

03068 <sup>17</sup>/<sub>28</sub>

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Colegio de Ciencias y Humanidades

Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado

Instituto de Investigaciones Biomédicas

" PRESERVACION PULMONAR PROLONGADA UTILIZANDO  
ENFRIAMIENTO TOPICO CON SOLUCION SALINA, PERFUSION CON  
SOLUCION DE EUROCOLLINS Y PERFUSION CON SOLUCION DE  
GLUCOSA-INSULINA-VERAPAMIL "

TESIS:

Que para optar al grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

presenta

AVELINA SOTRES VEGA

México, D.F.

1995

SOTRES VEGA, AVELINA 1995



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

03068

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**Colegio de Ciencias y Humanidades**

**Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado**

**Instituto de Investigaciones Biomédicas**

**" PRESERVACION PULMONAR PROLONGADA UTILIZANDO  
ENFRIAMIENTO TOPICO CON SOLUCION SALINA, PERFUSION CON  
SOLUCION DE EUROCOLLINS Y PERFUSION CON SOLUCION DE  
GLUCOSA-INSULINA-VERAPAMIL "**

**TESIS:**

**Que para optar al grado de:**

**MAESTRA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

**p r e s e n t a**

**AVELINA SOTRES VEGA**

**México, D.F.**

**1995**

**Esta tesis se realizó en el Departamento de Cirugía Experimental de la Unidad de Investigación del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias con la tutoría del Dr. Patricio Santillán Doherty, asesoría de Dr. Rogelio Jasso Victoria y Dra. Verónica Guarner Lans, colaboración de M.V.Z. Juan Raúl Olmos Zúñiga, M.V.Z. José Luis Arreola Ramírez, y Dr. Rafael Andrade Max y la asistencia técnica de Amílcar Ruiz Ochoa y Javier Olmos Reyes.**

## INDICE

RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	2
INTRODUCCION.....	3
HIPOTESIS.....	7
OBJETIVO.....	8
MATERIAL Y METODOS	
Modelo Experimental.....	9
Criterios de inclusión.....	9
Criterios de exclusión.....	9
GRUPOS DE ESTUDIO.....	10
TECNICAS QUIRURGICAS	
Donador.....	10
Receptor	
Cateterización.....	11
Neumonectomía.....	12
Reimplante.....	12
EVALUACION DE LA FUNCION PULMONAR.....	13
MEDICIONES.....	14
SOLUCIONES DE PRESERVACION.....	14
RESULTADOS	
Generales.....	16
Tiempo de isquemia.....	16
PARAMETROS HEMODINAMICOS	
Gasto cardíaco.....	17
Presión media de la arteria pulmonar.....	18
Resistencia vascular pulmonar.....	19
INTERCAMBIO GASEOSO	
Presión parcial de oxígeno.....	20
Presión parcial de bióxido de carbono.....	21
Concentración de iones hidrógeno.....	22
PESOS PULMONARES	
Peso pre-preservación.....	23
Peso pre-trasplante.....	23
Peso post-trasplante.....	23
DISCUSION.....	26
CONCLUSIONES.....	30
REFERENCIAS.....	31

## RESUMEN

El trasplante pulmonar ha sido estudiado con considerable interés durante las últimas tres décadas dada su aplicación terapéutica en pacientes con padecimientos pulmonares terminales. El principal factor que limita la aplicación de un trasplante pulmonar es la escasez de donadores. Aunado a ésto, no se conoce un método de preservación adecuado y efectivo para periodos de tiempo prolongados que permita la conservación de los pulmones durante su transporte sin dañar su funcionalidad. Se han utilizado una amplia variedad de métodos y soluciones, para tratar de proteger al pulmón con fines de trasplante. El método de preservación pulmonar preferido en la actualidad incluye una perfusión del pulmón a través de la arteria pulmonar con solución de Eurocollins y prostaglandina E2. Soluciones como la de la Universidad de Wisconsin (UW), y fármacos como antagonistas del factor de agregación plaquetaria (FAP) también han sido utilizados. Estos métodos de preservación pulmonar implican costos económicos elevados en países con recursos económicos limitados.

Hachida et al. (24) prepararon una solución electrolítica a la que le adicionaron glucosa e insulina, y demostraron tener efectividad en la protección de neumocitos tipo II "in vitro", los componentes de dicha solución son de uso común y fácilmente obtenibles en la mayoría de los centros hospitalarios en México, por otro lado, se han demostrado los efectos benéficos del verapamil en la disminución del daño renal, cardíaco y pulmonar por efecto de los periodos de isquemia (21). El objetivo de este trabajo fué el de evaluar la función pulmonar después de una preservación prolongada en un modelo experimental canino de alotrasplante unilateral de pulmón izquierdo. Utilizamos enfriamiento tóxico con solución salina, perfusión y preservación con solución de Eurocollins y perfusión y preservación con solución de glucosa, insulina y verapamil (GIV). Estudiamos 48 perros mestizos de ambos sexos y no relacionados entre sí, manejados de acuerdo a los lineamientos para el uso de animales para investigación de la ley General de Salud en México y divididos en 4 grupos de estudio con base en la técnica de preservación y el tipo de solución utilizada para dicho procedimiento. En todos los grupos se practicaron alotrasplantes unilaterales de pulmón izquierdo, en el grupo control, el reimplante se realizó en forma inmediata y no se utilizó ningún tipo de preservación. En los otros 3 grupos de estudio, los pulmones se preservaron 15 horas a 4°C antes de realizar los trasplantes.

Grupo control.- Trasplante inmediato (TIN): (n=6). Se practicaron alotrasplantes unilaterales de pulmón izquierdo inmediatamente después de la obtención del órgano. No se utilizó ningún tipo de preservación.

Grupo Enfriamiento tóxico (ET): (n=6). El pulmón a trasplantar se preservó mediante enfriamiento tóxico con solución salina fisiológica 0.9%.

Grupo Eurocollins (EC): (n=6). El pulmón a trasplantar se perfundió y se preservó con solución de Eurocollins.

Grupo Glucosa-insulina-verapamil (GIV): (n=6). El pulmón a trasplantar se perfundió y se preservó con solución de glucosa-insulina-verapamil.

