de cepas singénicas o puras, es decir, cepas en las que los animales son genéticamente idénticos, permiten realizar trabajos en las condiciones de compatibilidad tisulares precisas. Además la facilidad de hacer combinaciones entre las diferentes cepas, hacen a las ratas ser una especie muy atrayente para investigar las diferentes respuestas inmunes a los trasplantes de hígado en los animales, HOUSSIN, 1979 (155).

#### HISTOLOGIA DEL TRASPLANTE DE HIGADO EN RATA

Las ratas que presentan rechazo generalmente mueren antes de los 30 días. Histológicamente nos encontramos con un intenso edema e infiltración de células mononucleares que se extiende por los tractos portales y por las partes centrales de los lóbulos con destrucción del tejido parenquimatoso. En todas estas zonas las células invaden la pared de las venas las cuales muestran cierto grado de proliferación endotelial. No se observan lesiones arteriales debido a que no se realiza la reanastomosis de la arteria hepática en el trasplante, KAMADA, 1979 (177). Las células parecen ser una mezcla de macrófagos, células linfoides y células plasmáticas. Estas últimas también se encuentran de manera abundante en las membranas limitantes, KAMADA, 1983 (180) y HOUSSIN, 1979 (155). Aparecen también focos de necrosis aguda coagulativa siendo su localización más frecuente cerca de los tractos portales, JERUSALEM, 1971 (171); KAMADA, 1979 (177) y 1981 (179).

Aún en los casos en que KAMADA, 1983 (180) no encuentra rechazo clínico - DA a PVG - siempre aparece una clara

evidencia histológica de respuesta al rechazo. A la semana del trasplante aparece un infiltrado de células mononucleares de los tractos portales y los sinusoides contienen diferentes cantidades de grandes células mononucleares.

#### SISTEMA ATP

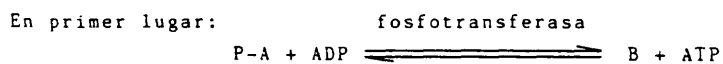
El sistema ATP-ADP actúa como transportador de energía química ya que el ADP es capaz de aceptar un grupo fosfato transformándose en ATP y éste a su vez puede ceder su grupo fosfato terminal.

En estado de equilibrio el ATP se encuentra casi completamente hidrolizado en ADP y en ión fosfato.

Esencialmente todas las reacciones de transferencia de fosfato en la célula tienen que efectuarse a través del sistema ATP-ADP.

Hasta ahora no se han aislado enzimas capaces de catalizar transferencias directas de fosfato de modo que este proceso tendría lugar de la siguiente forma:

Los grupos fosfato se transfieren en primer lugar mediante la acción de fosfotransferasas específicas, desde compuestos de alto nivel energético al ADP. El ATP así formado se transforma en el dador específico de una segunda reacción enzimática.



Así acontece la transferencia de un grupo fosfato actuando el sistema ATP-ADP de intermediario.

#### SINTESIS DE ATP

Las reacciones que nos van a dar lugar a la síntesis de ATP son en su mayoría procesos oxidativos; los más importantes son NEWSHOLME, 1983 (270):

- Ciclo del ácido tricarbóxico.
- Fosforilación oxidativa.
- Cadena de transferencia de electrones.

#### CICLO DEL ACIDO TRICARBOXILICO

La síntesis de grandes cantidades de ATP es necesaria para poder mantener las funciones celulares esenciales. Para este propósito son utilizados dos sistemas de enzimas diferentes.

EL PRIMER SISTEMA DE ENZIMAS: Cataliza una serie de reacciones cíclicas referidas al ciclo del ácido tricarbóxico. Una vuelta del ciclo produce directamente, sin embargo, exclusivamente una molécula de ATP. La función más importante del ciclo es la de sustraer electrones e hidrógeno a partir de la Acetil Coenzima A (Ac CoA) y transformarlos a piridín nucleótidos (NAD) y Flavín Nucleótidos (FAD).

Los anteriores actuarán como portadores que transportan electrones a un segundo sistema de enzimas.

EL SISTEMA SEGUNDO DE ENZIMAS: Es el que comprende el sistema de transporte de electrones y cataliza la transferencia

de electrones desde los flavín y piridín nucleótidos al oxígeno, acoplando esta transferencia a la síntesis de ATP.

De acuerdo con lo anterior la completa oxidación del Ac CoA la podríamos dividir en dos fases. las reacciones del ácido tricarbóxico van a producir CO<sub>2</sub>, H<sup>+</sup> y electrones liberados en las diferentes reacciones del ciclo. Estos electrones son transportados por los piridín y flavín nucleótidos a los enzimas de la cadena de transporte electrónico la cual cataliza los pasos adecuados de transferencia al oxígeno. la energía es conservada en el curso de este segundo proceso, ZAKIM, 1982 (419).

Los productos de oxidación debidos al ciclo del ácido tricarbóxico por sí mismo son: CO<sub>2</sub>, NADH, Flavín Nucleótido reducido (FADH<sub>2</sub>) y ATP. Cada vuelta del ciclo va a producir: 2 moléculas de CO<sub>2</sub>, 3 moléculas de NADH, 1 molécula de FADH<sub>2</sub> y 1 molécula de ATP. Cada molécula de NADH y FADH<sub>2</sub> es oxidada en el "Sistema de transporte de electrones" produciendo 3 moléculas de ATP por molécula de NADH oxidada y 2 moléculas de ATP por molécula de FADH<sub>2</sub> oxidada. Por lo tanto la producción de ATP a partir de la oxidación del Ac CoA es bastante larga, LEHNINGER, 1965 (208).

La Ac CoA por sí mismo no constituye un sustrato para las enzimas del ácido tricarbóxico. En lugar de eso el Ac CoA y el Oxalacetato se unen para formar citrato. Los dos carbonos del citrato que fueron donados por el Ac CoA son oxidados a CO<sub>2</sub> en el curso del ciclo, lo que hace que se regenere oxalacetato.

A pesar de la regeneración cíclica del oxalacetato, se necesita un suministro continuo de este sustrato a causa de que el oxalacetato puede ser eliminado del ciclo por algunas reacciones.

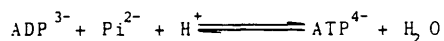
El ritmo de oxidación del Ac CoA en el ciclo del ácido tricarbóxico es controlado por el ritmo de reoxidación de los piridín y Flavín nucleótidos reducidos en el sistema de transporte de electrones. Obviamente la operación del ciclo del

ácido tricarboxílico y del sistema de transporte de electrones depende de un aporte continuo de oxígeno, ZAKIM, 1982 (419).

#### FOSFORILACION OXIDATIVA

La fosforilación oxidativa es el acoplamiento de la fosforilación del ATP a la respiración aerobia. Es decir, la fosforilación del ADP se halla acoplada a la respiración y representa un mecanismo de recuperación aerobia de energía, NEWSHOLME, 1983 (270).

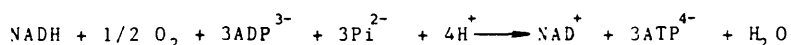
La química básica de la fosforilación oxidativa es debida a un complejo multienzimático conocido como ATP sintetasa que puede estar representado por la ecuación:



BELISTER en 1940 estudió el acoplamiento de la fosforilación oxidativa y la transferencia de electrones y demostró que podía formarse más de una molécula de ATP a partir de ADP y fosfato durante la transferencia de cada par de electrones desde el sustrato al oxígeno, LEHNINGER, 1972 (207).

Por otra parte se ha comprobado que en ausencia de fosforilación oxidativa -ocasionado por pérdida de ADP o de Pi- la transferencia de electrones no tiene lugar. Esto quiere decir que se trata de dos procesos estrechamente relacionados, NEWSHOLME, 1983 (270).

La transferencia de electrones en la fosforilación oxidativa pueden ser, en conclusión, consideradas como una única reacción que no acontece al menos que estén presentes todos los sustratos:



KENNEDY y LEHNINGER descubrieron en 1948 (207) que las mitocondrias aisladas catalizan el proceso de la fosforilación oxidativa acoplado a la oxidación de los intermediarios del ciclo del ácido tricarbóxico. Debido a lo anterior es lógico que las mitocondrias aisladas se hallan convertidas en la preparación tipo para el estudio de la fosforilación oxidativa. Hay que tener en cuenta, sin embargo, que para que acontezca el proceso de fosforilación oxidativa es preciso que la membrana mitocondrial interna esté íntegra.

En efecto, cualquier agente que cause lesión a la mitocondria tiende a desacoplar el proceso, sugiriendo que el acoplamiento depende de la integridad estructural de la mitocondria.

La fosforilación oxidativa puede resultar influida no sólo por inhibidores específicos sino también por agentes desacoplantes como el 2,4 DINITROFENOL. Estos agentes desacoplantes tienen la propiedad de que no inhiben la respiración pero impiden las fosforilaciones asociadas a ella.

#### CADENA DE TRANSFERENCIA DE ELECTRONES

Los procesos de glicólisis, betaoxidación y ciclo TCA, producen agentes reductores en forma de NADH y flavinas reducidas. Estos agentes van a ser oxidados por el oxígeno pero no directamente, sino por vía de una serie de procesos de óxido-reducción que terminan en una reacción con el oxígeno. Los intermediarios en esta serie de reacciones constituyen la cadena de transferencia de electrones; así llamada a causa de que cada reacción de óxido-reducción incluye la transferencia de electrones desde un agente reducido -el cual se oxida- a un agente oxidado - el cual se reduce-.

La cadena de transferencia de electrones también se conoce como vía de transporte de electrones o cadena respiratoria y forma parte de la membrana interna de la mitocondria. Los componentes de la cadena respiratoria junto con el sistema enzimático que genera ATP a partir del ADP y fosfato representan un 30-40% del total de proteínas de la membrana interna de la mitocondria.

#### FUNCION MITOCONDRIAL

Las mitocondrias son una de las organelas celulares más frágiles y sensibles y a causa de que ejercen un papel central en la producción celular de energía su integridad va a ser esencial en la preservación de muchas de las funciones hepáticas.

Esta energía se obtiene a partir de reacciones de oxidación-reducción de los principios inmediatos (Fundamentalmente hidratos de carbono). Esta energía liberada en las reacciones de oxidación-reducción de la cadena respiratoria se almacena en las moléculas que poseen uniones de alta energía, principalmente el ATP y en menor proporción GTP.

Los parámetros más estudiados de la función mitocondrial son los que están en relación con la efectividad del acoplamiento entre oxidación y fosforilación:

A/ INDICE DE CONTROL RESPIRATORIO; es la relación entre el índice de la captación de oxígeno en presencia de un fosfato aceptor, usualmente ADP, y el índice de captación de oxígeno después de haber agotado el ADP.

B/ ADP/O: moles de ADP fosforilado a ATP por átomo de oxígeno usado.

Cuando el índice de control respiratorio alcanza el valor de 1 el valor de ADP/O medido por método polarográfico, se hace 0 por definición, DANIEL, 1974 (64).

Sin embargo ha sido establecido por CHANCE, 1959 (55) y también por LEHNINGER, 1959 (208) que en ciertas situaciones y en especial en la isquemia el índice de control respiratorio puede alcanzar el valor de 1 mientras que el ATP sigue aún formándose. Este fenómeno es conocido como pérdida del acoplamiento.

#### PATOFISIOLOGIA CELULAR DE LA ISQUEMIA

Los principales acontecimientos iniciales en la isquemia son: ausencia de oxigenación, ausencia de suministros de sustratos e incapacidad para liberar productos del metabolismo celular, TRUMP, 1968 (394) y 1976 (396).

La supresión del aporte celular de oxígeno sería el punto común de partida para la disminución de la síntesis de ATP y otros adenín nucleótidos por bloqueo de la fosforilación oxidativa, la acidosis metabólica, las alteraciones iónicas intracelulares que se producen como consecuencia de la inhibición de la bomba Na-K, el edema celular y finalmente la lesión de las diversas membranas celulares citoplasmática, mitocondrial, lisosomal..., MORA, 1986 (253).

La isquemia es seguida por una fase de lesión celular reversible durante la cual la célula puede recuperar sus funciones normales. Esta fase es seguida por un período crítico (período de transición) el cual fue denominado por TRUMP, 1972 (395) "Point of no-return". Una vez que se pasa el período de transición los cambios son irreversibles aunque se restablezcan las condiciones ambientales normales.

En el momento actual no hay acuerdo en qué punto los fenómenos reversibles pasan a ser irreversibles aunque se piensa que el punto más importante se centraría en la alteración de la función mitocondrial y en la capacidad de ésta para reanudar la síntesis de ATP y demás adenín nucleótidos después de finalizar la isquemia, MORA, 1986 (253).

#### EFFECTOS DE LA ISQUEMIA EN LA FUNCION MITOCONDRIAL. HIGADO

##### DE RATA ISQUEMICO.

El alto nivel metabólico de las células hepáticas las hace muy vulnerables a la influencia de la anoxia. La causa de muerte celular en el hígado isquémico aún no está clara. FARKOUH, 1971 (82), piensa que el ataque de muerte celular puede ser el resultado de la confluencia de dos alteraciones: Por un lado el acúmulo progresivo de ácido y especialmente de ácido láctico y por otro lado el marcado descenso de ATP y ADP.

La isquemia hepática en ratas sanas se asocia con una serie de alteraciones en la estructura y función mitocondrial.

- a.- Pérdida del control respiratorio, DANIEL, 1974 (64).
- b.- Pérdida de la actividad adenín-nucleótido translocasa.
- c.- Disminución, en al menos las porciones heme de los citocromos a, a<sub>3</sub> y c, MITTNACHT, 1979 (246).
- d.- Disminución de los niveles de ATP, PONTEGNE-ISTACE, 1977 (286); SHIBA, 1978 (325) y RHODES, 1977 (298).

- e.- Acúmulo de grandes cantidades de Ca intramitocondrial siguiendo al reflujo después de un período de isquemia, MITTNACHT, 1980 (245).
- f.- Aumento de la permeabilidad de la membrana interna de la mitocondria.
- g.- Alteración iónica en la mitocondria.
- h.- Alteración de la fosforilación oxidativa, TRUMP, 1976 (396) y DANIEL, 1974 (64).

Todos los anteriores datos nos sugieren que la muerte celular isquémica podría ser consecuencia de la lesión mitocondrial irreversible, MITTNACHT, 1979 (246) y TRUMP, 1976 (396).

TRUMP en 1976 (396), demuestra en sus estudios que la pérdida de viabilidad se correlaciona con la pérdida de la capacidad de la mitocondria para autorrecuperarse tras la restauración del flujo sanguíneo. La función mitocondrial se detiene rápidamente tras la isquemia, pero por un tiempo la función mitocondrial puede restablecerse si se restaura el flujo sanguíneo.

El fallo circulatorio, parece ocurrir concomitantemente con el fallo hepático mitocondrial. RHODES, 1977 (298), demuestra que la isquemia hepática de suficiente duración como para causar la muerte celular es precedida por alteraciones irreversibles en las funciones mitocondriales.

Estos puntos de vista son apoyados por experimentos en los cuales las células normales son tratadas con inhibidores de la respiración o con inhibidores del desacoplamiento de la fosforilación, TRUMP, 1968 (394). En todos estos experimentos aparece un cuadro muy similar al que acontece en la isquemia.

#### DISMINUCION DE LOS NIVELES DE ATP

Durante la isquemia el nivel celular de ATP disminuye rápidamente. El nivel de ADP se mantiene más o menos estacionario. El nivel de AMP aumenta en los primeros momentos, debido a la hidrólisis del ATP, pero después el AMP es rápidamente degradado y aproximadamente a los 120 minutos el contenido total de adenín-nucleótidos en el hígado isquémico caen a menos de 1/4 del nivel normal, KAMIKE, 1982 (183).

La capacidad de la mitocondria del hígado para producir enlaces fosfato de elevada energía se ve alterado sobre todo en los primeros 30 minutos de isquemia, DANIEL, 1974 (64).

Entre los 90 y los 120 minutos de isquemia la capacidad máxima de oxidación permanece estacionaria - es decir, no disminuye mucho más -, mientras que la ADP/O continúa cayendo, indicando un desacoplamiento progresivo. Esto demuestra que entre los 90 y los 120 minutos las lesiones que acontecen son de mucho menos calibre que en los primeros 30 minutos.

GAJA et al, 1973 (103) encontraron que el contenido de ATP en la mitocondria del hígado isquémico de rata disminuye sobre todo en los primeros 15 minutos de isquemia, durante los cuales se deplecciona hasta un 80% del contenido inicial de ATP; posteriormente el descenso del mismo inicia una fase de declive mucho más lenta.

Por otra parte hay una estrecha relación entre la disminución del contenido mitocondrial de adenín-nucleótidos y el deterioro de la capacidad de fosforilación oxidativa.

El nivel normal de adenín-nucleótidos es de 15 a 20 nmol/mg de proteína en mitocondria de hígado normal. Este

nivel disminuye hasta 1 a 2 nmol/mg de proteína con una concomitante pérdida de la capacidad de fosforilación oxidativa, cuando se somete a la mitocondria hepática a una anoxia de 120 min., WATANABE, 1983 (406).

El único adenín-nucleótido que no tiene efecto por sí mismo para mantener la función mitocondrial es el AMP. La acción protectora de los adenín-nucleótidos sobre la función mitocondrial es debido al ATP y al ADP; los cuales son interconvertibles por la acción de la adenilato-kinasa, WATANABE, 1983 (406).

Los niveles de ATP al final del período de anoxia no parece ser un criterio valorable de viabilidad del hígado antes del trasplante contrariamente a lo que han sugerido COLISTE et al y KEAVENY et al, PONTEGNIE-ISTACE, 1977 (286) y MARUBAYASHI, 1980 (238).

#### DETERMINACION DE LOS ADENIN NUCLEOTIDOS MEDIANTE

##### BIOLUMINISCENCIA

Se utiliza un luminómetro y su fundamento básico consiste en un tubo fotomultiplicador que convierte la luz producida por una muestra en una señal eléctrica que es transformada y amplificada por una unidad electrónica para producir una señal apropiada registrable.

La luminiscencia es el proceso en el cual las moléculas alcanzan un estado de excitación de alta energía mediante reacciones químicas liberando esa energía con emisión de luz LUNDIN, 1982 (221).

Para producir luminiscencia la liberación de energía durante la reacción debe ser suficiente para emitir luz cuantificable. Consecuentemente la mayoría de las reacciones

químicas que originan quimioluminiscencia son reacciones de oxidación con liberación de gran cantidad de energía por cada molécula oxidada.

Muchas de las reacciones quimioluminiscentes acontecen en organismos vivos, entonces estas reacciones se denominarán bioluminiscentes. En las reacciones bioluminiscentes la oxidación quimioluminiscente se cataliza por enzimas denominadas luciferasas. Varias luciferasas se han aislado de sus respectivos organismos, siendo usadas como reactivos analíticos, Mc ELROY, 1981 (241).

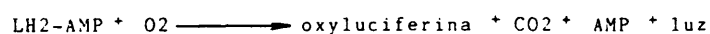
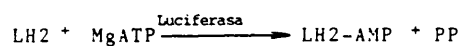
Las luciferasas se han encontrado en diversas especies de insectos, bacterias, medusas, gusanos, hongos y crustáceos. Las moléculas que son oxidadas en la reacción bioluminiscente son llamadas usualmente luciferinas. Tanto las luciferinas como las luciferasas van a ser específicas de cada organismo, CAMPBELL, 1985 (50).

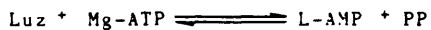
#### FIREFLY BIOLUMINISCENCIA

Esta reacción se basa en la utilización del enzima luciferasa obtenido a partir de ciertas especies de insectos conocidos como luciérnagas. Se necesita ATP para activar la luciferina y poder ser oxidada a adenyl-luciferina. Esta es la base para la medición de ATP, SPIELMANN, 1981 (335).

#### REACCIONES CATALIZADAS POR LA LUCIFERASA

La luciferasa de luciérnaga cataliza las tres reacciones siguientes:





En la primera reacción el grupo carboxil de la luciferina (LH<sub>2</sub>) es la zona clave para la formación de anhídrido con el ácido adenílico del ATP acompañado por la formación de pirofosfato inorgánico.

En la segunda reacción, el oxígeno se combina con el luciferil adenilato dando lugar a la decarboxilación de la luciferina y a la formación de una sustancia excitada (oxiluciferina) que liberará energía con emisión de luz y ácido adenílico.

CINETICA DE LA EMISION DE LUZ: Cuando el ATP se mezcla rápidamente con luciferina-luciferasa a 25°C hay un retraso de 25 milisegs. hasta que la luz es emitida. A continuación hay una elevación en la emisión de luz, alcanzando el pico máximo a los 0.3 segs.

Con respecto a las concentraciones de ATP, variaciones desde 0.2 picomoles a 2 micromoles producen grandes cambios en la cinética de la emisión total de luz. De LUCA, 1979 (65).

A bajas concentraciones de ATP, la emisión de luz se eleva al máximo y su disminución es lenta y progresiva; mientras que a altas concentraciones la intensidad máxima de luz es mayor pero decae más rápidamente por producirse un fenómeno de inhibición. Mc ELROY, 1981 (241).

El pico de emisión para la bioluminiscencia del "Photinus pyralis" o luciérnaga americana es de 562 nanom. con un amplio pico entre 500 y 600 nanom. para otras especies.

#### PRUEBAS DE FUNCION HEPATICA

Las pruebas de laboratorio van a desempeñar un papel importante en la evaluación clínica de la disfunción hepática.

A la vista de los resultados de las pruebas anormales podemos orientarnos hacia la naturaleza del trastorno hepático, además nos pueden proporcionar un índice de la extensión de la lesión con un cierto valor pronóstico. También debemos remarcar que las pruebas hepáticas van a ser de valor para seguir el curso de la disfunción hepática, SCHIFF, 1980 (313).

Aunque hipotéticamente todos los anteriores son los objetivos que deben de cumplir las pruebas de función hepática, no existe ningún método de laboratorio que aislado los cumpla totalmente. No obstante la combinación de una serie de pruebas se utilizan con éxito en la valoración de función hepática, CHOPRA, 1985 (57).

DETERMINACION DE BILIRRUBINA.: Es una prueba hepática basada en la función excretora del hígado que básicamente consiste en eliminar de la sangre sustancias endógenas y/o exógenas potencialmente nocivas excretándolas por la bilis o transformándolas en productos adecuados para eliminarlos por el riñón o pulmón.

La bilirrubina (Br) que aparece en el suero normalmente representa un equilibrio entre su producción y su eliminación por el hígado. En individuos sanos la concentración de Br total en el suero oscila entre 0.3 y 1 mg/100ml. Esta Br casi en su totalidad no está conjugada aunque puede considerarse normal hasta un 20% de Br conjugada.

El nivel de Br sérica total es útil para evaluar la extensión y el progreso de la ictericia. El nivel de Br

sérica directa e indirecta nos es de ayuda en el diagnóstico diferencial de la ictericia. La fracción directa puede constituir de un 40 a un 60% de la Br total tanto en la ictericia hepática como en la posthepática; pero los niveles del 20 al 40% son más propios de la ictericia hepática, mientras que niveles de Br directa superiores al 50% son más indicativos de la ictericia posthepática, ZIMMERMAN, 1984 (421).

ENZIMAS SERICAS.: Las enzimas se van a encontrar en todos los tejidos y son las catalizadoras orgánicas responsables de la mayoría de las reacciones químicas que acontecen en el organismo, ZIMMERMAN, 1984 (421).

Generalmente las enzimas que nos encontramos en el suero o en el plasma proceden de las células dañadas y a veces incluso de las intactas.

Las enzimas hepáticas en el suero se van a dividir en 4 grupos de acuerdo a sus niveles en la ictericia obstructiva y la hepatitis aguda.

GRUPO 1.: Son las enzimas cuyos niveles se encuentran más aumentados en la ictericia obstructiva que en la hepatitis aguda. La enzima por excelencia de este grupo es la fosfatasa alcalina encontrándose también la leucín-aminopeptidasa y la 5' nucleotidasa y la gamma-glutamyl-transpeptidasa. Han sido objeto de interés en nuestro estudio la fosfatasa alcalina y la gamma-glutamyl-transpeptidasa.

GRUPO 2.: Se encuentran las enzimas cuyos niveles están mucho más elevados en la hepatitis aguda que en la ictericia obstructiva. Las enzimas más importantes en este grupo son la aspartato aminotransferasa (AST) o transaminasa glutámico-oxalacética (GOT) y la alanín aminotransferasa (ALT) o transaminasa glutámico-pirúvica (GPT).

GRUPO 3.: Se encuentran las enzimas que están ligeramente elevadas tanto en la hepatitis aguda como en la ictericia

obstructiva -deshidrogenasa láctica, fosfocreatínasa...- las cuales no han sido objeto de nuestro estudio por ser menos específicas.

GRUPO 4.: Colinesterasa la cual se encuentra disminuida en la hepatitis aguda y normal o disminuida en la ictericia obstructiva.

Después de múltiples observaciones y experimentos de las pruebas enzimáticas para un mejor diagnóstico de la enfermedad hepática y biliar y valorando ampliamente el grado de sensibilidad y especificidad de cada prueba enzimática se ha llegado a la amplia adopción de las determinaciones de fosfatasa alcalina, GOT y GPT, para el diagnóstico de enfermedad hepática, SCHIFF, 1980 (313).

FOSFATASAS ALCALINAS.: La fosfatasa alcalina (FA) fue la primera enzima del suero estudiada en la enfermedad hepática.

El término de FA hace referencia a un grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de varios ésteres de fosfato orgánicos a un pH alcalino con liberación de fosfato inorgánico y el radical orgánico, COMBES, 1980 (60)

En el hígado la FA se asocia con las membranas de los sinusoides y las de los canalículos y también se encuentra presente en el citosol, KAPLOWITZ, 1982 (186). Esta íntima asociación con la membrana ha dado lugar a pensar si jugaría un papel importante en la fisiología de la misma.

Es una enzima determinada rutinariamente para el diagnóstico diferencial de la ictericia. La elevación de la enzima en la colestasis resulta de un fallo en el aclaramiento y excreción de la FA circulante y además aparece una FA anómala en la circulación la cual es similar a la FA biliar de elevado peso molecular.

Sus valores estarán muy elevados en una ictericia obstructiva pues a parte de la retención se ha visto que hay síntesis de la enzima por las células que tapizan los

conductos biliares cuando hay obstrucción. Siempre que la obstrucción sea total y prolongada la enzima se encontrará mucho más elevada que en los casos de obstrucciones breves o incompletas.

En pacientes con lesiones hepáticas ocupantes de espacio como por ejemplo un absceso hepático, el grado de elevación de la FA puede ser de hasta 20 veces el valor normal, ZIMMERMAN, 1984 (421).

La determinación simultánea de leucín-aminopeptidasa, 5' nucleotidasa o gamma-glutamyl-transpeptidasa son útiles para decidir si la anormalidad se debe a una enfermedad hepática o no, COMBES, 1980 (60).

HAGERSTRAND, 1972 (130), estudia el comportamiento de la fosfatasa alcalina en las ratas con obstrucción biliar extrahepática para lo cual realiza en 29 ratas macho de tipo albino la ligadura del conducto biliar común, mientras que en otras 42, realiza una sección. En las que ligó el conducto biliar común la fosfatasa alcalina en principio aumenta pero después de 4 ó 5 semanas se normaliza debido a una repermabilización del conducto. En los que se hizo una sección la fosfatasa alcalina aumenta sin normalizarse durante mucho tiempo.

TRANSAMINASAS.: El descubrimiento de estas enzimas se debe a BRAUNSHTEIN quien en 1937 describió la existencia de unas enzimas que catalizaban la reacción de un grupo alfa-amino de un aminoácido a un alfa-cetoácido. Las denominó "aminoferasas". Concretamente la GOT y la GPT catalizan la transferencia de grupos alfa-amino de aspartato y alanina, respectivamente, al grupo alfa-ceto del ácido cetoglutárico, dando lugar a la formación de ácido oxalacético y ácido pirúvico.

Han sido utilizados numerosos métodos para la

determinación de GOT y GPT. El método más sensible y específico acopla la formación de oxalacetato y piruvato a la oxidación del NADH. Así los productos de las reacciones de GOT y GPT, oxalacetato y piruvato, son reducidos enzimáticamente a malato y lactato, respectivamente, con concomitante oxidación de NADH a NAD. Este último paso puede ser seguido espectrofotométricamente a causa de que el NADH absorbe la luz a 365 nm, ZAKIM, 1982 (419). Este es el tipo de reacción seguido en esta investigación.

Típicamente se presentan dos clases de transaminasas en el hígado, GOT y GPT. Se considera que la GOT es menos específica que la GPT en lo que se refiere a la lesión hepática, ya que la GOT donde más abunda es en el corazón, ZIMMERMAN, 1984 (421) y además aparece en otros tejidos como músculo esquelético riñón y cerebro. Mientras que la GPT aparece primariamente en el hígado. Por otra parte la GOT aparece tanto en la mitocondria como en el citosol hepático, mientras que la GPT se limita a localizarse en el citosol, KAPLOWITZ, 1982 (186) y CHOPRA, 1985 (57).

Su determinación es imprescindible en los casos de necrosis hepática donde van a alcanzar su valor elevado más llamativo, especialmente la GOT puede oscilar entre 200 y 4000U/l y la de GPT es un poco menor. Hay que decir que el grado de elevación de estas enzimas no se encuentra en relación directa con la extensión de la necrosis.

La determinación de los valores de GOT y GPT facilitan la diferenciación entre la ictericia hepática -hepatocelular- y la posthepática. Generalmente cuando se presentan valores mayores de 300 U/l indican una severa enfermedad hepatocelular y son raros que se presenten en una ictericia posthepática.

En 1968, LEE (193), evaluó la GOT en ratas trasplantadas como un potencial indicador bioquímico de rechazo alógeno. Determinó en 21 ratas los valores preoperatorios y a los 7, 14, 21 y 28 días tras el trasplante. El rango normal establecido por este autor es de 70 a 130 U/l. Los sueros de las ratas trasplantadas mostraron una significativa elevación durante la primera semana que lentamente descendió a valores

normales en el primer mes en el caso de trasplante singénico y más precozmente ocurrió en el trasplante alogénico.

**GAMMA-GLUTAMIL-TRANSEPTIDASA.:** Es una enzima que cataliza la transferencia del grupo gamma-glutamil de los gamma-glutamil-péptidos a otros péptidos y a los L-aminoácidos.

En 1950, HANES introdujo la determinación de la Gamma-glutamil transeptidasa (gamma-GTP) en el campo de la bioquímica clínica utilizando la capacidad de la enzima para transferir grupos gamma-glutamil, GARCIA-MAS, 1981 (105).

Sus valores anormales aparecen en las mismas lesiones hepatobiliares que provocan valores anormales de FA y leucín-aminopeptidasa. Algunos autores opinan que la gamma-GTP es más sensible que la leucín-aminopeptidasa, LUM, 1972 (220) y que la FA para la detección de la enfermedad del hígado, SCHIFF, 1980 (313).

Por técnicas histoquímicas, la gamma-GTP ha sido localizada en el árbol biliar intacto desde los hepatocitos hasta el conducto biliar común, KAPLOWITZ, 1982 (186). La mayor concentración de la enzima se localiza en el borde luminal de las células epiteliales de revestimiento de los conductillos biliares.

Es obligado destacar una serie de particularidades sobre este enzima en la rata, los niveles de esta enzima son bajos o incluso indetectables en la rata, en contraste con los humanos cuyos niveles son de unas 30 UI/l. Como resultado de estos bajos niveles la gamma-GTP no ha sido considerada como un indicador efectivo de disfunción o lesión hepática en ratas, CAISEY, 1980 (18).

Aunque la gamma-GTP no ha sido utilizada como un indicador de lesión celular aguda; algunos autores han demostrado que es un indicador de obstrucción biliar y de colestasis en ratas, HAGERSTRAND, 1972 (130) y LEONARD, 1984 (209).

Además en contraste con la pérdida de especificidad observada con la GPT, FA y ácidos biliares, con respecto a la necrosis de los conductos biliares, la actividad sérica de la gamma-GTP, exhibe un alto grado de especificidad, LEONARD, 1984 (209).

GARCIA-MAS, 1981 (105), relaciona los niveles de transaminasas con los de gamma-GTP. Los cocientes de las cifras GOT/GGTP y GPT/GGTP, cree que pueden ser de utilidad en los casos de diagnóstico diferencial difícil entre colestasis intra y extrahepática. Los valores elevados superiores a 2 o más se deben de considerar como indicativos de colestasis intrahepáticas.

Su aumento junto con el de la Br y FA debe sugerir la posibilidad de problemas en el tracto biliar o bien un episodio de rechazo hepático, DEMETRIS, 1985 (66).

WILLIAMS, en 1973 (414), observa en humanos un aumento de los valores de GOT, Br y FA en episodios de rechazo agudo que acontece a los 7 y 14 días. Para STARZL, 1971 (344) existiría una forma anictérica del rechazo en las primeras semanas tras el trasplante. En ellas se observa una ligera elevación de las transaminasas y de la FA.

STUART, 1967 (377), realiza experimentos en perros intentando encontrar una correlación en las biopsias hepáticas entre los cambios estructurales la intensidad del rechazo y los tests bioquímicos en el trasplante de hígado. En concreto en su modelo experimental de autotrasplante con clampaje durante 35 minutos de la arteria hepática observa aumentos mínimos de FA y GOT permaneciendo normal la Br.

WILLIAMS, 1973 (414), concluye en que el diagnóstico histológico probablemente sea el parámetro más fiable de rechazo aunque los cambios detectados pueden no ser específicos y el diagnóstico final se va a basar en un amplio conocimiento de los parámetros clínicos y de las investigaciones de laboratorio.

FREESE en 1984 (100), compara el valor de los tests de función hepática de rutina -GOT, FA y Br- con la impresión clínica y la histología hepática. Realiza 50 biopsias seriadas en 12 pacientes trasplantados. Aunque los tests anormales de función hepática coincidieron con una histología anómala no tienen valor para poder discriminar entre rechazo y otras causas de disfunción hepática.

#### PROTEINOGRAMA

Las alteraciones más corrientemente observadas en la mayoría de las formas de enfermedad hepato biliar se reflejan en una disminución de la concentración sérica de albúmina y en un aumento de las globulinas principalmente a expensas de la fracción gamma, SCHIFF, 1980 (313).

La extensión de estas alteraciones de las proteínas parece depender de la gravedad y duración de la enfermedad hepática.

El aumento de las gammaglobulinas hasta de un 40% o más de las proteínas totales, con frecuencia indica que la enfermedad está progresando hacia una fase crónica activa. Esta impresión queda apoyada cuando se acompaña de una disminución de la albúmina significativa, GRASS, 1983 (120).

Una disminución ligera de la albúmina acompañada por un aumento ligero de la gammaglobulina normalmente indica un buen resultado incluso a pesar de que se juzgue que la hepatitis es sintomáticamente grave.

En cuanto al nivel de las globulinas alfa puede, bien aumentar ligeramente, permanecer inalterado o incluso disminuir.

En la mayoría de las enfermedades hepáticas las globulinas beta tienden a aumentar.

El análisis de las proteínas queda limitado en tres esferas principales: a.- No es un indicador sensible de enfermedad hepática. b.- Tiene poco valor para el diagnóstico diferencial a causa de que a menudo las proteínas séricas quedan alteradas de forma similar en los diversos tipos de enfermedad hepática. c.- Incluso variaciones grandes de las proteínas no son específicas de la enfermedad hepática, SCHIFF, 1980 (313).

#### FIBRONECTINA

El término de "fibronectina" (FN) hace referencia a una familia de glicoproteínas de alto Peso molecular (Pm) que son estructural e inmunológicamente similares, MOSESON, 1980 (255). Es una de las mayores glicoproteínas que se encuentra en los vertebrados y aunque su significado funcional se desconoce en parte, parece que interviene en múltiples funciones celulares que incluyen la adhesión celular e integridad de los tejidos, morfología y diferenciación celular, organización citoesquelética, actividad opsónica, hemostasis y trombosis, diferenciación embriogénica y fagocitosis de las células de Kupffer, JAGIRDAR, 1985 (167).

De una forma general podríamos hablar de una FN plasmática y otra asociada a las superficies celulares y el tejido conectivo intercelular, SHERMAN, 1983 (324) y KRSNIK, 1986 (188).

Mientras que la FN que se encuentra en la sangre y en otros fluidos se presenta como una forma "soluble"; la FN que se encuentra en el tejido conectivo y la que está asociada con las membranas basales es una forma insoluble, MOSHER, 1980 (261) y YAMADA, 1978 (417).

Su concentración en el plasma de un hombre adulto normal es de 180 a 720 microg/ml en el varón y de 150 a 540 microg/ml en la mujer, YAMADA, 1978 (417) y PEARLSTEIN, 1980 (278). La concentración en el suero, sin embargo, es un 20 a 50% menos que en el plasma, MOSHER, 1975 (260) y ERIKSEN, 1982 (76). Esto es debido a la pérdida de FN dentro del coágulo a 22-37°C causado por el F. XIII-catalizado, enlace cruzado covalente entre la FN y la cadena alfa de la fibrina, MOSHER, 1975 (260). Además se ha descrito que puede ser ligada de manera cruzada por el factor XIIIa. al colágeno y al Estafilococo dorado. La disminución de la FN dentro del coágulo a 22-37°C. está causado por el enlace cruzado covalente entre la FN y la cadena alfa de la fibrina catalizado por el factor XIII.

Esta FN que ha sufrido enlace cruzado con la fibrina no altera las propiedades del coágulo, en líneas generales, MOSHER, 1980 (261).

En cuanto a su síntesis se piensa que la mayoría de la FN se produce a nivel de los hepatocitos, OWENS, 1982 (274)

La FN va a presentar afinidad por varias células, tejido conectivo y proteínas tal como la heparina, colágeno y fibrina.

Otras moléculas que también algunos han postulado que van a interactuar con la FN son los gangliósidos, los proteoglicanos, el ácido hialurónico y componentes de las paredes bacterianas, PROCTOR, 1979 (292).

En todas las formas de FN humana, la porción de los determinantes antigénicos van a tener una muy similar migración electroforética así como semejantes constituyentes aminoácidos y carbohidratos.

Dentro de las especies, las formas de FN reaccionan idénticamente con el antisuero preparado contra una de las formas, MOSHER, 1980 (261).

### ESTRUCTURA DE LA FIBRONECTINA

Es una Beta-globulina ligera con un coeficiente de sedimentación de aproximadamente 13. La localización plasmática precipita a 0°C. junto con el fibrinógeno, el Factor XIII y el Factor de Von Willebrandt, MOSHER, 1975 (260).

La composición de la FN está aún por esclarecer y así el análisis de la secuencia de los aminoácidos como la secuencia de los nucleótidos del RNA y del DNA genómico que codifica todavía es incompleta, MOSHER, 1984 (262).

La FN plasmática y la celular son muy similares sobre todo en su estructura e inmunológicamente indistinguibles usando antisueros policlonales. Las diferencias estructurales entre los dos tipos de FN pueden ser detectados utilizando anticuerpos monoclonales y por fragmentación proteolítica, TAMKUN, 1983 (383). También hay muy pequeñas diferencias entre la FN plasmática y la FN secretada por los cultivos celulares, así como entre las varias fibronectinas plasmáticas, MOSHER, 1984 (262), MOSESSON, 1980 (255) y SHERMAN, 1983 (324).

En lo que claramente difieren es en su solubilidad y movilidad electroforética en geles de poliacrilamida.

La mayoría de las moléculas de FN circulante tienen un Pm. de 440.000 - 450.000 daltons y están compuestas de dos cadenas unidas por puentes disulfuro, MOSESSON, 1975 (256) y STATHAKIS, 1981 (376). Tanto en la FN plasmática como en la que se encuentra en la superficie de las células, los puentes disulfuro intercatenarios están localizados en el extremo carboxil de la molécula, PEARLSTEIN, 1980 (278). Las dos cadenas se disponen formando un ángulo de 60 á 70°, MOSESSON, 1980 (255).

Parece ser que la estructura de cada cadena va a ser muy similar y el Pm es de aproximadamente 220.000 daltons cada una.

Los puentes disulfuro intracatenarios están agrupados en el tercio terminal de cada cadena y la mayoría se localizan en el extremo amino terminal (NH<sub>2</sub> - terminal), extremo que tiene la capacidad de unirse al factor XIII de la coagulación, MOSESSON, 1980 (255). La zona que se une al colágeno está próxima a la anterior. Esto se ha sugerido debido a que tras digestión con catepsina el fragmento obtenido conserva la capacidad de unirse al factor XIII así como al colágeno, SABA, 1980 (306).

Estudios de fragmentación proteolítica son los que nos han permitido identificar las interacciones de la FN; así se han descubierto hasta ahora zonas de unión a fibrina, estafilococo aureus, colágeno, DNA, superficies celulares, actina, heparina, MOSHER, 1984 (262) y proteína C-reactiva, SALONEN, 1984 (310).

La capacidad de unirse a la fibrina, heparina y estafilococo aureus reside en la secuencia de 45 aminoácidos en la posición amino-terminal. La región adyacente a la anterior posee la capacidad de unión a gelatina y colágeno; siguen a ésta los fragmentos que median la adhesión celular, otro fragmento con capacidad de unirse a la heparina y por último el extremo carboxi que media también la adhesión a la fibrina, MOSESSON, 1975 (256).

Finalmente también pueden interactuar con la FN los proteoglicanos, SHERMAN, 1983 (324), el ácido hialurónico, los gangliósidos y componentes de las paredes celulares bacterianas, MOSHER, 1976 (259). Como resultado de estas interacciones múltiples se piensa que la FN es una glicoproteína con poder adhesivo y opsonizante, PEARLSTEIN, 1980 (278) y PROCTOR, 1979 (292).

La estructura secundaria y terciaria va a ser muy similar tanto para la FN plasmática como para la que se encuentra en la superficie celular, MOSESSON, 1980 (255) y PEARLSTEIN, 1980 (278).

La localización plasmática y celular van a tener en su composición un 5% de carbohidratos.

Está formada por subunidades que tienen aproximadamente 2000 residuos aminoácidos. El análisis de la secuencia de aminoácidos de la subunidad así como la secuencia de nucleótidos del RNA-mensajero y del DNA-genómico que codifican esta subunidad aún son incompletos, MOSHER, 1984 (262).

#### SINTESIS DE FIBRONECTINA

A.-FN PLASMÁTICA O SOLUBLE.: Mientras que muchas células se ha demostrado que sintetizan la FN celular no hay clara determinación de la fuente celular que sintetiza la FN plasmática. Obvios candidatos son las células endoteliales, SABA, 1980 (306), las cuales sintetizan y secretan grandes cantidades de FN; los macrófagos, LLOYD, 1979 (218) y los hepatocitos, VOSS, 1979 (403) y MOSHER, 1984 (262).

Los hepatocitos de rata en cultivo van a secretar FN y ésta va a emigrar electroforéticamente junto con la FN plasmática, sin embargo, la FN secretada por los fibroblastos en cultivos no tienen esa propiedad, TAMKUM, 1983 (383).

OWENS, 1982 (274), demuestra que la síntesis de FN por hígado de rata perfundido es en tal cantidad que reemplaza el pool de FN plasmática cada 10 horas.

La perfusión aislada de hígado de rata produce la suficiente cantidad de FN como para dar lugar a un aumento de la FN plasmática. Además la adición de cortisol e insulina aumenta su síntesis, OWENS, 1982 (274).

Avalan los datos anteriores el hecho de que pacientes con cirrosis descompensada o con fallo hepático fulminante

presentan un descenso de los niveles de FN plasmática, MATSUDA, 1982 (239) y GONZALEZ-CALVIN, 1982 (118).

En definitiva se sostiene que la mayor parte, o en su totalidad, la FN plasmática está producida por los hepatocitos y parte de esta FN posteriormente va a depositarse en los tejidos, MOSHER, 1984 (262).

B.-FN CELULAR O INSOLUBLE.: La FN es un constituyente mayor de la superficie celular de muchas células cultivadas, YAMADA, 1978 (417), siendo un componente predominante del tejido conectiva extracelular, PEARLSTEIN, 1980 (278).

Se ha observado que los fibroblastos en cultivo producen una especie de matriz compuesta por finas fibras. Estas fibras son lisadas por la tripsina pero no lo son por la colagenasa lo que indica que estas fibras estarían compuestas principalmente por estructuras glicoproteicas más que por colágeno, MOSHER, 1984 (262).