Los trasplantes se realizaron mediante las técnicas quirúrgicas habituales. Se incluyó la medición de gasto cardíaco, presión media de la arteria pulmonar, y el cálculo de la resistencia vascular pulmonar así como gasometrías arteriales en forma basal antes de realizar el trasplante y cada 60 minutos después de haber realizado el trasplante hasta obtener un total de 3 mediciones post-trasplante. Todas las mediciones se realizaron después de haber pinzado la arteria pulmonar derecha durante 5 minutos con el fin de eliminar la contribución del pulmón derecho y evaluar únicamente la función del pulmón trasplantado. Dicha función se evaluó mediante la calidad del intercambio gaseoso, el cálculo de la resistencia vascular pulmonar y el acúmulo de agua pulmonar. Concluidas las mediciones, los animales fueron sacrificados, se extrajo el bloque cardiopulmonar y se disecaron los pulmones por separado. Se obtuvo el peso post-trasplante del pulmón izquierdo para su comparación con los pesos previos a la preservación y al trasplante. Los resultados muestran que después de 15.82 ± 0.98 horas de preservación a 4°C la oxigenación disminuyó en todos los grupos de estudio, sin embargo, el grupo de pulmones preservados con solución de glucosa-insulina-verapamil, presentó una mejor oxigenación que los grupos de pulmones preservados con solución de Eurocollins o mediante enfriamiento tóxico. La resistencia vascular pulmonar aumentó significativamente en los 4 grupos de estudio. El peso pulmonar post-trasplante fué mayor en todos los grupos de estudio, cuando se comparó con el peso post-trasplante del grupo control, sin embargo, este aumento fué menor en el grupo de pulmones preservados con solución de glucosa-insulina-verapamil. Con base en los resultados obtenidos, concluimos que después de 15 horas de preservación a 4°C, la función pulmonar parece mejorar o por lo menos es igual cuando se utiliza solución de glucosa-insulina-verapamil en comparación con la solución de Eurocollins o enfriamiento tóxico. Además de que la solución de glucosa-insulina-verapamil puede prepararse con facilidad y a bajo costo en todos los hospitales, y puede ser una alternativa útil para preservación pulmonar en países con recursos económicos limitados.

## SUMMARY

Lung transplantation has become an accepted therapy for patients with end stage pulmonary disease. The most critical factor limiting the growth of pulmonary transplantation is the shortage of suitable donors and the lack of reliable methods of preservation. Methods of lung preservation in current clinical usage allow limited periods of pulmonary ischemia. Numerous attempts have been made at lung preservation using special solutions to protect the lung during ischemia. The preferred method of lung preservation includes pulmonary artery flush with Eurocollins solution and infusion of prostaglandin E<sub>2</sub>. Solutions such as University of Wisconsin (UW) and drugs as platelet-activated factor (PAF) antagonist have proved to be at least as effective. These methods imply higher economical cost in countries where hospitals have limited resources. Hachida et al. (24) reported that a glucose-insuline electrolitic solution has been effective in protecting alveolar macrophages in vitro. The components of this solution are readily available in the average mexican hospital, the calcium channel blocker verapamil has been assessed and has been demonstrated to have a beneficial effect in ameliorating the ischemia response in different organs like kidney, heart and lung (21). The purpose of this paper was to evaluate lung function in a left single lung transplant model after 15 hours of preservation with topical cooling, Eurocollins flush and glucose-insuline-verapamil solution. 48 adult mongrel unmatched dogs of both sexes free of any acute pulmonary disease were used in the study according to the ruling on the use of animals for investigation of the General Health Law in México. Animals were divided in 4 groups according to the preservation lung technique and with the type of solution used. Control group (IMT); (n=6). Immediate lung trasplant was made after lung were obtained. Any type of preservation lung was used. Topical cooling group (TC); (n=6). Lungs were stored for around of 15 hours at 4°C and immersed in saline solution before a left lung allotrasplant were performed. Eurocollins group (EC); (n=6). Lungs were perfused at 4°C and 40 cm H<sub>2</sub>O gravity pressure through the left pulmonary artery and immersed in Eurocollins solution before a left lung allotransplantation were performed. Glucose-insuline-verapamil group (GIV); (n=6). Lungs were perfused at 4°C and 40 cm H<sub>2</sub>O gravity pressure through the left pulmonary artery and immersed in Glucose-insuline-verapamil solution before a left lung allotransplantation were performed. Hemodynamic changes including pulmonary artery pressure and cardiac output were measured. Pulmonary vascular artery resistance was calculated. The arterial blood gases were examined throughout the experiment for pH, oxygen and carbon dioxide tension. After all control measurements were obtained 3 determinations were made each hour after 5 minutes of occlusion of the right pulmonary artery. After the assessment on the third postoperative hour the animals were killed and the cardiopulmonary block excised. The left lungs were weighed separately before and after the preservation time and after the trasplant was made. The results of this study indicate that after a mean of  $15.82 \pm 0.98$  hours of preservation at 4°C the oxygen tension was reduced in all groups, however this value was better in the lungs preserved with GIV solution compared with TC and EC groups. Post-trasplant pulmonary vascular artery resistance value was significantly higher in all study groups. Post-trasplant weight was higher in all groups when compared versus post-trasplant weight of the control group, however the increase was less in GIV group. The results of the present study indicate that lungs stored for 15 hours of preservation at 4°C with GIV solution had better ischemic tolerance, reflected by a higher oxygen tension and less post-trasplant weight than lungs preserved by TC and with EC flush. GIV solution is easy to prepare. Its components are readily available in the average Mexican hospital and could be a useful solution for developing countries.

## INTRODUCCION

El trasplante pulmonar ha sido estudiado con considerable interés durante las últimas tres décadas dada su aplicación terapéutica en pacientes con padecimientos pulmonares terminales. (Jones:1988, Bando:1988, Keshaujee:1989, Zenati: 1989, Cooper:1989, Yamazaki:1990).

La posibilidad de realizar un trasplante de pulmón se remonta a inicios del presente siglo. El antecedente más antiguo se encuentra en las descripciones de técnicas vasculares que hiciera Alexis Carrel; sin embargo, los trabajos experimentales se inician con Metras (1950), Juvenelle (1951) y Hardin en 1954. (Cooper:1989).

El primer trasplante pulmonar en humanos se realizó en la Universidad de Mississipi en 1963 por el Dr. Hardy. El paciente del Dr. Hardy logró sobrevivir 18 días, indicando la factibilidad de lograr un injerto pulmonar funcional. (Cooper:1989, Yamazaki: 1990, Santillán:1990\*).