La FN en las fibras puede proceder de dos vías distintas, bien de una FN plasmática que se puede adherir a la superficie celular o bien las células puede sintetizar y secretar la FN por si mismas, HAYMAN, 1979 (135).

A parte de los fibroblastos la FN es sintetizada y secretada por una gran variedad de células en cultivos, MOSHER, 1984 (262). Así se ha descrito en la literatura que la FN puede ser sintetizada por las células endoteliales los condrocitos, los mioblastos, ciertas células epiteliales, etc., MOSESON, 1980 (255). Se piensa que la FN segregada por estas células podría tener una importante relación con el proceso de reparación tisular y formación de matrices intercelulares.

Hasta el momento parece ser que hay una relación inversa entre la FN intracelular y extracelular, lo que sugiere un control "feed-back" en la producción de FN, PEARLSTEIN, 1980 (278), ya que en la mayoría de los cultivos la FN intracelular

está sensiblemente disminuida mientras que la FN extracelular está aumentada, YAMADA, 1978 (417).

En cuanto a su metabolismo, PUSSELL, 1985 (293) muestra como la FN es una proteína que rápidamente es catabolizada; un 4.81% del total cada hora. Su vida media es de 20 á 30 horas. Con respecto a su síntesis es a razón de 0.7 mg/Kg/hora -entre 0.61 y 0.87-. Los niveles plasmáticos se van a correlacionar con el promedio de su síntesis/hora; pero no se correlaciona con su vida media o con su fracción catabólica en personas sanas. Estos datos sugieren que la disminución de su síntesis sería la responsable del déficit de FN que se observa en pacientes en estado crítico.

#### VALORES NORMALES DE FN EN HUMANOS

ERIKSEN en 1982 (76) estudia las diferentes variaciones de los niveles de FN plasmática en sujetos sanos, para lo cual recoge plasma de 374 individuos de edades comprendidas entre 0 y 85 años. Observa las posibles variaciones diurnas y la influencia de varios estabilizadores de la sangre. No encuentra diferencias significativas a lo largo del día ni en el hecho de utilizar EDTA o citrato con o sin heparina. Es interesante remarcar que lo que si encontró fué diferencias significativas en el hecho de que si se descongelaba el plasma a temperatura ambiente, en vez de hacerlo en baño a 37°C. los niveles de FN disminuían.

La concentración de FN en el plasma va a depender del sexo y de la edad. en los varones la concentración es más alta y a medida que aumenta la edad también lo hace los niveles de FN, STATHAKIS, 1981 (376).

#### VALORES NORMALES DE FIBRONECTINA EN RATAS

La mayor parte de los estudios realizados al respecto han utilizado ratas macho de la cepa Sprague-Dawley de 250 a 300 g.

DENO, 1984 (69) y VELKY, 1984 (401), encuentran como niveles normales de FN en plasma  $731 \pm 49$  microg/ml y  $686 \pm 150$  microg/ml, respectivamente.

SABA, 1978 (307), utilizando también ratas macho de la cepa Sprague-Dawley obtiene los valores normales de FN en suero siguientes:  $290.1 \pm 25.0$  microg/ml.

#### LOCALIZACION DE LA FIBRONECTINA

La FN de la superficie celular ha sido hallada en los fibroblastos cultivados "in vitro" y forma parte de las estructuras fibrilares extracelulares y de las membranas basales de casi todos los tejidos, MOSHER, 1984 (262).

Es posible que también se encuentre en las células astrogliales y en las células de Schwann. Aunque sobre este punto hay una cierta controversia, según los autores, PEARLSTEIN, 1980 (278).

La FN soluble o plasmática se ha localizado, a parte de en el plasma, en el líquido amniótico, fluido seminal, líquido céfalorraquídeo y fluido articular, MOSHER, 1984 (262).

En el hígado la FN se localiza en los espacios perisinusoidales, membranas basales de los vasos sanguíneos y venas centrales, JAGIRDAR, 1985 (167); HAHN, 1980 (132) y MATSUDA, 1982 (239).

#### INTERACCION DE LA FN CON EL COLAGENO

Se piensa que la FN tendría una amplia zona de unión para el colágeno y a su vez esta zona se dividiría en dos subzonas:

a.- Una subzona que interactúa con el colágeno sobre todo a nivel del punto donde la colagenasa va a producir la excisión del colágeno.

b.- Una segunda subzona que atrae los residuos glutaminil de la FN y los residuos lisil del colágeno de una manera que favorece la unión cruzada, MOSHER, 1980 (261).

Una de las mayores afinidades de la FN es por el colágeno, tanto en su forma desnaturalizada como en su forma nativa, aunque parece ser que la afinidad de la FN por el colágeno desnaturalizado es mayor que por el colágeno nativo, MOSESSON, 1980 (255).

La FN puede unirse de forma cruzada al colágeno por enlace covalente a través del factor XIII, MOSHER, 1975 (260).

Como veremos posteriormente la habilidad de la FN de unirse de forma cruzada al colágeno y a los heparán-sulfatos reafirma la hipótesis de su papel como proteína adhesiva.

#### INTERACCION DE LA FN CON FIBRINOGENO Y FIBRINA

En la fibrina el sitio de unión para la FN parece estar localizado en la región carboxi-terminal de la cadena alfa. Con respecto a la FN parece ser que el sitio de unión a la fibrina está estrechamente relacionado con la zona de unión al colágeno. Otro sitio de unión de la FN a la fibrina se localiza cerca del extremo carboxi-terminal de la molécula, SHERMAN, 1983 (324) y MOSESSON, 1980 (255).

Hace más de 20 años, SMITH y von KORFF sugirieron que la globulina insoluble en frío, FN, era una fracción precipitable de la heparina. Posteriores estudios así lo han confirmado, MOSESSON, 1980 (255), llegando a la conclusión de que en el plasma colocado en frío se pueden formar dos tipos de precipitado de fibrinógeno: El primero requiere la existencia de la denominado "fracción precipitable de la heparina" o similares para su precipitación, mientras que el segundo, denominado criofibrinógeno, aparece en ciertos plasmas patológicos y no necesita de la heparina para su precipitación. Se ha demostrado que los dos tipos van a contener FN, MOSESSON, 1980 (255).

El fibrinógeno no es un componente obligatorio de la fracción precipitable de la heparina y está presente en ella debido a su gran afinidad con la FN. Esta conclusión está corroborada por numerosos estudios que han demostrado la afinidad entre la FN plasmática y el fibrinógeno, MOSHER, 1975 (260) y 1976 (259).

KAPLAN et al, 1980 (185), han evaluado la influencia de la FN plasmática en la formación de fibrina y de complejos de fibrina y de colágeno. Los experimentos los llevaron a cabo en ratas macho Sprague-Dawley de 250 a 400 g. Demostraron que la FN plasmática es capaz de mantener la solubilidad de los monómeros de fibrina y de volver a solubilizar la fibrina insoluble y los complejos de fibrina y colágeno a 37°C. Estos datos sugieren que la FN plasmática puede inhibir la polimerización de la fibrina y/o la unión de la fibrina con el colágeno.

Actualmente se sugiere que los fragmentos de FN unidos a la heparina pueden participar en la regulación del crecimiento vascular. Las dos regiones de la FN que se unen a la heparina, pero no la molécula madre o algunos otros fragmentos de la FN, parecen ser potentes inhibidores en el crecimiento vascular y este efecto es reversible y dosis dependiente, HOMANDBERG, 1985 (151).

Por otra parte la heparina forma complejos que precipitan en frío con FN purificada pero no los forma con fibrinógeno sólomente, aunque en el precipitado de heparina-FN también nos aparece fibrinógeno, MOSESSON, 1980 (255).

#### RELACION DE LA FIBRONECTINA CON LA PROTEINA C-REACTIVA

La unión de la FN con la proteína C-reactiva se ha demostrado mediante enzimoimmunoensayo y aglutinación en látex.

Otro dato a remarcar es que la disminución a pH 7.4 aumenta 5 á 6 veces la unión de la FN a la proteína C-reactiva. Parece ser que esta unión es máxima a concentraciones fisiológicas de cloruro sódico.

Cada molécula de FN plasmática tiene en la proteína C-reactiva al menos dos sitios de unión; a su vez el fragmento de unión de la FN parece estar localizado en el extremo carboxi-terminal.

Ante una lesión tisular la concentración de proteína C-reactiva aumenta en el plasma rápidamente, entre las 6 y 24 horas, mientras que la de la FN a menudo disminuye, SALONEN, 1984 (310).

#### FISIOPATOLOGIA DE LA FIBRONECTINA

##### A.- FIBRONECTINA INSOLUBLE EN TEJIDOS.

Esta FN se va a localizar en la matriz extracelular y en la membrana basal de todos los tejidos, MOSHER, 1984 (262). Aunque múltiples tipos de células tienen la capacidad de segregar FN, se piensa que la mayoría de la FN plasmática se

originaría en los hepatocitos y parte de ella se depositaría en los tejidos. Mientras que la FN plasmática estaría en forma de dímero y cuando se deposita en la superficie celular pasaría a estar en forma de multímeros, PEARLSTEIN, 1980 (278).

Los métodos más utilizados en el estudio de la FN celular son los cultivos celulares y pruebas inmunofluorescentes mediante la utilización de antisueros marcados generalmente con fluoresceína. Con respecto a los cultivos celulares los más utilizados han sido los de fibroblastos y se observa como éstos producen una matriz fibrilar por dos vías a través de la FN sintetizada por los propios fibroblastos y a través de la FN presente en el medio. Posteriormente las fibrillas formadas se transforman en colágeno maduro por lo que se piensa que la matriz de FN sería sustituida posteriormente por colágeno, MOSHER, 1978 (263).

Por estudios inmunofluorescentes se ha demostrado que las fibrillas extracelulares de FN interaccionan con los microfilamentos de la superficie celular. Estos microfilamentos intervienen en la morfología y motilidad celular por lo que se piensa que la asociación FN-microfilamentos juega un importante papel funcional, MOSHER, 1984 (262).

En resumen, de lo anterior se desprende que la FN actúa como una proteína de unión de las células entre si, siendo ésta su función principal.

La FN celular parece intervenir también en el desarrollo embriogénico ya que aparece en la fase de blástula, MOSESON, 1980 (255), mediando la adhesión de las células del epitelio a las membranas basales, LLOYD, 1979 (218) y PEARLSTEIN, 1980 (278). Además induce la migración de otras células pudiendo jugar un papel importante en la migración embriogénica de los tejidos como por ejemplo la cresta neural, SHERMAN, 1983 (324).

También contribuye en la cicatrización de las heridas ya que actúa como factor quimiotáctico de los fibroblastos,

TSUKAMOTO, 1981 (397) y estimula la migración de células endoteliales y epidérmicas.

Se ha postulado que la FN puede en parte regular la integridad y permeabilidad microvascular, SABA, 1980 (306).

Por último se ha intentado relacionar la FN y la transformación tumoral. JAGIRDAR, 1985 (167) observa en el carcinoma hepatocelular la existencia de FN extra e intracelularmente, mostrando como los tumores con gran cantidad de FN tenían mejor pronóstico que aquellos que presentaban escasa cantidad de esta proteína.

#### B.- FIBRONECTINA SOLUBLE O PLASMÁTICA.

Se podrían describir dos funciones principales:

- En primer lugar su papel en el sistema de defensa inespecífico del organismo mediando el aclaramiento de partículas extrañas por el sistema retículo-endotelial o por los macrófagos. Esto ha sido descubierto gracias a los trabajos de SABA et al, 1978 (307) y 1980 (306) que definieron una proteína opsonica del tipo alfa 2 que estimulaba el aclaramiento de partículas inertes del torrente circulatorio. BLUMENSTOCK, 1978 (11) identificó a esta alfa 2 proteína como FN.

Varios autores han corroborado este papel de la FN observando como su déficit conducía a un menor aclaramiento de partículas extrañas, SABA, 1980 (306), LANSER, 1981 (190) y VELKY, 1984 (401).

Aparte de su función opsonizante la FN es una sustancia quimiotáctica con capacidad para atraer tanto a los monocitos como a los neutrófilos. Esta función no es llevada a cabo por la FN intacta sino por sus fragmentos; es decir durante la inflamación acontece una rotura de la FN y estos fragmentos van a ser los que van a atraer a los monocitos-macrófagos al foco de la lesión, POMMIER, 1984 (285). A su vez los

macrófagos activados liberan como sustancia quimiotáctica a la FN. Esta producción de FN puede servir como mediador inflamatorio atrayendo a fibroblastos a la zona del tejido lesionado, donde los mismos proliferarán estimulando la reparación del tejido, TSUKAMOTO, 1981 (397).

Su segunda función es en la coagulación. Participa en la hemostasia primaria ya que la FN a nivel de las plaquetas se asocia a los gránulos alfa que van a ser liberados cuando las plaquetas se ponen en contacto con la trombina o el colágeno, MOSHER, 1980 (261).

Parece ser que la FN una vez liberada por las plaquetas se une a la superficie de éstas y media su adhesión al colágeno, YAMADA, 1978 (417).

Por otra parte va a intervenir en la formación del coágulo debido a su capacidad de unión al fibrinógeno y a la fibrina formando sobre todo enlaces covalentes catalizados por el factor XIIIa.

Posteriormente, una vez que se ha estabilizado el coágulo, la FN se va a unir a la fibrina en una zona muy próxima a la del colágeno y va a atraer hacia el coágulo macrófagos y fibroblastos, MOSESSON, 1980 (255).

#### FIBRONECTINA, TRAUMA E INFECCION

La concentración de FN en el plasma humano disminuye entre las 6 y 24 horas de una destrucción tisular intensa como después de la realización de una cirugía mayor, quemaduras u otros traumas, GAUPERAA, 1985 (109) y VELKY, 1984 (401).

Desde SABA en 1981 (309) y SALONEN en 1984 (310), esta disminución se piensa que es debida generalmente al aumento de consumo de la FN plasmática en la opsonización de partículas

y restos solubles de la circulación por el sistema retículo endotelial, SALONEN, 1984 (310).

Por otra parte hay un secuestro extravascular en las zonas del tejido lesionado y se cree que facilita la curación de la herida promoviendo la interacción célula a célula y el enlace de la célula al substrato, MOSHER, 1980 (255) y DENO, 1984 (69).

GAUPERAA en 1985 observa en 72 pacientes a los que se realiza cirugía mayor una disminución de FN inmediatamente después de la intervención seguido por un aumento que no alcanza los valores preoperatorios en las primeras 120 horas, con una ligera disminución de Ig G a las 24-72 horas del postoperatorio y una disminución de C3 y C4 con normalización en las primeras 72 horas, sin embargo la Ig M no sufre alteraciones.

Para GENESTAL et al, 1983 (110), existen bajos niveles de FN plasmática que van a acompañar a la infección pero no la van a preceder, de tal forma que la caída de FN no se puede tomar como un factor constituyente de aumento de susceptibilidad a la infección. También observaron que la evolución en los valores de FN plasmática no precedieron ni a la agravación ni al mejoramiento del estado infeccioso.

VELKY et al, 1984 (401), provocan en 100 ratas estados sépticos mediante diferentes agentes observando como la deplección de la tasa de FN se relaciona con un peor pronóstico y la restauración de sus niveles parecen ser beneficiosos.

Se cree que la disminución de la FN durante la sepsis podría ser debida al secuestro por la lesión y a la adhesión a los restos de colágeno intravascular o microagregados de fibrina.

Posteriormente PIERROT, 1985 (281) administra concentrados de FN purificada a 10 pacientes con sepsis en 17 ocasiones.

Estos estados patológicos mejoraban con la administración de FN siendo una esperanza terapéutica.

#### FIBRONECTINA Y ENFERMEDADES HEPATICAS

El comportamiento de la FN plasmática en el curso de la enfermedad hepática se ha estudiado en trabajos recientes, GLUUD, 1983 (115) y MATSUDA, 1982 (239), pero su papel aún no está totalmente esclarecido, GABRIELLI, 1985 (102).

MATSUDA, 1982 (239), en 166 pacientes con enfermedades hepáticas demostradas clínica e histológicamente, observaron un aumento de la fibronectina plasmática. Las enfermedades que padecían eran: hepatitis aguda, hígado graso, todos los tipos de hepatitis crónica y cirrosis hepática.

Sólamente se demostró disminución de la FN en los casos de cirrosis hepática descompensada ( 43 pacientes) lo cual se intenta explicar, al menos en parte, por el aumento del catabolismo de la fibronectina mediado por una fibrinólisis acelerada.

La causa del aumento de la fibronectina en el resto de las enfermedades hepáticas aún no está muy claro aunque podría ser atribuido a un aumento de síntesis por parte de los fibroblastos aumentados en el tejido conectivo proliferativo de las áreas portales y de los septos interlobulares.

GLUUD, 1983 (115), estudia el posible valor diagnóstico del nivel de fibronectina en las diferentes enfermedades hepáticas. En 71 pacientes con enfermedades hepáticas, 10 (14%) sufrían hepatitis viral aguda y en éstos hubo un aumento de fibronectina estadísticamente significativo. 7 (10%) presentaban una hepatitis crónica activa o persistente y en ellos no se encontró una diferencia significativa con los del grupo control; igual ocurrió con los que padecían

cirrosis biliar primaria, 8 (11%) y con las lesiones hepáticas alcohólicas 35 ( 48% ).

GONZALEZ-CALVIN et al, 1982 (118) estudiaron en concreto el fallo fulminante hepático en 17 pacientes y observaron que en 13 ( 75% ) hubo una disminución estadísticamente significativa de la fibronectina por debajo de los límites normales (194-472 microg/ml $\pm$ 2DS). Además el valor de la FN tuvo una correlación negativa con el valor de AST que fue estadísticamente significativa. Ellos piensan que la más lógica explicación para este ascenso de la fibronectina en el fallo hepático fulminante sería el aumento de consumo de la FN durante la fagocitosis de las partículas después de la necrosis hepática.

JAGIRDAR, 1985 (167). estudia los diferentes patrones de FN en el carcinoma hepatocelular. Mediante técnicas inmunohistoquímicas localizó la FN intra y extracelularmente, tanto en el núcleo como en el citoplasma de las células tumorales. La FN extracelular se localizó en el espacio sinusoidal, en el estroma, alrededor de los nidos celulares o nódulos tumorales y de manera periacinar.

El nivel de FN en el hepatocarcinoma se va a relacionar con el pronóstico. Así en los carcinomas de mejor pronóstico -carcinoma fibrolamelar, de células claras y encapsulado- presentan un aumento de FN tanto intra como extracelular mientras que en los de peor pronóstico -indiferenciados- hay una disminución de FN. Finalmente el aumento de FN en plasma y fluido ascítico en el hepatocarcinoma es debido a la producción de FN por las células tumorales.

GABRIELLI et al, 1985 (102), hacen un estudio intentando correlacionar la FN plasmática y los índices bioquímicos de funcionalidad hepática en pacientes afectados de hepatopatía.

Valoran como índices de funcionalidad hepática la albúmina, la protrombina, la colinesterasa, la fosfatasa alcalina y las transaminasas. Encuentran en todos los pacientes cifras inferiores de FN con respecto a los controles sanos. Por

otra parte muestran una correlación positiva entre la albúmina y la FN, así como con la protrombina

#### FIBRONECTINA Y TRASPLANTE DE ORGANOS

ERIKSEN en 1984 (77), determinó la concentración de FN plasmática y de FN urinaria en pacientes (n=21) a los que se realizó trasplante renal y estudió la posible relación de esta glicoproteína con el rechazo y con inmunosupresores. En 5 pacientes (23.8%) que no presentaron rechazo se halló una variación significativa de la FN antes y después del trasplante; sin embargo tanto en los 10 pacientes que presentaron rechazo que respondió al tratamiento inmunosupresor como en los 6 pacientes con rechazo que no respondió a dicho tratamiento, hubo una disminución significativa de los valores de FN plasmática desde el día del trasplante a una semana más tarde.

En lo que se refiere a la FN urinaria sus valores son más conflictivos debido a la alteración de la función renal que presentaban dichos pacientes. Pero parece ser que hay un aumento de FN urinaria en relación con el rechazo agudo.

RAGNI, 1984 (295) muestra en su trabajo como pacientes sometidos a trasplante de hígado presentan una disminución en sus niveles de FN plasmática con recuperación de estos niveles tras el prendimiento del trasplante y coincidiendo con la normalización de las pruebas de función hepática.

#### HIPOTESIS DE TRABAJO

La observación de la muerte o supervivencia en los receptores de trasplante de hígado no es un dato muy valorable a la hora de evaluar su evolución. Para valorar ésta son mucho más fiables los parámetros histológicos y bioquímicos, ROSER, 1983 (305).

DEMETRIS, 1985 (67), remarca como episodios precoces de rechazo pueden ser confundidos con obstrucción biliar y/o colangitis y episodios más tardíos podrían confundirse con enfermedades hepáticas virales o de tipo autoinmune. Las alteraciones en los tests bioquímicos de rutina, que valoran la función hepática son a menudo debidas al rechazo pero otras causas pueden interferir, ZAJKO, 1984 (418).

Si bien el estudio histológico es actualmente el dato más estandarizado y fiable en la evaluación del trasplante hepático; diversas investigaciones intentan aportar parámetros de laboratorio que podrían ser de valor diagnóstico y pronóstico ya que su nivel en sangre nos daría información de los fenómenos que están aconteciendo a nivel celular; es lo que se ha denominado biopsia bioquímica, de escasa o nula agresividad.

Se han encontrado alteraciones bioquímicas e histológicas en el trasplante singénico que podrían incluirse dentro de un cuadro similar o de intensidad leve de rechazo en el homotrasplante. En los primeros momentos aparece un paralelismo cronológico de las alteraciones bioquímicas y de su correlato histológico. Esto ha conducido al establecimiento del concepto de "prendimiento", "asentamiento" o "adaptación" del trasplante isogénico en el huesped.

El empleo de ratas singénicas facilita el seguimiento, debido a su baja mortalidad por ausencia de rechazo inmunológico, durante largos períodos de tiempo; obteniendo grupos experimentales más homogéneos.

- 1.- Desde un punto de vista general se puede admitir que el patrón histológico del trasplante conlleva en mayor o menor medida una alteración en la vascularización del parénquima por déficit.  
Esto hace plantearse, ante la lectura de observaciones previas en modelos experimentales de isquemia hepática la duda de que si sería superponible el fenómeno de la alteración de la función mitocondrial al trasplante hepático y en definitiva que la valoración de parámetros muy precoces de lesión celular, como la disminución del nivel celular de ATP se constituyeran en elementos útiles de control de la evolución del injerto.
- 2.- Aunque aún permanece sin dilucidar el papel exacto de la fibronectina, se ha relacionado en estudios previos su disminución en plasma tanto en la cirrosis como en el fallo hepático agudo, HOFELER, 1984 (149) y su aumento en hepatitis aguda y crónica activa, MATSUDA, 1982 (239). Esto plantea la duda de si existiría una alteración en esta glicoproteína en relación con las diferentes situaciones que estudiamos en nuestros grupos experimentales.
- 3.- Existiría una relación entre parámetros bioquímicos de comportamiento mejor conocido, en el trasplante hepático, con otros nuevos: La FN como proteína de origen hepático y los adenín nucleótidos como constituyentes vitales de la célula.  
Esta relación se establecería siguiendo la cronología histológica ya conocida.

OBJETIVOS DE TRABAJO

- 1.- Desarrollo del modelo experimental del trasplante ortotópico de hígado en rata.
- 2.- Obtención de datos derivados de la experiencia con los diferentes tiempos quirúrgicos.
- 3.- Desarrollo de los modelos experimentales de autotrasplante sin y con ligadura de arteria hepática.
- 4.- Obtención de parámetros bioquímicos de funcionalismo del hígado trasplantado.
- 5.- Estudio de ATP y FN como indicadores del funcionalismo hepático en el trasplante.
- 6.- Asociación de datos bioquímicos obtenidos con un patrón histológico-funcional ya establecido.
- 7.- Relación de los parámetros bioquímicos entre si, con el funcionalismo hepático y con su significación lesional.

MATERIAL Y METODOSA.- MATERIAL1.- ANIMALES

Se emplearon ratas de la cepas Wistar.

Los animales fueron observados cuidadosamente los días previos a la intervención y seleccionados únicamente aquellos libres de enfermedades tales como diarrea, parasitación externa, conjuntivitis, caída de pelo, rinitis o hemorragia nasal. Durante este período tuvieron dieta "ad libitum", excepto en las 24 horas previas a la intervención en que se mantuvieron en dieta líquida.

DIETA DE MANTENIMIENTO (Panlab, S.L.)

## FORMULA(%)

- Cereales, azúcar.....	83.1
- Proteínas vegetales (Turtó).....	6.9
- Proteínas animales (Pescado).....	6
- Complemento vitamínico-mineral.....	4

## ANALISIS MEDIO(%)

- Valor calorífico (en Cal/Kg).....	2.900
- Humedad.....	12
- Prótidos.....	17
- Lípidos.....	3
- Glúcidos (E.L.N.).....	58.7
- Celulosa (Weende).....	4.3
- Minerales.....	5

## 2.-INSTALACIONES

Se utilizaron las instalaciones del Servicio de Medicina y Cirugía experimentales del Hospital Clínico de "San Carlos" y del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

### a.- QUIROFANO EXPERIMENTAL equipado con:

- Una mesa quirúrgica.
- Lámpara móvil de luz con fijación a la pared.
- Una botella de oxígeno y regulador manométrico de presión.
- Campana de anestesia para pequeños animales de éter.
- Máquina rasuradora.
- Aire acondicionado.

### b.- ESTABULARIO:

- Jaulas de 5 animales con lecho de Sepiolita.
- Jaulas individuales con lecho de Sepiolita.
- Calefactor termorregulable a 20-23 G.C.
- Botellas-bebederos de vidrio.

## 3.-INSTRUMENTAL

### a.- GENERAL:

- 3 pinzas de Kocher.
- 1 pinza de disección sin dientes de punta fina.
- 1 pinza de disección sin dientes de punta ancha.
- 1 pinza de disección con dientes.
- 1 tijera recta.
- 1 portaguñas.

b.- ESPECIAL DE MICROCIROGIA:

- 1 "Baby" Satinski.
- 1 pinza de iris curva estriada.
- 1 pinza de relojero recta.
- 1 pinza de relojero curva modificada.
- 1 microcauterio para microcirugía "a pilas".
- 1 microportagujas de Castroviejo.
- 3 Bulldog para microcirugía.
- 1 Microtijera de Barraquer.
- 1 Tijera de relojero Micro-Adson.
- 1 Pinza muy fina recta.
- 1 pinza curva modificada.

B.-METODOS

a.-TRASPLANTE ORTOTOPICO DE HIGADO EN RATA

1.-ACTIVIDADES PREVIAS A LA CIRUGIA

LIMPIEZA DEL INSTRUMENTAL

Se utiliza instrumental limpio pero no estéril. En un recipiente se deposita la totalidad del material quirúrgico y se mantiene durante 10 minutos inmerso en Solución acuosa 5% p/v de Gluconato de clorhexidina (Hibitane 5%, solución concentrada). Inmediatamente antes de la intervención y una vez ordenado en la mesa se vuelve a rociar con hibitane vaporizado.

#### PREPARACION DE SUEROTERAPIA Y MEDICACION

En jeringas independientes se dispone;

1.- PERFUSION DE HEPARINA SISTEMICA PARA EL DONANTE:  
Consta de 3 cc de suero fisiológico y 150 UI de Heparina  
sódica.

2.- PERFUSION DE PARENQUIMA HEPATICO: 3 cc de suero  
fisiológico y 50 UI de Heparina sódica.

3.- PERFUSION SISTEMICA DEL RECEPTOR PEROPERATORIA: Se  
dispone en una jeringa 1 cc de Suero Ringer-Lactado, 0.5 cc de  
Suero Glucosado al 5%, 5 mg de Hemisuccinato sódico de  
6-metil-prednisolona (Urbasón soluble) y 10 mg de  
6-d(-)alfa-aminobencilpenicilina (Britapén).

4.- PERFUSION SISTEMICA DE REANIMACION DEL RECEPTOR: 1.5 cc  
de Suero Ringer-Lactado, 0.5 cc de Suero Glucosado al 5%, 10 mg  
de Hemisuccinato sódico de 6-metil-prednisolona, 10 mg de  
6-d(-)alfa-aminobencilpenicilina y 5 mg de vitamina K  
hidrosoluble (Neozimema K).

5.- ATROPINA: 0.1 mg de (-)-S-Hiosciamina (Sulfato de  
Atropina).

#### 2.-TECNICA QUIRURGICA GENERAL

El quirófano se mantiene limpio pero no estéril  
utilizando aire circulante que proporciona el aire  
acondicionado. El cirujano se viste con pijama limpio,  
cubriéndose con gorro y mascarilla y se aseptica las manos con  
hibitane vaporizado.

Tras una dieta absoluta de 1 hora se procede a anestesiar al animal a intervenir en una campana de 1000 cc de volumen con algodón impregnado en éter. Este proceso dura 10 minutos con un intervalo para rasurar el abdomen del animal.

Se dispone al animal en decúbito supino fijándole las cuatro extremidades a una tabla de corcho.

El mantenimiento de la anestesia durante la intervención se lleva a cabo mediante un recipiente que se acopla al hocico del animal con algodón impregnado en éter. A través de una ventana nasal se administra oxígeno empleando una sonda vesical pediátrica. De esta forma la rata respira al 50% éter y oxígeno.

El exceso de secreción salival que estimula el éter se limpia con un bastoncillo y con el fin de mitigar las secreciones bronquiales y provocar broncodilatación se administra por vía subcutánea 0.1 mg de Atropina al inicio y al final de la intervención.

### 3.-INTERVENCION EN EL DONANTE

Conlleva una hepatectomía total con ciertas características que detallaremos.

Se practica una celiotomía transversa, subcostal bilateral y con el fin de visualizar con comodidad el hilio hepático se lleva a cabo una exenteración hacia la izquierda del animal.

Comienza la intervención con una liberación de los lóbulos caudales izquierdos y sección de ligamento gastro-hepático.

Se canula el colédoco en su tercio proximal con una catéter bibiselado de nylon, Fig. 23. Se lava la vía biliar a través del catéter con suero.

Se disecciona la VCI infrahepática y tras doble ligadura se secciona la vena lumbar y vena adrenal derecha de la rata.

Comienza la esqueletización del hígado con la sección del ligamento gastro-hepático y coagulación de una vena que transversalmente camina habitualmente incluida en este ligamento.

La vena frénica izquierda se liga mediante un punto transfixiante de Prolene 6/0. La derecha se deja intacta.



Fig. 23.: Canulación de colédoco (C) en el donante.



Fig. 24.: Esquema de la disección y ligadura de vasos colaterales. Suprahepática (S). V. frénica (F). A. hepática (H). Colédoco (C). V. cava infrahepática (VCI) y v. porta (VP).

Continúa la liberación hepática con la sección de la ataduras derechas.

La vena renal derecha se divide tras doble ligadura, siendo de seda 10/0 la parte que forma el injerto.

Habitualmente se utilizaron hembras como donantes por lo que la perfusión de heparina se llevó a cabo con infusión a través de la vena cava infrahepática, debajo de la vena renal izqda, 3 cc de suero fisiológico con 150 UI de heparina sódica.

La disección del hilio hepático continúa con la arteria hepática a la que se pasa una ligadura de seda 5/0 que permanece sin anudar.

Con el fin de lograr un tramo suficiente de VP se dividen tras ligadura doble la vena gastroduodenal y mesentérica superior. La parte correspondiente al injerto se liga con seda de 10/0, Fig. 24.

La perfusión del parénquima hepático comienza con el clampaje de la VC infrahepática seguido por el de la VP.

Se practica una venotomía anterior en VP e inmediatamente por encima de la ligadura. se introduce un "abbocath" número 14 en la VP, previamente purgado, con el fin de evitar embolias aéreas. El primer cc de suero fisiológico se lleva a cabo con la arteria hepática permeable lo que permite un enfriamiento paulatino del parénquima. Se completa con otros 2 cc de suero fisiológico y 50 U.I. de heparina sódica, Fig 25.



Fig. 25.: Perfusión "in vivo" del hígado donante a través de la VP. v. cava inferior (VCI) clampada.

111.

Finaliza la donación con la sección de colédoco, VP y VCI infrahepática. La sección de la VC suprahepática se lleva a cabo por encima del diafragma acompañándose de un manguito del mismo.

El parénquima se retira a un baño frío.

#### 4.-PREPARACION "in vitro" DEL INJERTO

El "cuff" para la VP consiste en un cuerpo de 0.3 cm de longitud y una extensión de 0.3 cm, obtenido de un tubo de polietileno, 6FG con un diámetro externo de 0.21 cm.

El de la VCI tiene 0.3 cm de longitud el cuerpo y 0.3 cm de extensión. El calibre es 8FG, con un diámetro externo de 0.27 cm.



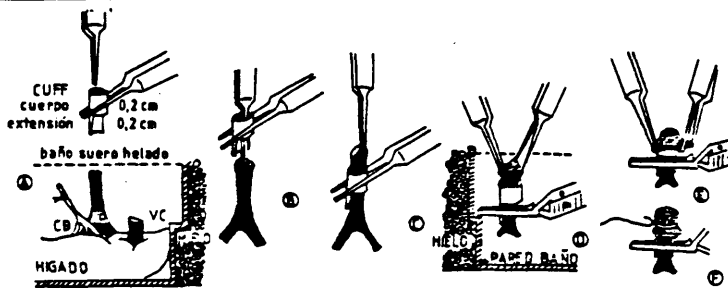
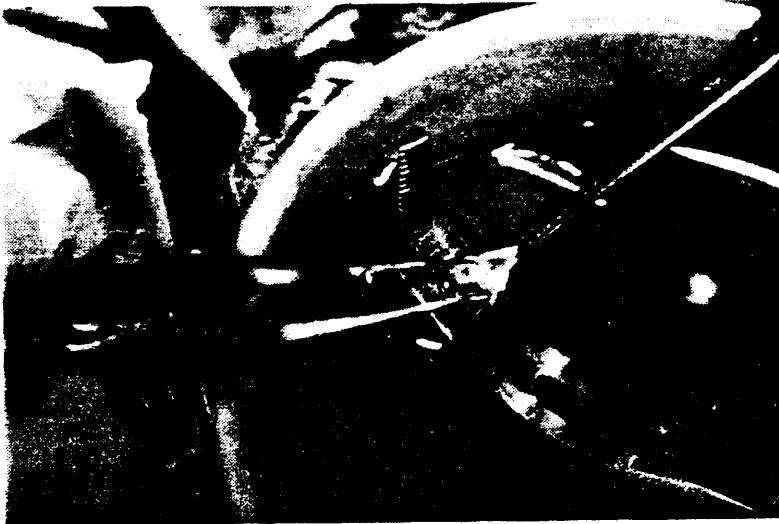


Fig. 26.: Fotografía y esquema de la colocación del "cuff" "in vitro".

La preparación de los "cuff" se lleva a cabo en un baño frío de suero. La extensión se utiliza para fijar la pared del vaso al cuff y al clamp vascular que se inmovilizan sus ramas con plastilina. La pared del vaso se evierte sobre el "cuff", Fig. 26, y se fija con seda de 6/0, Fig. 27.

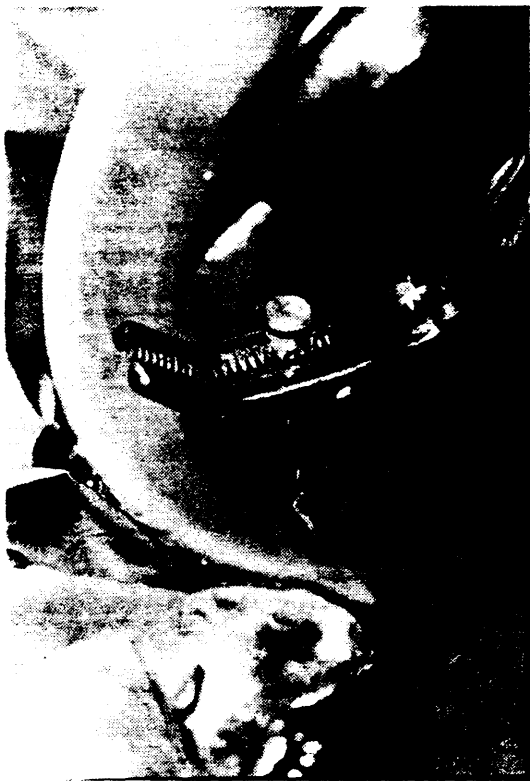


Fig. 27.: "Cuff" implantado en el vaso

#### 5.-OPERACION EN EL RECEPTOR

Comienza la intervención canulándose la vena dorsal del pene con una palomilla de pediatría a la que se conecta una jeringa con 2 cc del compuesto de perfusión del receptor.

Se practica una celiotomía longitudinal media superior. Se rechaza hacia la mitad abdominal inferior el paquete intestinal exponiéndose el hilio hepático. Se liga la arteria hepática y se canula el colédoco con un tubo de polietileno de 0.4 cm de longitud, 4FG -diámetro externo 0.14 cm- a través de una coledocotomía. Se fija el tubo con una ligadura circunferencial de 6/0.



Fig. 28.: Punto de transfixión a la vena frénica izqda.

La vena adrenal derecha se secciona tras ligarla.

Se esqueletiza el hígado y si la VFI desemboca independientemente en una vena hepática se liga mediante transfixión, Fig. 28.

Con el fin de que nos sirva de elemento de tracción se pasa una cinta de cotton a través de la VCI suprahepática.

A través de la vena dorsal del pene se perfunden 2cc y se clampa la VCI con un microclip vascular. Los extremos del vaso se marcan con dos puntos de Prolene 6/0.

Se clampa la VP y se fijan sus ramas con dos puntos.



Fig. 29.: Fotografía de la fase anhepática. El Satinsky clampa la v suprahepática (SH) y los microclips ocluyen la v cava inferior (VCI) y la v porta (VP). En los extremos se han dado puntos de referencia y para tracción.

Utilizando un "baby" Satinsky se clampa la VCI suprahepática y un manguito de diafragma.

Se retira el hígado, Fig. 29.



Fig. 30.: Sutura manual de la v suprahepática. La cara posterior se realiza de izqda a der. La cara anterior de der a izqda. Se utiliza sutura vascular monofilamento con doble aguja de 6/0 ó 7/0.

El inicio del implante conlleva una anastomosis manual de la VCI suprahepática con Prolene 6/0 en término-terminal, Fig. 30.

Entonces comienza la anastomosis de la VP. La tensión en la VP es mantenida por tracción aplicada a sus ramas, Fig. 31. Se practica una venotomía anterior en el receptor

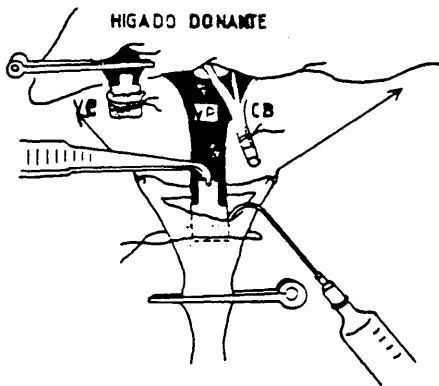


Fig. 31.: Esquema de la anastomosis vascular usando "cuff".  
V. cava (VC). V. porta (VP) y conducto biliar (CB).

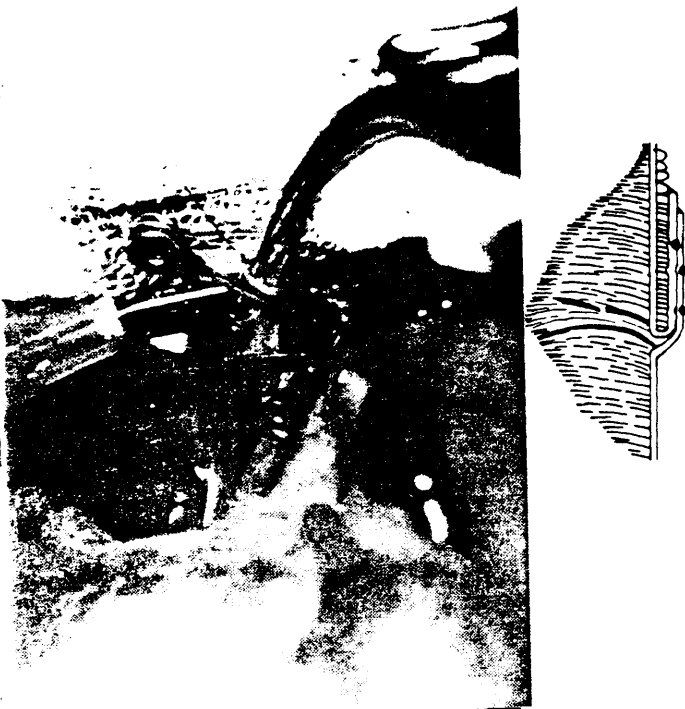


Fig. 32.: Fotografía de la anastomosis vascular usando "cuff" y esquema de corte sagital de la anastomosis con "cuff". V. cava infrahepática (VCI) y v. porta (VP).

retrayéndose la pared anterior con una jeringa conectada a un  
aguja curva roma a la vez que se lava el interior del vaso para  
extraer coágulos y burbujas aéreas, Fig. 32. Se asegura la  
anastomosis con una ligadura circunferencial de seda de 6/0.

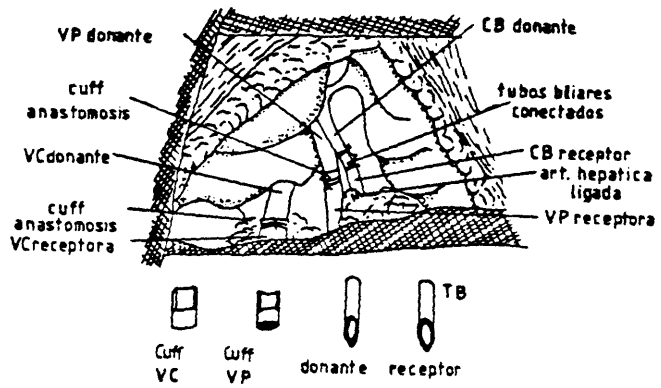


Fig. 33.: Esquema final de la intervención y representación proporcional de los "cuff" y tubos de la vía biliar.

Se desclaman la VP y la suprahepática finalizando en este instante la fase anhepática.

Por el mismo método se lleva a cabo la anastomosis de la VCI, Fig. 33.

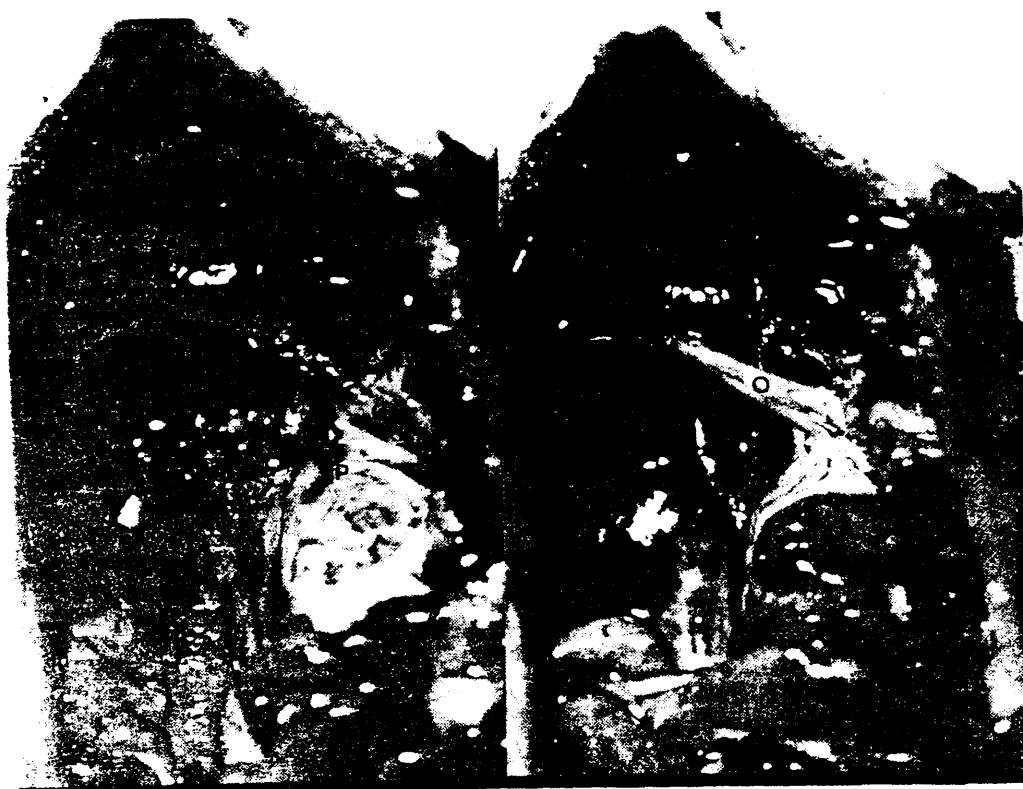


Fig. 34.: Se aprecia al final de la intervención la anastomosis coledocal (C), portal (VP) y de la v cava infrahepática (VCI). La revascularización tiñe de nuevo el parénquima hepático. Con el fin de evitar fístulas biliares y necrosis se envuelve el colédoco con el omentum mayor (O)

Finaliza la intervención con el telescopaje de los tubos insertados en los colédocos receptor y donante. Con el fin de evitar fístulas y aportar vascularización al colédoco se le envuelve con el omentum mayor, Fig. 34.

Se cierra la incisión en doble plano con catgut y seda.

Se perfunden 2 cc de suero de perfusión de reanimación del receptor y se aseptica la herida operatoria con Novecután.

b.-SELECCION DE GRUPOS

GRUPO A: Es el GRUPO CONTROL consta de 30 animales machos con pesos comprendidos entre 274 g y 414 g (M = 347 g), a los que se mantuvo en las mismas condiciones, arriba señaladas para el resto de grupos.

GRUPO B: Es el GRUPO AUTOTRASPLANTE y consta de 60 ratas Wistar con pesos entre 263 g y 422 g (M = 356 g), a las que se practicó una intervención consistente en liberar de sus ataduras ligamentosas al hígado y en clampar los tres vasos que son objeto de anastomosis, VCI, VP y Suprahepática y la arteria hepática el mismo tiempo promedio que se empleó en los grupos C y D.

SUBGRUPO B1.: El clampaje de la arteria hepática sólo duró el tiempo de la intervención, permaneciendo permeable posteriormente (30 ratas).

SUBGRUPO B2.: A estos 30 animales restantes se les ligó permanentemente la arteria hepática.

GRUPO C o GRUPO ISOTRASPLANTE: 30 ratas machos de la cepa Wistar, con peso 339g a 417g (M=389g) recibieron 30 trasplantes ortotópicos de animales hembras de la misma cepa, isogénicos, de peso 136g a 241g (M=218g).

c.-TECNICA DE EXTRACCION DE SANGRETECNICA DE MICROMUESTRA

Consiste en la obtención de sangre de la vena lateral del rabo tras sección de la punta del mismo y aplicación de tubos capilares que se rellenan por la atracción capilar y por la gravedad. 1 cc de sangre equivale a aproximadamente 15 capilares. Posteriormente se centrifugan los capilares para la separación del suero.

TECNICA DE EXANGUINACION TOTAL

Se lleva a cabo mediante punción del ventrículo derecho así obtendremos de 8 a 10 cc de sangre.

d.-EVALUACIONES CONTROL DE FUNCIONALISMO HEPATICO1.-METODOS DE DETERMINACIONES ENZIMATICAS

Las AMINOTRANSFERASAS así como la GAMMA GLUTAMIL-TRANSPEPTIDASA se determinaron mediante un "microsistema automatizado o microanalizador". Se utilizó para ello el aparato Technicon RA-1000, un autoanalizador de flujo discreto dotado de un monocanal flexible. Este sistema tiene la ventaja de necesitar sólo de 1 a 20 microlitros de

muestra para verificar la reacción. Los "kits" de determinación empleados fueron de la casa Boehringer Mannheim.

DETERMINACION DE ASPARTATOAMINOTRANSFERASA (AST/GOT), se utiliza como sustrato el L-Aspartato y como desencadenante de reacción el alfa-cetoglutarato. DETERMINACION DE ALANINAMINOTRANSFERASA (ALT/GPT), se utiliza como sustrato la L-Alanina y como desencadenante de reacción el alfa-cetoglutarato. Los dos tests anteriores se van a basar en acoplar la formación de oxalacetato y piruvato a la oxidación del NADH, es decir, los productos de la reacción de GOT y GPT -oxalacetato y piruvato- son reducidos a malato y lactato, respectivamente, con oxidación concomitante de NADH a NAD.

Se mide el cambio de absorbancia en el espectro ultravioleta a una longitud de onda de 365nm en ambos casos. Son reacciones cinéticas. .

DETERMINACION DE GAMMAGLUTAMIL-TRANSPEPTIDASA (gamma-GTP), se realizó mediante una modificación del método de SZASZ, utilizando como sustrato la L-Gamma-glutamyl-3-carboxi-4-nitranilida y como desencadenante de la reacción la glicilglicina. En este test lo que se va a cuantificar en el espectrofotómetro es la intensidad del color que se produce en la reacción (Test de color). La longitud de onda de lectura es de Hg 405 nm.

Los valores de las tres enzimas anteriores se presentan en unidades internacionales litro (U/l).

#### DETERMINACION DE FOSFATASA ALCALINAS:

Se determinó manualmente siguiendo una modificación del método de BESSEY y LOWRY, 1946 (10); utilizando como sustrato p-nitrofenil fosfato.

A pH alcalino, aproximado de 10, el p-nitrofenil fosfato es prácticamente incoloro mientras que su producto de reacción p-nitrofenol es intensamente amarillo.

Es una reacción cinética en la que se mide el aumento en la absorbancia a 405nm.

Las concentraciones de la enzima son expresadas en U/l.

## 2.-DETERMINACION DE BILIRRUBINA

Se hace su análisis de modo manual, siguiendo una modificación del método de MALLOY y EVELYN, 1937 (227). Esta técnica está basada en la unión de la bilirrubina con el ácido sulfanílico diazoado o diazorreactivo con formación de una sustancia cromógena. Va a depender de la rapidez de reacción con el diazorreactivo y el disolvente en el seno del cual tiene lugar dicha reacción. El pigmento que reacciona rápidamente y sin adición de metanol es la fracción directa o conjugada de la bilirrubina; mientras que el que reacciona más tarde y con adición del alcohol es la bilirrubina total. La lectura de la reacción se hace en fotolorímetro (Spectronic-20) a una longitud de onda de Hg 520 nm. El valor de la bilirrubina se presenta en mg/100ml.

### 3.-PROTEINOGRAMA

Se realiza mediante electroforesis en acetato de celulosa. Se basa en la migración de las moléculas producida por la acción de un campo eléctrico en una solución tampón a pH generalmente de 8.6, GRASS, 1983 (120).

Cuando la corriente eléctrica atraviesa el medio los diversos componentes proteicos migran según su tamaño molecular y su carga eléctrica inherente y las proteínas lo hacen desde el cátodo hacia el ánodo.

La albúmina es la proteína que migra más rápidamente mientras que las gamma-globulinas lo hacen más lentamente y en menor proporción.

En el soporte de acetato de celulosa se coloca la muestra colocando un papel de filtro como puente de unión entre el soporte y la solución tamponada que en este caso era un "buffer" de Tris-Barbital sódico a pH 8.6.

Se hace pasar la corriente durante 15 min. a 150 voltios y posteriormente se procede a teñir la tira con rojo Ponceau -colorante específico para proteínas-. La intensidad de la coloración es transformada por un densitómetro en un registro gráfico. La medida cuantitativa de las áreas comprendidas por las curvas inscritas sirve como índice de las cantidades relativas de cada componente proteico.

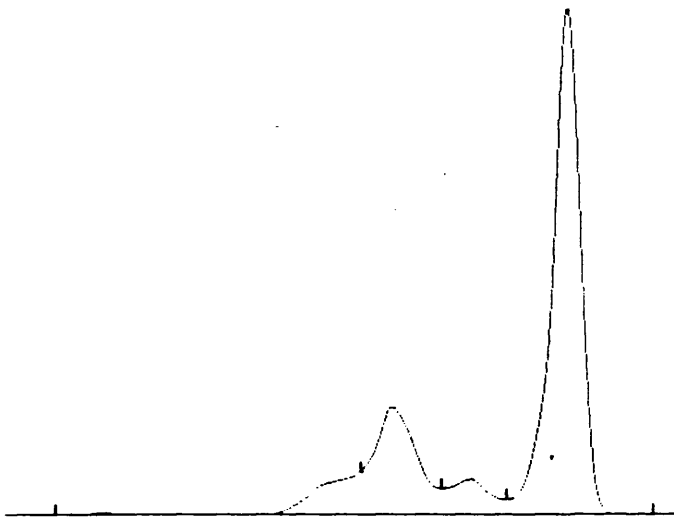
Como peculiaridades con respecto al patrón electroforético en humanos se aprecia que en la rata es relativamente frecuente la aparición de una banda que migra aún más que la albúmina -prealbúmina-; así como la no separación de la banda alfa. En general los valores de gammaglobulina resultan más bajos que en humanos, Fig. 35.

HOSPITAL CLINICO SAN CARLOS-ANALISIS CLINICOS

SA 30 NOV 85 A01  
A007 NUMER.  
2.G.1

P.T:06.6 G%

	G%
ALB	64.1
$\alpha_2$	06.9
$\beta$	21.1
$\gamma$	07.9



sebia FRANCE System 2-réf:134

Fig. 35.: Espectro electroforético de proteínas en rata normal.

#### 4.-METODO DE DETERMINACION DE FIBRONECTINA

La determinación de fibronectina (FN) se realizó mediante una modificación de la técnica de electroinmunoensayo de LAURELL, 1972 (191) y KRSNIK, 1986 (188).

#### ELECTROINMUNOENSAYO

Consiste en una técnica normal de electroforesis, la cual fue descrita por primera vez por LAURELL en 1966, 1972 (191). Consiste en la aplicación de una corriente eléctrica a través de una película de gel que contiene un anticuerpo (Ac) en la que se han practicado pequeños orificios que se han rellenado con suero (antígeno, -Ag.-).

Mediante esta técnica es posible analizar las proteínas comprendidas entre las zonas electroferéticas de las globulinas B a la albúmina.

La proteína a valorar migra por la aplicación de un campo eléctrico moviéndose dentro del gel con Ac y formando complejos Ag-Ac, cuya unión da lugar a precipitados visibles, estrechos a modo de bandas. Esto ocurre cuando se alcanza la relación equivalente entre Ag y Ac.

El exceso de Ag en relación con el Ac en la corriente axial comparado con el Ag en la corriente periférica inhibe la precipitación de los complejos Ag-Ac durante su migración, hasta que todo el antígeno ha ligado las cantidades mínimas necesarias de Ac para su precipitación. El consumo excesivo de Ag en la formación de bandas da lugar a la convergencia de las líneas de precipitación en un pico. Su altura es proporcional a la cantidad de Ag aplicado, Fig. 36.

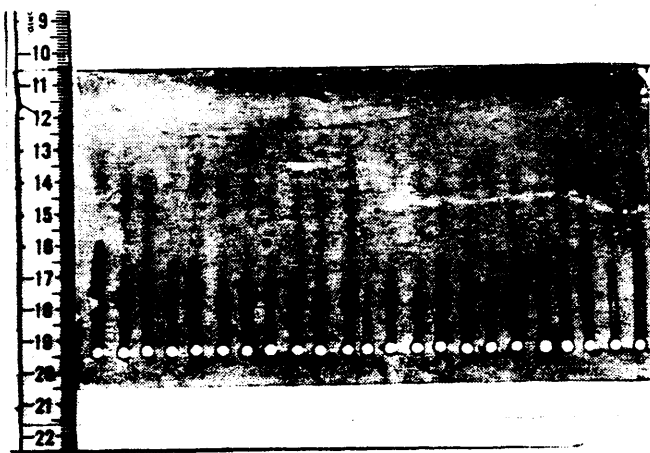


Fig. 36.: Placa de electroinmunsayo en la que se observan la formación de los picos formados por la precipitación Ag-Ac de fibronectina.

TECNICA DE DETERMINACION DE LA FN

Para la fabricación del gel de agarosa preparamos la solución y posteriormente la llevamos a ebullición con el fin de que se diluya la agarosa. La solución debe quedar transparente. La retiramos y colocamos un termómetro en el matraz ya que el antisuero se añadirá cuando la solución se encuentre entre 50 y 53° C a una concentración del 0.6%.

Una vez añadido el antisuero echamos la solución rápidamente en el molde de las placas de cristal con una pipeta, procurando que no queden burbujas.

Esperamos a que el gel se forme totalmente (15 min. a 4° C aproximadamente).

Posteriormente retiramos uno de los cristales y el marco y procedemos a hacer las perforaciones en el gel que serán de 2.5 mm de diámetro y se colocarán a 1.5 cm del borde y a 1 cm de distancia entre uno y otro agujero.

En cada agujero o pocillo practicado se colocarán 5 microlitros de plasma diluido en buffer. En este trabajo se hicieron las siguientes diluciones:

POOL CONTROL o STANDARD: 1/10, 1/20 y 1/40.

PLASMAS PROBLEMAS: 1/10 y 1/20.

Una vez hecho esto colocamos la placa en la cámara de electroforesis con los pocillos orientados en el extremo catódico.

Llenamos las cubetas con el buffer barbital y colocamos papel de filtro para hacer de puente entre la placa de agarosa y el buffer.

Conectamos el sistema de refrigeración y ponemos en marcha la fuente de energía a 150 voltios, es decir 2.5 voltios/cm y 20 miliamperios durante 8 horas.

El siguiente paso es retirar la placa de la cámara de electroforesis y sumergirla en suero salino varias horas.

Prensamos la placa durante 15 a 20 min. A continuación procedemos a secar la placa hasta que el agar esté completamente transparente y la introducimos en solución colorante durante 1 hora y 45 min. Finalmente se decolora la placa y se procede a la lectura.

#### LECTURA E INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Se compara la altura alcanzada por los picos correspondientes a los plasmas problemas con los picos del plasma control. Se mide primero la altura alcanzada por las tres diluciones del plasma control desde el final del pocillo al del pico. La altura del pico correspondiente a la dilución 1/10 se coloca en el eje de ordenadas coincidiendo con el 100% del eje de abscisas en un sistema log-log. La dilución 1/20 se sitúa en el punto donde coincide dicha altura con el 50% del eje de abscisas y por último la altura correspondiente a la dilución 1/40 se enfrenta al 25%.

Con los 3 puntos obtenidos se traza una recta que servirá de referencia para calcular a qué concentración corresponde la altura alcanzada por los picos del plasma problema.

#### 5.-DETERMINACION DE ATP

Se basa en el fenómeno de la bioluminiscencia-firefly.

Para la puesta a punto de esta técnica primeramente se obtuvieron muestras hepáticas de ratas macho de la cepa Wistar de pesos comprendidos entre 247 y 315 g (M = 294 g). El peso de cada muestra osciló entre 55 mg y 80 mg (M=63mg).

La extracción hepática se realizó anestesiando superficialmente al animal con éter. Las muestras se introdujeron en Nitrógeno líquido para posteriormente ser liofilizadas y hechas el vacío. Conservándose a menos 40° C.

A continuación se corta el tejido con tijeras en pequeñas piezas y posteriormente se procede a la homogenización de estos extractos hepáticos en un medio de ácido perclórico y siempre a temperatura menor de 0° C, introduciendo los materiales de homogenización en nieve carbónica. El homogenizador consiste en un tubo de cristal duro con un émbolo de cristal, existiendo muy poco espacio libre entre el émbolo y el tubo así cuando el émbolo desciende y gira las células son sometidas a unas fuerzas de cizallamiento considerables. Se produce la lesión de la membrana celular y el contenido de la célula sale al medio.

Una vez homogenizado se centrifuga a 2000 rev./min. durante 10 min. Se recoge el sobrenadante y se estabiliza a pH=7.5, utilizando para ello hidróxido potásico.

Se vuelve a centrifugar a 2000 rev./min. durante 5 min. y se recoge el sobrenadante el cual es llevado a pH 7.5 mediante la utilización de hidróxido potásico.

Finalmente se procede a su lectura empleando como reactivo luciferasa -"firefly Lantern Extract"- (FLE-50-SIGMA) y un buffer de Tris-EDTA a pH 7.75; cuantificándose los valores de luminiscencia en un luminómetro 1250 LKB-WALLAC; siendo proporcional a la cantidad de ATP que se encuentra en la muestra.

Para la curva Standard se utilizó ATP -Sal disódica cristalizada- (BOEHRINGER MANNHEIM) a una concentración 0,02 mmolar y cogiendo cantidades de 5, 10, 15, 20 y 25 microl que contienen 100, 200, 300, 400 y 500 picomoles de ATP, Fig. 37.

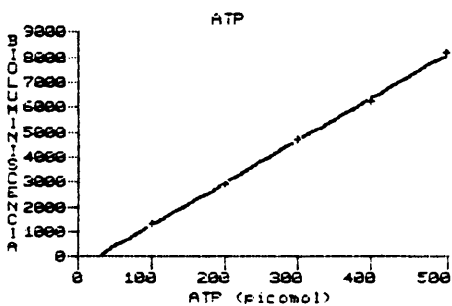


Fig. 37.: Recta de calibración de ATP.  $r=0.9974$   $b=0.0505$

Para la recogida de datos clínicos per y postoperatorios se elaboró una ficha, Fig. 38.

TRASPLANTE ORTOTOPICO DE HIGADO EN LA RATA

Nº ..... SEXO:..... PESO:.....

FECHA:.....

DONANTE

- ANESTESIA:.....
- INCISION CUTANEA:.....
- CANULACION COLEDOCO:.....
- LIGADURA VENA ADRENAL DERECHA:.....
- LIGADURA VENA FRENICA IZQDA:.....
- ESQUELETIZACION HIGADO:.....
- LIBERACION VCI-LIGADURA VENA RD:.....
- LIBERACION VP - LIGADURA AH:.....
- LIGADURA V. ESPLENICA y GD:.....
- PERFUSION HEPARINA:.....
- CLAMPAJE VCI:.....
- CLAMPAJE VP:.....
- PERFUSION PORTAL:.....
- SECCION VCSO:.....
- RETIRADA HIGADO:.....

RECEPTOR

- ANESTESIA:.....
- CANULACION VDP:.....
- INCISION CUTANEA:.....
- CANULACION COLEDOCO:.....
- LIGADURA VAD:.....
- LIGADURA VFI:.....
- LIBERACION VCI:.....
- LIBERACION VP:.....
- LIGADURA AH:.....
- PERFUSION HEPARINA:.....
- CLAMPAJE-SECCION VCI:.....
- CLAMPAJE-SECCION VP:.....
- CLAMPAJE SH:.....
- RETIRADA HIGADO:.....
- SUTURA SH:.....
- ANASTOMOSIS PORTAL:.....
- DESCLAMPAJE SH:.....
- ANASTOMOSIS VCI:.....
- ANASTOMOSIS BILIAR:.....
- PERFUSION:.....
- CIERRE CUTANEO:.....

POSTOPERATORIO INMEDIATO

DESPIERTA:.

OBSERVACIONES:.

EXITUS:           AUTOPSIA

OBSERVACIONES INTERVENCION

DONANTE:.

RECEPTOR:.

Fig. 38.: Ficha de recogida de datos durante la intervención y postoperatorio inmediato.

e.-METODO ESTADISTICO

Se realiza en primer lugar un análisis de la varianza factorial que permite comparar indirectamente varias medias aritméticas obtenidas por medio de la comparación directa de sus dispersiones. En este caso se analiza la influencia de dos factores, tiempo y ligadura, para ver su efecto de interacción: ANOVA DE DOS NIVELES TIPO MIXTO.

Se comienza efectuando un ANOVA preliminar con objeto de comprobar la existencia de componentes añadidos de la varianza entre sus grupos. En casos de que estos no apareciesen no tendría sentido el seguir con el análisis.

Al comprobar importantes componentes añadidos de la varianza que indicaban la existencia de claras diferencias significativas entre las medias de los diferentes grupos, se procedió a la comparación de las mismas tomando los grupos de 2 en 2 mediante el estadístico de contraste de la  $t$  de Student.

Se realiza previamente el test de Bartlett para comprobar la homogeneidad de la varianza de los dos grupos cuyo contraste de medias se iba a verificar, con sus grados de libertad correspondientes.

El test de Bartlett se ha preferido al de Hartley o  $F$  Máxima por su mayor precisión, a pesar del riesgo que conlleva su utilización de obtener valores significativos por asimetría en la distribución poblacional en lugar de por no homogeneidad de varianzas.

En caso de que aplicando el test de Bartlett apareciese homogeneidad de la varianza de las medias, procedemos a realizar la  $t$  de Student.

En caso contrario, es decir, cuando no es homogénea la varianza de las medias, se aplica la  $t$  con  $f$  grados de libertad llevando a cabo la aproximación de Welch.

CORRELACION Y REGRESION LINEAL SIMPLE: Se ha realizado la correlación simple entre todas las variables utilizando el método de los mínimos cuadrados, obteniéndose un valor cuya significación viene dada en función del error que se pretenda ( $p$ ) y los grados de libertad correspondientes igual a  $n-M$ , siendo  $n$  el número de casos y  $M$  el número de variables.

El coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ) se realiza en todos los casos. El contraste de  $r$  se efectuó mediante el estadístico de contraste  $t$  de Student con  $n-2$  grados de libertad y que permite aceptar o rechazar la hipótesis nula  $H_0: r = 0$ ; siendo el coeficiente de correlación lineal de Pearson para la población.

Se lleva a cabo la rectas de regresión con representación gráfica en aquellos coeficientes de correlación que se presentaron como significativos. Siendo la fórmula de la recta  $y=a+bx$ . Siendo  $b$  la pendiente de la recta de regresión o coeficiente de regresión y  $a$  el valor de  $y$  para  $b$  igual 0 o punto en que la recta corta al eje de ordenadas.

Análisis de la varianza para cada regresión anterior, analizando si la recta de regresión encontrada, como expresión de la ley experimental que rige la relación entre dos variables biológicas, tiene una pendiente significativa.

Si el valor supera el del azar - $F$  de Snedecor- podemos concluir que nuestra recta de regresión es significativamente distinta de la horizontal o de la vertical y traduce una verdadera relación entre las dos variables estudiadas.

REGRESION MULTIPLE: Mediante élla se busca la posible relación existente entre 3 ó más variables.

Se asume que una variable es dependiente de dos o más de 2 variables denominadas independientes. Su fórmula es:

$$y_i = a + \sum b_j X_{ji}$$

Siendo  $a$  = valor de  $y$  cuando  $X_{ji}$  sean 0

$b_j$  = coeficientes de regresión parciales.

Un Ordenador personal "Apple II-C" se empleó para almacenar los datos. Como tratamiento de textos y base de datos se utilizó un programa AppleWorks. Los gráficos y la estadística se realizaron en un programa ApplePlot y Daisy, respectivamente.



RESULTADOS

### RESULTADOS

Tras un período de adiestramiento en técnicas microquirúrgicas durante el año 1982 que fundamentalmente consistieron en shunts porto-cava y trasplantes heterotópicos de hígado comenzó el desarrollo del modelo ortotópico de hígado en la rata. Una vez que los animales superaron con vida la fase anhepática se tomaron datos técnicos derivados de la duración de cada tiempo quirúrgico, sexo y peso de los animales, Tabla I.

En un principio, con el fin de controlar la evolución biológica de los supervivientes, se les hizo tomas sanguíneas con la técnica de micromuestra de la vena lateral del rabo hasta su normalización.

Posteriormente se sacrificó a los animales anestesiándoles con éter. Tras practicar una laparotomía transversal amplia, se libera parcialmente el hígado de adherencias y se incide el diafragma provocando un neumotórax. Con una aguja de cabezal metálico conectada a una jeringa de cristal con EDTA se practica una exanguinación total del animal. Con rapidez se toman las muestras hepáticas para determinación de ATP. Algunos animales que evidenciaron patologías intercurrentes en la laparotomía se desecharon sus datos bioquímicos.

Report: DATOS

NUMERO	DATE	INTRODU	SD	SR	PD	PR	TD	FANH	TR	SPVD	SPVH
1	Feb 2 83	M	H	231	225	112	46		121		
2	Feb 3 83	M	M	111	213	110	36		141		
3	Feb 4 83	H	M	132	413	89	41		110		
4	Feb 5 83	H	M	156	314	89	46		121		
5	Feb 6 83	H	M	154	350	87	42		99		
6	Feb 7 83	H	M	111	134	89	46		112		
7	Feb 8 83	M	M	212	341	79	43		98		
8	Feb 9 83	M	M	213	365	79	41		110		
9	Feb 10 83	M	M	154	341	75	36		92		
10	Feb 11 83	M	M	215	367	78	46		123		
11	Feb 11 83	M	M	213	412	89	41		99		
12	Feb 13 83	M	M	245	367	81	41		110		
13	Feb 14 83	M	M	267	312	80	41		123		
14	Feb 15 83	M	M	156	412	87	42		121		
15	Feb 16 83	M	M	241	412	89	42		94		
16	Feb 17 83	M	M	146	235	79	51		98		
17	Feb 18 83	M	M	241	367	110	42		98		
18	Feb 19 83	H	M	267	432	79	42		98		
19	Feb 20 83	H	M	254	423	89	43		94		
20	Feb 21 83	M	M	199	121	98	45		112		
21	Feb 22 83	M	M	239	339	89	42		121		
22	Feb 23 83	H	M	241	423	99	52		134		
23	Feb 24 83	M	M	213	413	98	42		132		
24	Feb 25 83	M	M	243	451	89	39		97		
25	Feb 26 83	M	M	231	423	93	47		111		
26	Feb 27 83	M	M	214	412	89	42		132		
27	Feb 28 83	M	M	243	432	79	46		99		
28	Mar 1 83	M	M	241	312	89	41		121		
29	Mar 2 83	M	M	245	456	87	42		110		
30	Mar 3 83	M	M	246	413	80	42		111		
31	Mar 4 83	H	M	268	326	109	46		107		
32	Mar 5 83	M	M	241	362	97	39		131		
33	Mar 6 83	M	M	241	398	108	48		109		
34	Mar 7 83	M	M	269	373	79	41		99		
35	Mar 8 83	M	M	271	362	79	38		92		
36	Mar 9 83	H	M	231	325	106	46		108		
37	Mar 10 83	M	M	257	425	87	41		113		
38	Mar 11 83	H	M	290	341	92	42		110		
39	Mar 12 83	M	M	295	367	86	40		109		
40	Mar 13 83	M	M	265	426	89	40		107		
41	Mar 14 83	M	M	264	425	89	49		121		
42	Mar 15 83	H	M	290	386	76	39		102		
43	Mar 16 83	H	M	251	347	89	41		103		
44	Mar 17 83	M	M	261	379	82	40		104		
45	Mar 18 83	M	M	314	452	98	42		105		
46	Mar 19 83	M	M	204	402	99	39		109		
47	Mar 20 83	M	M	206	345	87	40		110		
48	Mar 21 83	M	M	241	426	102	42		128		
49	Mar 24 83	M	M	231	346	79	42		105		
50	Mar 25 83	M	M	263	351	79	41		99		
51	Mar 26 83	M	M	268	379	88	39		105		
52	Mar 27 83	M	M	241	338	86	39		104		
53	Mar 28 83	H	M	267	342	87	39		102		
54	Mar 29 83	M	M	265	427	87	42		98		
55	Mar 30 83	M	M	216	328	85	39		103		
56	Apr 2 83	H	M	237	426	101	38		96		
57	Apr 3 83	H	M	253	398	87	39		93		

File: RESULTADOS  
Report: DATOS

Page 1

NUMERO	DATE	INTRODU	SD	SR	PD	PR	TD	FANH	TR	SPVD	SPVH	SPVM
58	Apr	4 83	H	M	241	365	87	38	101			
59	Apr	5 83	M	M	252	353	97	37	105			
60	Apr	6 83	M	M	259	439	79	38	99			
61	Apr	7 83	M	M	297	395	79	39	83			
62	Apr	9 83	M	M	269	352	86	38	103			
63	Apr	10 83	M	M	293	348	74	38	86			
64	Apr	11 83	M	M	290	368	76	39	84			
65	Apr	12 83	M	M	279	372	80	36	103			
66	Apr	13 83	M	M	205	369	89	41	101			
67	Apr	14 83	M	M	263	378	79	39	100			
68	Apr	15 83	M	M	199	294	87	39	102			
69	Apr	16 83	H	M	268	387	76	29	89			
70	Apr	17 83	M	M	279	327	89	39	79			
71	Apr	19 83	M	M	214	315	79	38	92			
72	Apr	22 83	H	M	320	350	86	38	103			
73	Apr	24 83	H	M	203	357	89	37	97			
74	Apr	25 83	H	M	209	347	85	38	103			
75	Apr	28 83	H	M	290	341	86	38	98			
76	May	1 83	H	M	221	426	86	38	97			
77	May	3 83	H	M	279	352	79	37	103			
78	May	4 83	H	M	217	362	73	37	87			
79	May	6 83	M	M	328	426	69	37	103			
80	May	8 83	M	M	294	427	87	37	104			
81	May	10 83	H	M	274	389	85	37	104			
82	May	11 83	M	M	285	318	83	36	95			
83	May	13 83	H	M	274	385	75	38	97			
84	May	14 83	M	M	208	358	85	38	101			
85	May	16 83	H	M	273	416	70	38	84			
86	May	18 83	H	M	273	413	96	38	80			
87	May	19 83	M	M	279	417	80	37	96			
88	May	21 83	M	M	273	417	82	39	96			
89	May	23 83	M	M	268	418	79	42	103			
90	Jun	1 83	H	M	214	327	79	37	98			
91	Jun	3 83	H	M	241	352	86	36	95			
92	Jun	4 83	H	M	215	412	72	32	83			
93	Jun	5 83	H	M	231	341	72	34	83			
94	Jun	12 83	H	M	231	342	79	34	82			
95	Jun	13 83	H	M	241	326	75	32	83			
96	Jun	14 83	H	M	231	352	72	34	87			
97	Jun	16 83	H	M	232	345	69	32	83			
98	Jun	17 83	H	M	242	326	73	33	85			
99	Jun	18 83	H	M	241	357	74	32	85			
100	Jun	19 83	H	M	210	342	75	33	83			
101	Jun	21 83	H	M	165	346	58	31	77			
102	Jun	23 83	H	M	157	317	73	30	84			
103	Jun	25 83	H	M	165	327	72	30	83			
104	Jun	27 83	H	M	253	374	75	31	84			
105	Jun	28 83	H	M	198	362	69	32	85			
106	Jun	29 83	H	M	158	299	64	30	75			
107	Jun	30 83	H	M	241	365	73	30	85			
108	Jul	2 83	H	M	263	364	74	30	85			
109	Jul	4 83	H	M	231	412	68	30	85			
110	Jul	6 83	H	M	216	327	79	31	95			
111	Jul	9 83	H	M	231	358	72	32	85			
112	Jul	11 83	M	M	241	410	74	33	84			
113	Sep	3 83	H	M	241	352	69	30	79			
114	Sep	5 83	M	M	241	352	79	32	85			

## Report: DATOS

NUMERO	DATE	INTERC	SD	SR	PD	PR	TD	FANS	TR	SPVD	SPVH	SPVM
115	Sep 7 83	H	M	243	411	78	31	83				
116	Sep 11 83	H	M	210	342	81	31	89				
117	Sep 14 83	H	M	210	347	78	30	85				
118	Sep 17 83	H	M	215	352	82	30	96				
119	Sep 19 83	H	M	314	416	81	30	98				
120	Sep 23 83	H	M	254	387	78	31	83				
121	Sep 24 83	H	M	241	354	88	30	89				
122	Sep 26 83	H	M	214	326	78	31	85				
123	Sep 27 83	H	M	231	365	78	31	89				
124	Nov 8 83	H	M	177	289	69	33	84				
125	Nov 13 83	H	M	214	342	75	30	86				
126	Nov 15 83	H	M	215	365	68	32	79				
127	Nov 17 83	H	M	215	352	64	29	75				
128	Nov 19 83	H	M	241	352	57	28	72				
129	Nov 20 83	H	M	157	354	64	32	79				
130	Nov 21 83	H	M	215	358	69	32	78				
131	Nov 22 83	H	M	217	362	75	33	99				
132	Nov 23 83	H	M	241	365	64	31	79				
133	Nov 26 83	H	M	251	365	72	33	88				
134	Nov 28 83	H	M	216	423	74	32	89				
135	Nov 30 83	H	M	243	412	68	31	83				
136	Dec 2 83	H	M	215	356	68	30	74				
137	Dec 4 83	H	M	215	347	69	31	83				
138	Dec 5 83	H	M	243	413	72	31	84				
139	Dec 6 83	H	M	243	357	69	30	73				
140	Dec 7 83	H	M	242	367	78	31	85				
141	Dec 8 83	H	M	231	358	72	31	95				
142	Dec 10 83	H	M	247	413	72	31	85				
143	Dec 13 83	H	M	231	356	72	30	86				
144	Dec 15 83	H	M	241	410	72	30	84	2		43	
145	Dec 16 83	H	M	215	327	73	28	86			36	
146	Dec 18 83	H	M	247	414	65	29	75				
147	Dec 20 83	H	M	216	327	65	30	79				
148	Dec 23 83	H	M	241	368	64	28	73	3		56	
149	Dec 25 83	H	M	263	368	59	30	73			57	
150	Dec 27 83	H	M	215	342	68	29	75				
151	Jan 3 84	H	M	242	413	69	32	74				
152	Jan 5 84	H	M	252	358	64	31	73	3		46	
153	Jan 7 84	H	M	263	410	64	29	74			36	
154	Jan 10 84	H	M	314	325	72	31	98				
155	Jan 11 84	H	M	215	357	73	32	86				
156	Jan 13 84	H	M	231	425	65	30	89			36	
157	Jan 15 84	H	M	315	347	79	32	96				
158	Jan 17 84	H	M	243	368	75	30	97				
159	Jan 22 84	H	M	314	325	72	33	85				
160	Jan 26 84	H	M	315	352	75	33	87				
161	Feb 2 84	M	M	214	358	73	31	82	1		47	
162	Feb 6 84	M	M	267	413	73	31	84			56	
163	Feb 12 84	M	M	264	352	68	31	75			60	
164	Feb 14 84	H	M	215	364	78	30	85			46	
165	Feb 16 84	H	M	215	346	75	31	86	3		47	
166	Feb 20 84	M	M	231	357	67	30	98				
167	Feb 23 84	M	M	321	413	68	31	86	3		56	
168	Mar 3 84	H	M	243	413	78	31	95				
169	Mar 5 84	H	M	312	358	78	33	96				
170	Mar 7 84	H	M	243	413	68	31	89			56	

File: RESULTADOS

Page 1

Report: DATOS

NUMERO	DATE	INTERC	SD	SR	PD	PR	TD	FANH	TR	SPVD	SPVH	SPVM
171	Mar 9 84	M	M	136	413	68	33	96				46
172	Mar 11 84	H	M	231	367	79	33	85				
173	Mar 16 84	M	M	214	352	64	31	79		4		57
174	Mar 18 84	M	M	213	357	58	32	75				
175	Mar 21 84	M	M	213	365	79	31	86		1		42
176	Mar 23 84	M	M	246	352	79	31	85				46
177	Mar 25 84	M	M	156	342	78	31	85		3		26
178	Apr 3 84	M	M	215	342	68	32	79				
179	Apr 5 84	H	M	147	352	79	31	97		3		47
180	Apr 7 84	H	M	214	412	78	32	93				
181	Apr 12 84	H	M	157	354	79	31	95				
182	Apr 15 84	H	M	135	412	75	32	89		2		43
183	Apr 17 84	H	M	154	265	68	31	95		4		57
184	Apr 19 84	M	M	241	358	68	33	95				
185	Apr 22 84	M	M	234	345	58	27	83				
186	Apr 24 84	M	M	167	324	55	31	87				
187	Apr 26 84	M	M	187	278	55	31	89				
188	Apr 27 84	M	M	234	345	61	31	90				
189	Apr 28 84	M	M	213	321	55	24	78				
190	Apr 30 84	M	M	300	350	54	34	89				
191	May 8 84	M	M	300	350	67	24	85				
192	May 9 84	M	M	167	356	53	31	97				
193	May 11 84	M	M	300	350	56	24	87				
194	May 12 84	M	M	300	350	60	32	98				
195	May 13 84	M	M	300	350	66	28	98		1		39
196	Jul 5 84	M	M	234	345	54	21	87	1		2	
197	Nov 19 84	M	M	300	320	50	23	86			4	
198	Nov 20 84	M	M	300	320	53	21	78				
199	Nov 21 84	M	M	300	350	49	22	83		6		40
200	Nov 22 84	M	M	250	300	67	34	89				
201	Nov 24 84	H	M	300	350	67	24	89				
202	Nov 25 84	M	M	231	356	67		89		9		
203	Nov 27 84	M	M	300	350	48	24	97				
204	Nov 27 84	M	M	300	350	53	21	87	1		2	
205	Nov 28 84	H	M	300	350	72	23	66			1	
206	Nov 29 84	H	M	300	350	47	24	89				
207	Dec 1 84	H	M	234	226	51	22	76		8		
208	Dec 2 84	H	M	157	213	54	22	76				15
209	Dec 3 84	H	M	276	324	67		87		1		56
210	Dec 4 84	H	M	180	233	53	22	78		10		
211	Dec 5 84	H	M	217	235	67	34	89				
212	Dec 6 84	H	M	123	226	68	24	89				
213	Dec 7 84	H	M	202	240	50	21	79	3		1	
214	Dec 9 84	H	M	195	354	71	22	88			1	
215	Dec 10 84	H	M	294	233	45	21	89	2		6	
216	Dec 11 84	H	M	202	232	67	32	87				
217	Dec 15 84	H	M	155	199	33	21	87		2		
218	Dec 16 84	H	M	123	190	67	36	98				
219	Dec 16 84	H	M	246	240	67	26	89				
220	Dec 20 84	H	M	240	278	51	32	98				
221	Dec 21 84	H	M	177	214	54	24	78				
222	Dec 22 84	H	M	182	237	68	23	97				
223	Dec 23 84	H	M	202	225	47	24	78				
224	Dec 26 84	H	M	124	180	67	34	99				
225	Dec 27 84	H	M	212	195	56	24	79				
226	Dec 28 84	H	M	183	345	55	24	78				
227	Dec 29 84	H	M	243	412	67	23	89				
228	Dec 30 84	H	M	207	284	76	25	78				

NUMERO	DATE	INTRODU	SD	SR	PD	PR	TD	FANH	TR	SPVD	SPVH	SPVM
229	Dec 31 84	H	M	192	264	56	22	86				
230	Jan 2 85	H	M	183	260	48	21	76	5	1		
231	Jan 2 85	H	M	213	311	56	20	77				
232	Jan 3 85	H	M	202	238	57	19	69	4	1		
233	Jan 5 85	H	M	225	305	48	26	78				
234	Jan 6 85	H	M	260	399	45	21	69	1	2		
235	Jan 7 85	H	M	240	360	54	18	65	1	3		
236	Jan 8 85	H	M	222	321	43	19	56				
237	Jan 9 85	H	M	265	354	57	20	54	1	1		
238	Jan 11 85	H	M	207	367	46	19	65				
239	Jan 11 85	H	M	207	356	46	19	69	2	3		
240	Jan 12 85	H	M	214	323	54	18	54	1	1		
241	Jan 13 85	H	M	283	319	46	21	57				
242	Jan 15 85	M	M	274	270	42	19	57	1	4		
243	Jan 16 85	M	M	308	308	46	20	71	1	2		
244	Jan 17 85	M	M	280	376	46	18	71				
245	Jan 17 85	H	M	231	412	48	19	67	2	1		
246	Jan 19 85	M	M	241	365	24	20	64	1	3		
247	Jan 20 85	M	M	317	287	46	19	57	1	6		
248	Jan 21 85	M	M	299	351	49	22	82				
249	Jan 23 85	M	M	328	304	47	21	78				
250	Jan 24 85	M	M	285	344	50	27	74				
251	Jan 26 85	M	M	294	317	56	19	77	2	1		
252	Jan 27 85	M	M	279	382	46	19	53	1	3		
253	Jan 29 85	H	M	217	338	47	19	81		2		
254	Jan 30 85	H	M	234	323	46	23	67				
255	Jan 31 85	H	M	264	367	241	20	367	3	2		
256	Feb 3 85	H	M	211	324	46	18	78	1	3		
257	Feb 4 85	H	M	205	321	56	23	79				
258	Feb 6 85	H	M	277	356	52	19	71	3	1		
259	Feb 7 85	H	M	270	340	54	20	68	2	2		
260	Feb 8 85	H	M	226	379	47	19	58	1	1		
261	Feb 10 85	H	M	224	368	61	23	79				
262	Feb 11 85	H	M	254	318	49	19	65				
263	Feb 13 85	H	M	250	328	43	19	81	4	1		
264	Feb 14 85	H	M	246	347	71	24	78		3	31	
265	Feb 16 85	H	M	228	344	51	18	69				
266	Feb 19 85	H	M	236	358	68	24	78		13	15	
267	Feb 21 85	H	M	233	243	46	21	75	1	5	11	
268	Feb 23 85	H	M	261	332	54	21	76	1	6		
269	Feb 23 85	H	M	261	414	56	21	61				
270	Feb 25 85	H	M	231	375	55	20	67	5	1		
271	Feb 27 85	H	M	216	322	41	19	71	1	2	50	
272	Mar 1 85	H	M	221	361	52	21	72				
273	Mar 2 85	H	M	268	341	50	34	75				
274	Mar 3 85	H	M	213	297	50	21	76	1			
275	Mar 4 85	H	M	251	361	52	20	71		4	24	
276	Mar 5 85	H	M	251	284	53	21	72	1	4	10	
277	Mar 7 85	H	M	224	318	56		71				
278	Mar 9 85	H	M	228	358	43	20	65	2	5	30	
279	Mar 10 85	H	M	234	317	54	20	65	3	3	30	
280	Mar 11 85	H	M	228	318	46	19	59	1			
281	Mar 13 85	H	M	229	255	54	23	70				
282	Mar 15 85	H	M	258	291	52	23	71		5	30	
283	Mar 16 85	H	M	207	292	38	20	56	51	3		
284	Mar 18 85	H	M	262	304	43	20	69	4	5	30	
285	Mar 19 85	H	M	266	313	48	19	61	1	1		
286	Mar 21 85	H	M	236	275	52	19	73		5	30	

Report: DATOS

NUMERO	DATE	INTRODU	SD	SR	PD	PR	TD	FANH	TR	SPVD	SPVH	SPVM
287	Mar 22 85	H M	242	270	44	22	68			1		25
288	Mar 24 85	H M	240	296	42	21	77	1	3			50
289	Mar 25 85	H M	230	291	47	20	79	61	1			
290	Mar 26 85	H M	210	330	51	19	64	1	2			
291	Mar 27 85	H M	212	324	49	19	73		8			12
292	Apr 11 85	H M	241	271	55	19	79	24	3			
293	Apr 13 85	H M	194	304	55	22	71	2	5			30
294	Apr 18 85	H M	253	251	51	21	83		1			30
295	Apr 19 85	H M	241	304		20	79		11			31
296	Apr 21 85	H M	206	320	45							30
297	Apr 24 85	H M	264	284	54	20	68	11	1			
298	Apr 28 85	H M	206	285	43	20	69	1	59			
299	Apr 30 85	H M	232	296	39	20	51	11	2			
300	Apr 30 85	H M	261	296	51	22	71					
301	May 2 85	H M	290	331	44	21	75	1	9			45
302	May 3 85	H M	211	294	46		69		1			
303	May 5 85	H M	244	314	39		52		4			10
304	May 8 85	H M	260	278	43	20	67	5	3			40
305	May 9 85	H M	235	292	48	21	74	28	2			30
306	May 11 85	H M	230	311	49	21	79		5			39
307	May 12 85	H M	204	325	50	21	85	53	1			
308	May 13 85	H M	220	552	47	22	77					
309	May 14 85	H M	198	330	41		76		4			
310	May 15 85	H M	228	318	50	21	79	3	6			
311	May 16 85	H M	244	384	43	21	76	2	55			
312	May 17 85	H M	222	360	47	21	81	1				
313	May 18 85	H M	245	391	53	21	72	21				56
314	May 19 85	H M	226	331	47	18	72	87	2			
315	May 21 85	H M	220	302	46	20	72	16	4			8
316	May 24 85	H M	221	378	52	22	72					
317	May 26 85	H M	237	324	51	19	82	22				
318	May 27 85	H M	214	348	47		72		1			40
319	May 28 85	H M	202	398	43	22	74					18
320	May 29 85	H M	189	378	51	19	78		1			59
321	May 30 85	H M	244	347	46	18	58	4	8			47
322	Jun 9 85	H M	210	350	49	18	70	53	2			
323	Jun 11 85	H M	211	406	51	20	61	14	2			
324	Jun 12 85	H M	236	414	46	19	59					
325	Jun 13 85	H M	198	401	45	17	66	1	5			51
326	Jun 14 85	H M	224	367	51	19	69	2	1			
327	Jun 15 85	H M	223	354	67	17	71					
328	Jun 15 85	H M	223	354	46	17	64	64	2			
329	Jun 17 85	H M	204	361	51	18	65	2	51			
330	Jun 18 85	H M	224	352	66	21	68	3	1			
331	Jun 19 85	H M	234	346	50	20	67	7	2			
332	Jun 21 85	H M	164	337	58	19	75	8	2			51
333	Jun 24 85	H M	250	396	49	18	76	3	1			
334	Jun 25 85	H M	240	380	51	19	67	4	2			
335	Jun 26 85	H M	240	415	45	17	65	17	1			
336	Jun 30 85	H M	233	436	52	21	73	1	3			
337	Jul 1 85	H M	230	420	46	20	70					
338	Jul 2 85	H M	256	350	60	20	65	1	3			
339	Jul 3 85	H M	223	376	45	19	62	15	2			
340	Jul 4 85	H M	254	403	48	20	67		4			
341	Jul 6 85	H M	230	354	53	20	69	91	1			40
342	Jul 7 85	H M	258	408	75	20	75	1	2			
343	Jul 8 85	H M	228	368	51	20	75					29
344	Jul 10 85	H M	262	380	48	22	72					