Entre 1963 y 1980, 39 pacientes habían recibido un alotrasplante pulmonar (Nellems:1980) desgraciadamente, los resultados no fueron satisfactorios, ya que únicamente 2 pacientes lograron sobrevividas relativamente prolongadas, a saber: el paciente del Dr. Derom (1971) en Bélgica sobrevivió 10 meses, mientras que el paciente del Dr. Veith en Nueva York sobrevivió 6 meses. (Cooper:1989, Yamazaki:1990, Santillán: 1990\*, Nellems:1980, Derom:1971).

Los principales problemas relacionados con este desalentador panorama fueron por un lado biológicos, los inmunosupresores disponibles en ese entonces no eran capaces de modificar sustancialmente el fenómeno de rechazo y por otro lado; los relacionados con la técnica quirúrgica, principalmente en la anastomosis bronquial. (Cooper:1989, Yamazaki:1990, Santillán:1990\*, Nellems:1980, Derom:1971, Santillán:1990\*).

A partir de 1980, la introducción de la ciclosporina A como principal agente inmunosupresor, (Beizer:1988, Reitz:1983) permitió un nuevo auge internacional en el trasplante pulmonar clínico así como su inicio en nuestro país. (Santillán:1990\*).

Aunque actualmente ya se han superado los problemas relacionados con la técnica quirúrgica y con la terapia inmunosupresora, la experiencia mundial demuestra que realizar un trasplante de pulmón, es más difícil que trasplantar otros órganos (Cooper: 1989). El principal factor que limita la aplicación de un trasplante pulmonar es la

escasez de donadores (Yamazaki:1990, Santillán:1990\*, Nellems:1980, Derom:1971, Santillán:1990\*), ya que sólo del 10 al 15% de los donadores de corazón tienen pulmones aceptables para trasplante. (Zenati:1989, Cooper:1989, Yamazaki:1990, Santillán:1990\*, Nellems:1980, Derom:1971, Santillán:1990\*, Belzer:1988, Reitz:1983, Baldwin:1987, Santillán:1993).

Los criterios clínicos que tiene que cubrir un donador potencial para trasplante pulmonar son los siguientes:

- 1.-Grupo sanguíneo compatible con el receptor.
- 2.-Radiografía de tórax normal.
- 3.-Dimensiones torácicas: vertical, horizontal y circunferencial de tamaño apropiado con el receptor.
- 4.-Estructura del hilio pulmonar (principalmente el bronquio) de tamaño compatible con el receptor.
- 5.-Presentar broncoscopia normal.
- 6.-Mantener el intercambio gaseoso normal ( $PaO_2 > 300$  mmHg con una frecuencia inspirada de oxígeno del 100%).
- 7.-No tener antecedentes de alteración pulmonar primaria y/o infección pulmonar activa.
- 8.-Ausencia de infección por citomegalovirus, hepatitis viral B, virus del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida y toxoplasma gondii.

Es muy importante tener en mente, que la complicación más relevante de una muerte cerebral es la formación de edema pulmonar neurogénico además de que como consecuencia de los largos períodos de intubación traqueal a los que están sometidos los posibles donadores, es muy alta la posibilidad de encontrar una infección pulmonar activa. (Zenati:1989, Cooper:1989, Yamazaki:1990, Santillán:1990\*, Nellems:1980, Derom:1971, Santillán:1990\*, Belzer:1988, Reitz:1983, Baldwin:1987, Santillán:1993, Wang:1989).

Aunado a la escasez de donadores, no se ha desarrollado un método de preservación adecuado que permita la conservación de los pulmones durante su transporte sin dañar su funcionalidad por períodos de tiempo prolongados. (Bando:1988, Keshavjee:1989, Wang:1989, Toledo:1978, Locke:1988).

Numerosos estudios han demostrado que los métodos de preservación adecuados para los llamados órganos sólidos no funcionan en la preservación pulmonar ya que el pulmón es el órgano encargado del intercambio gaseoso, esta función ha retrasado y limitado el desarrollo de una metodología de preservación adecuada, pues el más ligero daño isquémico repercute en su mal funcionamiento. (Keshajjee:1989, Veith:1976, Novick:1982).

En un inicio y dado que se desconocía cual era el tiempo máximo de isquemia fría tolerado por el pulmón, los trasplantes clínicos implicaban el traslado del donador al mismo centro hospitalario del receptor ubicándolos en quirófanos adyacentes, con el fin de minimizar el tiempo de isquemia; sin embargo, transferir al donador implicaba ciertas dificultades ya que aumenta el deterioro del donador complicando el procedimiento, se limita el acceso a los demás órganos útiles para la donación, y se restringe el acceso de todo el personal que interviene en la procuración, además de que la mayoría de las veces los familiares del donador autorizan la donación de órganos, pero no permiten el traslado del cuerpo a otra localidad. (Cooper:1989, Baldwin:1987, Hardesty:1987).

Se han utilizado una amplia variedad de métodos y soluciones para tratar de proteger el pulmón con fines de trasplante. Estos métodos han incluido la aplicación de soluciones de tipo intracelular o de tipo extracelular mediante enfriamiento tóxico o perfusión a través de la arteria pulmonar, variando principalmente la temperatura, la administración de oxígeno y las condiciones de almacenamiento (Keshajjee:1989, Cooper:1989, Toledo:1978, Hachida:1988\*, Hachida:1989).

Los resultados de estos experimentos han sido un tanto diferentes y conflictivos, y aunque esporádicamente aparecen en la literatura avances en preservación pulmonar estos reportes resultan útiles únicamente en la fase experimental y desgraciadamente no han sido lo suficientemente consistentes o reproducibles para permitir su aplicación clínica, y con ninguno de ellos ha sido posible realizar procuraciones rutinarias distantes. (Keshajjee:1989, Zenati:1989).

Después de 28 años de investigación en preservación pulmonar, actualmente está bien establecido que periodos cortos de isquemia entre 5 y 7 horas son compatibles con una buena función pulmonar. (Cooper:1989, Veith:1976, Novick:1992, Hachida:1988\*).

El método de preservación pulmonar preferido en la actualidad incluye una perfusión del pulmón a través de la arteria pulmonar con solución de Eurocollins y prostaglandina E2. (Keshajjee:1989, Novick:1992). Soluciones como la de la Universidad de Winsconsin (UW) y fármacos como antagonistas del factor de agregación plaquetaria

(FAP) también se han utilizado. (Conte:1991). Estos métodos de preservación pulmonar implican costos económicos elevados en países con recursos limitados.