File: RESULTADOS Page 1

Report: DATOS

NUMERO	DATE	INTRODU	SD	SR	PO	PR	TD	FAMH	TR	SPVD	SPVH	SPVM
345	Jul 11 85	H M	251	410	50	19	62	63	12			
346	Jul 12 85	H M	238	418	50	20	68	52	1			
347	Jul 13 85	H M	240	417	48	17	65	1	3	35		
348	Jul 14 85	H M	234	454	49	20	67					
349	Jul 16 85	H M	244	390	47	18	78					
350	Jul 17 85	H M	260	388	56	20	75	4	3	12		
351	Jul 18 85	H M	258	380	68	17	78	27		36		
352	Jul 19 85	H M	250	368	52	18	67	3	2	35		
353	Jul 20 85	H M	196	407	56	20	102		1	52		
354	Jul 22 85	H M	198	418	68		61					
355	Jul 23 85	H M	200	340	55	20	72	67	2	46		
356	Jul 24 85	H M	191	323	54	23	83		1	35		
357	Jul 25 85	H M	197	370	54	20	70	83	2	45		
358	Aug 2 85	H M	231	359	46	18	65	2	3			
359	Aug 4 85	H M	237	413	47	17	59					
360	Aug 6 85	H M	216	349	49	19	61					
361	Aug 7 85	H M	217	357	49	19	58					
362	Aug 8 85	H M	238	359	52	18	62	31				
363	Aug 9 85	H M	241	369	47	19	59					
364	Aug 10 85	H M	217	368	48	18	58	27				
365	Aug 11 85	H M	248	369	52	18	68					
366	Aug 12 85	H M	241	362	42	19	57	7-S				
367	Aug 13 85	H M	216	368	48	18	62	43				
368	Aug 14 85	H M	231	369	47	18	62					
369	Aug 15 85	H M	187	374	48	18	71					
370	Aug 17 85	H M	216	365	48	17	62	21-S				
371	Aug 19 85	H M	216	368	43	18	61	32				
372	Aug 20 85	H M	231	369	49	19	62					
373	Aug 22 85	H M	217	364	43	18	64	14-S				
374	Aug 23 85	H M	217	374	47	19	71					
375	Aug 24 85	H M	217	363	43	18	61	71				
376	Aug 25 85	H M	217	363	47	18	58					
377	Aug 26 85	H M	216	362	48	18	62	2				
378	Aug 27 85	H M	168	416	51	18	58	1	22			
379	Aug 30 85	H M	169	342	52	19	62					
380	Sep 2 85	H M	217	352	47	19	62	3				
381	Sep 4 85	H M	198	369	46	18	61					
382	Sep 7 85	H M	217	410	42	19	65	21-S				
383	Sep 10 85	H M	214	359	36	19	71	3				
384	Sep 11 85	H M	168	359	41	19	62					
385	Sep 13 85	H M	217	379	51	18	68	4				
386	Sep 14 85	H M	159	369	43	18	58					
387	Sep 16 85	H M	217	369	42	18	69	7-S				
388	Sep 17 85	H M	169	359	48	18	59					
389	Sep 19 85	H M	52	69	39	18	58	1	1			
390	Sep 21 85	H M	169	359	39	18	52	3				
391	Sep 22 85	H M	189	357	43	18	68	2	1			
392	Sep 24 85	H M	179	362	43	19	57					
393	Sep 26 85	H M	179	362	45	19	61	2				
394	Sep 27 85	H M	187	362	48	18	63	3				
395	Oct 3 85	H M	169	349	43	18	61					
396	Oct 6 85	H M	168	380	51	15	59	7-S				
397	Oct 8 85	H M	179	352	43	18	59	4				
398	Oct 13 85	H M	217	369	42	19	57					
399	Oct 14 85	H M	218	359	39	19	52	7-S				
400	Oct 16 85	H M	199	379	42	21	56					
401	Oct 18 85	H M	137	380	42	19	53	4				
402	Oct 20 85	H M	179	374	49	18	62					

## Report: DATOS

NUMERO	DATE	INTRODU	SD	SR	PD	PR	TD	FANH	TR	SPVD	SPVM	SPVM
403	Oct 23 85	H M	164	359	43	20	58	4				
404	Oct 25 85	H M	179	380	48	19	72	21-S				
405	Oct 28 85	H M	217	390	43	19	57					
406	Nov 3 85	H M	179	369	32	18	61	23				
407	Nov 4 85	H M	121	389	42	20	56					
408	Nov 5 85	H M	210	411	43	19	61					
409	Nov 6 85	H M	218	379	33	19	56	4				
410	Nov 7 85	H M	210	379	44	19	63	6				
411	Nov 8 85	H M	218	389	39	19	52	7-S				
412	Nov 10 85	H M	169	410	39	19	49	21-S				
413	Nov 12 85	H M	219	399	39	18	52					
414	Nov 15 85	H M	210	399	37	18	49					
415	Nov 17 85	H M	188	373	53	18	64	6				
416	Nov 18 85	H M	218	369	39	18	53	7-S				
417	Nov 19 85	H M	199	389	39	20	49	21-S				
418	Nov 20 85	H M	210	399	39	19	52					
419	Nov 21 85	H M	189	405	43	21	72					
420	Nov 22 85	H M	139	339	44	19	67	14-S				
421	Nov 23 85	H M	121	384	46	19	58					
422	Nov 24 85	H M	209	421	38	19	49	13				
423	Nov 26 85	H M	199	385	37	19	52	21-S				
424	Nov 28 85	H M	185	374	37	20	55	87				
425	Nov 30 85	H M	199	396	36	19	62					
426	Dec 3 85	H M	185	384	37	20	58					
427	Dec 6 85	H M	189	370	39	19	63	21-S				
428	Dec 7 85	H M	189	375	44	19	53	47				
429	Dec 8 85	H M	199	385	39	19	52					
430	Dec 9 85	H M	206	417	37	21	63	7-S				
431	Dec 10 85	H M	195	407	39	17	64	63				
432	Dec 11 85	H M	206	411	36	18	67					
433	Dec 13 85	H M	204	385	37	16	63	6				
434	Dec 15 85	H M	179	369	38	19	53					
435	Dec 16 85	H M	209	406	43	20	73					
436	Dec 17 85	H M	216	379	36	18	49	5				
437	Dec 17 85	H M	165	399	43	19	69	7-S				
438	Dec 18 85	H M	205	369	39	19	52	66				
439	Dec 19 85	H M	206	412	44	19	73					
440	Dec 21 85	H M	207	379	51	19	64	14-S				
441	Dec 23 85	H M	136	396	41	20	57	14-S				
442	Dec 25 85	H M	205	355	39	19	52					
443	Dec 27 85	H M	205	387	43	18	53	33				
444	Dec 29 85	H M	219	388	39	20	49					
445	Dec 30 85	H M	206	401	44	19	62	7-S				
446	Jan 10 86	H M	126	348	46	22	58					
447	Jan 13 86	H M	231	410	46	19	61	14-S				
448	Jan 16 86	H M	217	349	45	18	71	21-S				
449	Jan 23 86	H M	217	362	43	19	68					
450	Jan 26 86	H M	216	369	36	20	61	3				
451	Jan 27 86	H M	218	410	41	19	58	4				
452	Jan 29 86	H M	234	410	41	20	67	14-S				
453	Jan 29 86	H M	235	367	41	18	58	21-S				
454	Feb 3 86	H M	218	342	38	17	57	43				
455	Feb 5 86	H M	216	350	45	19	72					
456	Feb 7 86	H M	218	349	45	19	59	7-S				
457	Feb 9 86	H M	217	369	42	19	58	14-S				
458	Feb 11 86	H M	216	379	42	19	59	14-S				
459	Feb 14 86	H M	217	376	42	23	87					
460	Feb 17 86	H M	189	383	42	18	58	21-S				

Report: DATOS

NUMERO	DATE	INTRODU	SD	SR	PD	PR	TD	FANH	TR	SPVD	SPVH	SPVM
461	Feb 19 86	H M	180	352	38	19	63	37				
462	Feb 22 86	H M	184	362	45	21	72					
463	Feb 24 86	H M	218	362	32	18	48	3				
464	Feb 27 86	H M	218	383	38	18	52	14-S				
465	Mar 2 86	H M	218	360	38	16	49	21-S				
466	Mar 4 86	H M	179	349	34	19	69					
467	Mar 7 86	H M	163	356	31	19	53	14-S				
468	Mar 10 86	H M	137	364	34	20	78					
469	Mar 11 86	H M	168	369	31	18	59	21-S				
470	Mar 13 86	H M	216	374	38	18	59	7-S				
471	Mar 16 85	H M	176	374	37	18	49	2				
472	Mar 19 86	H M	179	363	39	18	52	3				
473	Mar 21 86	H M	219	373	37	18	52	21-S				
474	Mar 24 86	H M	174	384	37	17	48	14-S				
475	Apr 1 86	H M	164	383	39	18	48	14-S				
476	Apr 3 86	H M	199	381	39	17	51	VIVE				
477	Apr 4 86	H M	199	363	39	18	53	VIVE				
478	Apr 6 86	H M	199	352	41	19	73					
479	Apr 8 86	H M	189	368	41	22	82					
480	Apr 10 86	H M	184	371		19						
481	Apr 12 86	H M	185	362	42	17	51	VIVE				
482	Apr 14 86	H M	175	362	39	18	53	VIVE				

TABLA I.- Datos de técnica quirúrgica: Tiempo de duración de la intervención de la donación (TD); de la duración de la fase anhepática (FANH) y de la intervención en el receptor (TR). Se recogen, así mismo, el NUMERO de orden del trasplante; la fecha de realización (DATE INTRODU); sexo del donante (SD) y del receptor (SR); peso del donante (PD) y del receptor (PR) y la supervivencia en días (SPVD), horas (SPVH) y minutos (SPVM). Los animales sacrificados para toma de datos se señalan (-S). TD, FANH y TR representan minutos.

Se han practicado en total 482 trasplantes ortotópicos en el período comprendido entre Febrero de 1983 y Abril de 1986. En los primeros 195 no se obtuvo supervivencia superior a 1 día. En el 2º cuatrimestre de 1984 sobrevivió un animal frente a 6 trasplantes realizados (16%). En el 3º se practicaron 33 trasplantes y sobrevivieron 3 (9%).

Coincidiendo con la mejora de la técnica y el acortamiento de los tiempos quirúrgicos, Tabla I, en el primer cuatrimestre de 1985 sobrevivieron 40 animales de un total de 71 trasplantes (56%). En el 2º cuatrimestre frente a 79 trasplantes sobrevivieron 48 (60%). En el 3º se practicaron 66 intervenciones con una supervivencia de 40 (60%). Durante los 3½ primeros meses de 1986 se obtuvo una supervivencia del 72%, 27 casos de 37 trasplantes, Fig. 39.

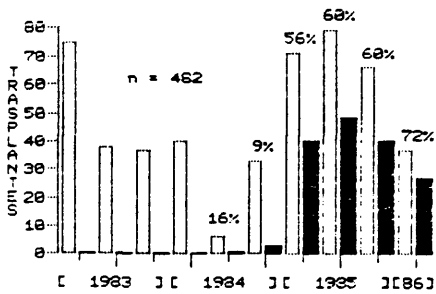


Fig. 39.: Se representan el número de trasplantes y la supervivencia (%) en función de la fecha de realización.

Con el fin de observar el tiempo máximo permisible de fase anhepática con el que se obtiene supervivencia clínica del trasplante se midieron los tiempos de clampaje hiliar hepático y se clasificaron según la fecha de realización del trasplante, Fig. 40.

Durante el primer cuatrimestre de 1983 el tiempo de clampaje fue  $X=40.49 \text{ min} \pm 3.65 \text{ DS}$ . En el 2º  $X=34.31 \pm 3.27 \text{ DS}$ . En el 3º  $X=30.59 \pm 1.30 \text{ DS}$ . En el año 1984, durante el primer cuatrimestre  $X=31.12 \pm 1.69 \text{ DS}$ . En el 2º  $X=26.66 \pm 4.36 \text{ DS}$  y en el 3º  $X=24.96 \pm 4.40 \text{ DS}$ . En el primer cuatrimestre de 1985  $X=20.60 \pm 2.44 \text{ DS}$ . En el 2º  $X=19.35 \pm 1.5 \text{ DS}$  y en el 3º  $X=18.83 \pm 0.89 \text{ DS}$ . Durante los primeros meses de 1986 la media obtenida de fase anhepática fué de  $19.07 \text{ min} \pm 1.93 \text{ DS}$ .

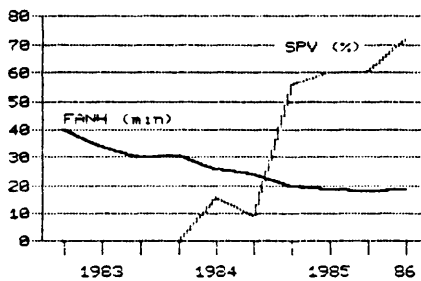


Fig. 40.: Se representa en minutos (min) la fase anhepática y en (%) la supervivencia en función de la fecha de realización del trasplante.

TABLA-II.: DATOS CONTROL

	CTRLER	CTRLGOT	CTRLGPT	CTRLGGT
1	.56	125	49	1.6
2	.6	229	45	1.8
3	.72	139	44	1.6
4	.67	120	45	1.2
5	.73	103	49	1.4
6	.56	135	51	1.1
7	.62	96	52	1.2
8	.78	105	41	1.4
9	.71	90	50	1.2
10	.58	104	39	1.2

	CTRLFA	CTRLFN	CTRLATP	CTRLALB
1	64	749	7.16	3.67
2	48	739	7.17	3.51
3	64	699	6.72	4.06
4	65	717	6.78	4.42
5	59	714	5.59	4.51
6	63	689	5.3	4.14
7	67	742	5.42	4.23
8	53	692	7.7	4.09
9	53	722	4.65	4.01
10	65	687	7.46	3.78

TABLA-III.: AUTOTRASPLANTE SIN LIGADURA DE ARTERIA HEPATICA

	ASLBR7	ASLGOT7	ASLGPT7	ASLGGT7
1	.58	123	71	1.6
2	.65	96	53	1.4
3	.59	100	39	1.3
4	.67	99	51	1.2
5	.62	117	50	1.1
6	.6	100	49	1.6
7	.53	99	44	1.9
8	.62	106	42	1.3
9	.8	103	43	1.2
10	.71	100	42	1.1

	ASLFA7	ASLFN7	ASLATP7	ASLALB7
1	54	747	6.06	3.72
2	59	715	5.52	4.54
3	68	724	7.93	4.05
4	65	743	6.3	4.16
5	77	736	7.46	4.21
6	58	740	7.12	3.67
7	44	720	7.41	4.41
8	53	701	7.97	4.07
9	43	753	7.86	4.01
10	59	724	5.31	3.5

TABLA-IV.: AUTOTRASPLANTE SIN LIGADURA DE ARTERIA HEPATICA (14días)

	ASLBR14	ASLGOT14	ASLGPT14	ASLGGT14
1	.69	129	58	2.2
2	.79	110	42	1.6
3	.75	109	39	1.7
4	.72	88	43	1.3
5	.77	117	49	2.2
6	.62	95	39	1.7
7	.76	128	43	1.6
8	.63	108	51	1.9
9	.61	124	50	1.6
10	.63	98	56	1.5

	ASLFA14	ASLFN14	ASLATP14	ASLALB14
1	47	699	7.12	4.02
2	63	721	7.16	3.53
3	69	745	6.25	4.08
4	56	704	8.37	3.69
5	46	716	5.48	4.5
6	78	739	5.62	3.79
7	54	726	5.02	4.15
8	76	724	3.12	4.05
9	77	737	7.02	4.4
10	65	691	8.2	3.51

TABLA-V.: AUTOTRASPLANTE SIN LIGADURA DE ARTERIA HEPATICA (21días)

	ASLBR21	ASLGOT21	ASLGPT21	ASLGGT21
1	.56	133	53	1.5
2	.63	91	41	2.3
3	.7	133	36	2.4
4	.61	108	36	2.3
5	.61	116	47	1.9
6	.57	104	41	2.7
7	.67	105	41	1.3
8	.66	101	58	2.3
9	.64	98	49	1.3
10	.59	95	58	1.7

	ASLFA21	ASLFN21	ASLATP21	ASLALB21
1	66	735	4.55	3.69
2	61	741	8.75	3.76
3	73	716	4.28	4.16
4	56	709	5.74	4.4
5	59	725	6.29	4.53
6	78	687	6.26	4.2
7	58	721	7.55	4.06
8	49	716	5.62	4.05
9	77	746	5	4.42
10	65	721	4.3	3.52

TABLA-VI.: AUTOTRASPLANTE CON LIGADURA DE ARTERIA HEPATICA (7días)

	ACLB7	ACLGOT7	ACLGPT7	ACLGOT7
1	.76	135	46	1.2
2	.63	119	66	1.1
3	.71	112	42	1.3
4	.67	100	44	1.1
5	.71	91	39	1.1
6	.62	105	48	1.2
7	.65	117	46	1.1
8	.65	136	53	1.2
9	.71	101	55	1.3
10	.67	95	54	1.1

	ACLFA7	ACLFN7	ACLATP7	ACLALB7
1	56	693	5.37	4.27
2	63	745	5.55	3.52
3	60	732	5.21	4.94
4	58	720	5.35	4.6
5	72	722	5.24	3.69
6	68	726	5.34	3.78
7	53	747	5.64	3.81
8	49	731	5.42	3.46
9	41	741	5.88	3.17
10	38	715	5.87	2.6

TABLA-VII.: AUTOTRASPLANTE CON LIGADURA DE ARTERIA HEPATICA (14días)

	ACLB14	ACLGOT14	ACLGPT14	ACLGOT14
1	1.11	136	52	2.1
2	.87	101	70	1.3
3	.73	124	79	1.2
4	.67	93	55	1.8
5	.73	95	61	1.4
6	.89	128	59	1.7
7	.92	137	81	1.3
8	.87	108	75	2.1
9	.93	116	35	1.2
10	1.1	131	76	1.1

	ACLFA14	ACLFN14	ACLATP14	ACLALB14
1	73	722	3.24	3.33
2	68	747	2.15	3.43
3	56	701	5.4	3.44
4	48	746	5.58	3.63
5	41	754	3.83	3.67
6	70	722	4.96	3.67
7	81	726	3.67	3.07
8	83	697	4.29	2.98
9	47	697	5.62	3.62
10	52	790	4.36	3.42

TABLA-VIII.: AUTOTRASPLANTE CON LIGADURA DE ARTERIA HEPATICA (21días)

	ACLB21	ACLGOT21	ACLGPT21	ACLGOT21
1	.74	73	41	2.1
2	.65	123	49	2.4
3	.73	94	55	2.3
4	.68	94	54	2.1
5	.62	82	72	2.7
6	.6	96	51	2.9
7	.54	97	38	1
8	.64	105	53	1.9
9	.63	71	42	2.9
10	.73	121	75	1.1

	ACLFA21	ACLFN21	ACLATP21	ACLALB21
1	57	723	4.14	3.91
2	49	719	4.17	3.51
3	68	746	3.86	3.62
4	47	714	4.08	3.8
5	71	702	3.62	3.54
6	82	723	3.85	3.67
7	54	712	5.22	3.67
8	65	689	3.72	3.65
9	76	737	4.52	3.69
10	43	723	3.35	3.67

TABLA-IX.: TRASPLANTE ORTOTOPICO (7días)

	TOBR7	TOGOT7	TOGPT7	TOGGT7
1	.9	183	66	4
2	1.7	176	67	3
3	2.1	212	81	7.9
4	1.8	208	73	9
5	.72	163	49	3.4
6	2.05	203	81	8.3
7	1.86	215	76	6.3
8	.95	203	69	5.9
9	2	202	76	8.8
10	1.93	221	71	7.8

	TOFA7	TOFN7	TOATP7	TOALB7
1	89	686	4.34	2.56
2	116	703	4.2	3.7
3	126	649	3.62	3.81
4	123	657	3.23	3.5
5	97	706	3.86	3.6
6	127	667	3.38	3.9
7	99	659	3.44	3.67
8	111	649	3.89	3.85
9	132	642	3.53	3.17
10	113	648	3.35	3.92

TABLA-X.: TRASPLANTE ORTOTOPICO (14días)

	TOBR14	TOCOT14	TOGPT14	TOGGT14
1	2.07	282	106	14.9
2	.98	276	86	13
3	2.13	356	113	16.3
4	.98	292	74	9
5	1.89	343	93	12.8
6	2.2	362	114	16
7	2	359	99	10
8	.78	357	86	11
9	1.9	376	106	15.8
10	1.76	343	86	15.9

	TOFA14	TOFN14	TOATP14	TOALB14
1	169	793	3.26	3.6
2	143	816	4.42	3.65
3	183	746	3.86	3.59
4	133	809	4.5	2.99
5	167	793	3.92	3.51
6	179	749	2.7	3.4
7	143	763	4.24	3.61
8	139	759	4.43	3.41
9	186	699	3.68	3.07
10	197	753	4.13	3.19

TABLA-XI.: TRASPLANTE ORTOTOPICO (21días)

	TOBR21	TOGOT21	TOGPT21	TOGGT21
1	1.23	241	58	9.1
2	.89	239	58	4
3	1.25	219	63	6
4	.95	198	48	3
5	1.27	232	61	7.9
6	.6	206	36	3
7	1.6	223	66	7.3
8	.76	204	48	4
9	1.3	217	59	8.2
10	1.22	213	49	9.3

	TOFA21	TOFN21	TOATP21	TOALB21
1	103	704	3.74	3.64
2	76	716	5.21	3.92
3	97	724	4.18	3.6
4	87	688	3.8	3.81
5	122	723	3.37	3.51
6	101	701	4.05	3.69
7	108	711	3.84	3.68
8	97	686	4.12	3.65
9	112	726	3.62	3.52
10	137	701	4.57	3.66

Tablas II a XI.: Se recogen los datos bioquímicos del grupo control (CTRL) de la bilirrubina (BR), GOT, GPT, gamma-GTP (GGT), fosfatasas alcalinas (FA), fibronectina (FN), ATP y albúmina (ALB). En tablas sucesivas se presentan los grupos a estudio: Autotrasplante sin ligadura de arteria hepática (ASL); autotrasplante con ligadura de arteria hepática (ACL) y trasplante ortotópico (TO). Cada grupo se subdivide en función del tiempo de la determinación en 7, 14 y 21 días.

Una vez realizado el análisis de la varianza factorial se procedió a la comparación de medias por el estadístico de contraste t de Student habiendo llevado a cabo previamente la realización del test de Bartlett para comprobar la homogeneidad de la varianza de los grupos cuyas medias se iban a verificar. Se aplica la aproximación de Welch en aquellos grupos que así lo requirieron.

## ANALISIS DE LA VARIANZA DE DOS NIVELES TIPO MIXTO

TABLA XII. BILIRRUBINA  
ANOVA, TWO-WAY CLASSIFICATION

SS	DF	MS
COLUMN--		
14.8178839	9	1.64643155
ROW--		
.909883957	9	.101098217
ERROR--		
5.4462161	81	.0672372358
TOTAL--		
21.173984	99	

ROW F-RATIO: 1.50360461  
COLUMN F-RATIO: 24.4869012

-a

TABLA XIII. GOT

ANOVA, TWO-WAY CLASSIFICATION

SS	DF	MS
COLUMN--		
534534.29	9	59392.6989
ROW--		
3406.49	9	378.498889
ERROR--		
28090.6101	81	346.797656
TOTAL--		
566031.39	99	

ROW F-RATIO: 1.09141133  
COLUMN F-RATIO: 171.260382

-a

-a

TABLA XIV. GPT

ANOVA, TWO-WAY CLASSIFICATION

SS	DF	MS
COLUMN-- 22744.9966	9	2527.22185
ROW-- 497.187969	9	55.2431076
ERROR-- 8385.6524	81	103.526573
TOTAL-- 31627.837	99	

ROW F-RATIO: .533612831  
COLUMN F-RATIO: 24.411335

-1

TABLA XV. GAMMA-GTP

ANOVA, TWO-WAY CLASSIFICATION

SS	DF	MS
COLUMN-- 1403.072	9	155.896889
ROW-- 18.7579999	9	2.08422221
ERROR-- 162.6	81	2.00740741
TOTAL-- 1584.43	99	

ROW F-RATIO: 1.03826568  
COLUMN F-RATIO: 77.6608119

-1

TABLA XVI. FOSFATAS ALCALINAS

## ANOVA, TWO-WAY CLASSIFICATION

SS	DF	MS
COLUMN--		
114017.988	9	12668.6653
ROW--		
2717.68813	9	301.965347
ERROR--		
14603.633	81	180.291765
TOTAL--		
131339.309	99	
ROW F-RATIO: 1.67487043		
COLUMN F-RATIO: 70.267576		

-4

TABLA XVII. FIBRONECTINA

## ANOVA, TWO-WAY CLASSIFICATION

SS	DF	MS
COLUMN--		
55873	9	6208.11111
ROW--		
6766.2	9	751.8
ERROR--		
36422.8	81	449.664198
TOTAL--		
99062	99	
ROW F-RATIO: 1.6719143		
COLUMN F-RATIO: 13.806105		

-4

## TABLA XVIII. ATP

## ANOVA, TWO-WAY CLASSIFICATION

SS	DF	MS
COLUMN--		
133.459581	9	14.8288424
ROW--		
3.47082092	9	.385646769
ERRCR--		
78.7244459	81	.971906739
TOTAL--		
215.654848	99	
ROW F-RATIO: .396794007		
COLUMN F-RATIO: 15.2574746		

-4

## TABLA XIX. ALBUMINA

## ANOVA, TWO-WAY CLASSIFICATION

SS	DF	MS
COLUMN--		
5.94267578	9	.660297309
ROW--		
1.85619507	9	.206243897
ERRCR--		
9.1402237	81	.112842268
TOTAL--		
16.9390945	99	
ROW F-RATIO: 1.82771847		
COLUMN F-RATIO: 5.8515069		

-4

Tablas XII a XIX.: Datos de análisis de la varianza en cada variable. Grados de libertad (DF); suma de cuadrados (SS); cuadrados medios (MS) y F de Snedecor (F).

Las tres determinaciones de bilirrubina practicadas en el grupo trasplante ortotópico fueron estadísticamente significativas ( $p < 0.001$ ) respecto al grupo control ( $0.653 \pm 0.07$ ). A los 7 días del trasplante ( $1.60 \pm 0.52$ ); a los 14 ( $1.67 \pm 0.53$ ) y a los 21 días desciende ( $1.10 \pm 0.29$ ), Fig. 41.

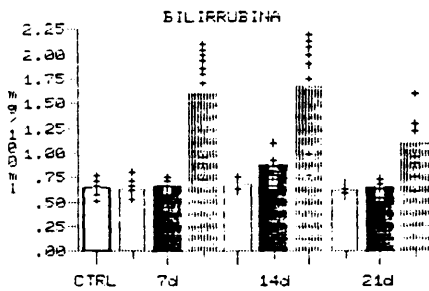


Fig. 41.: Se representa la bilirrubina en mg/100ml del grupo control (CTRL) y sucesivamente a los 7, 14 y 21 días de los grupos autotrasplante sin ligadura, con ligadura y trasplante ortotópico.

En el grupo autotrasplante sin ligadura de arteria hepática no aparecieron alteraciones significativas de GOT. En el de con ligadura aparecieron elevaciones significativas ( $p < 0.05$ ) a los 14 ( $116.9 \pm 16.74$ ) y 21 ( $95.8 \pm 17.17$ ) días respecto a control.

A los 7, 14 y 21 días el grupo de trasplante presentó elevaciones significativas ( $p < 0.001$ ) de las cifras de GOT respecto al grupo control y al grupo autotrasplante con ligadura en los mismos periodos de tiempo, Fig. 42. La GOT presentó cifras de  $198.6 \pm 18.59$  a los 7 días del trasplante. A los 14 días de  $334.6 \pm 36.78$  y a los 21 desciende significativamente a  $219.2 \pm 14.69$ .

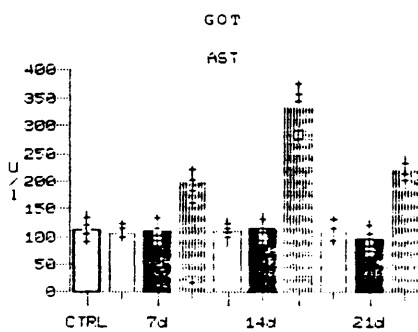


Fig. 42.: Determinaciones de GOT, en U/l a los 7, 14 y 21 días del postoperatorio sucesivamente en el autotrasplante sin ligadura, con ligadura y trasplante ortotópico. Grupo control,  $113.6 \pm 16.49$ .

En el trasplante ortotópico se observan elevaciones significativas de GPT ( $p < 0.001$ ) a los 7 y 14 días del postoperatorio respecto al grupo control,  $70.9 \pm 9.36$  y  $96.3 \pm 13.39$ . A los 21 días aparece un descenso significativo ( $p < 0.001$ ) respecto a los 14 días y un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) respecto a control, Fig. 43.

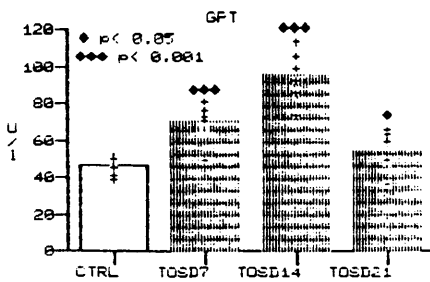


Fig. 43.: Determinaciones de GPT, en U/l a los 7, 14 y 21 días del postrasplante ortotópico y grupo control (46.62±4.37)

El grupo autotrasplante sin ligadura de arteria hepática no presentó alteraciones significativas frente al grupo control.

El autotrasplante con ligadura evidenció elevación significativa ( $p < 0.01$ ) a los 14 días ( $64.6 \pm 14.33$ ) respecto a grupo control y 7 días del postoperatorio ( $49.3 \pm 7.87$ ), Fig. 44.

Con respecto al grupo autotrasplante el trasplante ortotópico presenta elevaciones significativas ( $p < 0.001$ ) a los 7 y 14 días, desapareciendo a los 21 días del postoperatorio.

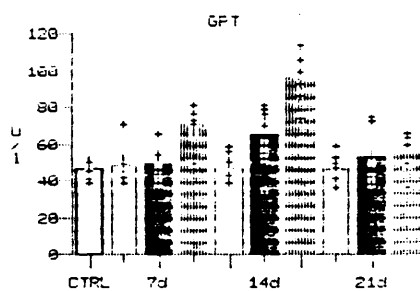


Fig. 44.: Representación global de las determinaciones de GPT del grupo control y a los 7, 14 y 21 días del postoperatorio, sucesivamente del autotrasplante sin ligadura, con ligadura y trasplante ortotópico.

La gamma-GTP se elevó significativamente ( $p < 0.001$ ) respecto a control a los 7 días ( $6.44 \pm 2.28$ ), 14 días ( $13.47 \pm 2.71$ ) y 21 días ( $6.24 \pm 2.53$ ) del postrasplante ortotópico. Cuando se comparan en los mismos períodos de tiempo los valores con el grupo autotrasplante con ligadura de arteria hepática, 7 días ( $1.25 \pm 0.24$ ), 14 días ( $1.51 \pm 0.36$ ) y 21 días ( $2.11 \pm 0.66$ ) aparecen diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.001$ ).

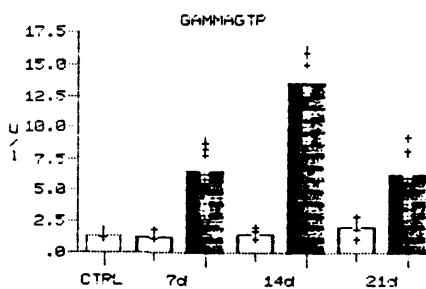


Fig. 45.: Determinaciones de gamma-GTP, U/l, del grupo control ( $1.37 \pm 0.23$ ) y comparativamente a los 7, 14 y 21 días del postoperatorio del grupo autotrasplante con ligadura de arteria hepática con el trasplante ortotópico.

El autotrasplante sin ligadura se elevó significativamente ( $p < 0.01$ ) a los 14 ( $1.73 \pm 0.29$ ) y 21 ( $1.97 \pm 0.49$ ) días de postoperatorio respecto control, Fig. 46.

El grupo autotrasplante con ligadura se elevó significativamente ( $p < 0.01$ ) únicamente a los 21 días, respecto a control.

Cuando se comparan los grupos trasplante ortotópico y autotrasplante sin ligadura aparecen diferencias significativas en los mismos períodos de tiempo ( $p < 0.001$ ).

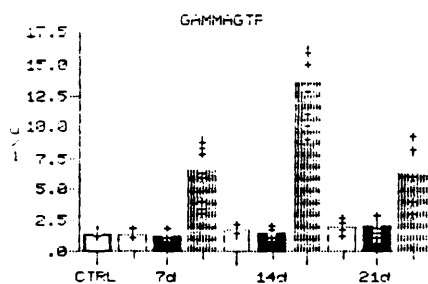


Fig. 46.: Determinaciones globales de gamma-GTP del grupo control y sucesivamente a los 7, 14 y 21 días del postoperatorio de los grupos autotrasplante sin ligadura, con ligadura y trasplante ortotópico.

El trasplante ortotópico presentó elevaciones significativas de las cifras de fosfatasa alcalinas ( $p < 0.001$ ) a los 7 (113.3 $\pm$ 14.39), 14 (163.9 $\pm$ 22.75) y 21 (104 $\pm$ 17.23) días respecto al control.

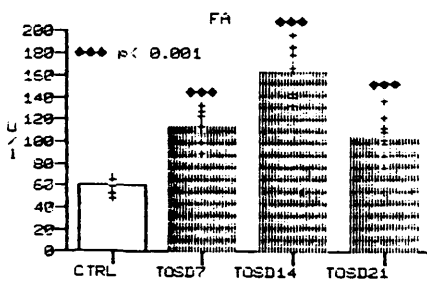


Fig. 47.: Gráfico comparativo de fosfatasa alcalinas (FA) en U/l, del grupo control (60.1 $\pm$ 6.52) respecto el trasplante ortotópico a los 7, 14 y 21 días.

Cuando se comparan los grupos trasplante ortotópico con autotrasplante sin ligadura a los 7 días ( $58 \pm 10.40$ ), 14 días ( $63.1 \pm 12.04$ ) y 21 días ( $64.2 \pm 9.48$ ) del postoperatorio aparecen diferencias significativas ( $p < 0.001$ ), Fig. 48.

La misma significancia se presenta cuando se compara el trasplante con el autotrasplante con ligadura sucesivamente a los 7 días ( $55.8 \pm 10.93$ ), 14 ( $61.9 \pm 14.98$ ) y 21 días ( $61.2 \pm 13.16$ ).

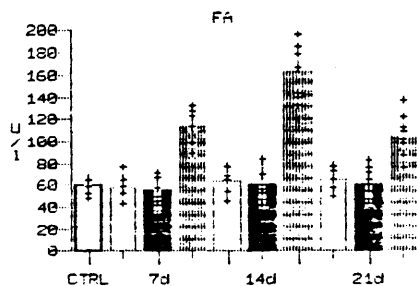


Fig. 48.: Representación global de las cifras de FA de los grupos control y sucesivamente a los 7, 14 y 21 días de autotrasplante sin ligadura, con ligadura y trasplante ortotópico.

La fibronectina evidenció en el trasplante ortotópico un descenso significativo ( $p < 0.001$ ) respecto al grupo control a los 7 días ( $666.6 \pm 23.50$ ). A los 14 días se elevó significativamente ( $p < 0.001$ ) ( $768 \pm 35.23$ ) y se ajustó a la normalidad a los 21 días del postrasplante ( $708 \pm 14.43$ ), Fig. 49.

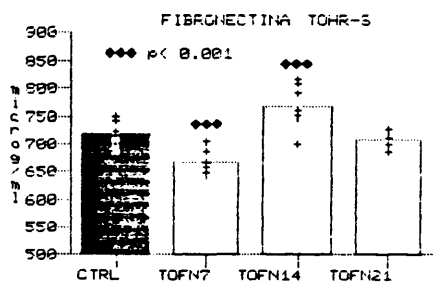


Fig. 49.: Valores de fibronectina, microg/ml, en el control ( $715 \pm 22.99$ ) y a los 7, 14 y 21 días del postrasplante.

A los 7 días del postrasplante ortotópico apareció un descenso significativo ( $p < 0.001$ ) de los niveles de FN frente al autotrasplante sin ligadura ( $730.3 \pm 16.19$ ) y autotrasplante con ligadura ( $727.2 \pm 16.10$ ). Sin embargo a los 14 días comparando los mismos grupos se aprecia una elevación significativa ( $p < 0.01$ ) frente al autotrasplante sin ligadura ( $720.2 \pm 17.89$ ) y con ligadura ( $p < 0.05$ ) ( $730.2 \pm 29.59$ ), Fig 50.

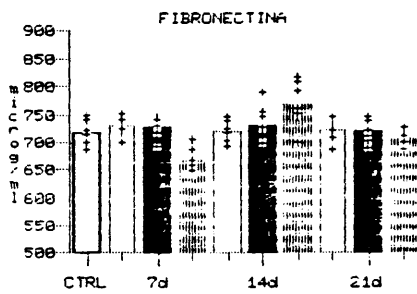


Fig. 50.: Representación global de datos de fibronectina del control y sucesivamente a los 7, 14 y 21 días del autotrasplante sin ligadura, con ligadura y trasplante ortópico.

El ATP evidenció un descenso significativo ( $p < 0.05$ ) en sus valores a los 7 días del postoperatorio del autotrasplante con ligadura ( $5.48 \pm 0.24$ ) y aumentó su significancia ( $p < 0.001$ ) a los 14 días ( $4.31 \pm 1.12$ ) y 21 días ( $4.05 \pm 0.52$ ); respecto al grupo control, Fig. 51.

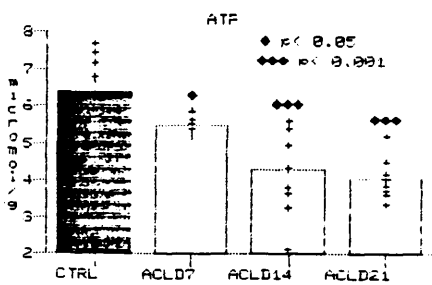


Fig. 51.: Representación de valores de ATP en el control y autotrasplante con ligadura de arteria hepática a los 7, 14 y 21 días del postoperatorio.

El trasplante ortotópico hizo descender significativamente ( $p < 0.001$ ) los valores de ATP a los 7 días ( $3.68 \pm 0.37$ ), 14 días ( $3.91 \pm 0.57$ ) y 21 días ( $4.05 \pm 0.52$ ).

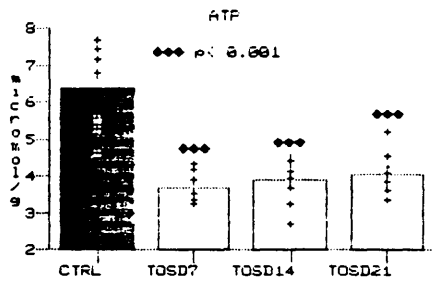


Fig. 52.: Representación de valores de ATP del grupo control y trasplante ortotópico a los 7, 14 y 21 días.

Cuando se comparan los grupos autotrasplante sin ligadura y con ligadura existe un descenso significativo de los valores de ATP en el 2º a los 7 días ( $p < 0.001$ ) y a los 14 y 21 días ( $p < 0.01$ ).

El ATP del trasplante ortotópico aparece descendido significativamente ( $p < 0.001$ ) frente al grupo autotrasplante sin ligadura a los 7 ( $6.89 \pm 1.01$ ), 14 ( $6.33 \pm 1.58$ ) y 21 días ( $5.83 \pm 1.45$ ), Fig. 53.

A los 7 días del postrasplante ortotópico aparece un descenso significativo de los niveles de ATP ( $p < 0.001$ ) con respecto al mismo período del autotrasplante con ligadura de arteria hepática. Desaparece esta significancia a los 14 y 21 días.

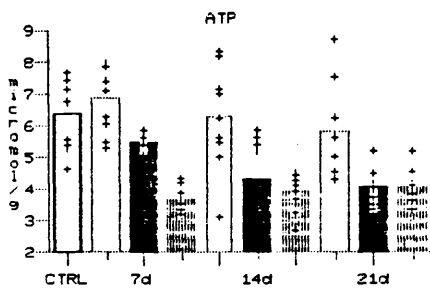


Fig. 53.: Representación gráfica de los valores de ATP del grupo control y sucesivamente a los 7, 14 y 21 días del postoperatorio de los grupos autotrasplante sin ligadura, con ligadura y trasplante ortotópico.

La albúmina evidenció un descenso significativo de sus niveles en el autotrasplante con ligadura, respecto al control, a los 14 días ( $p < 0.001$ ) ( $3.42 \pm 0.24$ ) y a los 21 días ( $p < 0.01$ ) ( $3.67 \pm 0.11$ ), Fig. 54.

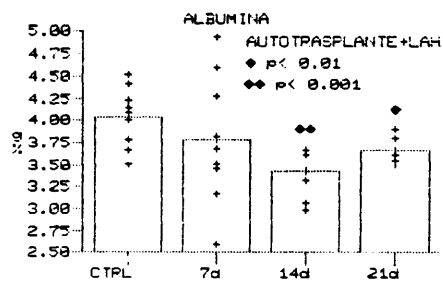


Fig. 54.: Representa valores de albúmina, en g%, del grupo control ( $4.04 \pm 0.31$ ) y autotrasplante con ligadura a los 7, 14 y 21 días.

El Trasplante ortotópico mostró descenso de los valores de albúmina, frente a control, significativo a los 7 ( $p < 0.05$ ) ( $3.56 \pm 0.41$ ), 14 ( $p < 0.001$ ) ( $3.40 \pm 0.23$ ) y 21 días ( $p < 0.001$ ) ( $3.66 \pm 0.12$ ). También se apreció un aumento significativo a los 21 días, respecto a los 14 ( $p < 0.01$ ), Fig. 55.

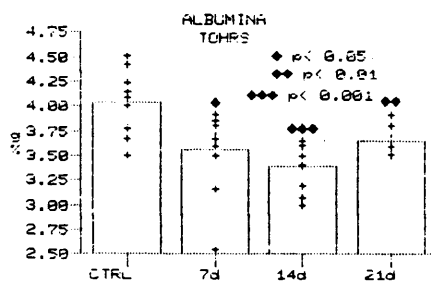


Fig. 55.: Valores de albúmina, g%, en el trasplante ortotópico a los 7, 14 y 21 días y control.