Hachida y Hoon (Hachida:1988\*) evaluaron los efectos tóxicos de las soluciones de Collins y Collins-Sacks sobre los neumocitos tipo II aislados de pulmón de rata, y compararon dichos efectos contra los producidos por una solución electrolítica adicionada con glucosa e insulina.

Los resultados indican que la viabilidad de los neumocitos tipo II después de 72 horas de preservación "in vitro" fue significativamente mayor (84.7%) cuando se utilizó la solución electrolítica con glucosa e insulina mientras que con las soluciones de Collins y Collins-Sacks las viabilidades fueron 66.8% y 62.21% respectivamente.

Dado que la solución electrolítica con glucosa e insulina ha demostrado tener efectividad en la protección de neumocitos tipo II "in vitro", los componentes de dicha solución son de uso común, económicos y fácilmente obtenibles en la mayoría de los centros hospitalarios en México, y por otra parte está bien establecido el efecto benéfico del verapamil durante la isquemia y actualmente se sabe que periodos cortos de isquemia entre 5 y 7 horas son compatibles con una buena función pulmonar el objetivo de este trabajo fue el de preparar una solución a base de glucosa, insulina, verapamil y evaluar la función pulmonar "in vivo" después de 15 horas de preservación a 4°C, en un modelo experimental canino de alotrasplante unilateral de pulmón izquierdo comparando estos resultados con los obtenidos al utilizar enfriamiento tóxico con solución salina y solución de Eurocollins bajo las mismas condiciones experimentales y al practicar un trasplante pulmonar en forma inmediata sin utilizar ningún tipo de preservación.

## HIPOTESIS

Los periodos prolongados de isquemia afectan la función pulmonar, este daño se refleja inmediatamente después del trasplante por una disminución en la presión parcial de oxígeno, un aumento en la resistencia vascular pulmonar y por la formación de edema.

Si la principal fuente energética del pulmón durante la isquemia es la glucosa, la insulina incrementa la permeabilidad de membrana a la glucosa, la hipotermia provoca vasoconstricción y el verapamil es un fármaco con efecto vasodilatador y bloqueador de canales de calcio, es posible que después de 15 horas de preservación pulmonar a 4°C la función pulmonar post-trasplante sea mejor y esté caracterizada por una mayor oxigenación, menor resistencia vascular pulmonar y un menor peso pulmonar post-trasplante cuando se utilice una solución de preservación adicionada con glucosa, insulina y verapamil en comparación con soluciones que no contengan dichos componentes.

## **OBJETIVO**

**Evaluar la función pulmonar "in vivo" en un modelo experimental canino de alotrasplante pulmonar izquierdo, en forma inmediata sin utilizar ningún tipo de preservación y después de alrededor de 15 horas de preservación a 4°C utilizando:**

**Enfriamiento tóxico con solución salina,**

**Perfusión y preservación con solución de Eurocollins y**

**Perfusión y preservación con solución de glucosa-insulina-verapamil.**

## **MATERIAL Y METODOS**

### **Modelo Experimental**

Se utilizaron 48 perros mestizos sin importar el sexo, con edad variable, no relacionados entre sí y con un peso entre 15 y 25 Kg.

Estos animales se manejaron de acuerdo a los lineamientos para el uso de animales de investigación de la Ley General de Salud en México y con la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (U.S.A).

Veinticuatro de estos animales fueron utilizados como donadores y a los 24 restantes se les practicó un trasplante unilateral de pulmón izquierdo.

A su llegada al bioterio, todos los animales se desparasitaron con nitroscanato de sodio (LopatoI, Ciba-Geigy) con una dosis única de 50 mg/kg de peso por vía oral, y externamente con un baño de coumaphos (Asuntol, Bayer).

#### **Criterios de Inclusión**

Incluimos en el estudio perros clínicamente sanos, evaluados 3 semanas antes del procedimiento quirúrgico; con previa radiografía de tórax sin antecedentes de alguna enfermedad, sin deformaciones torácicas y sin antecedentes de cirugía torácica.

#### **Criterios de Exclusión**

Los animales con datos clínicamente patológicos previos al procedimiento quirúrgico, con radiografía de tórax sugestiva de patología pulmonar, con deformidades torácicas y con antecedentes de cirugía torácica fueron excluidos del estudio.

## Grupos de Estudio

Se formaron 4 grupos de estudio con base en la técnica de preservación y el tipo de solución utilizada para dicho procedimiento:

**Grupo Control:** Trasplante inmediato (TIN) : (n=6). Se practicaron alotrasplantes unilaterales de pulmón izquierdo en forma inmediata sin utilizar ningún tipo de preservación.

**Grupo Enfriamiento Tópico (ET)** : (n=6). El pulmón a trasplantar se preservó 15 horas mediante enfriamiento tópico con solución salina fisiológica 0.9% a 4°C.

**Grupo Eurocollins (EC)** : (n=6). El pulmón a trasplantar se perfundió y se preservó 15 horas con solución de Eurocollins a 4°C.

**Grupo Glucosa-Insulina-verapamil (GIV)** : (n=6). El pulmón a trasplantar se perfundió y se preservó 15 horas con solución de glucosa-insulina-verapamil a 4°C.

## Técnicas Quirúrgicas

Los animales se prepararon con 24 horas de ayuno para sólidos y 12 horas de ayuno para líquidos. Se les aplicó droperidol (Dehidrobenzoperidol. Jansen) a una dosis de 2 mg/kg de peso por vía intravenosa para efectuar la tranquilización. (Spinelli:1984, William:1983). Posterior a la tranquilización se les aplicó un anestésico de duración ultracorta (Tiopental sódico. Sodipental 500. Pisa), a una dosis de 28 mg/kg de peso por vía intravenosa. (William:1983). Se rasuró y se lavó con jabón quirúrgico la región esternal en los perros donadores, y la región costal cervical derecha e inguinal en los animales receptores. La antisepsia se realizó con cloruro de benzalconio.

### Técnica Quirúrgica del Donador

El perro se colocó sobre la mesa en posición de decúbito dorsal, se le introdujo una sonda orotraqueal y se conectó al aparato de anestesia inhalada (Ventilador Harvard con Vaporizador Flutec 3) con una frecuencia de 20 respiraciones por minuto, con un volumen corriente de 15 ml/kg y con un flujo de halotano (Fluothane. ICI.) al 1%, con el que se mantuvo durante todo el acto quirúrgico.

La zona corporal en la que se practicó la intervención quirúrgica se delimitó con campos estériles de tela.

Bajo anestesia general se realizó una esternotomía media que se inició en el hueco supraesternal y terminó en la apófisis xifoides del esternón, con el fin de facilitar el manejo del bloque cardiopulmonar.

Concluida la esternotomía, se colocó un separador de Finchieto y se procedió a la disección, la ligadura y sección de la vena ácigos, se continuó con la disección y referencia de la vena cava craneal y caudal, se procedió a diseccionar y referir la tráquea.

A los animales de los grupos de estudio III y IV en los que se perfundió el pulmón con solución de Eurocollins y con solución de glucosa-insulina-verapamil respectivamente, se les colocó un catéter (Cordis AU 8.038 110) en la arteria pulmonar izquierda. Una vez concluidas estas maniobras, se ligan las venas cavas y se inició la perfusión del pulmón izquierdo con las soluciones de Eurocollins o de glucosa-insulina-verapamil a 4°C, a través del catéter colocado en la arteria pulmonar izquierda, con una presión de perfusión de 40 cm de H<sub>2</sub>O; al mismo tiempo, se les aplicó tópicamente esta misma solución a 4°C. En el grupo de pulmones preservados mediante enfriamiento tópico, que no incluye perfusión, únicamente se aplicó solución salina fría.

Concluidas las perfusiones y el enfriamiento tópico, se retiró el bloque cardiopulmonar. Una vez que dicho bloque se encontró fuera de la cavidad torácica se realizó una disección fina de las estructuras del hilio pulmonar izquierdo, cortando la arteria pulmonar después de su primera rama; las venas pulmonares se cortaron de modo que se incluyó un segmento de aurícula para facilitar la anastomosis y el bronquio se cortó inmediatamente después de la salida de la carina. ( Sierra:1986, Balle:1992, Santillán:1993).

Terminadas las maniobras anteriores, se obtuvo el peso inicial o peso pre-preservación del pulmón a trasplantar. El pulmón se introdujo en la solución de preservación (salina, collins o glucosa-insulina-verapamil) y se mantuvo almacenado 15 horas a 4°C.

## **Técnica Quirúrgica del Receptor**

**A) Cateterización:** Previo al trasplante, con el animal anestesiado y conectado al aparato de anestesia Inhalada (Ventilador Harvard con Vaporizador Fluotec 3) bajo las mismas condiciones dadas para el donador, se colocó al receptor en la mesa de cirugía en posición decúbito dorsal, se realizó venodisección de la yugular, a través de la cual se introdujo un catéter de termodilución (Swan-Ganz 93A-095 7F) que permaneció conectado a una computadora de gasto cardiaco (Hemodynamic Profile Computer) y a un monitor de electrocardiografía (Physio-Control VSM 1) a través de un transductor de presiones para medir la presión de la arteria pulmonar izquierda.

En la región inguinal derecha se introdujeron por venodisección dos catéteres (Cordis AU 8.038 110), uno en la arteria femoral, el cual se conectó al monitor de electrocardiografía a través del transductor de presión para la medición de la presión sistémica, de este mismo catéter se tomaron muestras para gasometrías arteriales. El otro catéter se introdujo en la vena femoral para administración de líquidos y para la obtención de muestras para gasometrías de sangre venosa. (Sierra:1986, Baile:1992, Santillán:1993).

**B) Neumonectomía:** Una vez concluidas las venodisecciones, se procedió a colocar al animal receptor en posición de decúbito lateral derecho; se realizó la antisepsia con cloruro de benzalconio, se delimitó la zona con campos quirúrgicos de tela y se realizó una toracotomía izquierda a nivel del quinto espacio intercostal izquierdo. Se colocó un separador de Finochietto, se liberó el pulmón de su ligamento y se continuó con la disección del hilio pulmonar izquierdo, iniciándose con la arteria pulmonar izquierda la cual es referida con cinta umbilical, el siguiente paso cubre la disección del bronquio principal izquierdo, que también permaneció referido con cinta umbilical; y por último se disecaron las venas pulmonares en su entrada a la aurícula izquierda. Concluida la disección del hilio pulmonar izquierdo, se disecó la arteria pulmonar derecha, la cual quedó referida con cinta umbilical. Al término de las disecciones se inició la neumonectomía, colocando primero un clamp vascular en la arteria pulmonar izquierda y se procedió a seccionarla. Inmediatamente después se colocó una pinza en el bronquio principal izquierdo y se seccionó a la salida del bronquio del lóbulo craneal. Posteriormente se colocó una pinza de Satinsky a nivel de la aurícula izquierda cuidando de no ocluir las venas pulmonares derechas contralaterales, así como tratando de dejar suficiente tejido para realizar la anastomosis, se procedió a cortar las venas y el pulmón izquierdo fué extraído para colocar el pulmón preservado. (Sierra:1986, Baile:1992, Santillán:1993).

**C) Reimplante:** Una vez realizada la neumonectomía, se abrieron los orificios de las venas para comunicarlás entre sí y así quedó una sola luz.

Antes de colocar el pulmón preservado, se obtuvo su peso post-preservación o peso pre-trasplante y se preparó para el reimplante ajustando el bronquio, la arteria y el segmento de aurícula.

El pulmón se introdujo en la cavidad torácica y se procedió a realizar la primera anastomosis que fue la auricular, inicialmente se suturó la cara posterior con surgeto continuo de polipropileno (prolene 4-0) continuando con la cara anterior de igual forma y con el mismo material.

La segunda anastomosis fue la de la arteria pulmonar, suturando primero la cara posterior y terminando con la cara anterior utilizando surgete continuo con polipropileno (5-0). Antes de terminar, se dejaron los cabos sin anudar para poder perfundir en forma retrógrada y lavar la vasculatura con el fin de eliminar el aire que se hubiere introducido evitando la posibilidad de embolia aérea.

Finalmente, se concluyó con la anastomosis bronquial, la cual se realizó con surgete continuo de polipropileno (prolene 4-0). En forma lenta, se retiró la pinza de Satinsky de la aurícula cuidando la aparición del reflujo a nivel de la anastomosis no cerrada de la arteria pulmonar. Una vez observado el reflujo, se cerró la anastomosis arterial y se despinzó lentamente, con lo que se re-estableció la circulación hacia el injerto. Durante este tiempo, se permitió que el injerto se ventilara lentamente (lo que facilita el reflujo). (Sierra:1988, Balfe:1992, Santillán:1993).

### **Evaluación de la Función Pulmonar**

La función del pulmón trasplantado se evaluó mediante la medición de la presión parcial de oxígeno y el cálculo de la resistencia vascular pulmonar, y en forma indirecta, a través de los pesos pulmonares.