A los 14 y 21 días del autotrasplante con ligadura existió un descenso significativo de los valores de albúmina respecto al grupo sin ligadura,  $p < 0.001$  y  $p < 0.01$ , respectivamente, Fig. 56.

En el trasplante ortotópico apareció una disminución significativa de los valores de albúmina a los 7,  $p < 0.05$ ; 14,  $p < 0.001$  y 21 días,  $p < 0.01$ ; frente a valores en los mismos períodos del grupo de autotrasplante sin ligadura de arteria hepática:  $4.03 \pm 0.32$ ;  $3.97 \pm 0.33$  y  $4.07 \pm 0.33$ , respectivamente.

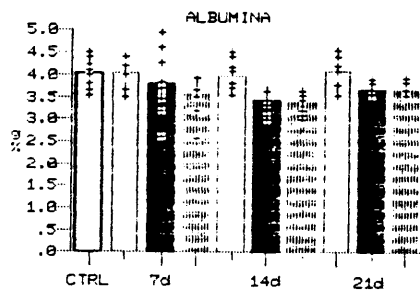


Fig. 56.: Representación de los valores de albúmina del grupo control y a los 7, 14 y 21 días de, sucesivamente, autotrasplante sin ligadura, con ligadura y trasplante ortotópico.

TABLA XX. CONTROL

## CORRELATION COEFFICIENTS

	CTRLBR	CTRLGOT	CTRLGPT	CTRLGGT
1	1	-.325	-.226	.048
2	-.325	1	-.131	.709
3	-.226	-.131	1	-.214
4	.048	.709	-.214	1
5	-.349	-.461	.142	-.447
6	-.274	.246	.525	.405
7	-.031	.341	-.819	.503
8	.507	-.578	.28	-.558

	CTRLFA	CTRLFN	CTRLATP	CTRLALB
1	-.349	-.274	-.031	.507
2	-.461	.246	.341	-.578
3	.142	.525	-.819	.28
4	-.447	.405	.503	-.558
5	1	-.09	-.063	.354
6	-.09	1	-.132	-.258
7	-.063	-.132	1	-.455
8	.354	-.258	-.455	1

-1

El coeficiente de correlación de Pearson  $-r$  se realiza entre todos los parámetros estudiados: Bilirrubina (BR), GOT, GPT, gamma-GTP (GGT), fosfatasas alcalinas (FA), fibronectina (FN), ATP y albúmina (ALB). Todos los valores se correlacionan en cada grupo: Control (CTRL), autotrasplante sin ligadura de arteria hepática (ASL), autotrasplante con ligadura (ACL) y trasplante ortotópico (TO); a los 7, 14 y 21 días.

El contraste de  $r$  se efectuó mediante la  $t$  de Student.

TAULA XXI. AUTOTRASPLANTE SIN LIGADURA DE ARTERIA HEPATICA

CORRELATION COEFFICIENTS		CORRELATION COEFFICIENTS								CORRELATION COEFFICIENTS							
ASLBR7	ASLZOT7	ASLAP7	ASLGG7	ASLBR14	ASLGT14	ASLPT14	ASLCT14	ASLBR21	ASLGT21	ASLPT21	ASLCT21	ASLBR21	ASLGT21	ASLPT21	ASLCT21		
1	1	-.198	-.241	-.689	1	1	.207	-.394	.093	1	1	1	.033	-.299	6E-03		
2	-.198	1	.654	-.035	2	.207	1	.34	.554	2	.033	1	-.197	-.3E-03	1		
3	-.241	.654	1	.282	3	-.394	.34	1	.433	3	-.299	-.197	1	-.38	1		
4	-.689	-.035	.282	1	4	.093	.554	.433	1	4	6E-03	-.3E-03	-.38	1	1		
5	-.156	.193	.043	-.525	5	-.65	-.339	-.274	-.382	5	-.177	.167	-.218	-.1E-03	1		
6	.356	.337	.422	-.085	6	1E-03	.132	-.685	-.042	6	.148	-.074	.282	-.652	1		
7	-.127	.067	-.473	.066	7	-.054	-.274	.127	-.453	7	.109	-.489	-.375	.138	1		
8	-.203	-.255	-.106	.176	8	.047	.652	.108	.555	8	.254	.112	-.448	.133	1		
ASLFR7	ASLFR7	ASLAP7	ASLALB7	ASLFR14	ASLFR14	ASLAP14	ASLALB14	ASLFR21	ASLFR21	ASLAP21	ASLALB21	ASLFR21	ASLFR21	ASLAP21	ASLALB21		
1	1	-.156	.356	-.127	1	-.65	1E-03	.054	.047	1	1	1	-.177	.148	.109		
2	.193	.337	.067	-.255	2	-.339	.132	-.274	.652	2	.167	-.074	-.489	.112	.112		
3	.043	.422	-.473	-.106	3	-.274	-.685	.127	.108	3	-.218	.282	-.375	-.448	-.448		
4	-.525	-.095	.066	.176	4	-.302	-.042	-.453	.555	4	-.1E-03	-.652	.138	.133	.133		
5	1	-.3E-03	-.103	.017	5	1	.582	-.233	-.146	5	1	-.054	-.325	.077	.077		
6	-.3E-03	1	-.044	-.338	6	.582	1	-.484	.407	6	-.054	1	.076	-.19	-.19		
7	-.103	-.044	1	.195	7	-.233	-.484	1	-.471	7	-.325	.076	1	.05	.05		
8	.017	-.338	.195	1	8	-.146	.407	-.471	1	8	.077	-.19	.05	1	1		

-4

-4

-4



--- TABLA XXIII. TRASPLANTE ORTOTOPICO

CORRELATION COEFFICIENTS		CORRELATION COEFFICIENTS								CORRELATION COEFFICIENTS								
		CORRELATION COEFFICIENTS				CORRELATION COEFFICIENTS				CORRELATION COEFFICIENTS				CORRELATION COEFFICIENTS				
TUBR7	TCXXJ77	TCXXJ77	TCXXJ77	TCXXJ77	TCORR14	TCXXPT14	TCXXPT14	TCXXPT14	TCXXPT14	TCORR21	TCXXPT21	TCXXPT21	TCXXPT21	TCXXPT21	TCORR21	TCXXPT21	TCXXPT21	TCXXPT21
1	.685	.831	.719	.719	1	.411	.812	.628	.628	1	.417	.836	.812	1	.417	.836	.812	.812
2	.831	.794	.811	.811	2	.411	.453	.271	.271	2	.417	.643	.5	2	.417	.643	.5	.5
3	.719	.794	.748	.748	3	.832	.453	.69	.69	3	.836	.643	.564	3	.836	.643	.564	.564
4	.719	.811	.748	.748	4	.628	.271	.69	.69	4	.812	.5	.564	4	.812	.5	.564	.564
5	.746	.428	.645	.728	5	.712	.411	.585	.918	5	.409	-.02	.048	5	.409	-.02	.048	.75
6	-.55	-.904	-.723	-.858	6	-.45	-.854	-.562	-.527	6	.54	.59	.679	.447	.54	.59	.679	.447
7	-.666	-.728	-.514	-.859	7	-.741	-.226	-.807	-.671	7	-.35	.124	-.148	-.299	-.35	.124	-.148	-.299
8	-.374	.358	.209	.241	8	.23	-.101	.372	.074	8	-.435	-.014	-.249	-.595	-.435	-.014	-.249	-.595
TUPA7	TCORR7	TCORR7	TCORR7	TCORR7	TCORR14	TCORR14	TCORR14	TCORR14	TCORR14	TCORR21	TCORR21	TCORR21	TCORR21	TCORR21	TCORR21	TCORR21	TCORR21	TCORR21
1	.746	-.55	-.666	.374	1	.712	-.45	-.741	.23	1	.469	.54	-.35	1	.469	.54	-.35	-.435
2	.428	-.904	-.728	.358	2	.431	-.854	-.226	-.161	2	-.02	.59	.124	2	-.02	.59	.124	-.014
3	.645	-.723	-.514	.209	3	.585	-.562	-.807	.372	3	.048	.679	-.148	3	.048	.679	-.148	-.249
4	.728	-.858	-.859	.241	4	.918	-.527	-.671	.074	4	.75	.447	-.299	4	.75	.447	-.299	-.595
5	1	-.516	-.546	.398	5	1	-.619	-.619	-.131	5	1	.169	-.352	5	1	.169	-.352	-.647
6	-.536	1	.655	-.219	6	-.619	1	.345	.31	6	.169	1	-.09	6	.169	1	-.09	-.406
7	-.546	.655	1	-.492	7	-.586	.345	1	-.12	7	-.352	-.09	1	7	-.352	-.09	1	.719
8	.398	-.219	-.492	1	8	-.131	.31	-.12	1	8	-.687	-.406	.719	8	-.687	-.406	.719	1

-4

-4

-4

Tablas XX a XXIII.: Correlación de todas las variables entre si en el grupo control y en los tres grupos experimentales; a los 7, 14 y 21 días.

REGRESION LINEAL SIMPLE EN EL TRASPLANTE ORTOTOPICO DE 7 DIAS

TABLA XXIV. ATP CON BILIRRUBINA

MULTIPLE R = .665776293  
 STD ERR EST = .29699264  
 F = 6.36931477

B	STD ERR (B)	T
TOBR7		
-.471612	.18687	-2.52375

CONSTANT  
 4.43905079

RESIDUALS  
 -4

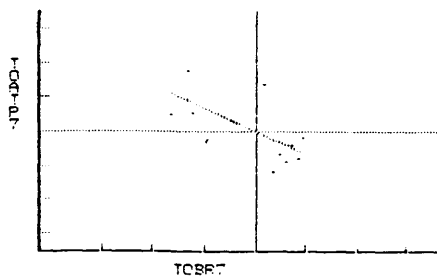


Fig. 57.: ATP CON BILIRRUBINA

TABLA XXV. ATP CON BILIRRUBINA

ANOVA OF CURRENT REGRESSION:

SS	DF	MS
REGRESSION--		
.561803041	1	.561803041
RESIDUALS--		
.705637026	8	.0882046283
TOTAL--		
1.26744007	9	.140826674

F = 6.36931477

TABLA XXVI. ATP CON GAMMA-GTP

MULTIPLE R = .859452924  
 STD ERR EST = .203480232  
 F = 22.6113854

B	STD ERR (B)	T
TOGGT7		
-.14128	.029711	-4.755143

CONSTANT  
 4.5938436

RESIDUALS  
 -4

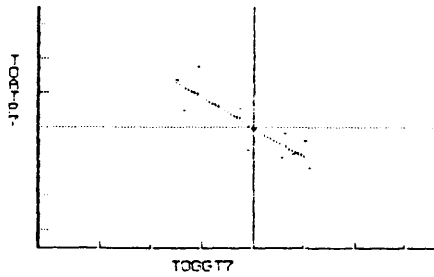


Fig. 58.: ATP CON GAMMA-GTP

TABLA XXVII. ATP CON GAMMA-GTP

ANOVA OF CURRENT REGRESSION:

SS	DF	MS
REGRESSION--		
.936206429	1	.936206429
RESIDUALS--		
.331233638	8	.0414042047
TOTAL--		
1.26744007	9	.140826674

F = 22.6113854

-4

TABLA XXVIII. ATP CON GOT

MULTIPLE R = .728236348  
 STD ERR EST = .272782167  
 F = 9.03317006

B	STD ERR (B)	T
TOGOT7		
-.0147	4.891E-03	-3.005523

CONSTANT  
 6.60349137  
 mmmRESIDUALSmmmmmmUPDATINGmmmmmmUPDATINGmmm  
 -4

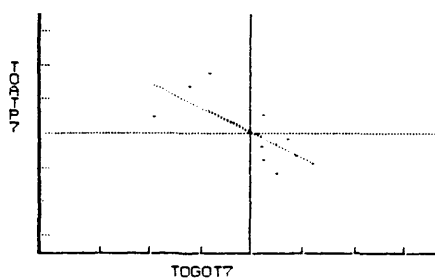


Fig. 59.: ATP CON GOT

TABLA XXIX. ATP CON GOT

ANOVA OF CURRENT REGRESSION:

SS	DF	MS
REGRESSION--		
.672159183	1	.672159183
RESIDUALS--		
.595280885	8	.0744101106
TOTAL--		
1.26744007	9	.140826674

F = 9.03317006

TABLA\_XXX. FIBRONECTINA CON GOT

MULTIPLE R = .903674989  
 STD ERR EST = 10.678035  
 F = 35.6272778

B	STD ERR (B)	T
TOGOT7		
-1.142811	.191462	-5.968858

CONSTANT  
 893.562307  
 \*\*\*RESIDUALS\*\*\*\*\*UPDATING\*\*\*\*\*UPDATING\*\*\*  
 -4

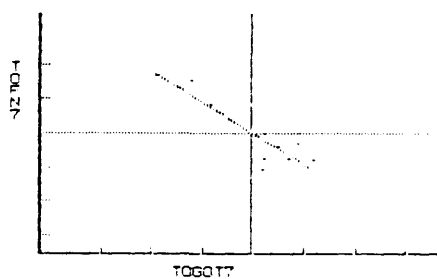


Fig. 60.: FIBRONECTINA CON GOT

TABLA\_XXXI. FIBRONECTINA CON GOT

ANOVA OF CURRENT REGRESSION:

SS	DF	MS
REGRESSION--		
4062.23759	1	4062.23759
RESIDUALS--		
912.163453	8	114.020432
TOTAL--		
4974.40105	9	552.711228

F = 35.6272778

TABLA XXXII. FIBRONECTINA CON GPT

MULTIPLE R = .72279948  
 STD ERR EST = 17.2321629  
 F = 8.75178975

B	STD ERR (B)	T
TOGPT7		
-1.821944	.615867	-2.958342

CONSTANT  
 795.775834  
 \*\*\*RESIDUALS\*\*\*  
 -3

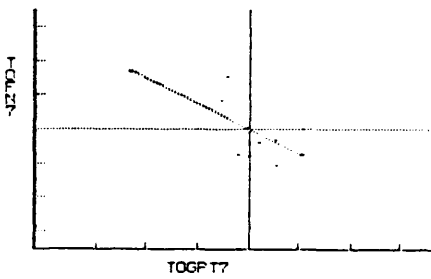


Fig. 61.: FIBRONECTINA CON GPT

TABLA XXXIII. FIBRONECTINA CON GPT

ANOVA OF CURRENT REGRESSION:

SS	DF	MS
REGRESSION--		
2598.82154	1	2598.82154
RESIDUALS--		
2375.5795	8	296.947438
TOTAL--		
4974.40105	9	552.711228

F = 8.75178975

-3

TABLA XXXIV. FIBRONECTINA CON ATP

MULTIPLE R = .655344994  
 STD ERR EST = 18,8348411  
 F = 6,0222322

B	STD ERR (B)	T
TCATP7		
41.055998	16.730089	2.454022

CONSTANT  
 515.349702

RESIDUALS  
 -a

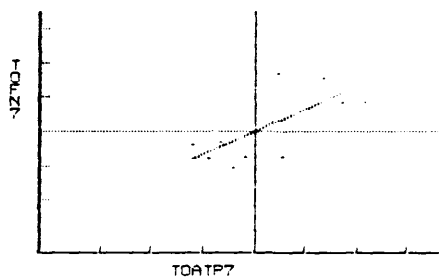


Fig. 62.: FIBRONECTINA CON ATP

TABLA XXXV. FIBRONECTINA CON ATP

ANOVA OF CURRENT REGRESSION:

SS	DF	MS
REGRESSION--		
2136.39114	1	2136.39114
RESIDUALS--		
2838.0099	8	354.751238
TOTAL--		
4974.40105	9	552.711228

F = 6,0222322

-a

## REGRESION LINEAL SIMPLE EN EL TRASPLANTE ORTOTOPICO DE 14 DIAS

TABLA XXXVI. ATP CON BILIRRUBINA

MULTIPLE R = .741086901  
 STD ERR EST = .409631096  
 F = 9.74661451

B	STD ERR (B)	T
TOBR14		
-.790818	.253308	-3.121957

CONSTANT  
 5.23387508

RESIDUALS

-4

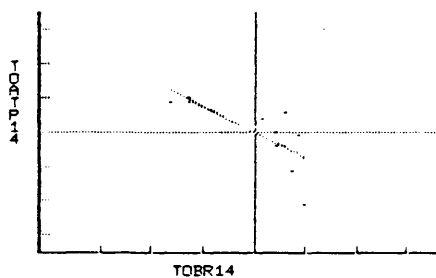


Fig. 63.: ATP CON BILIRRUBINA

TABLA XXXVII. ATP CON BILIRRUBINA

ANOVA OF CURRENT REGRESSION:

SS	DF	MS
REGRESSION--		
1.63545886	1	1.63545886
RESIDUALS--		
1.34238107	8	.167797634
TOTAL--		
2.97783993	9	.330871104

F = 9.74661451

-4

TABLA\_XXXVIII. ATP CON GAMMA-GTP

MULTIPLE R = .670901685  
 STD ERR EST = .452422254  
 F = 6,54833963

B	STD ERR (B)	T
TOGGT14		
-.141884	.055446	-2,558972

CONSTANT

5,82518178

mmRESIDUALSmmmmUPDATINQmmmmUPDATINQmm

-4

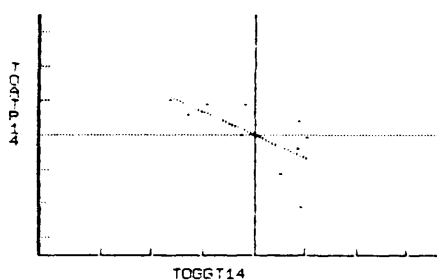


Fig. 64.: ATP CON GAMMA-GTP

TABLA\_XXXIX. ATP CON GAMMA-GTP

ANOVA OF CURRENT REGRESSION:

SS	DF	MS
REGRESSION--		
1,34035276	1	1,34035276
RESIDUALS--		
1,63748717	8	.204685896
TOTAL--		
2,97783993	9	.330871104

F = 6,54833963

-4

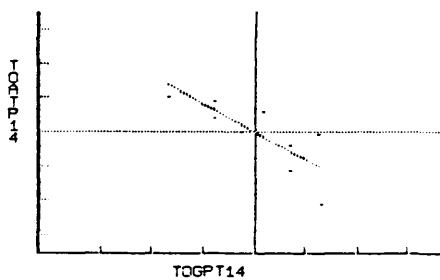


Fig. 65.: ATP CON GPT

TABLA\_XL. ATP CON GPT

MULTIPLE R = .807192905  
 STD ERR EST = .360138411  
 F = 14.9595019

B	STD ERR (B)	T
TOGPT14		
-.034671	8.964E-03	-3.867752

CONSTANT  
 7.25278981

RESIDUALS  
 -2

TABLA\_XLI. ATP CON GPT

ANOVA OF CURRENT REGRESSION:

SS	DF	MS
REGRESSION--		
1.94024253	1	1.94024253
RESIDUALS--		
1.0375974	8	.129699675
TOTAL--		
2.97783993	9	.330871104

F = 14.9595019

TABLA\_XLII. FIBRONECTINA CON GOT

MULTIPLE R = .854125367  
 STD ERR EST = 19.4347924  
 F = 21.5781573

B	STD ERR (B)	T
TOGOT14		
-.81814	.176125	-4.645229

CONSTANT  
 1041.74965  
 RESIDUALS  
 -2

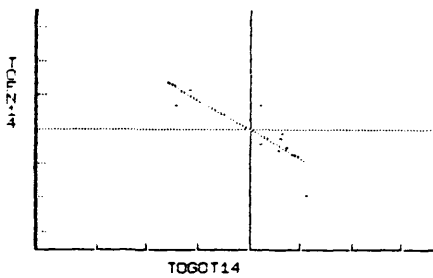


Fig. 66.: FIBRONECTINA CON GOT

TABLA\_XLIII. FIBRONECTINA CON GOT

ANOVA OF CURRENT REGRESSION:

SS	DF	MS
REGRESSION--		
8150.31075	1	8150.31075
RESIDUALS--		
3021.68925	8	377.711156
TOTAL--		
11172	9	1241.33333

F = 21.5781573

REGRESION LINEAL SIMPLE EN EL TRASPLANTE ORTOTOPICO DE 21 DIAS

TABLA XLIV. FIBRONECTINA CON GPT

MULTIPLE R = .678535762  
 STD ERR EST = 11.2487187  
 F = 6.8260931

B	STD ERR (B)	T
TOGPT21		
1.074292	.411184	2.612679

CONSTANT  
 649.343667  
 \*\*\*\*\*RESIDUALS\*\*\*\*\*UPDATING\*\*\*\*\*UPDATING\*\*\*\*\*  
 -4

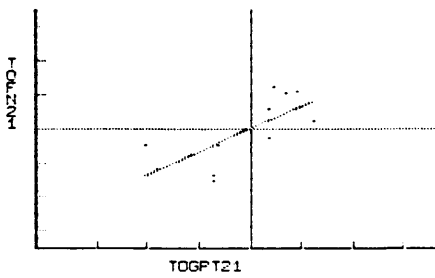


Fig. 67.: FIBRONECTINA CON GPT

TABLA XLV. FIBRONECTINA CON GPT

ANOVA OF CURRENT REGRESSION:

SS	DF	MS
REGRESSION--		
863.730625	1	863.730625
RESIDUALS--		
1012.26938	8	126.533672
TOTAL--		
1876	9	208.444445

F = 6.8260931

Tablas XXIV a XLV.: Recogen la regresión lineal en aquellos coeficientes de correlación que se presentaron como significativos. Siendo la fórmula de la recta  $y=a+bx$ ; "B" representa la pendiente de la recta de regresión o coeficiente de regresión y "CONSTANT" la -a- y representa el valor de -y- para  $B=0$  o punto en el que la recta corta el eje de ordenadas.

Valor de "T" para el coeficiente de regresión.

Se muestra el análisis de la varianza de cada regresión; siendo: Suma de cuadrados (SS); grados de libertad (DF); cuadrados medios (MS); dispersión del azar o residual (RESIDUALS) y F de Snedecor (F).

Figuras 57 a 67.: Representación gráfica de los coeficientes de correlación significativos. Trazado de la recta de regresión lineal obtenida mediante el método de ajuste por mínimos cuadrados.

Cada figura se acompaña de su regresión simple y su respectivo análisis de la varianza.





TABLE L.II. A.D. FRENTE A. COT. FN Y ATP

mmINVERSIOnmm			
B	STD ERR (B)	T	
MULTIPLE R = .04760128			
STD ERR EST = .0813649971			
F = 4.89600281			
TOCPT21	.012401	-1.25132	
TOCPT21	-1.774E-03	2.102E-03	-.843685
TOFA21	.054131	2.619776	
CONSTANT			
	4.4449175		
mmRESIDUALSummmIDIVATTIN SummmIDIVATTIN Summm			
--4			

TABLE L.III. FN FRENTE A BR. COT. Y FA

mmINVERSIOnmm			
B	STD ERR (B)	T	
MULTIPLE R = .561199683			
STD ERR EST = 14.6353626			
F = .919473977			
TOCPT21	20.33698	29.984519	.678249
TOCPT21	1.639265	4.713346	.347792
TOFA21	-.205026	.450727	-.446946
CONSTANT			
	696.500695		
mmRESIDUALSummmIDIVATTIN SummmIDIVATTIN Summm			
--4			

TABLE L.IV. FN FRENTE A COT. GPT. Y ATP

mmINVERSIOnmm			
B	STD ERR (B)	T	
MULTIPLE R = .709170396			
STD ERR EST = 12.4667365			
F = 2.02351868			
TOCPT21	.276065	.385876	.715424
TOCPT21	.775834	.623887	1.243548
TOFA21	-1.44119	8.349832	-.172601
CONSTANT			
	610.962833		
mmRESIDUALSummmIDIVATTIN SummmIDIVATTIN Summm			
--4			

TABLA LV. EN FRENTE A GCTP FA ATP Y ALB

mmmmINVERSIOnmm  
 MULTIPLE R = .681382126  
 STD ERR EST = 14.1775013  
 F = 1.08331542

B	STD ERR (B)	T
TOGCT21	3.460897	2.862951
TOFA21	-.609985	.473176
TOATP21	12.918197	13.533372
TOALB21	-101.265201	75.238507
CONSTANT	1076.30052	

mmmmESTUDIALESmmmmPCOATINmmmmUPDATINmm  
 -4

TABLA LVI. ALB FRENTE A GCTP FA RN Y ATP

mmmmINVERSIOnmm  
 MULTIPLE R = .900939486  
 STD ERR EST = .0718201633  
 F = 5.38805953

B	STD ERR (B)	T
TOGCT21	4.292E-03	.016375
TOFA21	-3.664E-03	2.229E-03
TOATP21	-2.65E-03	1.931E-03
TOALB21	.126151	.048721
CONSTANT	5.38755858	

mmmmESTUDIALESmmmmPCOATINmmmmUPDATINmm  
 -4

Tablas XLVI a LVI.: Regresión múltiple entre la variable tomada como dependiente y dos o más variables independientes. Valor de los coeficientes de regresión parciales (B). Valor de "y" cuando x=0 (CONSTANT) y valor de "t" para los coeficientes de regresión.



D I S C U S S I O N

### DISCUSION

El análisis de los resultados en el alotrasplante hepático es particularmente difícil. La multiplicidad y diversidad de causas de muerte que ocurren después de pocas semanas producen datos heterogéneos.

La habitual escasez de las lesiones hepáticas y también las dificultades para adscribir aquellas lesiones a un proceso de rechazo representa un gran problema, VAIMAN, 1976 (399).

Muchos factores se han considerado como responsables de muerte temprana en el trasplante de hígado. Algunos permanecen desconocidos, sin embargo, uno de los más comunes es el error técnico en las anastomosis vasculares con hemorragia masiva o estenosis. Además la prolongación del tiempo de la anastomosis produce cambios irreversibles en los tejidos hepáticos debidos a la anoxia. El tiempo máximo permisible para la oclusión del aflujo hepático es de 25 minutos, FARKOUH, 1971 (82).

Para solventar estos errores técnicos se propugna el uso de "cuffs", con las siguientes ventajas:

- 1.- Reducción del tiempo requerido para la anastomosis vascular.
- 2.- Prevención de hemorragia, SATOMURA et al, 1967 (312).

HIROOKA y YAMAMOTO, 1965 (148), han comprobado la aplicabilidad de tubos en anastomosis venosas con Tetoron, No. 200. Una de las principales causas de oclusión venosa en anastomosis es la trombosis reciente en la sutura por constricción. Un tubo rígido es lo suficientemente fuerte para mantener la luz venosa contra la presión de los tejidos de alrededor. El método puede también reducir el daño de la íntima.

El punto crítico de este método llega a las 3 semanas después de la anastomosis cuando ocurre la oclusión por pseudovalvas.

La vía biliar en la Rata se resuelve con un sistema de telescopaje de tubos de nylon. Para evitar problemas de necrosis o fístulas se aconseja envolver la anastomosis con el omentum mayor, ZIMMERMANN, 1979 (422).

Cuando se realiza una ligadura permanente de la arteria hepática en nuestra serie no se encontró mortalidad en controversia con lo presentado por otros autores. MAKOWKA, 1980 (226), utilizando ratas Lewis obtiene una mortalidad del 62%. En el mismo trabajo, FISCHER comenta en desacuerdo esta cifra. En nuestra experiencia es importante la disección cuidadosa de la arteria hepática y la ligadura por encima de la salida de la gastroduodenal; ya que si se liga esta última se corre el riesgo de isquemia del tracto gastrointestinal alto y muerte del animal.

#### PRESERVACION HEPATICA

El hígado es un órgano de los que peor toleran la isquemia caliente, por ello, la hipotermia demostró desde un principio su eficacia en la preservación, RAFFUCCI, 1953 (294).

La hipotermia produce una protección tisular contra la anoxia que resulta de la ausencia de flujo sanguíneo hepático en el período comprendido entre la muerte del donante o desde su devascularización, hasta el momento en que es revascularizado en el receptor.

La hipotermia indudablemente ejerce efectos nocivos tanto en el hepatocito, como en las células endoteliales del

hígado, ya que al inactivar la bomba de sodio y potasio, provoca turgencia celular que en grado extremo conduce a la muerte celular si no es corregida o revertida. Por esta razón, si se opta por la perfusión y almacenamiento hipotérmicos del hígado, como método de preservación, se hace preciso prevenir la penetración de agua en las células.

El espacio intracelular conteniendo proteínas en concentraciones elevadas y parcialmente en un estado soluble al estar separado del medio extracelular por una membrana semipermeable es origen de una presión oncótica considerable. Además, el líquido intracelular, contiene aniones no difusibles. Por estas razones, se origina el equilibrio Donnan que es el resultante de una redistribución de iones a uno y otro lado de la membrana celular que favorece la existencia de una mayor osmolaridad intracelular con una redistribución concomitante del agua tisular.

Mediante la expulsión activa del sodio y el ingreso de potasio a través de su membrana, por acción de la bomba de sodio, la célula evita la tendencia que tiene a llenarse de agua. De manera que la bomba de sodio tiene por misiones equilibrar la distribución de solutos y estabilizar el volumen de las células. Cuando la célula sufre hipotermia, la bomba de sodio se inactiva e inmediatamente, se hincha por la entrada de sodio y agua en su interior procedente del espacio extracelular. Así se origina edema celular, al principio reversible, pero finalmente se produce una autólisis enzimática con posterior muerte celular.

La hiperkaliemia puede acontecer tanto en el donante como en el receptor durante la disección del hígado, ya por la manipulación del parénquima hepático o por la estenosis intempestiva de la VP que origina hipoxia del órgano.

Se aprecia una hiperkaliemia debida al lavado del parénquima hepático con salida de productos metabólicos del hígado no perfundido.

Una explicación alternativa es el lavado de la solución de Collins, en el caso de que se use, MARTIN, 1984 (236). Cuando se utiliza, como en nuestro caso, un tipo de solución extracelular -bajo en potasio-, para enfriar el hígado se ve un grado similar de hiperkàliemia. En la perfusión continua se ha observado que el empleo de una solución similar al plasma, con una constitución iónica igual a la concentración electrolítica extracelular resulta ser la más eficaz. La velocidad de enfriamiento y de calentamiento además de la naturaleza del líquido en los espacios vasculares es de gran importancia. La infusión de líquido helado con presión osmótica inadecuada, pH y concentración electrolítica alterada puede agravar el daño, CALNE, 1976 (42).

La cuidadosa disección del hígado donante preservando el flujo portal evita la hiperkaliemia y las alteraciones hemodinámicas que puedan ser causa de isquemia caliente hepática. Además favorece su homogénea perfusión posterior.

Se ha observado, ARIAS, 1985 (4), que la isquemia portal inaceptable del hígado donante durante su disección tiene como consecuencia inmediata su cambio de coloración tornándose violáceas ciertas zonas de superficie y la posterior perfusión portal con Ringer-Lactato a 4° C no consigue ser uniforme aunque simultáneamente se clampe la arteria hepática. La redistribución intrahepática del flujo portal consecutiva a la estenosis de la VP en la disección resulta en detrimento de vascularización de áreas de parénquima y persiste en tanto transcurre la perfusión portal, lo que impide una perfusión uniforme.

La perfusión ha de ser homogénea y continua con un flujo que para la rata se ha considerado como máximo de 3ml/g de hígado, SUGANO, 1978 (381), sin causar lesión parenquimatosa hepática. La revascularización de regiones inadecuadamente perfundidas en el animal receptor pueden comportar alteraciones metabólicas per- y postoperatorias por

cuanto han sufrido isquemia caliente y su preservación ha sido deficitaria.

Cambios en la fina estructura hepática son índices sensibles de lesiones secundarias a la perfusión; siendo a nivel mitocondrial característicos de lesión hipóxica. El contenido de ATP disminuye y el de ADP aumenta justo después de terminar la perfusión.

Si durante la disección del hígado propio del receptor se produce isquemia hepática se debe sospechar la hiperkaliemia que puede originar arritmias cardíacas e hipotensión.

La hiperkaliemia postrevascularización del hígado trasplantado se ha descrito en la clínica humana. Su origen radica en la deplección del potasio intracelular durante el almacén en hipotermia por inhibición de su transporte activo a través de la membrana celular y se intensifica cuando se utiliza para su preservación solución con una composición electrolítica extracelular, MARTIN, 1985 (237).

El K y los productos ácidos derivados del metabolismo celular se acumulan progresivamente en la microcirculación del hígado donante en hipotermia de manera que si este se revasculariza alcanzan la circulación sistémica del receptor y producen acidosis.

Este fenómeno puede verse compensado en parte en la rata, anestesiada superficialmente por inhalación, mediante la retirada del éter y la provocación instantes antes de la revascularización de una hiperventilación y la perfusión de suero glucosado. Esta disposición metabólica y la especial idiosincrasia de la rata a soportar cambios hidroelectrolíticos compensa el no poder técnicamente transfundir al animal por pérdidas hemáticas de la revascularización.

A medida que pasa el tiempo de almacenamiento en frío del hígado hay más lesión parenquimatosa lo cual se traduce en un aumento en la liberación de enzimas. En este aspecto estamos con la mayoría de autores, BRUJIN, 1984 (15), pensando que la alteración de los parámetros de funcionalidad hepática que se encuentran significativamente más elevados en nuestro modelo de trasplante con respecto al simulacro con ligadura de arteria hepática es debido en parte a la perfusión y preservación del injerto.

El enfriamiento brusco del parénquima hepático provoca alteraciones en la microcirculación hepática y en el epitelio biliar con el consiguiente "sludge", McMASTER, 1979 (243) y CALNE, 1983 (25). En nuestra experiencia se aconseja practicar la perfusión del primer cc de líquido por vía portal con la arteria hepática permeable, permitiendo una mezcla en la vascularización y un enfriamiento paulatino.

#### CAMBIOS BIOQUIMICOS DURANTE EL TRASPLANTE

La hiperglucemia que se produce durante la fase anhepática del trasplante ortotópico de hígado causada por perfusión intravenosa de solución glucosada hipertónica se potencia postrevascularización portal si estas no son suspendidas, ARIAS, 1985 (4).

Cuando se realiza un trasplante ortotópico de hígado la tendencia a la hiperglucemia al inicio de la intervención se mantiene durante la fase anhepática y postrevascularización del hígado trasplantado a pesar de que se restringe el aporte de glucosa exógena, CALNE, 1983 (25).

Cuando se utiliza "by pass" porto-sistémico, durante la fase anhepática, SHAW, 1984 (318), al evitar que el 50 ó 60% de la insulina sea degradada a su primer paso a través del

parénquima hepático ocasionaría hiperinsulinemia y secundariamente hipoglucemia.

Sobre la base de este razonamiento, WATERMAN, 1983 (407), aconsejaba aún el procurar un aporte exógeno suficiente de glucosa durante la realización del trasplante ortotópico de hígado.

La intolerancia a la glucosa exógena durante la fase anhepática podría pues representar la instauración de una resistencia periférica a la insulina creada por alguna de las sustancias que se acumulan en el plasma por la inexistencia del metabolismo hepático, ARIAS, 1985 (4).

Que la hiperglucemia sea progresiva postrevascularización portal constituiría, por lo tanto, un signo del deficitario funcionalismo inicial del hígado trasplantado, probablemente secundario a las consecuencias nocivas que sobre su metabolismo ejerce la preservación cuando se utiliza el método de perfusión y almacenamiento hipotérmico.

Posiblemente, la resistencia periférica a la insulina que ocurre durante el trasplante ortotópico de hígado ocasiona un predominio del catabolismo proteico y una deficitaria utilización periférica de aminoácidos que asociados a la falta de función hepática durante el período anhepático de la intervención, incrementa progresivamente los niveles plasmáticos de aminoácidos.

Ya que la intolerancia a la glucosa puede representar un fracaso del metabolismo oxidativo periférico, y, como es un fallo energético secundario a la insuficiencia hepática durante la instauración del "by pass" y postrevascularización del hígado trasplantado. Su reversibilidad dependerá no sólo de la calidad funcional del nuevo hígado, sino también de la duración de la fase anhepática.

La reversibilidad de la resistencia insulínica periférica postrevascularización portal será condición indispensable para que se normalicen las concentraciones plasmáticas de aminoácidos.

#### BILIRRUBINA, TRANSAMINASAS Y FOSFATASAS ALCALINAS

La concentración en plasma de Br representa un equilibrio entre la rapidez de penetración del pigmento en el plasma y el aclaramiento hepático del mismo.

Una de las principales ventajas de la medición de la Br total reside en su especificidad respecto a la disfunción hepática. Así, un aumento en la concentración de Br indica una enfermedad hepatobiliar y en el trasplante además puede indicar rechazo. Sin embargo, no es un indicador sensible y a la vez no puede reflejar exactamente el grado de lesión hepática, SHERLOCK, 1981 (322).

Tanto en las lesiones hepatocelulares agudas como en las crónicas se pueden alterar las distintas secuencias que tienen lugar en el interior de la célula hepática relacionadas con el metabolismo de este pigmento.

Las transaminasas son los marcadores típicos de necrosis celular hepatocitaria pero hay que tener en cuenta que su grado de elevación no se encuentra totalmente en relación con la intensidad de la necrosis. A este respecto un mejor indicador de grado de lesión hepatocelular sería el índice GOT/GPT o índice de Ritis. En la lesión hepática precoz se libera la mayoría de la GPT -que es únicamente citosólica- y el componente citosólico de la GOT, lo que conduce a una disminución del índice de Ritis. La liberación de las enzimas celulares de localización mitocondrial -GOT- es mucho más difícil llevando implícito el concepto de destrucción

de la membrana mitocondrial. Así en la necrosis hepática masiva aparece un aumento en el índice de Ritis.

Estas observaciones apoyan las hipótesis de que la actividad de la enzima en el suero puede reflejar la lesión de las organelas subcelulares sirviendo de "biopsia bioquímica".

En muchas circunstancias los niveles séricos de algunas enzimas como la GPT, son el producto de las células dañadas -aunque muchas de ellas en recuperación-, más que de las células verdaderamente necróticas cuya capacidad de síntesis enzimática ha cesado por completo, PEREZ, 1981 (279).

Finalmente lesiones fugaces, a veces incluso sin sustrato morfológico pueden ocasionar un aumento de enzimas pasajero, de corta duración y a expensas de la GPT.

Se ha encontrado una estrecha correlación entre los tests de función hepática y los datos patológicos en la rata, KAMADA, 1983 (180) y 1984 (181). En injertos singénicos es factible una elevación de bilirrubina y de transaminasas que alcanzan su pico máximo aproximadamente a las 2 semanas tras el trasplante, retornando en todos los casos a valores normales a las 4 semanas, KAMADA, 1983 (180); permaneciendo en estos valores, no volviendo a observarse alteraciones. Estos tests de función hepática podrían indicar una moderada lesión hepatocelular consecuente al trauma quirúrgico y a la fase de infiltración celular. Dado que estas ratas singénicas no van a rechazar el trasplante presentan una proliferación biliar con aumento de los tractos portales con ligera necrosis hepatocitaria.

La elevación de la ~~fosfatasa~~ **fosfatasa alcalina** (FA) es típica de colestasis por el fallo en su aclaramiento y excreción y por su síntesis en las células que tapizan los conductos biliares. Sus valores también se encuentran ligeramente

elevados en la ictericia intrahepática pero no alcanzan valores tan altos como en la de tipo obstructivo.

En el grupo control, Tabla II, de nuestros animales se encontraron cifras de Br, transaminasas y FA similares a las de otros autores, HOUSSIN, 1984 (159).

En el grupo que se practicó liberación completa del parénquima hepático y clampaje de los vasos aferentes y eferentes durante un tiempo similar al trasplante verdadero pero sin ligadura permanente de la arteria hepática, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas de Br, transaminasas y FA a los 7, 14 y 21 días del postoperatorio, Tabla III, IV y V. Esto puede interpretarse como una ausencia de lesión hepática en la isquemia breve y transitoria (25min); fenómeno ya señalado por otros autores, STUART, 1967 (377) y CHOPRA, 1985 (57).

En el grupo de autotrasplante con ligadura de arteria hepática se encontraron alteraciones estadísticamente significativas de Br ( $p < 0.001$ ) a los 14 días del postoperatorio si bien la media no excedió el rango del grupo control, Fig. 41. Fenómeno similar se halló con respecto a GOT ( $p < 0.05$ ), Fig. 42 y GPT ( $p < 0.01$ ), Fig. 44. Mostrándose además una correlación positiva entre la Br y la GOT ( $r = 0.715$   $p < 0.05$ ). Estos datos orientan hacia una lesión hepatocelular secundaria a la disminución en el aporte de flujo sanguíneo hepático con descenso en la entrada de oxígeno y otros nutrientes en las células parenquimatosas hepáticas alterándose el adecuado funcionalismo metabólico hepático.

La normalización de cifras a los 21 días puede atribuirse a una recuperación postisquemia más lenta que en el grupo que no se practica ligadura permanente de la arteria hepática. Esto está de acuerdo con el enorme poder de regeneración del parénquima hepático y una posible adaptación a la nueva situación de aporte vascular.

El aumento de Br que se aprecia en el autotrasplante con ligadura hepática a los 14 días y en el trasplante ortotópico a los 7, 14 y 21 días de una manera aislada podría deberse tanto a necrosis como a colestasis pues producen alteraciones similares en el metabolismo de los pigmentos biliares, Fig. 41. La colestasis puede encontrar una justificación en la obstrucción parcial de la vía biliar intrahepática debida a la devascularización arterial, SCHIFF, 1980 (313). Habla en favor de la necrosis el hecho de no alcanzar cifras muy elevadas y viendo en el modelo de trasplante ortotópico una correlación positiva con los dos tipos de transaminasas.

El aumento de la Br es debido más que a una alteración de la captación de la Br y posterior conjugación (ya que ninguno de los dos pases se ven muy afectados incluso en el caso de necrosis extensa); a una rotura de los canalículos biliares producida por la necrosis de las células hepáticas; a una obstrucción de los conductillos biliares por células inflamatorias con reflujo de bilis y a una alteración de la permeabilidad canalicular.

Cuando se practica un autotrasplante o un trasplante ortotópico en las primeras 48 horas puede presentarse una congestión en las zonas centrales de los lóbulos hepáticos con posterior necrosis, lo que se traduce en un aumento de los parámetros de lesión celular hepática (GOT y GPT), STARZL, 1969 (341) y WILLIAMS, 1983 (412).

Cuando se practica un trasplante ortotópico de hígado en la rata se presentan elevaciones estadísticamente significativas de Br ( $p < 0.001$ ); GOT ( $p < 0.001$ ) y GPT ( $p < 0.001$ ) por encima de las del rango del grupo control a los 7 y 14 días. A los 21 días se aprecia un descenso con tendencia a la normalización de estos parámetros. Estos tests de función hepática podrían indicar una lesión hepatocelular consecuente al trauma quirúrgico y a la fase de infiltración celular ya que estas ratas singénicas no van a rechazar el trasplante, Figs. 41, 42 y 43.

Estos hechos confirmados experimentalmente hacen que el Índice De Ritis (GOT/GPT=2.43 en el grupo de ratas control) adquiera una importancia no sólo diagnóstica sino también pronóstica. Así el hallazgo de un índice 1.80 habitual en el autotrasplante con ligadura de arteria hepática, a los 14 y 21 días, indica un predominio de las lesiones necrobióticas y, por ende, reversibles. Su aumento a 3.47 y 4.01, a los 14 y 21 días del trasplante ortotópico, habla de un predominio de necrosis verdadera con las consiguientes implicaciones pronósticas.

Los fenómenos de curación y regeneración aparecen después de las dos primeras semanas del trasplante y varían según la magnitud de la lesión inicial. La evidencia de regeneración se obtiene generalmente a los 25-50 días; apareciendo nódulos de regeneración asociados con fibrosis hepática y áreas focales de necrosis, STARZL, 1969 (341).

Las FA presentan unas alteraciones similares debido a una proliferación biliar, KAMADA, 1983 (180). El aumento de las cifras de FA se asocia a una alteración de la permeabilidad de la membrana sinusoidal con liberación de esta enzima, por lesión de los canalículos biliares y obstrucción de los conductillos biliares secundaria a la inflamación; además de unos fallos en el aclaramiento y excreción de la FA circulante, STARZL, 1969 (341).

En el modelo de autotrasplante con ligadura de arteria hepática es de destacar que a los 14 días existe una elevación significativa de ambas transaminasas sin embargo la FA no presenta ningún aumento significativo. Ante una lesión inicialmente hepatocelular el grado de aumento de fosfatasa alcalina es muy pequeño y esto se debe a que su localización es predominantemente en las membranas sinusoidales y canaliculares presentándose en escasa cantidad en el citosol.

Se observa en el trasplante un aumento significativo de la FA a los 7, 14 y 21 días ( $p < 0.001$ ), pero coincidiendo con el patrón de la Br, la FA desciende a los 21 días con

respecto a los 14 ( $p < 0.001$ ) en un intento de normalización de la función hepática.

Se presenta una correlación estadísticamente significativa entre Br y FA a los 7 y 14 días del trasplante ( $r = 0.746$   $p < 0.05$ ) y ( $r = 0.712$   $p < 0.05$ ), desapareciendo a los 21 días. Este fenómeno podría tener su explicación en que la FA suele tardar en alcanzar sus niveles normales más tiempo que la Br, SHERLOCK, 1981 (322), Tabla XXIII.

El mantenimiento de una correlación positiva significativa ( $r = 0.830$   $p < 0.01$ ) entre Br y GPT a los 7, 14 y 21 días del trasplante ortotópico, Tabla XXIII, hacen pensar en lesión celular con alteración de la permeabilidad de la membrana y salida de enzimas y en una alteración en la secreción de las sales biliares a nivel del polo biliar del hepatocito.

#### GAMMA-GTP Y PROTEINOGRAMA

Como se desprende de los datos del grupo control, Tabla II, los niveles de gamma-GTP en las ratas son muy bajos, casi indetectables en condiciones basales. Por esto la enzima no ha sido considerada por algunos autores como un efectivo indicador de lesión o disfunción hepática en las ratas, CAISEY, 1980 (18).

En este estudio, sin embargo, como se expondrá posteriormente, se está de acuerdo con otros autores, HAGERSTRAND, 1972 (130) y LEONARD, 1984 (209), en que la gamma-GT se puede utilizar como indicador de alteración en los conductos biliares en las ratas siendo un parámetro más específico que la GPT y la FA en casos de colestasis.

Los mecanismos de aumento de la gamma-glutamiltanspeptidasa en el plasma aún no son bien conocidos pero en caso de colestasis o lesión hepática puede ser interpretada como si el hígado eliminara la enzima a la bilis y por algún mecanismo patológico se aumentase la síntesis de la enzima y se produjera un aflujo importante al torrente circulatorio.

La elevación de la gamma-GTP se asocia a un fallo en las bombas de secreción de bilis con disminución de la secreción hepática de agua y/o aniones orgánicos (Br y ácidos biliares), STARZL, 1969 (341); secundario a la lesión y proliferación de los canalículos biliares.

La elevación significativa de gamma-GTP a los 7 días del postoperatorio en el modelo simulado con ligadura de arteria hepática y en el trasplante ortotópico, Fig. 45, traduciría reacciones de adaptación que cursan con una hipertrofia hiperactiva del retículo endoplásmico. En las fases más tardías, 14 y 21 días del postoperatorio, en las cuales las reacciones de adaptación se transforman en lesión hepatocítica y cuyo sustrato morfológico es la hipertrofia hipoactiva del retículo endoplásmico, el aumento de los niveles de gamma-GT está acompañado de un aumento significativo de otras enzimas como las transaminasas.

Para LEONARD, 1984 (209) la gamma-GTP presenta en ratas un alto grado de especificidad en relación con la necrosis de los conductos biliares. La lesión de las células de los conductos biliares que se presenta tanto en el modelo simulado con ligadura de la arteria hepática como en el trasplante sería una de las fuentes principales del aumento en el suero de la gamma-GTP.

En el trasplante singénico se presenta un cierto grado de proliferación biliar que se relaciona con el aumento de gamma-GTP debido a la producción de este enzima en los conductos biliares.

La correlación claramente positiva que se observa entre gamma-GT y FA a los 7, 14 y 21 días del trasplante ortotópico ( $r=0.728$   $p<0.05$ ); ( $r=0.918$   $p<0.01$ ) y ( $r=0.750$   $p<0.05$ ), Tabla XXIII, nos habla en favor de la relación de esta enzima con la colestasis y lesión de los conductillos biliares.

También se encuentra una correlación positiva entre gamma-GT y GPT a los 7 y 14 días el trasplante ( $r=0.748$   $p<0.05$ ) y ( $r=0.690$   $p<0.05$ ), desapareciendo la misma a los 21 días.

Como ya se ha comentado secundariamente a la perfusión y al trauma quirúrgico se producen zonas de necrosis que pueden conllevar a la lesión de los conductillos biliares y subsecuentemente a un aumento de gamma-GTP. La desaparición de esta correlación a los 21 días se puede atribuir a la participación de esta enzima en la proliferación mesenquimal.

En resumen el mayor grado de elevación de gamma-GTP que se presenta en el grupo trasplante puede ser atribuido a dos causas: La lesión de los conductos biliares secundario al trauma quirúrgico y sobre todo a la perfusión hepática y por otro lado a su asociación con la proliferación de los conductos biliares.

A los 14 días del trasplante la gamma-GTP tiene una correlación múltiple significativa con Br y FA ( $r=0.918$   $p<0.001$ ) traduciendo su evidente asociación con la colestasis intrahepática, Tabla XLVIII.

La **albúmina** se mantuvo sin alteraciones significativas cuando se practicó un simulacro de trasplante sin ligadura de la arteria hepática transmitiendo una normalidad de la función anabólica hepática.

Cuando se realiza una ligadura permanente de la arteria hepática se aprecia un descenso a los 14 ( $p<0.001$ ) y 21 días

( $p < 0.01$ ) de albúmina, Fig. 54. Estos parámetros traducen un deterioro parcial de la función anabólica que si se comparan con el grupo experimental anterior deriva de la ligadura de la arteria hepática y del aumento del volumen plasmático así como de una disminución en la ingesta de proteínas.

Cuando el modelo experimental es el trasplante ortotópico el descenso de albúmina es significativo, respecto a control a los 7 ( $p < 0.05$ ); 14 ( $p < 0.001$ ) y 21 días ( $p < 0.01$ ), Fig. 55. Este descenso es ligeramente superior al presentado en el autotrasplante con ligadura de arteria hepática y debe atribuirse a una disminución de la capacidad hepática de síntesis de albúmina por el trauma quirúrgico.

A los 21 días del postrasplante se ha procurado correlacionar de forma múltiple la albúmina con la gamma-GTP, FN y ATP; parámetros reconocidos con anterioridad como regeneradores. Se encontró una relación estadísticamente significativa ( $r = 0.842$   $p < 0.01$ ), Tabla LII.

Las cifras de albúmina en el trasplante de 21 días representan una situación de regeneración intracelular con sustitución de organelas lesionadas y unión de polisomas al retículo endoplásmico rugoso. Se trata de una respuesta anabólica en los casos en que la hipertrofia del retículo endoplásmico liso da lugar a la producción de nuevas enzimas, que pueden ser utilizadas para procesos metabólicos extracelulares o intracelulares.

#### FIBRONECTINA Y ATP

Otros autores, GABRIELLI 1985 (102) miden la FN por nefelometría demostrando que es una técnica sensible, reproducible y simple pero tiene la desventaja de ser costosa

y de que variaciones en las moléculas pueden dar lugar a falsos resultados.

También se ha medido por inmunoturbidimetría, SABA, 1981 (309) dando resultados similares a los de la inmunolectroforesis siendo un método más rápido pero menos sensible. Está indicado para el proceso de muchas muestras simultáneamente.

Por último han sido utilizados los métodos de ELISA y de RIA con resultados satisfactorios., ERIKSEN, 1984 (77).

El método de inmunolectroforesis ha sido el más utilizado por los autores. Es sensible y específico, poco costoso y accesible a la realización ya que no precisa de un aparataje sofisticado.

Para la determinación de ATP se han utilizado técnicas colorimétricas, enzimáticas, GAJA, 1973 (103) y FARKOUH, 1971 (82) y cromatográficas, PONTEGNE, 1977 (286). Actualmente el método de elección es el de bioluminiscencia ya que tiene la ventaja de ser uno de los métodos más sensibles detectando hasta fentomoles, si bien el rango utilizado ha sido de picomoles y nanomoles.

Es una técnica que nos permite medir los adenín nucleótidos en pocos segundos además de ser muy precisa, SPIELMANN, 1981 (335).

El trauma quirúrgico general únicamente afecta a las concentraciones de FN de los 4 primeros días. Se atribuyen estas alteraciones a un aumento del volumen intravascular y dilución de las proteínas plasmáticas, HOGSTROM, 1985 (150). Para GAUPERAA, 1985 (109) las razones para la rápida disminución postoperatoria de los niveles de FN en el suero son aumento de la degradación proteolítica, con disminución de la síntesis. Sin embargo hay razones para creer que el mecanismo principal sería el secuestro de FN en la zona de lesión del tejido uniéndose al colágeno, fibrina y

proteínas desnaturalizadas; interviniendo en la cicatrización mediante la estimulación del aclaramiento de los restos tisulares por los monocitos y subsecuente reparación del tejido por los fibroblastos, LANSER, 1981 (190) y VELKY, 1984 (401).

A los 7 días del postoperatorio del trasplante se presenta una disminución estadísticamente significativa de los niveles de FN respecto al modelo de autotrasplante con ligadura de arteria hepática ( $p < 0.001$ ), Fig 50. Este fenómeno puede interpretarse como derivado de una lesión celular propio del trauma quirúrgico y la corta vida media y rápido catabolismo de la FN; acompañándose posteriormente de una disminución de su síntesis, PUSSELL, 1985 (293). ERIKSEN, 1984 (77), atribuye este descenso en el trasplante renal a un consumo en el sistema retículo endotelial, depósito de FN en el tejido trasplantado y al tratamiento inmunosupresor. Para GONZALEZ-CALVIN, 1982 (118) se debería a un aumento del consumo de la FN durante la fagocitosis de las partículas de la necrosis hepática. En el modelo de trasplante la correlación múltiple de FN con ATP, GOT y GPT, Tabla LIV ( $r=0.903$   $p < 0.01$ ) hablaría en favor de un predominio de la disminución de su síntesis secundario a necrosis hepatocelular sobre el consumo en el sistema retículo endotelial.

RAGNI, 1984 (295) encuentra una disminución de las cifras de FN en pacientes sometidos a trasplante hepático y recuperación de las cifras tras el prendimiento de éste y coincidiendo con la normalización de las pruebas de coagulación y de función hepática.

A los 14 días del trasplante ortotópico aparece un aumento significativo con respecto a los 7 días ( $p < 0.001$ ) y el control ( $p < 0.001$ ), Fig. 49. Situación similar ha encontrado MATSUDA, 1982 (239) en hepatitis agudas, hígado graso, hepatitis crónica y cirrosis hepática sin descompensar no encontrando una razón fisiopatológica aunque se ha descubierto mediante inmunohistoquímica una inhabitual

distribución extensa de fluorescencia asociada con matrices de tejido conectivo proliferativo en las áreas necróticas. El aumento de concentración en plasma de FN puede atribuirse a un aumento en la cantidad sintetizada por los fibroblastos enriquecidos en el tejido conectivo proliferativo, MATSUDA, 1982 (239) y HAHN, 1980 (132). Esto también confirma la observación de que la síntesis de FN es una función bastante resistente a insultos que no sean hiperagudos, KRŠNIK, 1986 (188).

En los grupos de simulación sin y con ligadura de arteria hepática no aparecieron alteraciones significativas en los valores de FN debido a que estos modelos no producen una suficiente lesión hepática para provocarlas y además su elevado turnover permitiría mantener la cifra actuando como mecanismo compensador.

La disminución de los niveles de FN coincide con una disminución de la efectividad en eliminar las diversas partículas inertes administradas o en su captación en los estudios con fragmentos de tejidos, KAPLAN, 1980 (135); SABA, 1980 (306) y VAN DE WATER, 1981 (400).

La elevación de las cifras de FN se orienta hacia la necesidad orgánica de disponer de una opsonina inespecífica que facilita o promueve la eliminación de partículas inertes por parte del sistema mononuclear fagocítico. Además la FN actúa como quimiotáctico tanto para los monocitos, como para los neutrófilos, poseyendo ambas células receptores para ella en su superficie. Esta situación se complementa a los 14 días del postoperatorio en el trasplante con la situación bioquímica y anatomopatológica ya señalada.

En resumen la elevación de FN que aparece a los 14 días del trasplante representaría un intento de organización y regeneración hepática con eliminación de restos necróticos y aparición de tejido conectivo proliferativo entre las zonas de necrosis hepatocelular.

GAJA en 1973 (103) determinó ATP en hígados de ratas anestesiadas con éter encontrando cifras control de 2.5 micromol/g de hígado fresco. Se corresponden con nuestros valores de 6.39 micromol/g de peso seco, Tabla II.

Cuando se simula el trasplante mediante clampaje de 25 minutos del hilio hepático sin ligadura permanente de la arteria hepática no se aprecian alteraciones significativas de ATP. Estos resultados corroboran los de otros autores MITTNACHT, 1979 (246) y MARUBAYASHI, 1980 (238), Fig. 53. Una isquemia transitoria de 25 minutos si bien produce un descenso de los niveles de ATP ya en los primeros 15 minutos no es lo suficientemente duradera como para provocar lesiones celulares irreversibles recuperándose la célula rápidamente tras el nuevo aporte de oxígeno.

Cuando se liga definitivamente la arteria hepática o se practica trasplante disminuyen significativamente los niveles de ATP respecto al grupo control, Figs. 51 y 52. Esta disminución se atribuye a un descenso en la PO<sub>2</sub> de la sangre que irriga el parénquima hepático. El daño hepático causado por la isquemia se ha atribuido al descenso en el nivel celular de ATP, KAMIKE, 1985 (182) ya que la integridad morfológica y funcional de las células se relaciona estrechamente con su contenido y capacidad de generación de ATP.

La disminución de la síntesis de ATP tiene como explicación, en sus primeras fases, en el trasplante la lesión celular producida por la perfusión y también, y de modo particular, al momento de su revascularización en el cual se van a afectar el sinusoides y el árbol vascular hepático por una alteración en la permeabilidad vascular secundaria a la necrosis de las células del endotelio y del sinusoides y a una vasoconstricción arterio-arteriolar refleja con vasoespasmo persistente después de revascularizar un órgano isquémico, MORA, 1986 (253) y FATH, 1984 (85).

A los 7 días del trasplante ortotópico existe una correlación entre FN y ATP significativa ( $r=0.655$   $p < 0.05$ ), Tabla XXIII. Este fenómeno podría atribuirse a un descenso generalizado de todas las funciones que corresponden a las diferentes estructuras que forman el hígado.

En primer lugar se comprueba que el descenso de ATP que aparecía en el modelo de trasplante a los 7 días se asocia íntimamente a la lesión celular hepática. Para ello se relaciona con marcadores hepatocitolíticos, GOT y GPT, apreciándose una correlación múltiple significativa ( $p < 0.05$   $r=0.735$ ), Tabla LI.

Se intenta hallar ahora la participación de la FN en la citolisis junto con ATP, GOT y GPT. Se aprecia una correlación significativa ( $r=0.903$   $p < 0.01$ ) lo que se interpreta como disminución de su síntesis fundamentalmente asociado con bajo nivel energético celular y necrosis con secuestro proteico, Tabla LIV.

La desaparición de esta correlación a los 14 días se interpreta como el inicio regenerador hepático, con aumento de las cifras de FN, fundamentalmente a expensas del tejido conectivo y síntesis local de FN en el proceso de reparación tisular, ERIKSEN, 1984 (77).

Este fenómeno se aprecia al relacionar de forma múltiple la FN con gamma-GTP, ATP y albúmina ( $r=0.633$ ).

A los 7 y 14 días del postrasplante ortotópico aparece una correlación inversa entre FN y GOT ( $r=-0.904$  y  $r=-0.854$   $p < 0.001$  y  $p < 0.01$ ), Tabla XXIII, interpretando una grave lesión hepatocítica con alteración de la membrana mitocondrial y también podría sugerir que la FN se consume durante el aclaramiento de los restos hepatocitarios. Este tipo de correlaciones también han sido encontradas en el curso de diferentes hepatopatías por varios autores, GONZALEZ-CALVIN, 1982 (113) y GABRIELLI, 1985 (102).

El inicio regenerador hepático hace disminuir la correlación desapareciendo la significancia a los 21 días. Si se observa la menor correlación FN-GPT se postularía una relación directa entre la irreversibilidad del daño del parénquima hepático y el descenso de la producción de FN.

La correlación inversa existente a los 7 y 14 días del postoperatorio entre la gamma-GTP y la FN se interpreta como fruto de la necrosis hepatocítica con lesión de los canalículos biliares. A los 21 días se positiviza la correlación ( $r=0.447$ ) pudiendo traducir el papel común en la proliferación mesenquimal, Tabla XXIII.

La relación predominante de la FN a los 21 días en el trasplante es con la citolisis lo que se comprueba cuando se realiza una regresión múltiple con GOT, GPT y ATP ( $r=0.709$   $p < 0.05$ ), Tabla LIV.

Muy próximo al anterior es el coeficiente que se obtiene cuando se postula la función anabólica de la FN a los 21 días, ( $r=0.681$ ), correlacionándola de forma múltiple con gamma-GTP, FA, ATP y albúmina. Sin embargo este coeficiente es inferior al que se obtiene empleando la albúmina como variable dependiente ( $r=0.842$   $p < 0.01$ ), Tabla LVI.

La correlación múltiple entre FN y los parámetros de colestasis -Br, FA y gammaGTP-, en el trasplante ortotópico a los 21 días, si bien no es significativa su mediano buen coeficiente de correlación ( $r=0.561$ ) estaría de acuerdo con los hallazgos encontrados por STATHAKIS, 1981 (376) que observó un aumento de FN en la cirrosis biliar primaria y en otros síndromes de colestasis.

Un descenso en el nivel celular de ATP de hígado de rata se acompaña de descenso en el flujo biliar, KAMIKE, 1985 (182). En nuestra investigación se ha encontrado una correlación inversa significativa entre el aumento de la Br y el descenso de ATP a los 7 días ( $r=0.666$ ) y 14 días ( $r=0.741$ ) del trasplante ortotópico, Tabla XXIII.

Cuando se postula una relación directa a los 14 días del postrasplante de forma múltiple del ATP con patrones de colestasis, Br y FA se descubre una mayor significancia estadística ( $r=0.745$  p 0.05), Tabla L.

La correlación inversa significativa entre ATP-Br y ATP-gamma-GTP a los 7 y 14 días del postrasplante ( $r=-0.666$  p< 0.05); ( $r=-0.859$  p<0.01); ( $r=-0.741$  p< 0.05) y ( $r=-0.671$  p< 0.05), Tabla XXIII, respectivamente, nos muestra la relación existente entre las sustancias de excreción biliar y el ATP. El aumento de Br y gamma-GTP junto con la disminución del ATP traduce un fallo en las bombas de secreción de bilis.

Los pasos de excreción biliar van a involucrar el consumo de ATP. La captación sinusoidal de las sales biliares necesita de un sistema de cotransporte del ión sodio, lo cual requiere un gradiente iónico sodio-potasio ATP-asa dependiente. Otro paso en la excreción biliar que consume ATP es el transporte de los ácidos biliares a nivel intracelular hasta el polo biliar. Los ácidos biliares posiblemente atraviesan el hepatocito mediante un sistema de transporte vesicular vectorial que está formado por microfilamentos con una función contráctil, KAMIKE, 1985 (182) y ZAKIM, 1982 (419).

En términos generales podemos afirmar que tanto en el modelo de autotrasplante con ligadura de arteria hepática como en el trasplante ortotópico existe una correlación inversa entre la salida de GPT, y la concentración celular de ATP. Esta salida será tanto mayor cuanto más alto sea este gradiente. Esto explica la utilización de los niveles de ATP en el tejido hepático, como índice de extensión de la lesión celular isquémica.

Se ha encontrado una correlación inversa significativa entre los niveles de GOT y el ATP a los 7 días ( $r=-0.728$  p< 0.05) y GPT y ATP a los 14 días ( $r=-0.807$  p<0.01), Tabla XXIII. La paradójica menor correlación tardíamente entre estos parámetros podría atribuirse a disminución de su

síntesis o la hipotética presencia de factores inhibitorios séricos, PEREZ, 1981 (279).

Tanto en el trasplante ortotópico como en el modelo simulado existe una supresión celular de oxígeno en variada intensidad dando lugar a una serie de fenómenos interrelacionados. Por una parte disminución de la síntesis de ATP y otros adenín nucleótidos, por bloqueo de la fosforilación oxidativa y por otra parte la lesión de las diversas membranas celulares, citoplasmática, mitocondrial, lisosomal, etc. La reversibilidad de estos efectos es crucial por cuanto de élla se desprende la correcta función o el fracaso del hígado trasplantado. Esta reversibilidad depende de la reconstrucción estructural y de la capacidad de reanudar la síntesis de ATP y otros adenín nucleótidos.

En el trasplante hay una fase quiescente de al menos 2 ó 3 días en la que hay escasos linfocitos infiltrando el parénquima hepático. Se asocia además una dilatación del espacio de Disse y lesión en los hepatocitos centrozonales, alteraciones que comparte con el autotrasplante.

A partir del tercer día tras el trasplante, aparecen células linfoides con citoplasma pironinofílico, comenzando en las venas tributarias portales, apareciendo el endotelio venoso levantado con acúmulo de fibrina en el espacio subendotelial. Estas células linfoides posteriormente invaden el espacio de Disse provocando una compresión de los hepatocitos.

Asociado a la infiltración celular, las paredes de muchos sinusoides van a desintegrarse y el flujo sanguíneo que llega al hígado comienza a disminuir. Esto conlleva la muerte de los hepatocitos centrolobulares; se produce así una necrosis centrolobular que progresa a una necrosis mediozonal y es en este momento cuando se nos afectan los parámetros de funcionalidad hepática. Una bilis espesa aparece en los canalículos biliares centrolobulares supervivientes y hay una marcada acumulación de esta bilis, STARZL, 1969 (341).

La reducción del flujo sanguíneo que va a provocar la destrucción del injerto es probablemente el resultado de la lesión venosa y sinusoidal secundaria a la infiltración por células linfoides.

A los 14 días del postrasplante ortotópico se aprecia una correlación múltiple significativa entre ATP y GPT y GOT ( $r=0.822$   $p<0.01$ ), Tabla LI; representando un predominio de los fenómenos de citonecrosis sobre los de regeneración.

La correlación inversa que se descubre a los 7 y 14 días del trasplante entre ATP y gamma-GTP ( $r=-0.859$   $p<0.01$  y  $r=-0.671$   $p<0.05$ ) traduce la lesión celular isquémica a nivel del polo biliar y destrucción de canalículos biliares. El intento normalizador de la función hepática se refleja a los 21 días en la aparición de coeficiente positivo entre ATP y albúmina ( $r=0.719$   $p<0.05$ ), Tabla XXIII.

De todos los datos expuestos anteriormente sobre los diferentes modelos de experimentación se desprende que en el grupo de autotrasplante sin ligadura no existe ninguna alteración de la funcionalidad hepática recuperándose de manera perfecta y precoz las células de la isquemia transitoria. En el grupo de autotrasplante con ligadura ya se evidenciaría una lesión celular secundaria a la disminución del flujo sanguíneo y consecuente aporte de oxígeno. Después de esta lesión parece que se instauraría un mecanismo de adaptación celular a esta nueva situación y en parte se podrían ir formando otras vías de flujo sanguíneo.

En el modelo de trasplante ortotópico en la primera y segunda semana la analítica hepática nos refleja una severa necrosis hepatocelular que es secundaria a la realización de la perfusión y preservación hepática del hígado donante y a la posterior revascularización de este hígado en el receptor con lesión isquémica de las células a lo cual se añadiría la adaptación de este injerto al huesped. A partir de la segunda semana del trasplante el cuadro comenzaría a cambiar observándose el inicio de una fase de normalización

de los datos bioquímicos y a la aparición de regeneración hepática entre los focos de necrosis, fenómeno que iría aumentando a partir de la tercera semana.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1.- El tiempo máximo permisible para la oclusión del aflujo hepático durante la fase anhepática para obtener supervivencia es de 25 minutos.
- 2.- El empleo de "cuffs" ha demostrado ser útil en la reducción del tiempo requerido para la anastomosis y la prevención de la hemorragia.
- 3.- El sistema de anastomosis de la vía biliar utilizando el telescopaje de tubos intraluminales ha demostrado ser eficaz y su envoltura con el omentum mayor previene problemas de necrosis o fístulas.
- 4.- La oclusión permanente de la arteria hepática no conlleva en la rata mortalidad ni tan siquiera grandes lesiones hepáticas; adaptándose el animal a la nueva situación, como se demuestra en el modelo de autotrasplante con ligadura de arteria hepática.
- 5.- La técnica de bioluminiscencia ha demostrado ser altamente sensible en la medición de los niveles de ATP detectando cantidades, en esta investigación, de picomoles; presentando rectas de calibrado óptimas.
- 6.- A los 7 y 14 días del postrasplante ortotópico se presentan elevaciones significativas de Br, GOT y GPT. El mantenimiento de una correlación positiva significativa ( $r=0.830$   $p<0.01$ ) entre Br y GPT a los 7, 14 y 21 días hacen pensar en lesión celular con alteración de la permeabilidad de la membrana y salida de enzimas y en una alteración en la secreción de las sales biliares a nivel del polo biliar del hepatocito.

- 7.- En el trasplante ortotópico se presenta una elevación en las cifras de GOT y GPT a los 7 días, reflejando necrosis hepatocelular. El origen de estas alteraciones estarían en los fenómenos que acontecen durante la perfusión, preservación y revascularización del hígado donante; por eso es esencial la buena realización técnica de la donación para la viabilidad del hígado que va a ser trasplantado.
- 8.- A los 14 días del trasplante la gamma-GTP tiene una correlación múltiple significativa con Br y FA ( $r=0.918$   $p<0.001$ ) traduciendo su asociación con la colestasis.
- 9.- La fibronectina presenta a los 7 días del postrasplante una disminución significativa de sus niveles con respecto al grupo control y autotrasplante con ligadura de arteria hepática. Este fenómeno puede interpretarse como derivado de la lesión celular propia del trauma quirúrgico, corta vida media, rápido catabolismo, disminución de su síntesis, depósito en el tejido trasplantado y aumento del consumo durante la fagocitosis de las partículas de la necrosis hepática.
- 10.- La participación de la fibronectina como marcador de citolisis, a los 7 días del postrasplante, junto con ATP, GOT y GPT se sugiere en la correlación significativa ( $r=0.903$   $p<0.01$ ) y se interpreta como disminución de la síntesis asociado con bajo nivel energético celular y necrosis con secuestro proteico.
- 11.- A los 14 días del trasplante ortotópico aparece un aumento significativo de fibronectina, con respecto a los 7 y al control ( $p<0.001$ ) y puede atribuirse a un aumento en la cantidad sintetizada por los fibroblastos enriquecidos en el tejido conectivo proliferativo y a la estabilidad funcional hepatocelular.

- 12.-A los 7 días del trasplante ortotópico existe una correlación entre fibronectina y ATP significativa ( $r=0.655$   $p < 0.05$ ). Este fenómeno puede atribuirse a un descenso generalizado de todas las funciones que corresponden a las diferentes estructuras que forman el hígado.
- 13.-El descenso de ATP que aparece en el modelo de trasplante a los 7 días se asocia a la lesión celular hepática y se relaciona de forma múltiple ( $r=0.735$   $p < 0.05$ ) con marcadores hepatocitolíticos, GOT y GPT.
- 14.-A los 21 días del postrasplante la recuperación anabólica hepática se sugiere ante la normalización de los parámetros de función hepática y al correlacionar de forma múltiple la albúmina con gamma-GTP, FA, ATP y FN ( $r=0.842$   $p < 0.01$ ).

1936

B I B L I O G R A F I A

BIBLIOGRAFIA

- 1.-ABSOLON, K.B.; HAGIHARA, P.F.; GRIFFEN, W.O.Jr. and LILLEHEI, R.C.: "Experimental and clinical heterotopic liver homotransplantation". *Rev. Int. Hepat.*, 1965, 15: 1431-1490.
- 2.-ALDRETE, J.A.; O'HIGGINS, J.W. and HOLMES, J.: "Changes of plasma cholinesterase activity during orthotopic liver transplantation in man". *Transplantation*, 1977, 23: 404-406.
- 3.-ALICAN, F. and HARDY, J.D.: "Reimplantation of the liver in dogs". *J. Surg. Res.*, 1967, 7: 38-43
- 4.-ARIAS, J.; ALLER, M.A.; ESTEBANEZ, E.; JIMENEZ, G.; RODRIGUEZ, J.; VEGAS, B.; DE PEDRO, J.A.; ARIAS, J.I.; DURAN, M.; BRANDAU, D. y DURAN, H.: "Alteraciones bioquímicas peroperatorias en el trasplante ortotópico de hígado en el cerdo". *Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.*, 1985, 68:1-9
- 5.-BARNETT, S.A.: "The rat: a study in behaviour". Chicago. Aldine Publishing Company, 1963.
- 6.-BEAUDOIN, J.G.; SLAPAK, M.; CHANDRASEKARAN, A.K.; TOBEY, A. and McLEAN, L.D.: "Evaluation of heterotopic liver transplantation in dogs". *Surg. Forum*, 1968, 19:219-231.
- 7.-BEAUDOIN, J.G.; SLAPAK, M.; PHILLIPS, M.J.; CHANDRASEKARAN, A.K. and McLEAN, L.D.: "Function of auxiliary liver allografts". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1970, 130:622-234.
- 8.-BENGMARK, S.: "Regeneración del hígado". En: *Tumores del hígado*, PACK, G.T., Científico-médica, Barcelona, 1972:209-236.
- 9.-BENGOECHEA-GONZALEZ, E.; AWANE, Y. and REEMTSMA, K.: "Experimental auxiliary liver homotransplantation". *Arch. Surg.*, 1967, 94:1-7.
- 10.-BESSEY, O.; LOWRY, O.H. and BROCK, M.J.: "Method for determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum". *J. Biol. Chem.*, 1946, 164:321-329.
- 11.-BLUMENSTOCK, F.A.; SABA, T.M.; WEBER, P. and LAFFIN, R.: "Biochemical and immunological characterization of human opsonic alpha-2-SB glycoprotein its identity with cold-insoluble globulin". *J. Biol. Chem.*, 1978, 253:4287-4291.
- 12.-BODANSKY, O.: "Diagnostic applications of enzymes in medicine". *Amer. J. Med.*, 1959, 27:861-872.

- 13.-BRANDAU, D.; RODRIGUEZ, J.; DE LA CAMPA, L.; RUIZ, A.; DELGADO, M.A.; ARIAS, J.I.; ARIAS, J.; y DURAN, H.: "Intubación endotraqueal dirigida por traqueocentesis en el cerdo". *Cir. Esp.*, 1985, 34:964-967.
- 14.-BROCK, D.R. and STARZL, T.E.: "Histopathologic alterations associated with the transplanted dog liver". *Exper. Molec. Path.*, 1962, 1:187.
- 15.-BRUJIN, K.M.; KROM, R.A.F.; RUIJTER, G.N.; LIGEON, E.G.; WILDEVUUR, Ch.R.H. and GIPS, C.H.: "Ex vivo Perfusion Model for Testing Liver Viability Parameters". *Transpl. Proc.*, 1984, 16:141-149.
- 16.-BURCHELL, B. and BLANCKAERT, N.: "Bilirubin and di-glucoronide formation by purified rat liver microsomal bilirubin UDP-glucuronyltransferase". *Biochem. J.*, 1984, 223:461-465.
- 17.-BURCKART, G.J.; STARZL, T.E.; WILLIAMS, L.; GARTNER, C.; VENKATARAMANAN, R.; ZITTELLI, B.; MALATAK, J.; URBACH, A.; PTACHCINSKI, R.; SHAW, B. and IWATSUKI, S.: "Cyclosporine Monitoring and Pharmacokinetics in Pediatric Liver Patients". 10th. Intern. Congr. Transpl. Soc., Minneapalis, 1984:57.6.
- 18.-CAISEY, J.A. and KING, D.J.: "Clinical Chemical values for some common laboratory animals". *Clin. Chem.*, 1980, 26:1877-1879.
- 19.-CALNE, R.Y.: "Hepatic transplantation". *Springer Semin. immunopathol.*, 1980, 3:385.
- 20.-CALNE, R.Y.: "Lebertransplantation". *Chirurg.*, 1980, 51:271-279.
- 21.-CALNE, R.Y.: "Liver transplantation". *Archivio ed Atti della Societa Italiana Di Chirurgia. Masson Ed., Milano*, 1982:867-878.
- 22.-CALNE, R.Y.: "Liver Transplantation for Liver Cancer". *World J. Surg.*, 1982, 6:76-80.
- 23.-CALNE, R.Y.: "Technique in the pig". In: *Liver transplantation. Ed. by CALNE, R.Y. Grune and Stratton*, 1983: 9.
- 24.-CALNE, R.Y.: "Recent Advances in Clinical Transplantation of the Liver and Pancreas". *Transpl. Proc.*, 1983, 15: 1263-1268.
- 25.-CALNE, R.Y.: "Liver transplantation. Ed. by CALNE, R.Y. Grune and Stratton, 1983: 155.
- 26.-CALNE, R.Y.: "The Present Status of Liver Transplantation". *Transpl. Proc.*, 1977, 9: 209-216.

- 27.-CALNE, R.Y.; DAVIS, D.R.; PENA, J.R.; BALNER, H.; DE VRIES, M.; HERBERTSON, B.M.; JOYSEY, V.C.; MILLARD, P.R.; SEAMAN, M.J.; SAMUEL, J.R.; STIBBE, J. and WESTBROEK, D.L.: "Hepatic allografts and xenografts in primates". *Lancet*, 1970, 1: 103-106.
- 28.-CALNE, R.Y.; DUNN, D.C.; GAJO-REYERO, R.; HADJIYANNAKIS, E.J. and ROBSON, A.J.: "Trickle Perfusion for Organ Preservation". *Nature*, 1972, 235: 171-173.
- 29.-CALNE, R.Y.; DUNN, D.C.; HERBERTSON, B.M.; BITTER-SUERMAN, H.; DAVIS, D.R.; SMITH, D.P. and REITTER, F.H.: "Preservation of the Porcine Liver". *Transpl. Proc.*, 1974, 6: 289-294.
- 30.-CALNE, R.Y.; DUNN, D.C.; HERBERTSON, B.M.; GORDON, E.M.; BITTER-SUERMAN, H.; ROBSON, A.J.; MACDONALD, A.S.; DAVIS, D.R.; SMITH, D.P.; REITTER, F.H. and WEBSTER, L.M.: "Liver Preservation by Single Passage Hypothermic Squirt Perfusion". *Br. Med. J.*, 1972, 4: 142-144.
- 31.-CALNE, R.Y.; ROLLES, K.; WHITE, D.J.G.; THIRU, S.; EVANS, D.B.; MCMASTER, P.; DUNN, D.C.; CRADDOCK, G.N.; HENDERSON, R.G.; AZIZ, S. AND LEWIS, P.: "Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 Kidneys, two pancreases and two livers". *Lancet*, 1979, 2: 1033-1036.
- 32.-CALNE, R.Y.; SELLS, R.A.; MARSHALL, V.C.; MILLARD, P.R.; HERBERTSON, B.M.; HADJIYANNAKIS, E.J.; DUNN, D.C.; ROBSON, A.J. and DAVIS, D.R.: "Multiple organ grafts in the pig. Techniques and results of pancreatic, hepatic, cardiac and renal allografts". *Brit. J. Surg.*, 1972, 59: 969-977.
- 33.-CALNE, R.Y.; SELLS, R.A. and PENA, J.R.: "Toleragenic effects of porcine liver allografts". *Brit. J. Surg.*, 1969, 56: 692-693.
- 34.-CALNE, R.Y.; SELLS, R.A.; PENA, J.R.; DAVIS, D.R.; MILLARD, P.R.; HERBERTSON, B.M.; BINNS, R.M. and DAVIES, D.A.L.: "Induction of immunological tolerance by porcine liver allografts". *Nature*, 1969, 223: 472-476.
- 35.-CALNE, R.Y.; SMITH, D.P.; MCMASTER, P.; CRADDOCK, G.N.; ROLLES, K.; FARMAN, J.V.; LINDOP, M.; BETHUNE, D.W.; WHEELDON, D.; GILL, R. and WILLIAMS, R.: "Use of partial cardiopulmonary bypass during the anhepatic phase of orthotopic liver grafting". *Lancet*, 1979, 2: 612-614.
- 36.-CALNE, R.Y. and WHITE, D.J.G.: "The Use of Cyclosporin A in Clinical Organ Grafting". *Ann. Surg.*, 1982, 196: 330-337.
- 37.-CALNE, R.Y.; WHITE, H.J.O.; BINNS, R.M.; HERBERTSON, B.M.; MILLARD, P.R.; PENA, J.; SALAMAN, J.R.; SAMUEL, J.R. and DAVIS, D.R.: "Immunosuppressive effects of the orthotopically transplanted porcine liver". *Transplantation Proc.*, 1969, 1: 321.

- 38.-CALNE, R.Y.; WHITE, D.J.G. and EVANS, D.B.: "Cyclosporin A in cadaveric organ transplantation". *Br. Med. J.*, 1981, 282: 1-10.
- 39.-CALNE, R.Y.; WHITE, H.J.O.; HERBERTSON, B.M.; MILLARD, P.R.; DAVIS, D.R.; SALAMAN, J.R. and SAMUEL, J.R.: "Pig-to-baboon liver xenografts". *Lancet*, 1968, 1: 1176-1178.
- 40.-CALNE, R.Y.; WHITE, H.J.O.; YOFFA, D.E.; BINNS, R.M.; MAGINN, R.R.; HERBERTSON, R.M.; MILLARD, P.R.; MOLINA, V.P. and DAVIS, D.R.: "Prolonged survival of liver transplants in the pig". *Brit. Med. J.*, 1967, 4: 645-648.
- 41.-CALNE, R.Y.; WHITE, H.J.O.; YOFFA, D.E.; MAGINN, R.R.; BINNS, R.M.; SAMUEL, J.R. and MOLINA, V.P.: "Observations of orthotopic liver transplantation in the pig". *Brit. Med. J.*, 1967, 2: 478-480.
- 42.-CALNE, R.Y. und WILLIAMS, R.: "Der jetzige Stand der Lebertransplantation". *Internist*, 1976, 17: 597-603.
- 43.-CALNE, R.Y. and WILLIAMS, R.: "Experience with 50 Orthotopic Liver Grafts: An Improvement in Early Postoperative Survival following the introduction of a New Technique of Biliary Drainage". In: *Liver and Bile*. Bianchi, L. (ed.). MTP. Basel, 1977: 379-390.
- 44.-CALNE, R.Y. and WILLIAMS, R.: "Experience with Fifty Orthotopic Grafts an improvement in Early Postoperative Survival following the introduction of a New Technique of Biliary Drainage". Reprinted From Proceedings of the 5th Asian Pacific Congress of Gastroenterology, Singapore, 1976: 123-129.
- 45.-CALNE, R.Y. and WILLIAMS, R.: "Liver transplantation in man. I. Observations on techniques and organization in five cases". *Brit. Med. J.*, 1968, 4: 535-540.
- 46.-CALNE, R.Y. and WILLIAMS, R.: "Orthotopic liver Transplantation: The first 60 Patients". *Brit. Med. J.*, 1977, 1: 471-476.
- 47.-CALNE, R.Y.; WILLIAMS, R.; DAWSON, J.L.; ANSELL, I.D.; EVANS, D.B.; FLUTE, P.T.; HERBERTSON, P.M.; JOYSEY, V.; KEATES, G.H.W.; KNILL-JONES, R.P.; MASON, S.A.; MILLARD, P.R.; PENA, J.R.; PENTLOW, B.D.; SALAMAN, J.R.; SELLS, R.A. and CULLUM, P.A.: "Liver transplantation in man. II. A report of two orthotopic liver transplants in adult recipients". *Brit. Med. J.*, 1968, 4: 541-546.
- 48.-CALNE, R.Y.; WILLIAMS, R.; LINDOP, M.; FARMAN, J.V.; TOLLEY, M.E.; ROLLES, K.; MACDOUGALL, B.; NEUBERGER, J.; WYKE, R.J.; RAFTERY, A.T.; DUFFY, T.J.; WIGHT, D.G.D. and WHITE, D.J.G.: "Improved survival after orthotopic liver grafting". *Brit. Med. J.*, 1981, 283: 115-118.

- 49.-CALNE, R.Y.; YOFFA, D.E.; WHITE, H.J.O. and MAGINN, R.R.: "A technique of orthotopic liver transplantation in the pig". *Brit. J. Surg.*, 1968, 55: 203-206.
- 50.-CAMPBELL, A.K.; HOLT, M.E. and PATEL, A.: "Chemiluminiscence in medical biochemistry". In: *Recent advances in Clinical Biochemistry*, 1985:1-30..
- 51.-CAMPRODON, R.; SOLSONA, J.; GUERRERO, J.A.; MENDOZA, C.G.; SEGURA, J. and FABREGAT, J.M.: "Intrahepatic Vascular Division in the Pig". *Arch. Surg.*, 1977, 112: 38-40.
- 52.-CANNON, J.A.: "Note on the transplantation of the liver". *Transplant. Bull.*, 1956, 3: 7.
- 53.-CARUANA, J.A.; SUNBY, C.; CAMARA, D.S.; CHEN, H.H. and SCHNEEBERGER, G.: "Rapid Alterations in Substrate Profiles After Partial Hepatectomy in the Rat". *Arch. Surg.*, 1984, 119: 437-441.
- 54.-CASTILLO-OLIVARES, J.L.; GOSALVEZ, M.; AZPEITIA, D.; GARCIA-ROMERO, E.; BLANCO, M. and FIGUERA, D.: "Mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation during hepatic preservation". *J. Surg. Res.*, 1972, 2: 85-89.
- 55.-CHANCE, B.; ESTABROOCK, R.W. and WILLIAMSON, J.R.: "Control of Energy Metabolism", Academic Press, New York, 1965.
- 56.-CHIEN, K.R.; ABRAMS, J.; PFAU, R.G. and FARBER, J.L.: "Prevention by Chlorpromazine of Ischemic Liver Cell Death". *Am. J. Path.*, 1977, 88: 539-553.
- 57.-CHOPRA S. and GRIFFIN, P.H.: "Laboratory Tests and Diagnostic Procedures in Evaluation of liver Disease". *Am. J. Med.*, 1985, 79:221-230.
- 58.-CHUANG, N.-N.; NEWBY, A.C. and LUZIO, J.P.: "Characterization of different molecular forms of 5'-nucleotidase in normal serum and in serum from cholestatic patients and bile-duct-ligated rats". *Biochem. J.*, 1984, 224: 689-695.
- 59.-CIENFUEGOS, J.A.; MARTINEZ, A.J.; VAN THIEL, D. and STARZL, T.E.: "Hallazgos neuropatológicos en el trasplante de hígado. Estudio de 29 casos". *Med. Clin.*, 1985, 84: 169-175.
- 60.-COMBES, B. y SCHENKER, S.: "Pruebas de laboratorio". En *Enfermedades del hígado*, SCHIFF, Salvat, Barcelona, 1980:225-273.
- 61.-COOPERMAN, A.M.; WOODS, J.E. and McILRATH, D.C.: "Simplified method of canine orthotopic hepatic transplantation". *Am. J. Surg.*, 1971, 122: 797-801.