#### **Parámetros Hemodinámicos**

Incluyeron la medición de: gasto cardíaco, presión de la arteria pulmonar izquierda y el cálculo de la resistencia vascular pulmonar.

La medición del gasto cardíaco se realizó por la técnica de termodilución a través del catéter Swan-Ganz que se introdujo por la yugular y que se conectó a la computadora de gasto cardíaco (Hemodynamic Profile Computer. Ver colocación de catéteres). La resistencia vascular pulmonar se calculó con ayuda de la computadora de gasto cardíaco.

Las presión de la arteria pulmonar izquierda se midió al conectar el puerto distal del catéter Swan-Ganz al transductor de presión conectado al monitor de electrocardiografía (Physio-Control VSM-1). Las presiones sistémicas se evaluaron al conectar el catéter de la arteria femoral al monitor (Ver colocación de catéteres).

#### **Intercambio Gaseoso**

La calidad del intercambio gaseoso se evaluó mediante una serie de gasometrías arteriales en las que se determinó la presión parcial de oxígeno y de dióxido de carbono así como el pH de cada una de las muestras de sangre, para lo cual utilizamos un gasómetro (IL-713. Instrumentation Laboratory). Estas muestras fueron tomadas a través del catéter introducido en la arteria femoral derecha, la toma de muestras se realizó mediante jeringas de plástico evitando la formación de burbujas de aire durante la extracción, fueron transportadas en hielo y analizadas inmediatamente después de su obtención. El gasómetro se calibró 2 veces antes de realizar las mediciones basales y se confirmó una vez antes de realizar cada una de las mediciones post-trasplante.

## **Cuantificación de los Pesos Pulmonares**

En todos los grupos, los pulmones se pesaron antes y después del periodo de preservación.

Concluidas las mediciones de los parámetros hemodinámicos y del intercambio gaseoso, los animales fueron sometidos a eutanasia mediante una sobredosis de pentobarbital. El bloque cardiopulmonar fué extraído y los pulmones se disecaron por separado. Ambos pulmones fueron pesados para obtener el peso post-trasplante.

### **Mediciones**

Mediciones con pinzamiento de la arteria pulmonar derecha: Con el fin de evitar la contribución del pulmón derecho y evaluar únicamente la función del pulmón trasplantado, se pinzó la arteria pulmonar derecha durante 5 minutos antes de realizar las mediciones correspondientes de los parámetros hemodinámicos y de las gasometrías arteriales.

Medición basal pre-trasplante: Antes de realizar el trasplante, se pinzó la arteria pulmonar derecha durante 5 minutos, transcurrido este tiempo, se obtuvo una medición basal pre-trasplante del pulmón control izquierdo. Posteriormente, se realizó el trasplante pulmonar y una vez concluido se obtuvieron las mediciones basales post-trasplante.

Mediciones post-trasplante: Concluido el trasplante, se pinzó la arteria pulmonar derecha durante 5 minutos cada hora hasta obtener una serie de 3 mediciones post-trasplante con pinzamiento de la arteria pulmonar derecha (una medición por hora).

### **Soluciones de Preservación**

Las soluciones de Eurocollins y de glucosa-insulina-verapamil fueron preparadas en el laboratorio de Cirugía Experimental del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias de acuerdo con las fórmulas reportadas (Keshavjee:1989, Hachida:1988\* y1989), esterilizadas por filtración a través de una membrana de acetato de celulosa de 0.22  $\mu$  (Corning Co.) y analizadas para su contenido electrolítico, osmolaridad y pH, mientras que la solución isotónica de cloruro de sodio 0.9% fué de tipo comercial (laboratorios Pisa).

La composición electrolítica de las soluciones se muestra en la tabla # 1.

**Tabla I. SOLUCIONES DE EUROCOLLINS Y DE GLUCOSA-INSULINA-VERAPAMIL.**

<b>Soluciones de Preservación Pulmonar</b>			
<b>EU</b>	<b>(g/l)</b>	<b>GIK</b>	<b>(g/l)</b>
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.05	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.6
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O	9.70	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.4
KCl	1.12	KCl	1.15
NaHCO <sub>3</sub>	0.84	Manitol	2.5
Glucosa	35	Glucosa	50
		Insulina (u/l)	60
		Verapamil (mg/l)	10
<b>(meq/l)</b>		<b>(meq/l)</b>	
Na <sup>+</sup>	10	Na <sup>+</sup>	10
K <sup>+</sup>	115	K <sup>+</sup>	40
Cl <sup>-</sup>	15	Cl <sup>-</sup>	35
pH (upH)	7.4	pH (upH)	7.4
Osm (mosm/l)	325	Osm (mosm/l)	350

**Composición electrolítica de las soluciones de preservación pulmonar.**

### **Análisis Estadístico**

Los resultados fueron reportados como promedio  $\pm$  un error estándar.

Los datos fueron comparados entre los grupos y a través del tiempo mediante un análisis de varianza de 2 vías con mediciones repetidas.

Valores de  $p < 0.05$  fueron considerados como diferencias significativas.

## RESULTADOS

### Generales

Se realizaron un total de 24 trasplantes unilaterales de pulmón izquierdo a igual número de perros mestizos elegidos al azar. Todos los animales sobrevivieron al procedimiento quirúrgico y al tiempo de estudio establecido.

### Tiempo de Isquemia

El tiempo promedio de isquemia  $\pm$  un error estándar (EE) fué de  $9.00 \pm 1.00$  minutos para el grupo de TIN. El tiempo promedio de isquemia para los grupos de ET, EC y de GIV fué:  $15.57 \pm 0.16$ ,  $17.18 \pm 2.47$  y  $14.72 \pm 0.31$  horas respectivamente. (Fig.1).

No hubo diferencia estadísticamente significativa al comparar los tiempos de isquemia entre los grupos de ET, EC y de GIV.