- 62.-CORDIER, G.; GARNIER, H.; CLOT, J.P.; CAMPLEZ, P.; GORIN, J.P.; CLOT, P.; RASSINIER, J.P.; NIZZA, M. et LEVY, R.: "La greffe de foie orthotopique chez le porc. Premiers resultats". *Mém. Acad. Chir.*, 1966, 92: 799-810.
- 63.-DALOZE, P.M.; HUGUET, C.; PORTER, K.A. and STARZL, T.E.: "Auxiliary Homotransplantation of the canine liver with the use of a "reverse" Welch technique". *Surgery*, 1968, 64:934-939.
- 64.-DANIEL, A.M. and BEAUDOIN, J.G.: "Evaluation of Mitochondrial Function in the Ischemic Rat Liver". *J. Surg. Res.*, 1974, 17: 19-25.
- 65.-DeLUCA, M.A. and McELROY, W.D.: "Bioluminescence and Chemiluminescence". Academic Press, New York, 1984
- 66.-DEMETRIS, A.J.; LASKY, S.; VAN THIEL, D.H.; STARZL, T.E. and DEKKER, A.: "Pathology of Hepatic Transplantation. A review of 62 Adult Allograft Recipients Immunosuppressed with a Cyclosporin/Steroid Regimen". *Am. J. Pathol.*, 1985, 118: 151-161.
- 67.-DEMETRIS, A.J.; LASKY, S.; VAN THIEL, D.H.; STARZL, T.E. and WHITESIDE, T.: "Induction of DR/IA Antigens in Human Liver Allografts". *Transplantation*, 1985, 40:504-509.
- 68.-DEMPSTER, W.J.A.: "Kidney homotransplantation". *Brit. J. Surg.*, 1953, 40:447-453.
- 69.-DENO, D.C.; McCafferty, M.H.; SABA, T.M. and BLUMENSTOCK, F.A.: "Mechanism of Acute Depletion of Plasma fibronectin Following thermal injury in Rats". *J. Clin. Invest.*, 1984, 73:20-34.
- 70.-DUNN, D.C.: "Orthotopic renal transplantation in the rabbit". *Transplantation*, 1976, 22:427-433.
- 71.-DZIK, W.H. and JENKINS, R.: "Use of Intraoperative Blood Salvage During Orthotopic Liver Transplantation". *Arch. Surg.*, 1985, 120: 946-948.
- 72.-EBATA, H. and MITO, M.: "Intrasplenic fetal rat hepatic tissue isotransplantation". *Transplantation*, 1985, 39: 77-78.
- 73.-EBATA, H.; OIKAWA, I. and MITO, M.: "Rejection of Allogeneic Hepatocytes and Fetal Hepatic Tissue Transplanted into the Rat Spleen". *Transplantation*, 1985, 39: 221-222.
- 74.-EDSTROM, S.; EKMAN, L.; TERNELL, M. and LUNDHOLM, K.: "Isolation of Mouse Liver Cells: Perfusion Technique and Metabolic Evaluation". *Eur. Surg. Res.*, 1983, 15: 97-102.

- 75.-EGDAHL, R.H. and HUME, D.M.: "Clinical and experimental studies on organ transplantation". Surgical forum; Clinical Congress, Chicago: American College of Surgeons, 1955, 6:423-453.
- 76.-ERIKSEN, H.O.; CLEMMENSEN, I.; HANSEN, M.S. and IBSEN, K.K.: "Plasma fibronectin concentration in normal subjects". Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1982, 42:291-295.
- 77.-ERIKSEN, H.O.; SKJOLDBY, O.; KJERSEM, H.; SELMER, J.; TRANEBJAERG, L. and CLEMMENSEN, I.: "Plasma and urine fibronectin concentration in kidney transplanted patients". Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1984, 44:135-142.
- 78.-ESPASA-CALPE.: "Enciclopedia Universal Ilustrada". Tomo, 47, 1979:868-873.
- 79.-FARBER, J.L. and El-MOFTY, S.: "The Biochemical Pathology of Liver Cell Necrosis". Am. J. Pathol., 1975, 81: 237-250.
- 80.-FARIS, T.D.; MARCHIORO, T.L.; HERMANN, T.J. and STARZL, T.E.: "Late function of the orthotopic liver homograft". Surg. Forum, 1965, 16 : 222-227.
- 81.-FARIS, T.D.; DICKHAUS, A.J.; MARCHIORO, T.L. and STARZL, T.E.: "Radioisotope scanning in auxiliary liver transplantation". Surg. Gynecol. Obstet., 1966, 123 : 1261-1268.
- 82.-FARKOUH, E.F.; DANIEL, A.M.; BEAUDOIN, J.-G. and MacLEAN, L.D.: "Predictive Value of Liver Biochemistry in Acute Hepatic Ischemia". Surg. Gynecol. Obstet., 1971, May: 832-838.
- 83.-FARMAN, J.V.; LINES, J.G.; WILLIAMS, R.S.; EVANS, D.B.; SAMUEL, J.R.; MASON, S.A.; ASHBY, B.S. and CALNE, R.Y.: "Liver transplantation in man. Anaesthetic and biochemical management". Anaesthesia, 1974, 29: 17-31.
- 84.-FATH, J.J.; ASCHER, N.L.; KONSTANTINIDES, F.N.; BLOOMER, J.; SHARP, H.; NAJARIAN, J.S. and CERRA, F.B.: "Metabolism during hepatic transplantation: Indicators of allograft function". Surgery, 1984, 96: 664-674.
- 85.-FATH, J.; ESTRIN, J.; BELANI, K.; KONSTANTINIDES, F.N.; NAJARIAN, J.S. and CERRA, F.B.: "Lactic Acidemia during Hepatic Transplantation: A Perfusion Sensitive Patient Population". 10th. Intern. Congr. Transpl. Soc., 1984: S.27.14.
- 86.-FERNANDEZ-CRUZ, L. y ANDREU, J.: "Cirugía de los trasplantes: en dónde estamos". Med. Clin., 1985, 84: 15-17.
- 87.-FISHER, B. and LEE, S.: "Microvascular surgical techniques in research, with special reference to renal transplantation in the rat". Recent advances in surgery, 1965, 58: 904-914.

- 88.-FISHER, B.; SZUCH, P. and FISHER, E.R.: "Evaluation of a humoral factor in liver regeneration utilizing liver transplants". *Cancer Res.*, 1971, 31: 322-331.
- 89.-FONKALSRUD, E.W.; JOSEPH, W.L.; TOCORNAL, J.A.; ONO, H.; SHAFEY, O.A. and LONGMIRE, W.P.Jr.: "Allogenic hepatic transplantation using cadaveric donors, with clinical application". *J. Pediat. Surg.* 1967, 3: 300-308.
- 90.-FONKALSRUD, E.W. and LONGMIRE, W.P.: "Orthotopic canine liver transplantation without vena caval interruption". *Surg. Gynec. Obstet.*, 1967, 125: 319-327.
- 91.-FONKALSRUD, E.W.; ONO, H.; SHAFEY, O.A.; JOSEPH, W.L.; TOCORNAL, J. and LONGMIRE, W.P.: "Allogenic canine liver transplantation with cadaver donors". *Surgery*, 1967, 62: 333-339.
- 92.-FONKALSRUD, E.W.; ONO, H.; SHAFEY, O.A. and LONGMIRE<sup>o</sup> W.P. Jr.: "Orthotopic canine liver homotransplantation without vena caval interruption". *Surg. Gynec. Obstet.*, 1967, 125: 319-328.
- 93.-FONKALSRUD, E.W.; RANGEL, D.M.; BYFIELD, J.; BRUCKNER, W.; STEVENS, G.H. and DINBAR, A.: "Hepatic preservation with chlorpromazine and phenoxybenzamine; application to liver transplantation". *Surgery*, 1969, 66:316-323
- 94.-FONKALSRUD, E.W.; SHAFEY, O.A.; ONO, H. and LONGMIRE, W.P. Jr.: "Experience with orthotopic dog liver allografts". *Surg. Forum*, 1966, 17: 215-219.
- 95.-FONKALSRUD, E.W.; STEVENS, G.H.; JOSEPH, W.L.; RANGEL, D.; YAKEISHI, Y. and LONGMIRE, W.P. Jr.: "Orthotopic liver allotransplantation using an internal vascular shunt". *Surg. Gynec. Obstet.*, 1968, 127: 1051-1063.
- 96.-FORTNER, J.G.; BEATTIE, E.G.Jr.; MAN HEI SHIN; NOBIHURO KAWANO and HOWLANDS, W.S.: "Orthotopic and heterotopic liver homograft in man". *Ann. Surg.*, 1970, 172: 23-32.
- 97.-FORTNER, J.G.; KIM, D.K.; SHIU, M.H.; YEH, S.D.J.; HOWLAND, W.S. and BEATTIE, E.J.: "Heterotopic (Auxiliary) Liver Transplantation in Man". *Transplantation Proceedings*, 1977, 9: 217-221.
- 98.-FORTNER, J.G.; KINNE, D.W.; SHIU, M.H.; HOWLAND, W.S.; KIM, D.K.; CASTRO, E.B.; YEH, S.D.J.; BENUA, R.S. AND KRUMINS, S.: "Clinical liver heterotopic (auxiliary) transplantation". *Surgery*, 1973, 74: 739-751.
- 99.-FORTNER, J.G.; SHIU, M.H.; BALNER, H.; WILSON, C.B.; SICHUK, G.; KAWANO, N.; HOLMES, J.T. AND BEATTIE, E.J.JR.: "Observations on Prolonged Immune Suppression for Human Liver Homografts". *Transplantation Proceedings*, 1971, 3: 383-386.

- 100.-FREESE, D.; ASCHER, N.L.; BLOOMER, J.; WEISDORF, S.; SNOVER, D. and SHARP, H.: "Role of Liver Biopsy and LFT's in the Evaluation of the Transplanted Liver". 10th. Intern. Congr. Transpl. Soc., 1984: S27.7.
- 101.-FULGINITI, V.A.; SCRIBNER, R.; GROTH, C.G.; PUTNAM, C.W.; BRETTSCHEIDER, L.; GILBERT, S.; PORTER, K.A. and STARZL, T.E.: "Infections in recipients of liver homografts". New Engl. J. Med., 1968, 279: 619-626.
- 102.-GABRIELLI, G.B.; CASARIL, M.; BONAZZI, L.; BELLISOLA, G. e CORROCHER, R.: "Fibronectina plasmatica nelle epatopatie: correlazioni con i comuni indici di funzionalità epatica". J. Lab. Med., 1985, 5:427-430.
- 103.-GAJA, G.; FERRERO, M.E.; PICCOLETTI, R. and BERNELLI-ZAZZERA, A.: "Phosphorylation and Redox States in Ischemic Liver". Exper. Molec. Pathol., 1973, 19: 248-265.
- 104.-GARCIA-BARRENO, P.: "Investigación médico-Quirúrgica en el contexto Científico actual (Extracto de la conferencia pronunciada en la Academia de Cirugía de Madrid. Diciembre 1980). Cirugía Española, 1981, 35: 263-270.
- 105.-GARCIA-MAS, J.L.; CARREÑO-GARCIA, V. y HERNANDEZ-GUIO, C.: "Valor de la G.G.T.P. en el estudio de la enfermedades hepatobiliares; su comparación con los parámetros bioquímicos habituales". Rev. Esp. Enf. Ap. Digest., 1981, 59: 597-602.
- 106.-GARCIA-MORAN, M.: "Historia de los trasplantes hepáticos. Estudio de un modelo de trasplante heterotópico del hígado". Tesis Doctoral. Madrid, 1973.
- 107.-GARNIER, H.; CLOT, J.P.; BERTRAND, M.; CAMPEZ, P.; KUNLIN, A.; GORIN, J.P.; LeGOAZIOU, F.; LEVY, R. and CORDIER, G.: "Biologie expérimentale: Greffe de foie chez le Porc: Approche chirurgicale". C.R. Acad. Sci., 1965, 260: 5621.
- 108.-GARTNER, J.C.; ZITELLI, B.J.; MALATAK, J.J.; SHAW, B.W.; IWATSUKI, S. and STARZL, T.E.: "Orthotopic Liver Transplantation in Children: Two-Year Experience with 47 Patients". Pediatrics, 1984, 74: 140-145.
- 109.-GAUPERAA, T.; GIERCKSKY, K.E.; REVHAUG, A. and REKVIG, O.P.: "Fibronectin, complement and immunoglobulins in serum after surgery". Br. J. Surg., 1985, 72:59-62.
- 110.-GENESTAL, M.; SIE, P.; HUGOT, B.; CATHALA, B.; BONEU, B and LARENG, L.: "Fibronectin plasmatique. Role dans L'infection sévère en réanimation". Pres. Méd., 1983, 18:1155-1158.
- 111.-GILBERTINI, G.; LODI, R.; ZAMBARDA, E.; MONTANARI, C.; FERRARI, P. et BONDIOLI, A.: "Homotransplantation orthotopique de foie chez le chien". Rev. Intern. Hepat., 1963, 15:1517-1523.

- 112.-GILES, G.R.; BOEHMIG, H.J.; AMEMIYA, H.; HALGRIMSON, C.C. and STARZL, T.E.: "Clinical heterotransplantation of the liver". *Transplant. Proc.*, 1970, 2: 506-517.
- 113.-GILES, G.R.; BOEHMIG, R.J.; AMEMIYA, H.; TAKAGI, H.; COBURG, A.J.; HATHAWAY, W.E.; WILSON, O.B.; DIXON, F.J. and STARZL, T.E.: "Mechanism and modification of rejection of heterograft between divergent species". *Transpl. Proc.*, 1970, 2: 522-529.
- 114.-GLIEDMAN, M.L.; POPOWITZ, L.; PANGAN, J.; KOTIMEIER, P.; KARLSON, K.; JOSEPHSON, A. and MINKOWITZ, S.: "Heterotopic liver transplantation after biliary obstruction". *Pediatr. Surg.*, 1967, 2: 144.
- 115.-GLUUD, C.; DEJGAARD, A. and CLEMMENSEN, I.: "Plasma fibronectin concentrations in patients with liver diseases". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1983, 43: 533-537.
- 116.-GOLDSMITH, H.S.; CHEN, W.; ALDAY, E.S. and KURODA, K.: "Autotransplantation of hepatic segment arterialized by direct vascular implantation". *J. Surg. Res.*, 1974, 17: 411-416.
- 117.-GOMEZ-LECHON MOLINER, M.J. y CASTELL RIPOLL, J.V.: "Regeneración Hepática: bases fisiológicas y control bioquímico". *Gastroenterología y Hepatología*, 1982, 5: 279-289.
- 118.-GONZALEZ-CALVIN, J.; SCULLY, M.F.; SANGER, Y.; FOK, J.; KAKKAR, V.V.; HUGHES, R.D.; GIMSON, A.E.S. and WILLIAMS, R.: "Fibronectin in fulminant hepatic failure". *Br. Med. J.*, 1982, 285: 1231-1232.
- 119.-GOODRICH, E.O. Jr.; WELCH, H.F.; NELSON, J.A.; BEECHER, T.S.; and WELCH, C.S.: "Homotransplantation of the canine liver". *Surgery*, 1956, 39: 244-251.
- 120.-GRAS, J.: "Proteínas plasmáticas". *Jims*, Barcelona, 1983.
- 121.-GRAY, T.A.; BUCKLEY, B.M.; SEALEY, M.; SMITH, S.C.H.; TOMLIN, P. and McMASTER, P.: "Is Calcium Important for Haemodynamic Stability during Liver Transplantation?". 10th. Intern. Congr. Transpl. Soc., 1984: B.20.
- 122.-GREENAWALT, J.W.; ROSSI, C. and LEHNINGER, A.L.: "Effect of active accumulation of calcium and phosphate ions on the structure of rat liver mitochondria". *J. Cell Biol.*, 1964, 23: 21-38.
- 123.-GRENVIK, A.; HARDESTY, R.L.; GRIFFITH, B.P.; SHAW, B.W. Jr.; ROSENTHAL, J.T.; HAKALA, T.R.; REILLY, J.J.; DENNY, W.D.; SNYDER, J.V.; STARZL, T.E. and BAHNSON, H.T.: "Multiple Organ Procurement by Interhospital Transfer of Heartbeating Cadaveres". *Transplantation Proceedings*, 1984, 16: 251-258.

- 124.-GRIFFITH, B.P.; SHAW, B.W.Jr.; HARDESTY, R.L.; IWATSUKI, S.; BAHNSON, H.T. and STARZL, T.E.: "Veno-venous bypass without systemic anticoagulation for Transplantation of the human liver". *Surg. Gynec. Obstet.*, 1985, 160: 271-272.
- 125.-GROTH, C.G.; BROWN, D.W.; CLEVELAND, J.D.; CORDERS, D.J.; BRETTSCHEIDER, L. and STARZL, T.E.: "Radioisotope scanning in experimental and clinical orthotopic liver transplantation". *Surg. Gynec. Obstet.*, 1968, 127: 808.
- 126.-GROTH, C.G.; PECHET, L. and STARZL, T.E.: "Coagulation during and after orthotopic transplantation of the human liver". *Arch. Surg.*, 1969, 98: 31-34.
- 127.-GROTH, C.G.; PORTER, K.A.; DALOZE, P.M.; HUGUET, C.; SMITH, G.V.; BRETTSCHEIDER, L. and STARZL, T.E.: "Effect of ribonucleic acid perfusion on canine kidney and liver homograft survival". *Surgery*, 1968, 64 : 31-38.
- 128.-GROTH, C.G.; PORTER, K.A.; OTTE, J.B.; DALOZE, P.M.; MARCHIORO, T.L.; BRETTSCHEIDER, L. and STARZL, T.E.: "Studies of blood flow and ultrastructural changes in rejecting and nonrejecting canine orthotopic liver homografts". *Surgery*, 1968, 63: 638.
- 129.-GUGENHEIM, J.; HOUSSIN, D.; TAMISIER, D.; FRANCO, MARTIN, E.; LANG, P. and BISMUTH, H.: "Spontaneous long-term survival of liver allografts in inbred rats. Influence of the hepatectomy of the recipient's own liver". *Transplantation*, 1981, 32: 445-449.
- 130.-HAGERSTRAND, I and NORDEN, J.G.: "Enzyme studies in rats with extra-hepatic biliary obstruction". *Acta Path. microbiol. Scand. Section A*, 1972, 80: 539-547.
- 131.-HAGIHARA, P. and ABSOLON, K.B.: "Experimental studies on homologous heterotopic liver transplantation". *Surg. Gynec. Obstet.*, 1964, 119 : 1297-1304.
- 132.-HAHN, E.; WICK, G.; PENCEV, D. and TIMPL, R.: "Distribution of basement membrane proteins in normal and fibrotic human liver: collagen type IV, laminin, and fibronectin". *Gut.*, 1980, 21:, 63-71.
- 133.-HALGRIMSON, C.G.; MARCHIORO, T.L.; FARIS, T.D.; PORTER, K.A.; PETERS, G.N. and STARZL, T.E.: "Auxiliary liver transplantation: effect of host portocaval shunt". *Arch. Surg.*, 1966, 93 : 107-118.
- 134.-HAMILTON, D.: "A history of transplantation" In: *Tissue Transplantation*, by MORRIS, P.J., Churchill L., London, 1982:1-13.
- 135.-HAYMAN, E.G. and RUOSLAHTI, E.: "Distribution of fetal bovine serum fibronectin and endogenous rat cell fibronectin in extracellular matrix". *J. Cell. Biol.*, 1979, 83:10-14.

- 136.-HERON, I.: "Kidney trnplantation in the rabbit". Acta Path. Microbiol. Scand. Section A., 1970, 78:90-95.
- 137.-HESS, F.; JERUSALEM, C. and HEYDE, M.N.v.d.: "Advantages of auxiliary liver homotransplantation in rats". Arch. Surg., 1972, 104: 76-80.
- 138.-HEYDE, M.N.v.d.: "Heterotopic auxiliary liver transplantation. Part II. A technique for heterotopic partial liver homotransplantation in dogs". Arch. Chir. Neerl., 1966, 18: 285-293.
- 139.-HEYDE, M.N.v.d.; BILSKI, R.; JERUSALEM, C. and REINKING, J.W.: "Experimental thoracic implantation of partial liver homografts in the dog". In: Abstracts of the 6th Congress of the European Society for Experimental Surgery. 1971 : 123-129.
- 140.-HEYDE, M.N.v.d.; COOPER, J.R.; CARTER, J.H. and WELCH, C.S.: "Survival of hepatectomized dogs with partial liver transplants". Surgery, 1966, 59: 1079-1084.
- 141.-HEYDE, M.N.v.d.; JERUSALEM, C.; SCHMIDT, W.J.H.; BILSKI, R.; REINKING, J.W.; TJEJBES, F.A. and JAP, P.: "The influence of haemodynamics on the micro-structure of the heterotopic liver graft". Europ. Surg. Res., 1970, 2: 152-159.
- 142.-HEYDE, M.N.v.d.; JERUSALEM, C.; SCHMIDT, J.H.; REINKING, J.W.; JAP, P.; BILSKI, R. and TJEJBES, F.A.: "Problems of heterotopic liver transplantation". In: Proceedings of the IXth International Congress of Anatomy. Edited by D.A. Idanov. Leningrad University Press, 1970: 52-53.
- 143.-HEYDE, M.N.v.d. and SCHALM, L.: "Provoked regeneration of the heterotopic livergraft in the dog". Epatologia, 1967, 13: 903-906.
- 144.-HEYDE, M.N.v.d. and SCHALM, L.: "Auxiliary liver graft without portal blood. Experimental autotransplantation of left liver lobes". Brit. J. Surg., 1968, 55: 114-118.
- 145.-HEYDE, M.N.v.d.; SCHALM, L. and VINK, M.: "The role of functional competition in auxiliary liver transplantation". Transpl., 1967, 5: 78-80.
- 146.-HEYDE, M.N.v.d.; VINK, M.; STOL, H.; DICKE, H.W. and SCHALM, S.W.: "Heterotopic auxiliary liver transplantation. III. Functional competition-cause of atrophy of the auxiliary liver transplant". Arch. Chir. Neerl., 1966, 18: 293-298.
- 147.-HIRAOKA, T.; HAGERSTRAND, I. and BENGMARK, S.: "Attempts at Autologous Transplantation of Sliced Liver to the Subcutaneous Tissue". Eur. surg. Res., 1983, 15: 37-44.

- 148.-HIROOKA, M. and YAMAMOTO, K.: "Non-suture anastomosis using Tetoron mesh tube". *J. Jap. Soc. Artif. Organ. and Tissues*, 1965, 2: 91.
- 149.-HOFELER, H. and KLINGEMANN, H.G.: "Fibronectin and factor VIII related antigen in liver cirrhosis and acute liver failure". *J. Clin. Chem. & Clin. Biochem.*, 1984, 22:15-19.
- 150.-HOGSTROM, H.; BORGSTROM, A. and HAGLUND, U.: "Plasma fibronectin in relation to surgical trauma". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1985, 45:87-89.
- 151.-HOMANDBERG, G.A.; WILLIAMS, J.E.; GRANT, D.; SCHUMACHER, B. and EISENSTEIN, R.: "Heparin-Binding Fragments of Fibronectin Are Potent Inhibitors of Endothelial Cell Growth". *A.J.P.*, 1985, 120:327-332.
- 152.-HOROWITZ, R.E.; BURROWS, L.; PARONETTO, F. and WILDSTEIN, W.: "Immunocytochemical observations on canine kidney homografts". *Fed. Proc. Balt.*, 1962, 22:274-287.
- 153.-HOUSE, R.; DUBOVSKY, S.L. and PENN, I.: "Psychiatric aspects of hepatic transplantation". *Transplantation*, 1983, 36: 146-150.
- 154.-HOUSSIN, D.: "Particularités immunologiques des allogreffes de foie". *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 1981, 5: 77-80.
- 155.-HOUSSIN, D.: "Tolérance spontanée de l'allogreffe de foie chez le rat". *J. Chir.*, 1979, 116: 663-674.
- 156.-HOUSSIN, D.; FRANCO, D.; BERTHELOT, P. and BISMUTH, H.: "Heterotopic liver transplantation in end-stage HBs Ag-positive cirrhosis". *Lancet*, 1980, 1: 990-993.
- 157.-HOUSSIN, D.; FRANCO, D.; CORLETTE, M.B. and BISMUTH, H.: "Criteria for hepatic transplantation in cirrhosis". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1980, 151: 30-32.
- 158.-HOUSSIN, D.; GUGENHEIM, J.; BELLON, B.; BRUNAUD, M.D.; GIGOU, M.; CHARRA, M.; CROUGNEAU, S. and BISMUTH, H.: "Absence of Hyperacute Rejection of Liver Allografts in Hypersensitized Rats". *Transpl. Proc.*, 1985, 17: 293-295.
- 159.-HOUSSIN, D.; GUGENHEIM, J.; BELLON, B.; BRUNAUD, M.D.; GIGOU, M.; CHARRA, M.; CROUGNEAU, S. and BISMUTH, H.: "Absence of Hyperacute Rejection of Liver Allografts in Hypersensitized Rats". *10th. Intern. Congr. Transpl. Soc.*, 1984: D.17.
- 160.-HUME, D.M.; MERRILL, J.P.; MILLER, B.F. and THORN, G.W.: "Experiences with renal homotransplantation in the human". *J. Clin. Invest.*, 1955, 34:327-332.

- 161.-HUTCHISON, D.E.; GENTON, E.; PORTER, K.A.; DALOZE, P.M.; HUGUET, C., BRETTSCHEIDER, L.; GROTH, C.G. and STARZL, T.E.: "Platelet changes following clinical and experimental hepatic homotransplantation". Arch. Surg., 1968, 97: 27-33.
- 162.-ISMAN, H.; BRISARD, M.; LUPO, B. et CAUBET, M.: "La greffe orthotopique du foie sous clampage aortique. Etude experimentale chez le chien". J. Chir., 1982, 119: 65.
- 163.-IWATSUKI, S.; SHAW, B.W.Jr. and STARZL, T.E.: "Five-Year Survival After Liver Transplantation". Transpl. Proc., 1985, 17: 259-263.
- 164.-IWATSUKI, I.; SHAW, B.W. and STARZL, T.E.: "Five-Year Survival after Liver Transplantation". 10th. Intern. Congr. Transpl. Soc., 1984: S27.1.
- 165.-IWATSUKI, S.; SHAW, B.W.Jr. and STARZL, T.E.: "Liver Transplantation for Biliary Atresia". World J. Surg., 1984, 8: 51-56.
- 166.-JACKSON, B.T. and MANNICK, J.A.: "Serial blood flow in first set renal homotransplants undergoing rejection". S.G.O., 1964, Decem., 1265-1270.
- 167.-JAGIRDAR, J.; ISHAK, K.G.; COLOMBO, M.; BRAMBILLA, C. and PARONETTO, F.: "Fibronectin Patterns in Hepatocellular Carcinoma and Its Clinical Significance". Cancer, 1985, 56:1643-1648.
- 168.-JAURRIETA-MAS, E.: "Complicaciones del trasplante hepático". Med. Clín. (Barc.), 1985, 84: 819-821.
- 169.-JENKINS, R.L.; BENOTTI, P.N.; BOTHE, A.A. and ROSSI, R.L.: "Liver Transplantation". Surg. Clin. North. Am., 1985, 65: 103-122.
- 170.-JERUSALEM, C.; HEYDE, M.N.v.d.; JAP, P.; REINKING, J.W.; SCHMIDT, W.J.H.; BILSKI, R. und TJEJBBES, F.A.: "Zum Problem der heterotopen lebertransplantation". Anat. Anz. Erg. H., 1971, 128: 67-76.
- 171.-JERUSALEM, C.; HEYDE, M.N.v.d.; JAP, P.; REINKING, J.W.; SCHMIDT, W.J.H.; PRESKI, R. and TJEJBBES, F.A.: "Rejection phenomena in heterotopic liver homo and heterografts". Transplant. Proc., 1971, 3: 554-557.
- 172.-JONES, E.A.: "Primary biliary cirrhosis and liver transplantation". New Engl. J. Med., 1982, 306: 41-43.

- 173.-JONES, G.; TUCKER, K.; WALDECK, N.; SUZUKI, M.; HOEFS, J. and CHARLES, M.A.: "Portal blood pressure after intrahepatic megaislet allotransplantation in rats". *Transplantation*, 1985, 39: 79-80.
- 174.-KAHN, D.; Van HOORN-HICKMAN, R.; McLEOD, H. and TERBLANCHE, J.: "The stimulatory effect of a partially hepatectomized auxiliary graft upon the host liver. Observations on the regenerative response in orthotopic and heterotopic grafts". *S. Afr. med. J.*, 1982, 61: 362-364.
- 175.-KAM, I.; LYNCH, S.; TODO, S.; DEWOLF, A.; McSTEEN, F.; JAKAB, F.; ERICZON, Bo-G.; TAKAYA, S. and STARZL, T.E.: "Low flow veno-venous bypasses in small animals and pediatric patients undergoing liver replacement". *En Prensa*.
- 176.-KAMADA, N. and CALNE, R.Y.: "A surgical experience with five hundred thirty liver transplants in the rat". *Surgery*, 1983, 93: 64-69.
- 177.-KAMADA, N. and CALNE, R.Y.: "Orthotopic liver transplantation in the rat. Technique Using Cuff for Portal Vein Anastomosis and Biliary Drainage". *Transplantation*, 1979, 28: 47-50.
- 178.-KAMADA, N.; CALNE, R.Y.; WIGHT, D.G.D. and LINES, J.G.: "Orthotopic rat liver transplantation after long-term preservation by continuous perfusion with fluorocarbon emulsion". *Transplantation*, 1980, 30: 43.
- 179.-KAMADA, N.; DAVIES, H.ff.S. and ROSER, B.: "Reversal of transplantation immunity by liver grafting". *Nature*, 1981, 292: 83-84.
- 180.-KAMADA, N.; DAVIES, H.ff.S.; WIGHT, D.; CULANK, L. and ROSER, B.: "Liver Transplantation in the rat". *Transplantation*, 1983, 35: 304-310.
- 181.-KAMADA, N. and WIGHT, D.G.D.: "Antigen-Specific immunosuppression induced by liver transplantation in the rat". *Transplantation*, 1984, 38: 217-221.
- 182.-KAMIKE, W.; NAKAHARA, M.; NAKAO, K.; KOSEKI, M.; NISHIDA, T.; KAWASHIMA, Y.; WATANABE, F. and TAGAWA, K.: "Correlation between cellular ATP level and bile excretion in the rat liver". *Transplantation*, 1985, 39: 50-55.
- 183.-KAMIKE, W.; WATANABE, F.; HASHIMOTO, T.; TAGAWA, K.; IKEDA, Y.; NAKAO, K. and KAWASHIMA, Y.: "Changes in cellular levels of ATP and Its Catabolites in Ischemic Rat Liver". *J. Biochem.*, 1982, 91: 1349-1356.

- 185.-KAPLAN, J.E. and SNEDEKER, P.W.: "Maintenance of fibrin solubility by plasma fibronectin". J. Lab. Clin. Med., 1980, 96: 1054-1061.
- 186.-KAPLOWITZ, N.; EBERLE, D. and YAMADA, T.: "Biochemical tests for liver disease". In Hepatology by Zakim, D. Saunders, Philadelphia, 1982:553-607
- 187.-KAUPP, H.A.; LAZARUS, R.E. and STARZL, T.E.: "Complete homotransplantation of the dog liver after total hepatectomy in dogs". (Abstract) Gastroenterology, 1960, 38: 794-795.
- 188.-KRSNIK, I.: "Fibronectina: su valor en la clínica con especial mención a las hepatopatías y síndromes de coagulación intravascular diseminada". Tesis Doctoral. Univ. Complutense de Madrid, 1986.
- 189.-LA DUE, J.S.; WROBLEWSKI, E. and KARMEN, A.: "Serum Glutamin Oxalacetic Transaminase Activity in Human Acute Transmural Myocardial Infarction". Science, 1954, 120:497-504.
- 190.-LANSER, M.E. and SABA, T.M.: "Opsonic Fibronectin Deficiency and Sepsis. Cause or Effect?". Ann. Surg., 1981, 195: 340-345.
- 191.-LAURELL, C.B.: "Electroimmuno Assay". Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1972, 29: 21-36.
- 192.-LE COMPTE, Y.; DE RIBEROLLES, C.; GRANGE, D.; BRUNET, A.M. and BISMUTH, H.: "Canine intrathoracic hepatic homograft. A life supporting procedure". Arch. Surg., 1974, 109: 809-811.
- 193.-LEE, S. and EDGINGTON, T.S.: "Heterotopic liver transplantation utilizing inbred rat strains. I.- Characterization of allogeneic graft rejection and the effects of biliary obstruction and portal vein circulation on liver regeneration". Amer. J. Pathol., 1968, 52: 649.
- 194.-LEE, S.; CHARTERS, C.; CHANDLER, J.G. and ORLOFF, M.J.: "A technique for orthotopic liver transplantation in the rat". Transplantation, 1973, 16: 664-669.
- 195.-LEE, S.; CHARTERS, A.C.III. and ORLOFF, M.J.: "Simplified Technic for Orthotopic Liver Transplantation in the Rat". Am. J. Surg., 1975, 130: 38-40.
- 196.-LEE, D. and CLARK, D.G.: "Influence of Ischaemic Time on the Production of Bile by Perfused Rat Liver". Cryobiology, 1977, 14: 37-44.
- 197.-LEE, S. and EDGINGTON, T.S.: "Heterotopic Liver Transplantation Utilizing Inbred Rat Strains". Amer. J. Pathol., 1968, 52: 649-669.
- 198.-LEE, S. and EDGINGTON, T.W.: "Liver transplantation in the rat". Surg. Forum, 1966, 17: 220-222.

- 199.-LEE, S.; EDGINGTON, T.S. and ORLOFF, M.J.: "The role of afferent blood supply in regeneration of liver isografts in rats". *Surg. Forum*, 1968, 19: 360-362.
- 200.-LEE, S.; TUNG, K.S.K.; BROELSCH, C.E. and ORLOFF, M.J.: "En bloc transplantation of liver, pancreas, duodenum, and spleen in the rat. Description of Technique and Histological Findings". *Transplantation*, 1976, 22: 345-348.
- 201.-LEE, D. and WALKER, J.M.: "Maintenance of the functional state of isolated rat liver by hypothermic perfusion with an erythrocyte-free medium". *Transplantation*, 1977, 23: 136-141.
- 202.-LEGER, L.; CHAPUIS, J.P. et LENRIOT, J.P.: "Grefe heterotopique d'un foie de babouin sur une malade atteinte d'hepatite fulminante". *Chirurgie*, 1970, 96: 249.
- 203.-LEGER, L.; MARCENAC, N.; MATHE, G.; PATEL, J. Cl.; NEVEUX, J.Y.; CHAPUIS, Y.; LENRIOT, J.P.; TUBIANA, M.; LEROY, G.; LEMAIGRE, G. et FRENOY, P.: "Etat actuel de notre experience de la transplantation hepatique chez l'animal". *Mem. Acad. Chir.*, 1965, 91: 289-296.
- 204.-LEGER, L.; MARCENAC, N.; TUBIANA, M.; PATEL, J. Cl.; NEVEUX, J.Y.; CHAPUIS, Y.; LENRIOT, J.P.; LEROY, G. et FRENOY, P.: "Transplantation heterotopique du foie chez le chien: Scintigraphie de controle au 38e jour". *Mem. Acad. Chir.*, 1965, 91: 148-156.
- 205.-LEGER, L.; MARCENAC, M.; MATHE, G.; PATEL, J. Cl.; NEVEUX, J.Y.; CHAPUIS, Y.; LENRIOT, J.P.; TUBIANA, M.; LEROY, G.; LEMAIGRE, A.; et FRENOY, P.: "Notre experience de la transplantation hepatique chez l'animal". *Rev. Intern. Hepat.*, 1965, 15: 1531-1542.
- 206.-LEGER, L.; CHAPUIS, Y.; NEVEUX, J.Y.; LENRIOT, J.P.; PATEL, J.Cl.; LANGRAND, L.; WOELL, G. et FRENOY, P.: "Etude experimentale des possibilites de survie hepatique en vue d'epuration et de transplantation". *Mem. Acad. Chir.*, 1966, 92: 497-503.
- 207.-LEHNINGER, A.L.: "Bioquímica". Omega Ed., S.A., Barcelona, 1972.
- 208.-LEHNINGER, A.L.: "Bioenergetics". Benjamin, Inc., Nueva York, 1965.
- 209.-LEONARD, T.B.; NEPTUN, D.A. and POPP, J.A.: "Serum Gamma Glutamyl Transferase as a Specific Indicator of Bile Duct Lesions in the Rat Liver". *A.J.P.*, 1984, 116: 262-269.
- 210.-LEWIS, J.H.; BONTEMPO, F.A.; SPERO, J.A.; RAGNI, M.V. and STARZI, T.E.: "Liver transplantation in a hemophiliac". *New Engl. J. Med.*, 1985, 312: 1189.

- 211.-LIE, T.S.; NAKANO, H.; BUMANOWSKI, W. and ROMMELSHEIM, K.: "Active enhancement of canine liver allografts-effect of pretreatment with prednisolone and donor-specific antigen". *Surgery*, 1976, 80: 565-568.
- 212.-LIE, T.S.; RAO, G.S.; UEDA, T.; KIM, B.R. and ROMMELSHEIM, K.: "Active enhancement of canine liver allografts with polyspecific antigen". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1978, 146: 783-788.
- 213.-LIE, T.S.; RASCHE, A.; GUNDERMANN, K.J.; KIM, Y.Z. and BERNHARDT-HUTH, D.: "Is the humoral transfer factor responsible for the prolonged survival of rat liver allografts?". *Eur. Surg. Res.*, 1980, 12:23-32.
- 214.-LIE, T.S. and UKIKUSA, M.: "Significance of Alkaline Preservation Solutions in Liver Transplantation". *Transpl. Proc.*, 1984, 16: 134-137.
- 215.-LIMMER, J. AND CALNE, R.Y.: "A simplified technique for orthotopic liver transplantation in the rat using a cuff. Technique for portal vein and infrahepatic vena cava anastomoses". *Eur. Surg. Res.*, 1981, 13: 236-242.
- 216.-LINDSEY, J.R.: "Historical foundations". In: *The laboratory rat: volume I*. New York. Academic Press, 1979: 1-36.
- 217.-LIPMANN, F.: "Metabolic Generation and utilization of Phosphate Bond Energy". *Advan. Enzymol.*, 1941, 1:99-162.
- 218.-LLOYD, C.: "Fibronectin: a function at the junction". *Nature*, 1979, 279: 473-474.
- 219.-LUM, C.T.; WANNER, F.J. and TEVETHIA, S.S.: "Preservation of ATP in Cyclosporine (Cy A) Treated Cytotoxic T Cells". 10th. Intern. Congr. Transpl. Soc., 1984: S17.6.
- 220.-LUM, G. and GAMBINO, S.R.: "Serum gamma-glutamyl transpeptidase activity as an indicator of disease of liver, pancreas or bone". *Clin. Chem.*, 1972, 18:338-363.
- 221.-LUNDIN, A.: "Analytical applications of bioluminescence: the firefly system". In: *Clinical and biochemical luminisence*, By Kricka, L.J. Dekker, New York, 1982:44-74.
- 222.-LYGIDAKIS, N.J.: "Segmental Auxiliary Liver Transplantation: A New Approach to an Old Problem". *J. Surg. Res.*, 1985, 38: 246-251.
- 223.-MAKI, T.; SAKAI, A.; PETTIROSSI, O. and KOUNTZ, S. L.: "En Bloc transplantation of the liver, pancreas, duodenum, spleen, and kidney in the rat". *Transplantation*, 1977, 24:256-262.
- 224.-MAKI, T. and SLAPAK, M.: "Can a heterotopically placed segmental liver graft be life supporting?. An affirmative finding". *Br. J. Surg.*, 1974, 61: 33.

- 225.-MAKOWKA, L.; FALK, R.E.; ROTSTEIN, L.E.; FALK, J.A.; NOSSAL, N.; LANGER, B.; BLENDIS, L.M. and PHILLIPS, M.J.: "Cellular Transplantation in the Treatment of Experimental Hepatic Failure". *Science*, 1980, 210: 901-903.
- 226.-MAKOWKA, L.; ROTSTEIN, L.E.; FALK, R.E.; FALK, J.A.; LANGER, B.; NOSSAL, N.A.; BLENDIS, L.M. and PHILLIPS, M.J.: "Reversal of toxic and anoxic induced hepatic by syngeneic, allogeneic, and xenogeneic hepatocyte transplantation". *Surgery*, 1980, 88: 244-253.
- 227.-MALLOY, H.T. and EVELYN, K.A.: "The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter". *J. Biol. Chem.*, 1937, 119:481-490.
- 228.-MARCHIORO, T.L.; PORTER, K.A.; DICKINSON, T.C.; FARIS, T.D. and STARZL, T.E.: "Physiologic requirements for auxiliary liver homotransplantation". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1965, July: 17-31.
- 229.-MARCHIORO, T.L.; HUNTLEY, R.T.; WADDELL, W.R. and STARZL, T.E.: "Extracorporeal perfusion for obtaining postmortem homografts". *Surgery*, 1963, 54: 900-907.
- 230.-MARCHIORO, T.L.; PORTER, K.A.; DICKINSON, T.C.; FARIS, T.D. and STARZL, T.E.: "Physiologic requirements for auxiliary liver homotransplantation". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1965, 121: 17-27.
- 231.-MARGREITER, R.; HUBER, C.; NIEDERWIESER, D.; GRATWOHL, A.; FROMMHOLD, H. and SCHONITZER, D.: "Combined Bone Marrow and Liver Transplantation With Total Body Irradiation and High-dose Cyclophosphamide in the Treatment of Metastatic Liver Disease". *Transpl. Proc.*, 1985, 17: 296-297.
- 232.-MARION, P.: "Transplantations cardiaques et hepatiques". *Lyon Medical*, 1969, 222: 607-613.
- 233.-MARION, P.; BERTOYE, A.; MIKAELOFF, Ph.; BOLOT, J.F.; BERARD, Ph. et RASSAT, J.P.: "Traitement du coma hepatique par transplantation auxiliaire heterologue du foie". *Chirurgie*, 1970, 96: 152-167.
- 234.-MARNI, A. and FERRERO, M.E.: "Heterotopic liver grafting in the rat. A Simplified Method Using Cuff Techniques". *Transplantation*, 1985, 39: 329-331.
- 235.-MARQUEZ, J.; MARTIN, D.; KANG, Y.G.; SHAW, B.Jr.; VIRJI, M.A.; WARTY, V.S.; SASSANO, J.J.; WATERMAN, P.; STARZL, T.E.; WINTER, P.M. and PINSKY, M.: "Cardiovascular depression secondary to citrate intoxication during hepatic transplantation in man". *En Prensa*.
- 236.-MARTIN, D.J.; MARQUEZ, J.M.; KANT, Y.G.; SHAW, B.W.Jr. and PINSKY, M.R.: "Liver transplantation: Hemodynamic and electrolyte changes seen immediately following revascularization". *Anesth. Analg.*, 1984, 63: 175-284.

- 237.-MARTIN, D.J.; MARQUEZ, J.M.; KANG, Y.G.; SHAW, B.W.Jr. and WINTER, P.M.: "Anesthesia for liver transplantation in adults". En Prensa. Univ. de Pittsburgh.
- 238.-MARUBAYASHI, S.; TAKENAKA, M.; DOHI, K.; EZAKI, H. and KAWASAKI, T.: "Adenine Nucleotide metabolism during hepatic ischemia and subsequent blood reflow periods and its relation to organ viability". Transplantation, 1980, 30:294-296
- 239.-MATSUDA, M.; YAMANAKA, T. and MATSUDA, A.: "Distribution of fibronectin in plasma and liver in liver diseases". Clinica Chimica Acta, 1982, 118: 191-199.
- 240.-Mc BRIDE, R.A.; WHEELER, H.B.; SMITH, L.L.; MOORE, F.D. and DAMMIN, G.J.:  
"Homotransplantation of the canine liver as an orthotopic vascularized graft. Histologic and functional correlations during residence in the new host ". Am. J. Path., 1962, 41: 501-514.
- 241.-McELROY, W.D. and DeLUCA, M.: "The chemistry and applications of firefly luminescence". In: Bioluminescence and Chemiluminescence". By: DeLuca, M., Academic Press, New York, 1981:179-186.
- 242.-McMASTER, P.; HERBERTSON, B.M.; CUSICK, C.; CALNE, R.Y. and WILLIAMS, R.: "Biliary sludging following liver transplantation in man". Transplantation, 1978, 25: 56-67.
- 243.-McMASTER, P.; HERBERTSON, B.M.; CUSICK, C.; CALNE, R.Y.; SYRAKOS, T. and MARNI, A.: "The development of biliary "Sludge" following liver transplantation". Transplant. Proc., 1979, 11: 262-271.
- 244.-MEHREZ, I.O.; NABSETH, D.C.; KEKIS, B.P.; APOSTOLOU, K.; GOTTLIEB, L.S. and DETERLING, R.A.: "Homotransplantation of the canine liver: A new technic". Ann. Surg., 1964, 159: 416-421.
- 245.-MITTNACHT, S.Jr. and FARBER, J.L.: "Reversal of Ischemic Mitochondrial Dysfunction". J. Biol. Chem., 1981, 256: 3199-3206.
- 246.-MITTNACHT, S.Jr.; SHERMAN, S.C. and FARBER, J.L.: "Reversal of Ischemic Mitochondrial Dysfunction". J. Biol. Chem., 1979, 254: 9871-9878.
- 247.-MIYATA, M.; FISCHER, J.H.; FUHS, M.; ISSELHARD, W. and KASAI, Y.: "A simple method for orthotopic liver transplantation in the rat". Transplantation, 1980, 30: 335-338.
- 248.-MONDEN, M.; BARTERS, R.H. and Fortner, J.G.: "A simple method of orthotopic liver transplantation in dogs". Ann. Surg., 1982, 195: 110-116.