## Tiempo de Isquemia

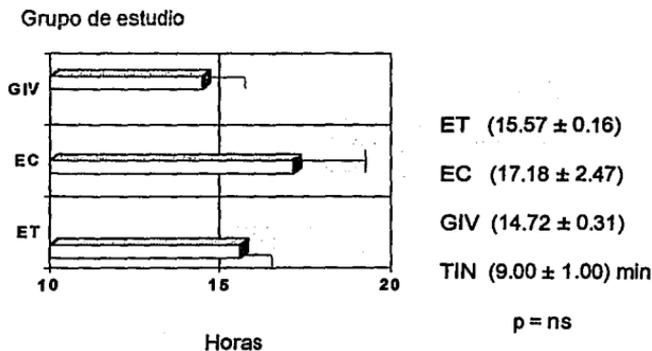


Figura 1.- Los valores del tiempo de isquemia promedio  $\pm$  ee fueron:  $15.57 \pm 0.16$  horas en el grupo de ET,  $17.18 \pm 2.47$  horas en el grupo de EC y  $14.72 \pm 0.31$  horas en el grupo de GIV. (p = ns).

## Parámetros Hemodinámicos

### Gasto Cardíaco

El gasto cardíaco registrado al pinzar la arteria pulmonar derecha antes de realizar el trasplante (promedio  $\pm$  EE) fué: 2.17  $\pm$  0.16 L/min en el grupo de TIN, 2.32  $\pm$  0.17 L/min en el grupo de ET, 2.45  $\pm$  0.34 L/min en el grupo de EC y 2.20  $\pm$  0.30 L/min en el grupo de GIV.

Las mediciones obtenidas 3 horas después de realizado el trasplante (promedio  $\pm$  EE) fueron: 1.87  $\pm$  0.52 L/min para el grupo de TIN, 1.25  $\pm$  0.70 L/min para el grupo de ET, 1.20  $\pm$  0.15 L/min para el grupo de EC y 1.10  $\pm$  0.30 L/min para el grupo de GIV.

El gasto cardíaco disminuyó en todos los grupos de estudio, esta disminución fué significativa en los grupos de ET, EC, y de GIV ( $p < 0.01$ ) pero no en el grupo de TIN. Estos resultados se muestran graficamente en la figura 2.

### Gasto Cardíaco

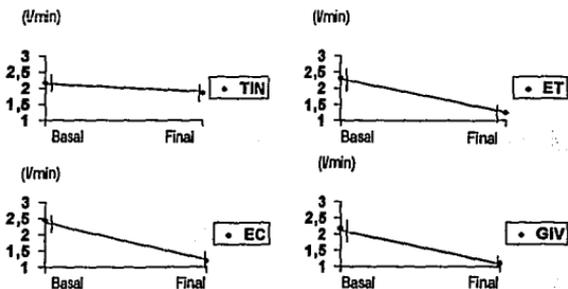


Figura 2.- Gasto Cardíaco con pinzamiento de la arteria pulmonar derecha.

Valores promedio  $\pm$  error estándar.

\*Basal pre-trasplante vs Final post-trasplante:  $p < 0.01$

### Presión Media de la Arteria Pulmonar

La presión media de la arteria pulmonar izquierda obtenida al pinzar la arteria pulmonar derecha antes de practicar el trasplante (promedio  $\pm$  EE) fué:  $14.60 \pm 1.72$  mmHg en el grupo de TIN,  $14.20 \pm 4.39$  mmHg en el grupo de ET,  $14.50 \pm 3.00$  mmHg en el grupo de EC y  $14.80 \pm 2.47$  mmHg en el grupo de GIV.

Las mediciones obtenidas a las 3 horas post-trasplante con pinzamiento de la arteria pulmonar derecha (promedio  $\pm$  EE) fueron:  $14.50 \pm 2.72$  mmHg para el grupo de TIN,  $18.00 \pm 3.02$  mmHg en el grupo de ET,  $17.23 \pm 3.07$  mmHg en el grupo de EC y  $15.00 \pm 1.00$  mmHg en el grupo de GIV.

No se encontraron diferencias significativas al comparar los resultados entre los grupos de estudio. Con respecto a las mediciones obtenidas dentro de cada uno de los grupos no se encontraron diferencias al comparar la medición basal contra la medición final en los grupos de TIN y de GIV, sin embargo, se observó un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) para los grupos de EC y ET. Estos resultados se muestran graficamente en la figura 3.

### Presión Media de la Arteria Pulmonar

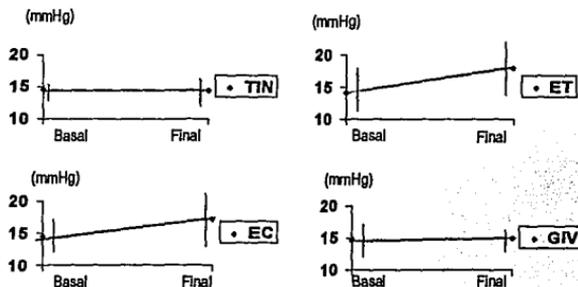


Figura 3.- Presión media de la arteria pulmonar derecha.

Valores promedio  $\pm$  error estándar.

$p < 0.05$  en los grupos de ET y EC.

## Resistencia Vascolar Pulmonar

Los datos de resistencia vascular pulmonar expresados en dina-seg-cme5 (promedio  $\pm$  un error estándar) registrados en forma basal y con pinzamiento de la arteria pulmonar derecha antes de realizar el trasplante fueron: 547.00 $\pm$ 105.00 para el grupo de TIN, 579.00 $\pm$ 106.00 para el grupo de ET, 563.00 $\pm$ 120.00 para el grupo de EC y 554.00 $\pm$ 119.00 para el grupo de GIV, y los obtenidos a las tres horas post-trasplante con pinzamiento de la arteria pulmonar derecha fueron: 943.00 $\pm$ 180 para el grupo de TIN, 1204 $\pm$ 286 para el grupo de ET, 1384 $\pm$ 260 para el grupo de EC y 1242 $\pm$ 237 para el grupo de GIV. Estos resultados se ilustran graficamente en la figura 4.

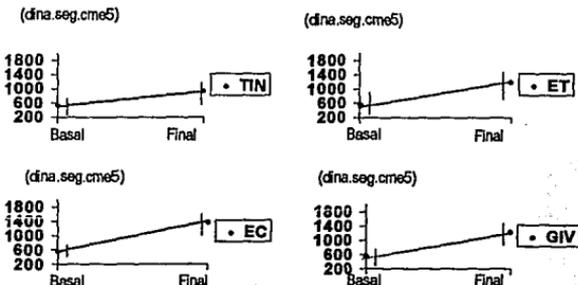
No se encontraron diferencias significativas al comparar los resultados entre los grupos de estudio, sin embargo después del trasplante, la resistencia vascular pulmonar se incrementó significativamente en todos los grupos de estudio ( $p < 0.05$ ).

Figura 4.- Resistencia vascular pulmonar con pinzamiento de la arteria pulmonar derecha.