- 249.-MOORE, F.D.: "Orthotopic homotransplantation of the liver-looking ahead after the first decade". In: *The Liver*. Ed. by READ, A.E., London Butterworths. 1967: 299-305.
- 250.-MOORE, F.D.; SMITH, L.L.; BURNAPP, T.K.; DALLENBACH, F.D.; DAMMIN, G.J.; GRUBER, U.F.; SHOEMAKER, W.C.; STEENBURG, R.W.; BALI, M.R. and BELKO, J.S.: "One stage homotransplantation of the liver following total hepatectomy in dogs". *Transpl. Bull.*, 1959, 6: 103-109.
- 251.-MOORE, F.D.; BIRTCHE, A.G.; DAGHER, F.; VEITH, F.; KRISHER, J.A.; ORDER, S.E.; SHUCART, W.A.; DAMMIN, G.J. and COUCH N.P.: "Immunosuppression and vascular insufficiency in liver transplantation". *Ann. N.Y. Acad. Sc.*, 1964, 120: 729-732.
- 252.-MOORE, F.D.; WHEELER, H.B.; DEMISSIANOS, H.V.; SMITH, L.L.; BALANKURA, O.; ABEL, K.; GREENBERG, J.B. and DAMMIN, G.J.: "Experimental whole-organ transplantation of the liver and of the spleen". *Ann. Surg.*, 1960, 152: 374-379.
- 253.-MORA, N.P.; CIENFUEGOS, J.A.; CASTILLO-OLIVARES, J.L. y FIGUERA, D.: "Preservación hepática: Fundamentos, situación actual y perspectivas". *Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.*, 1986, 69:177-184.
- 254.-MORRISON, P.R.; EDSALL, J.T. and MILLER, S.G.: "Preparation and properties of serum and plasma proteins (XVIII). The separation of purified fibrinogen from fraction I of human plasma". *J. Am. Chem. Soc.*, 1948, 70:3103-3108.
- 255.-MOSESSON, M.W. and AMRANI, D.L.: "The Structure Biologic Activities of Plasma Fibronectin". *Blood*, 1980, 56: 145-158.
- 256.-MOSESSON, M.W.; CHEN, A.B. and HUSEBY, R.M.: "C Ig of human plasma: studies of its essential structural features". *Biochimica et Biophysica Acta*, 1975, 38: 509-524.
- 257.-MOSESSON, M.W.; COLMAN, R.W. and SHERRY, S.: "Chronic intravascular coagulation syndrome. Report of a case with special studies of an associated plasma cryoprecipitate (Cryofibrinogen)". *New Engl. J. Med.*, 1968, 278:815-821.
- 258.-MOSESSON, M.W. and UMFLEET, R.A.: "The cold-insoluble globulin of human plasma". *J. Biol. Chem.*, 1970, 245:5728-5736.
- 259.-MOSHER, D.F.: "Changes in plasma c Ig concentration during experimental Rocky Mountain Spotted fever infection in rhesus monkeys". *Throm. Res.*, 1976, 9:37-45.
- 260.-MOSHER, D.F.: "Cross-linking of cold-insoluble globulin by fibrin-stabilizing factor". *J. Biol. Chem.*, 1975, 250:6614-6621.

- 261.-MOSHER, D.F.: "Fibronectin". Progress in Hemostasis and Thrombosis, Spaet, ed. Grune Stratton, New York, 1980, 5:115-151
- 262.-MOSHER, D.F.: "Physiology of fibronectin". Ann. Rev. Med., 1984, 35: 561-575.
- 263.-MOSHER, D.F. and WILLIAMS, E.M.: "Fibronectin concentration is decreased in plasma of severely ill patients with disseminated intravascular coagulation". J. Lab. Clin. Med., 1978, 91: 729-735.
- 264.-MOUZAS, G.L.; HEECKEREN, v.D. and MATANO, I.: "Auxiliary liver transplantation in dogs with arterialization of the portal vein". Int. Surg., 1967, 47: 220-229.
- 265.-NAGAFUCHI, Y.; THOMAS, H.C.; HOBBS, K.E.F. and SCHEUER, P.J.: "Expression of beta-2-microglobulin on hepatocytes after liver transplantation". Lancet, 1985, March 9: 551-554.
- 266.-NAJARIAN, J.S. and ASHER, N.L.: "Liver transplantation". N. Engl. J. Med., 1984, 311: 1.179-1.181.
- 267.-NEUBERGER, J.; PORTMANN, B.; CALNE, R.Y. and WILLIAMS, R.: "Recurrence of Autoimmune Chronic Active Hepatitis Following Orthotopic Liver Grafting". Transplantation, 1984, 37: 363-365.
- 268.-NEUBERGER, J.; PORTMANN, B.; MACDOUGALL, B.R.D.; CALNE, R.Y. and WILLIAMS, R.: "Recurrence of Primary Biliary Cirrhosis after Liver Transplantation". New. Engl. J. Med., 1982, 306: 1-4.
- 269.-NEUHAUS, P.; BROLSCH, Ch.; RINGE, B.; LAUCHART, W. and PICHLMAYR, R.: "Experience with Combined Donor Nephrectomy and Hepatectomy". Transplantation Proceedings, 1984, 16: 235-237.
- 270.-NEWSHOLME, E.A.: "Biochemistry for the medical sciences". Wiley & Sons, Chichester, 1983.
- 271.-NIEWIAROWSKA, J. and CIERNIEWSKIC, S.: "Inhibitory effects of fibronectin on the fibrin formation". Throm. Res., 1982, 27:611-618.
- 272.-NITZE, M.: Centralblatt Chir., 1897, 39:1042.
- 273.-NORTHOVER, J.M.A.; HICKMAN, R.; WATSON, R.G.K. and TERBLANCHE, J.: "Healing of the bile duct anastomosis after transverse choledochotomy or transplantation of the liver in the pig". Surg. Gynecol. Obstet., 1985, 160: 33-36.
- 274.-OWENS, M.R. and CIMINO, C.D.: "Synthesis of Fibronectin by the Isolated Perfused Rat Liver". Blood, 1982, 59: 1305-1309.

- 275.-PANGAN, J.; POPOWITZ, L.; SOBOCINSKI, L.; MINKOWITZ, S.; JOSEPHSON, A.; VALENTI, C. and GLIEDMAN, M.L.: "Heterograft model for auxiliary liver transplantation in the dog". *Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs*, 1966, 12: 265-271.
- 276.-PAYR, E.: "Beitrage zur Technik der Blutgefass und Nervennaht nebst Mittheilungen uber die Verwendung eines resorbirbaren Metalles in der Chirurgie". *Arch. Klin. Chir.*, 1900, 62:67-93.
- 277.-PEACOCK, J.H. and TERBLANCHE, J.: "Orthotopic homotransplantation of the liver in the pig". In: A.E.READ (Ed.), *Colston Papers. The Liver*. London Butterworths, 1967, 19: 333-336.
- 278.-PEARLSTEIN, E.; GOLD, L.I. and GARCIA-PARDO, A.: "Fibronectin: A review of its structure and biological activity". *Molec. Cell. Biochem.*, 1980, 29: 103-128.
- 279.-PEREZ, V.: "Enfermedades del hígado". Ateneo, Buenos Aires, 1981.
- 280.-PERKINS, H.A.: "Complejo principal de histocompatibilidad del humano (MHC)". En: *Inmunología clínica*, por Fudenberg, Manual Moderna, Mexico, 1982:186-196.
- 281.-PIERROT, M.; HABIBI, B.; ALLAIN, J.P.; FABRE, F. et CASTERAN, R.: "Fibronectin humaine dans le traitement des états septiques". *Pres. Méd.*, 1955, 14:79-82.
- 282.-POILEY, S.M.: "History and information concerning the rat colonies in the animal section of the National Institute of Health". In: Heston, W.E. (ed.), *Rat quality - a consideration of heredity, diet and disease*. New York. Natl. Vitam. Found. 1953: 86-97.
- 283.-POLLAK, R.: "The indications for orthotopic liver transplantation in humans". *Curr. Surg.*, 1985, January-February: 1-3.
- 284.-POLSON, R.J.; POWELL-JACKSON, P.R. and WILLIAMS, R.: "Convulsions associated with cyclosporin A in transplant recipients". *Brit. Med. J.*, 1985, 290: 1003-1011.
- 285.-POMMIER, C.G.; O'SHEA, J. and CHUSED, T.: "Studies on the fibronectin receptors of human peripheral blood leukocytes. Morphologic and functional characterization". *J. Exp. Med.*, 1984, 159:137-151.
- 286.-PONTEGNIE-ISTACE, S. and LAMBOTTE, L.: "Liver Adenine Nucleotide Metabolism during Hypothermic Anoxia and a Recovery Period in perfusion". *J. Surg. Res.*, 1977, 23: 339-347.
- 287.-PORTER, K.A.: "Pathology of the auxiliary homograft". In: *Experience in hepatic transplantation*. Edited by T.E. STARZL and C.W. PUTMAN. Philadelphia, W.B.SAUNDERS Company, 1969: 516-527.

- 288.-PORTER, K.A.; THOMSON, W.B.; OWEN, K.; KENYON, J.R.; MOWBRAY, J.F. and PEART, W.S.: "Obliterative vascular changes in four human kidney homotransplants". *Brit. M. J.*, 1963, 1:639-651.
- 289.-POUYET, M. et BERARD, Ph.: "Deux cas de transplantation heterologues du foie de babouin au cours d' hepatites aiguës malignes". *Lyon Chir.*, 1971, 67: 287-291.
- 290.-POWELL-JACKSON, P.R.; CARMICHAEL, F.J.L.; CALNE, R.Y. and WILLIAMS, R.: "Adult Respiratory Distress Syndrome and Convulsions Associated with Administration of Cyclosporine in Liver Transplant Recipients". *Transplantation*, 1984, 38: 341-343.
- 291.-POWELL-JACKSON, P.; WYKE, R.J. and WILLIAMS, R.: "Postoperative management". In: *Liver transplantation*. Ed. By CALNE, R.Y. GRUNE and STRATTON, 1983: 181.
- 292.-PROCTOR, R.A.; PRENDEGAST, E. and MOSHER, D.F.: "Opsonization of bacteria by fibronectin". *Clin Res.*, 1979, 27:650-653.
- 293.-PUSSELL, B.A.; PEAKE, P.W.; BROWN, M.A. and CHARLESWORTH, J.A.: "Human Fibronectin Metabolism". *J. Clin. Invest.*, 1985, 76: 143-148.
- 294.-RAFFUCCI, F.L.; LEWIS, F.J. and WANGENSTEEN, O.H.: "Hypothermia in experimental hepatic surgery". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1953, 83: 639-643.
- 295.-RAGNI, M.V.; LEWIS, J.M.; SPERO, J.A. and BONTEMPO, F.A.: "Plasma fibronectin levels in clinical states after cryoprecipitate infusion". *Thrombosis and Haemostasis*, 1984, 52:321-324.
- 296.-REUVERS, C.B.; TERPSTRA, O.T.; GROOT, G.H.de; KOOY, P.P.M.; ten KATE, F.W.J.; SCHALM, S.W.; MOLENAAR, J.C. and JEEKEL, J.: "Auxiliary Transplantation of a Partially Hepatectomized Liver in Pigs with Fulminant Hepatic Failure". *Transplantation Proceedings*, 1984, 16: 1236-1239.
- 297.-REUVERS, C.B.; TERPSTRA, O.T.; TEN KATE, F.W.J.; KOOY, P.P.M.; MOLENAAR, J.C. and JEEKEL, J.: "Long-term survival of auxiliary partial liver grafts in DLA-Identical littermate beagles". *Transplantation*, 1985, 39: 113-118.
- 298.-RHODES, R.S.; DePALMA, R.G. and DRUET, R.L.: "Reversibility of ischemically induced mitochondrial dysfunction with reperfusion". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1977, 145: 719-724.
- 299.-RICHTER, C.P.: "Rats, man, and the welfare state". *Am. Psychol.*, 1959, 14: 18-28.

- 300.-RODRIGUEZ ALVAREZ, J.: "Trasplante hepático". Tesis Doctoral, Univ. Autónoma de Madrid, 1974.
- 301.-RODRIGUEZ, S.; ORDI, J.; VILARDELL, M. y VICENTE, P.: "Tasa de fibronectina plasmática en pacientes con cirrosis hepática. Su relación con el factor V coagulante". Med. Clin., 1985, 85: 746-748.
- 302.-ROLLES, K.: "Liver Transplantation". Cambridge Medicine, 1981, 1: 10-12.
- 303.-ROLLES, K.: "Donor operations and preservation of the liver". In: Liver transplantation. Ed. By CALNE, R.Y., Grune and Stratton, 1983: 105.
- 304.-ROSENBERG, P.H.; OIKKONEN, M.P.; ORKO, R.H. and SCHININ, B.M.A.: "A Transplanted Liver Rapidly Begins to Metabolize Enflurane in Humans". Anesth. Analg., 1984, 63: 1131-1132.
- 305.-ROSER, B.J.; KAMADA, N.; ZIMMERMANN, F. and DAVIES, H.F.S.: "Immunosuppressive effect of experimental liver allografts". In: Calne, R.Y. Liver Transplantation. Grune & Stratton, New York, 1983:35.
- 306.-SABA, T.M.: "Plasma Fibronectin (Opsonic Glycoprotein): Its Synthesis by Vascular Endothelial Cells and Role in Cardiopulmonary Integrity After Trauma as Related to Reticuloendothelial Function". Am. J. Med., 1980, 68: 577-594.
- 307.-SABA, T.M.: "Prevention of Liver Reticuloendothelial Systemic Host Defense Failure After Surgery by Intravenous Opsonic Glycoprotein Therapy". Ann. Surg., 1978, 188: 142-152.
- 308.-SABA, V.: "Stato attuale e prospettive del trapianto di fegato". Min. Chir., 1980, 71: 3495-3496.
- 309.-SABA, T.M.; ALBERT, W.H.; BLUMENSTOCK, F.A. and EVANEGA, G.: "Evaluation of a rapid immunoturbidimetric assay for opsonic fibronectin in surgical and trauma patients". J. Lab. Clin. Med., 1981, 98:482-491.
- 310.-SALONEN, E.M.; VARTIO, T.; HEDMAN, K. and VAHERI, A.: "Binding of Fibronectin by the Acute Phase Reactant C-reactive Protein". J. Biol. Chem., 1984, 259:1496-1501.
- 311.-SANGHVI, A.: "Impact of Organ Transplant Program on the Clinical Chemistry laboratory at the University of Pittsburgh". Arch. Pathol. Lab. Med., 1986, 110:95-97
- 312.-SATOMURA, K.; TERADA, M.; HIROOKA, M.; YAMAMOTO, K.; IWAHASHI, K.; MAETANI, S.; MARUYANA, I.; YOSHINAGA, M. and MURAOKA, R.: "A simplified method for orthotopic transplantation of the liver in dogs". Surgery, 1967, 62: 915.
- 313.-SCHIFF, L.: "Enfermedades del hígado". Salvat, Barcelona, 1980.

- 314.-SCUDAMORE, C.H.; CALNE, R.Y. and ROLLES, K.: "The Multiple Organ Donor: The Cambridge Experience". *Transpl. Proc.*, 1984, 16: 225-230.
- 315.-SHAW, B.W.Jr.; GORDON, R.D.; IWATSUKI, S. and STARZL, T.E.: "Hepatic Retransplantation". *Transpl. Proc.*, 1985, 17: 264-271.
- 316.-SHAW, B.W.Jr.; HAKALA, T.; ROSENTHAL, J.T.; IWATSUKI, S.; BROZNICK, B. and STARZL, T.E.: "Combination donor hepatectomy and nephrectomy and early functional results of allografts". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1982, 155: 321-325.
- 317.-SHAW, B.W.; IWATSUKI, S. and STARZL, T.E.: "Alternative methods of hepatic graft arterialization". *En Prensa*, 1985.
- 318.-SHAW, B.W.Jr.; MARTIN, D.J.; MARQUEZ, J.M.; KANG, Y.G.; BUGBEE, A.C.; IWATSUKI, S.; GRIFFITH, B.P.; HARDESTY, R.L.; BAHNSON, H.T. and STARZL, T.E.: "Venous Bypass in Clinical Liver Transplantation". *Ann. Surgery*, 1984, 200: 524-534.
- 319.-SHAW, B.W.Jr.; ROSENTHAL, J.T.; GRIFFITH, B.P.; HARDESTY, R.L.; HAKALA, T.R. and STARZL, T.E.: "Early Function of Heart, Liver and Kidney Allografts Following Combined Procurement". *Transplantation Proceedings*, 1984, 16: 238-242.
- 320.-SHEIL, A.G.R.; ROGERS, J.H.; HALLIDAY, J.P.; STOREY, B.G.; KELLY, G.E. and MASON, R.: "Auxiliary canine liver transplantation from cadaver donors". *Arch. Surg.*, 1970, 100: 290.
- 321.-SHEIL, A.G.R.; ROGERS, J.; MAY, J.; STOREY, B.; KURUVILA, J.T.; GEORGE, C.; BERRY, F.R. and STEWART, J.H.: "Simplified technique for human auxiliary liver transplantation". *Amer. J. Surg.*, 1969, 117: 359-362.
- 322.-SHERLOCK, S.: "Diseases of the Liver and Biliary System". Blackwell, Oxford, 1981.
- 323.-SHERMAN, L.A. and LEE, J.: "Fibronectin: Blood Turnover in Normal Animals and During Intravascular Coagulation". *Blood*, 1982, 60: 558-563.
- 324.-SHERMAN, L.A. and LEE, J.: "New plasma components". *Clinics in Haematology*, 1983, 13:17-38.
- 325.-SHIBA, Y.; MUNEOKA, Y. and KANNO, Y.: "The relationship between membrane potential and ATP content in rat liver during ischemia". *Experientia*, 1978, 15: 57-58.
- 326.-SHULMAN, H.M.: "Chronic graft-versus-host Syndrome in Man". *Am. J. Med.*, 1980, 69:204-217.

- 327.-SICULAR, A.; PARONETTO, F.; KARK, A.E.; DREILING, D.A.; BURROWS, L. and POPPER, H.: "Rejection of the homotransplanted dog liver in the absence of hepatic insufficiency". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1963, 112 : 760.
- 328.-SICULAR, A.; DREILING, D.A.; PARONETTO, F. and KARK, A.E.: "Studies of rejection of the homotransplanted canine liver". *Surg. Forum*, 1963, 14: 202.
- 329.-SIMONSEN, M.; BUEMANN, J.; GAMMELTOFT, A.; JENSEN, F. and JORGENSEN, K.: "Biological incompatibility in Kidney transplantation in dogs". *Acta Path. microb. scand.*, 1953, 32:1-13.
- 330.-SLAPAK, M.: "Is my patient a potential donor for kidney transplantation?". *Br. J. Hosp. Med.*, 1979, June: 627-632.
- 331.-SLAPAK, M.; BADDELEY, M.; GARCIA, F.; WEXLER, M.; BIORARD, M. and McDERMOTT, W.V.: "Extended preservation of the primate liver by simple cooling and orthotopic autotransplantation". *Surg. Forum.*, 1970, 21: 348-353.
- 332.-SLAPAK, M.; BEAUDOIN, J.G.; LEE, H.M. and HUME, D.M.: "Auxiliary liver homotransplantation: A new technique and an evaluation of current techniques". *Arch. Surg.*, 1970, 100: 31-41.
- 333.-SLAPAK, M. and MAKI, T.: "Long-term preservation of the canine liver using auxiliary autotransplantation as a functional test". *Transpl. Proc.*, 1974, 6: 295-303.
- 334.-SNOVER, D.C.; SIBLEY, R.K.; FREESE, D.K.; SHARP, H.L.; BLOOMER, J.R.; NAJARIAN, J.S. and ASCHER, N.L.: "Orthotopic Liver Transplant Rejection: A Sequential Liver Biopsy Study". *Transpl. Proc.*, 1985, 17: 272-273.
- 335.-SPIELMANN, H.; JACOB-MULLER, U. and SCULZ, P.: "Simple Assay of 0.1 pmol of ATP, ADP, and AMP in Single Somatic Cells Using Purified Luciferin Luciferase". *Anal. Biochem.*, 1981, 113:172-178.
- 336.-STARZL, T.E.: "Clinical auxiliary transplantation". In: *Experience in hepatic transplantation*. Edited by T.E. STARZL and C.W. PUTNAM. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1969: 492-515.
- 337.-STARZL, T.E.: "Loyal Davis, surgery of the liver and Transplantation of the kidney". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1983, 157: 160-163.
- 338.-STARZL, T.E.: "Orthotopic heterotransplantation". In: *Experience in hepatic transplantation*. Edited by T.E. STARZL and C.W. PUTNAM. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1969: 108.

- 339.-STARZL, T.E.; BRETTSCHEIDER, L. and GROTH, C.G.: "Recent developments in liver transplantation". In: Dausset, J., Hamburger, J. and Mathe, G. (Eds.), *Advance in Transplantation*. Copenhagen, Munksgaard, 1968: 633-637.
- 340.-STARZL, T.E.; BRETTSCHEIDER, L.; PENN, I.; BELL, P.; GROTH, C.G.; BLANCHARD, H.; KASHIWAGI, N. and PUTNAM, C.W.: "Orthotopic liver transplantation in man". *Transpl. Proc.*, 1969, 1: 216-222.
- 341.-STARZL, T.E.; BRETTSCHEIDER, L. and PUTNAM, C.W.: "Transplantation of the liver". In: Popper, H. and Schaffner, F. (eds.): *Progress in Liver Disease*. New York, Grune & Stratton, Inc., 1969.
- 342.-STARZL, T.E.; BUTZ, G.W.; BROCK, D.R.; LINMAN, J.W. and MOSS, W.T.: "Canine liver homotransplantation: The effect of host and graft irradiation". *Arch. Surg.*, 1962, 85: 460-469.
- 343.-STARZL, T.E.; FRANCAVILLA, A.; HALGRIMSON, C.G.; FRANCAVILLA, F.R.; PORTER, K.A.; BROWN, T.H. and PUTNAM, C.W.: "The origin, hormonal nature, and action of hepatotrophic substances in portal venous blood". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1973, 137: 179-199.
- 344.-STARZL, T.E.; GILES, G.; LILLY, J.R.; TAKAGI, H.; MARTINEAU, G.; SCHROTER, G.; HALGRIMSON, C.G.; PENN, I. and PUTNAM, C.W.: "Indications for orthotopic liver transplantation with particular reference to hepatomas, biliary atresia, cirrhosis, Wilson's disease and serum hepatitis". *Transpl. Proc.*, 1971, 3: 308-312.
- 345.-STARZL, T.E.; GROTH, C.G.; BRETTSCHEIDER, L.; MOON, J.B.; FULGINITI, V.A.; COTTON, E.K. and PORTER, K.A.: "Extended survival in 3 cases of orthotopic homotransplantation of the human liver". *Surgery*, 1968, 63: 549-563.
- 346.-STARZL, T.E.; GROTH, C.G.; BRETTSCHEIDER, L.; PENN, I.; FULGINITI, V.A.; MOON, J.B.; BLANCHARD, H.; MARTIN, A. Jr. and PORTER, K.A.: "Orthotopic transplantation of the human liver". *Ann. Surg.*, 1968, 168: 392-415.
- 347.-STARZL, T.E.; HAKALA, T.R.; SHAW, B.W.Jr.; HARDESTY, R.L.; ROSENTHAL, T.J.; GRIFFITH, B.P.; IWATSUKI, S. and BAHNSON, H.T.: "A flexible procedure for multiple cadaveric organ procurement". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1984, 158: 223-130.
- 348.-STARZL, T.E.; IWATSUKI, S.; ESQUIVEL, C.; TODO, S.; KAM, I.; LYNCH, S.; GORDON, R.D. and SHAW, B.W.Jr.: "Total hepatectomy for liver transplantation under veno-venous bypass: with emphasis on elimination of bare areas". *En Prensa*.
- 349.-STARZL, T.E.; IWATSUKI, S.; KLINTMALM, G.; SCHROTER, G.P.; WEIL, R.; KOEP, L.J. and PORTER, K.A.: "Liver transplantation, 1980, with particular reference to cyclosporin A". *Transpl. Proc.*, 1981, 13: 281-289.

- 350.-STARZL, T.E.; IWATSUKI, S.; MALAIACK, J.J.; ZITELLI, B.J.; GARTNER, J.C.; HAKALA, T.R.; ROSENTHAL, J.T. and SHAW, B.W.Jr.: "Liver and Kidney transplantation in children receiving cyclosporin A and steroids". *J. Pediatr.*, 1982, 100: 681-686.
- 351.-STARZL, T.E.; IWATSUKI, S.; SHAW, B.W.Jr. and GORDON, R.D.: "Orthotopic Liver Transplantation in 1984". *Transpl. Proc.*, 1985, 17: 250-258.
- 352.-STARZL, T.E. and KAUPP, H.A.: "Mass homotransplantation of abdominal organs in dogs". *Surg. Forum*, 1960, 11: 28-34.
- 353.-STARZL, T.E.; KAUPP, H.A.; BROCK, D.R.; BUTZ, G.W. and LINMAN, J.W.: "Homotransplantation of multiple visceral organs". *Am. J. Surg.*, 1962, 103: 219-223.
- 354.-STARZL, T.E.; KAUPP, H.A.; BROCK, D.R.; LAZARUS, R.E. and JOHNSON, R.V.: "Reconstructive problems in canine liver homotransplantation with special reference to the postoperative role of hepatic venous flow". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1960, 111: 733-743.
- 355.-STARZL, T.E.; KAUPP, H.A.; BROCK, D.R. and LINMAN, J.W.: "Studies on the rejection of the transplanted homologous dog liver". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1961, 112: 135-144.
- 356.-STARZL, T.E.; KLINTMALM, G.B.G.; PORTER, K.A.; IWATSUKI, S. and SCHROTER, G.P.J.: "Liver transplantation with use of cyclosporin A and prednisone". *New Engl. J. Med.*, 1981, July 30: 266-269.
- 357.-STARZL, T.E.; KOEP, L.J.; HALGRIMSON, C.G.; HOOD, J.; SCHROTER, G.P.J.; PORTER, K.A. and WEIL, R.: "Fifteen years of clinical liver transplantation". *Gastroenterology*, 1979, 77: 375-388.
- 358.-STARZL, T.E.; KOEP, L.J.; WEILL III R. and HALGRIMSON, C.G.: "Development of a suprahepatic recipient vena cava cuff for liver transplantation". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1979, 149: 77-84.
- 359.-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L. and FARIS, D.T.: "Liver transplantation". *Ann. Intern. Med.*, 1966, 64: 473-482.
- 360.-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; FARIS, T.D.; Mc CARDLE, R.J. and IWASAKI, Y.: "Avenues of future research in homotransplantation of the liver with particular reference to hepatic supportive procedures, antilymphocyte serum, and tissue typing". *Am. J. Surg.*, 1966, 112: 391-399.
- 361.-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; HUNTLEY, R.T.; RIFKIND, D.; ROWLANDS, D.T.; DICKINSON, T.C. and WEDDELL, W.R.: "Experimental and clinical homotransplantation of the liver". *Ann. N.Y. Acad. Sc.*, 1964, 120: 739-744.
- 362.-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; and PORTER, K.A.: "Experimental and clinical observations after homotransplantation of the whole liver". *Rev. Intern. Hepat.*, 1965, 15: 1447-1452.

- 363.-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L. and PORTER, K.A.: "Progress in homotransplantation of the liver". In: *Advances in Surgery*. Edited by C. WELCH. 1966, 2: 295-370.
- 364.-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; PORTER, K.A. and BRETTSCHEIDER, L.: "Homotransplantation of the liver". *Transplantation*, 1967, 5: 790-798.
- 365.-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; PORTER, K.A.; FARIS, T.D. and CAREY, T.A.: "The role of organ transplantation in pediatrics". *Pediat. Clin. N. Amer.*, 1966, 13: 381-422.
- 366.-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; PORTER, K.A.; FARIS, D.T.; HERMANN, T.J.; HLAD, C.J. and WADDELL, W.R.: "Factors determining short and long term survival after orthotopic liver homotransplantation in the dog". *Surgery*, 1965, 58: 131-138.
- 367.-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; PORTER, K.A.; IWASAKI, Y. and CERILLI, G.J.: "The use of heterologous antilymphoid agents in canine renal and liver homotransplantation and in human homotransplantation". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1967, 124: 301-318.
- 368.-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; PORTER, K.A.; TAYLOR, P.D.; FARIS, T.D.; HERRMANN, T.J.; HLAD, C.J. and WADDELL, W.R.: "Factors determining short- and long-term survival after orthotopic liver homotransplantation in the dog". *Surgery*, 1965, 58: 131-155.
- 369.-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; RIFKIND, D.; ROWLANDS, D.T. and WADDELL, W.R.: "Clinical experience with organ transplantation". *Southern. Med. J.*, 1965, 58:131-138.
- 370.-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; ROWLANDS, D.T.; KIRKPATRICK, C.H.; WILSON, W.E.C.; RIFKIND, D. and WADDELL, W.R.: "Immunosuppression after experimental and clinical homotransplantation of the liver". *Ann. Surg.*, 1964, 160: 411-418.
- 371.-STARZL, T.E.; MARCHIORO, T.L.; VON KAULLA, K.N.; HERMANN, G.; BRITTAIN, R.S. and WADDELL, W.R.: "Homotransplantation of the liver in humans". *S.G.O.*, 1963, 117: 659-663.
- 372.-STARZL, T.E.; PORTER, K.A.; BRETTSCHEIDER, L.; PENN, I.; BELL, P.; PUTNAM, C.W. and McGUIRE, R.L.: "Clinical and pathologic observations after orthotopic transplantation of the human liver". *Surg. Gynec. Obstet.*, 1969, 128: 327-339.
- 373.-STARZL, T.E.; PORTER, K.A.; FRANCAVILLA, J.A.; BENICHO, J. and PUTNAM, C.W.: "A hundred years of the hepatotrophic controversy". In: *Hepatotrophic factors*. Ciba foundation Symposium 55, Elsevier. Excerpta Medica North-Holland 1978.
- 374.-STARZL, T.E.; PORTER, K.A. and PUTNAM, C.W.: "Eleven and two-thirds years' survival after canine orthotopic liver transplantation". *Transplantation*, 1977, 23: 163-170.

- 375.-STARZL, T.E.; SCHNECK, S.A.; MAZZONI, G.; ALDRETE, J.A.; PORTER, K.A.; SCHROTER, G.P.J.; KOEP, L.J. and PUTNAM, C.W.: "Acute Neurological Complications after Liver Transplantation with Particular Reference to Intraoperative Cerebral Air Embolus". *Ann. Surg.*, 1978, 187: 236-240.
- 376.-STATHAKIS, N.; FOUNTAS, A. and TSIANOS, E.: "Plasma fibronectin in normal subjects and in various disease states". *J. Clin. Pathol.*, 1981, 34: 504-508.
- 377.-STUART, F.P.; TORRES, E.; HESTER, W.J.; DAMMIN, G.J. and MOORE, F.D.: "Orthotopic autotransplantation and allotransplantation of the liver: functional and structural patterns in the dog". *Ann. Surg.*, 1967, 165: 325-340.
- 378.-STUART, F.P.; TORRES, E. and MOORE, F.D.: "The association of upper gastro-intestinal ulceration and orthotopic hepatic allotransplantation in the dog". *Transplantation*, 1967, 5: 304-312.
- 379.-SUBIRATS-BAYEGO, E.; BRUGUERA-CORTADA, M.; CAVALLE-OBIOLS, F.; VILA-SUBIRANA, T.; ROCA-TUTUSAUS, A. y BAGAN-MEZQUITA, L.: "Alteraciones histológicas en el hígado hipóxico. Estudio experimental". *Rev. Clin. Esp.*, 1982, 166: 145-147.
- 380.-SUBIRATS-BAYEGO, E.; CAVALLE-OBIOLS, F.; VILA-SUBIRANA, T.; ROCA-TUTUSAUS, A. y BAGAN-MEZQUITA, L.: "Alteraciones de las pruebas bioquímicas de funcionalismo hepático en las situaciones de hipoxia e hipercapnia: Estudio experimental". *Rev. Clin. Esp.*, 1982, 166: 135-136
- 381.-SUGANO, T.; SUDA, K.; SHIMADA, M. and OSHINO, N.: "Biochemical and Ultrastructural Evaluation of Isolated Rat Liver Systems Perfused with a Hemoglobin-Free Medium". *J. Biochem.*, 1978, 83: 995-1007.
- 382.-TAMISIER, D.; HOUSSIN, D.; GUGENHEIM, J.; BRUNAUD, M.D.; MARTIN, E. and BISMUTH, H.: "Spontaneous Long-Term Survival of Liver Allografts in Inbred Rats: Comparison between Semi-Allogeneic and Fully Allogeneic Strain Combinations". *Eur. Surg. Res.*, 1983, 15: 145-150.
- 383.-TAMKUM, J.W. and HYNES, O.: "Plasma Fibronectin is Synthesized and Secreted by Hepatocytes". *J. Biol. Chem.*, 1983, 258:4641-4647.
- 384.-TERBLANCHE, J. and RIDDELL, A.G.: "The strategy of liver transplantation". In: Read, A.E. (Ed.): *The Liver*. London, Butterworth&Co. Ltd., 1967: 321-332.
- 385.-TERBLANCHE, J.; DENT, D.M.; UYS, C.J.; HICKMAN, R.; ACKERMANN, J.R.W.; HARRISSON, G.G.; BIEBOYCK, J.F. and SAUNDERS, S.O.: "Baboon into pig and Kidney xenotransplantation". *S. Afr. Med. J.*, 1970, 44: 919-923.

- 386.-TERBLANCHE, J.; PEACOCK, J.H.; BOWES, J. and HOBBS, K.E.F.: "The technique of orthotopic liver homotransplantation in the pig". *J. Surg. Res.*, 1968, 8: 151-158.
- 387.-TERPSTRA, O.T.; REUVERS, C.B.; KOOY, P.P.M.; KATE, F.J.W. and JEEKEL, J.: "Auxiliary transplantation of a partial liver graft in the dog and the pig". *Nether. J. Surg.*, 1983, 35: 188-191.
- 388.-THOMFORD, N.R.; SHORTER, R.G. and HALLENBECK, G.A.: "Homotransplantation of the canine liver. Survival and histology with and without azathioprine". *Arch. Surg.*, 1965, 90: 527-538.
- 389.-TOLEDO-PEREYRA, L.H.: "Improvement of Liver Transplant Survival: New Avenues of Research". *Transpl. Proc.*, 1985, 17: 298-301.
- 390.-TOLEDO-PEREYRA, L.H.; CHEE, M.; LILLEHEI, R.C. and CONDIE, R.M.: "Liver preservation by cold storage with hyperosmolar solutions for twenty-four hours". *Cryobiology*, 1979, 16: 43-49.
- 391.-TOLEDO-PEREYRA, L.H.; GORDON, D.A. and MacKENZIE, G.H.: "Increased immunogenicity of canine liver cell allografts". *Surgery*, 1981, May: 641-642.
- 392.-TRETBAR, L.L.; BREVEN, E.G. and HERMANN, R.E.: "Homotransplantation of an auxiliary dog liver into the pelvis. Effect of portocaval shunt in the prevention of liver atrophy". *Surg. Forum*, 1965, 16: 219-226.
- 393.-TRETBAR, L.L.; BEVEN, E.G. and HERMANN, R.E.: "The effects of portacaval shunt and portal flow occlusion on canine auxiliary liver homotransplants". *Surgery*, 1967, 61: 733-738.
- 394.-TRUMP, B.F. and BULGER, R.E.: "Studies of cellular injury in isolated flounder tubules. IV. Electron microscopic observations of changes during the phase of altered homeostasis in tubules treated with cyanide". *Lab. Invest.*, 1968, 18:731-742.
- 395.-TRUMP, B.F.: "Death". In: *Encyclopedia of Science and Technology*, McGraw-Hill, New York, 1972, 1:32-35.
- 396.-TRUMP, B.F.; MERGNER, W.J.; KAHNG, M.W. and SALADINO, A.J.: "Studies on the Subcellular Pathophysiology of Ischemia". *Circulation*, 1976, 53: 17-26.
- 397.-TSUKAMOTO, Y.; HELSEL, W.E. and WAHL, S.M.: "Macrophage production of fibronectin, a chemoattractant for fibroblasts". *J. Immunol.*, 1981, 127: 673-678.
- 398.-UCHIDA, H.; MOTSAI, G.J.; RUIZ, O. and LILLEHEY, R.C.: "Experimental auxiliary liver allotransplantation. With special reference to biliary duct obstruction and hepatic arterial blood restriction of host liver". *Amer. J. Surg.*, 1970, 119: 138.

- 399.-VAIMAN, M.; BACOURT, F.; VILLIERS, P.A. And GARNIER, H.: "The influence of the major histocompatibility complex on liver allograft survival in the pig". *Transplantation*, 1976, 22: 402-404.
- 400.-VAN DE WATER, L.; SCHROEDER, S.; CRENSHAW, E.B. and HYNES, R.O.: "Phagocytosis of gelatin-latex particles by a murine macrophage line is dependant on fibronectin and heparin". *J. Cell Biol.*, 1981, 90:32-39.
- 401.-VELKY, T.S.; GREENBURG, A.G.; YANG, J.C. and FORBES, S.: "Modulators of plasma fibronectin response during sepsis". *Surgery*, 1984, 96:190-195.
- 402.-VENKATARAMANAN, R.; STARZL, T.E.; YANG, S.; BURCKART, G.J.; PIACHCINSKI, R.J.; SHAW, B.W.; IWATSUKI, S.; Van THIEL, D.H.; SANGHVI, A. and SELTMAN, H.: "Biliary Excretion of Cyclosporine in Liver Transplant Patients". *Transpl. Proc.*, 1985, 17: 286-288.
- 403.-VOSS, B.; ALLAN, S.; RAUTENBERG, J.; UHLRICH, K; GIESELMAN, V. and VON FIGURA, K.: "Primary cultures of rat hepatocytes synthesize fibronectin". *Biochem. Biophysic Res. Commun.*, 1979, 90:1348-1354.
- 404.-WAJSZCZUK, C.P.; HO, M.; DUMMER, J.S.; Van THIEL, D.H. and STARZL, T.E.: "Fungal Infections in Liver Transplant Recipients". *En Prensa*.
- 405.-WARBURG, O. and CHRISTIAN, W.: "Methods of Enzymatic Analysis". Ed. Bergmeyer, H.U. Verlag, 1974.
- 406.-WATANABE, F.; KAMIKE, W.; NISHIMURA, T.; HASHIMOTO, T. and TAGAWA, K.: "Decrease in Mitochondrial Levels of Adenine Nucleotides and Concomitant Mitochondrial Dysfunction in Ischemic Rat Liver". *J. Biochem.*, 1983, 94: 493-499.
- 407.-WATERMAN, P.M.: "Anaesthesia for liver transplantation -a model for the anaesthetic management of end-stage hepatic failure". *Can. Anaesth. Soc. J.*, 1983, 30: S34-S38.
- 408.-WELCH, C.S.: "A note on transplantation of the whole liver in dog". *Transpl. Bull.*, 1955, 2: 54-55.
- 409.-WEXLER, M.J.; FARKOUH, E.; FARRER, P.A.; SLAPAK, M. and McLEAN, L.D.: "Auxiliary liver transplantation: A successful model without portal blood or portacaval shunt". *Ann. Surg.*, 1972, 175: 357.
- 410.-WILLIAMS, R.; CALNE, R.Y.; ANSELL, I.D.; ASHBY, B.S.; CULLUM, P.A.; DAWSON, J.L.; EDELSTON, A.L.W.F.; EVANS, D.B.; FLUTE, P.T.; HERBERSTON, P.M.; JOYSEY, V.; MCGREGOR, A.M.C.; MILLARD, P.R.; MURRAY-LYON, I.M.; PENA, J.R.; RAKE, M.O. and SELLS, R.A.: "Liver transplantation in man. III.- Studies of liver function histology and immunosuppressive therapy". *Brit. Med. J.*, 1969, 3: 12-19.

- 411.-WILLIAMS, G.M.; KLAIBER, M. and FARBER, E.: "Differences in Growth of Transplants of Liver, Liver Hyperplastic Nodules, and Hepatocellular Carcinomas in the Mammary Fat Pad". *Am. J. Pathol.*, 1977, 89: 379-389.
- 412.-WILLIAMS, J.W.; PETERS, T.G. and HAGGIT, R.: "Cyclosporine in transplantation of the liver in the dog". *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1983, 156: 767-773
- 413.-WILLIAMS, J.W.; PETERS, T.G.; VERA, S.R.; BRITT, L.G.; Van VOORST, S.J. and HAGGITT, R.C.: "Liver Transplantation with Cyclosporine and Low-dose Corticosteroids". *Am. Surg.*, 1985, 51: 155-157.
- 414.-WILLIAMS, R.; SMITH, M.; SHILKIN, K.B.; HERBERTSON, B.; JOYSEY, V. and CALNE, R.Y.: "Liver transplantation in man: The frequency of rejection, biliary tract complications and recurrence of malignancy based on an analysis of 26 cases". *Gastroenterology*, 1973, 64: 1026.
- 415.-WOLFF, H.; OTTO, G. and DAVID, H.: "Biliary Tract Reconstruction in Liver Transplantation". *Transpl. Proc.*, 1985, 17: 274-275.
- 416.-WOODLE, E.S.; MOODY, R.R.; COX, K.L.; CANNON, R.A. and WARD, R.E.: "Orthotopic Liver Transplantation in a Patient with Amanita Poisoning". *J.A.M.A.*, 1985, 253: 69-70.
- 417.-YAMADA, K.M. and OLDEN, K.: "Fibronectins-adhesive glycoproteins of cell surface and blood". *Nature*, 1978, 275: 179-184.
- 418.-ZAJKO, A.B.; CAMPBELL, W.L.; BRON, K.M.; LECKY, J.W.; IWATSUKI, S.; SHAW, B.W.Jr. and STARZL, T.E.: "Cholangiography and Interventional Biliary Radiology in Adult Liver Transplantation". *A.J.R.*, 1985, 144: 127-133.
- 419.-ZAKIM, D.: "Hepatology". Saunders, Philadelphia, 1982.
- 420.-ZARAGOZA, J.R.: "La medicina de los pueblos mesopotámicos". En *Historia Universal de la Medicina por Laín Entralgo*, Salvat, Barcelona, 1972.
- 421.-ZIMMERMAN, H.J.: "Evaluación de la función e integridad del hígado". En: *Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio*. Por Todd, Salvat, Barcelona, 1984.
- 422.-ZIMMERMANN, F.A.; BUTCHER, G.W.; DAVIES, H.S.; BRONS, G.; KAMADA, N. and TUREL, O.: "Techniques for orthotopic liver transplantation in the rat and some studies of the immunologic responses to fully allogeneic liver grafts". *Transplant. Proc.*, 1979, 11: 571-577.

- 423.-ZIMMERMANN, F.A.; DAVIES, H.ff.S.; KNOLL, P.P.; GOKEL, J.M. and SCHMIDT, T.: "Orthotopic liver allografts in the rat". *Transplantation*, 1984, 37: 406-409.
- 424.-ZIMMERMAN, W.E. and REFELD, K.H.: "Function and importance of the RES-system during perfusion with different solutions for the preservation and transplantation of the liver". 6th International meeting of the Reticuloendothelial Society. Aschoff Memorial Meeting, Freiburg i. Br., 1970.
- 425.-ZIMMERMANN, G.; TENNYSON, C and DRAPANAS, T.: "Studies of Preservation of Liver and Pancreas by Freezing Techniques". *Transpl. Proc.*, 1971, 3: 657-659.
- 426.-ZINSSER, H.: "Rats, lice and history". Atlantic Monthly press, Boston, 3<sup>a</sup> ed. 1963.