Valores promedio  $\pm$  error estándar.

Basal pre-trasplante vs final post-trasplante:  $p < 0.05$  en todos los grupos.

## Resistencia Vascolar Pulmonar



## INTERCAMBIO GASEOSO

### Presión parcial de oxígeno

Con respecto a la presión parcial de oxígeno proporcionada por el pulmón trasplantado al pinzar la arteria pulmonar derecha, la oxigenación inicial fué de  $256.00 \pm 23.00$  mmHg en el grupo de TIN,  $202.00 \pm 15.00$  mmHg en el grupo de ET,  $314.00 \pm 58.00$  mmHg en el grupo de EC y  $252.00 \pm 28.00$  mmHg en el grupo de GIV.

Las mediciones registradas tres horas después del trasplante al pinzar la arteria pulmonar derecha fueron:  $235.00 \pm 23$  para el grupo de TIN,  $57.00 \pm 15.00$  en el grupo de ET,  $92.00 \pm 22.00$  en el grupo de EC y  $163.00 \pm 15.00$  en el grupo de GIV. Estos resultados se muestran gráficamente en la figura 5.

Con excepción del grupo control en donde la oxigenación se mantuvo estable antes y tres horas después del trasplante, la presión parcial de oxígeno disminuyó en forma importante en los grupos de ET, EC, y GIV, ésta disminución fue significativa en dichos grupos de estudio ( $p < 0.05$ ).

### Presión Parcial de Oxígeno Arterial

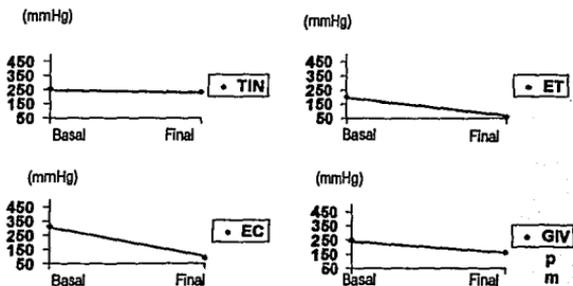


Figura 5.- Presión parcial de oxígeno arterial.

Valores promedio  $\pm$  error estándar.

Basal pre-trasplante vs final post-trasplante:  $p < 0.05$  en los grupos de ET, EC y GIV.

## Presión parcial de bióxido de carbono

La presión parcial de bióxido de carbono basal pre-trasplante (promedio  $\pm$  EE) fue: 28.33 $\pm$ 3.78 mmHg en el grupo de TIN, 30.05 $\pm$ 6.37 mmHg en el grupo de ET, 24.26 $\pm$ 4.01 mmHg en el grupo de EC y 31.41 $\pm$ 6.36 mmHg en el grupo de GIV.

Las mediciones obtenidas a las tres horas post-trasplante al pinzar la arteria pulmonar derecha fueron: 30.61 $\pm$ 4.56 en el grupo de TIN, 32.90 $\pm$ 4.70 mmHg en el grupo de ET, 38.42 $\pm$ 6.04 mmHg en el grupo de EC y 46.00 $\pm$ 4.00 en el grupo de GIV. La presión parcial de bióxido de carbono post-trasplante aumentó significativamente con respecto a la medición pre-trasplante ( $p < 0.05$ ) en todos los grupos de estudio. Estos resultados se ilustran en la figura 6.

## Presión Parcial de Bióxido de Carbono

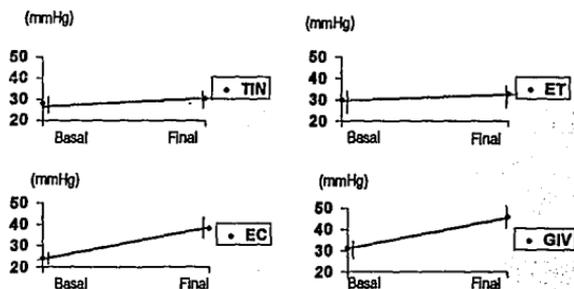


Figura 6.- Presión parcial de bióxido de carbono.

Valores promedio  $\pm$  error estándar.

Basal pre-trasplante vs final post-trasplante:  $p < 0.05$  en todos los grupos.

## Concentración de iones hidrógeno

Los valores de pH (promedio  $\pm$  EE) obtenidos en forma basal antes de realizar el trasplante expresados en unidades de pH y (en nanomoles/ litro de iones hidrógeno) fueron:  $7.37 \pm 0.002$  (43) para el grupo de TIN,  $7.34 \pm 0.019$  (46) en el grupo de ET,  $7.39 \pm 0.069$  (41) en el grupo de EC y  $7.38 \pm 0.048$  (42) en el grupo de GIV, mientras que los valores obtenidos tres horas después del trasplante fueron:  $7.32 \pm 0.006$  (48) para el grupo de TIN,  $7.28 \pm 0.060$  (52) en el grupo de ET,  $7.21 \pm 0.039$  (59) en el grupo de EC y  $7.32 \pm 0.045$  (48) en el grupo de GIV. La concentración de iones hidrógeno obtenida a las tres horas post-trasplante disminuyó en todos los grupos de estudio con respecto a la medición basal pre-trasplante, con excepción del grupo control, ésta disminución fue estadísticamente significativa en todos los grupos de estudio. Los resultados se ilustran gráficamente en la figura 7.

## Concentración de Iones Hidrógeno

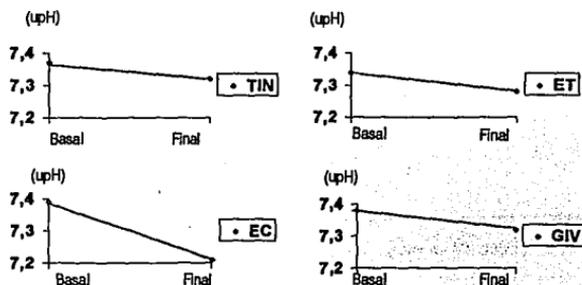


Figura 7.- Concentración de iones hidrógeno.

Valores promedio  $\pm$  error estándar.

Basal pre-trasplante vs final post-trasplante :  $p < 0.05$  en los grupos de ET, EC y GIV.

## **PESOS PULMONARES**

### **PESO PRE-PRESERVACION**

Los valores promedio  $\pm$  EE obtenidos al pesar los pulmones antes de preservarlos fueron: 65.48 $\pm$ 4.23 g en el grupo de ET, 57.85 $\pm$ 3.84 g en el grupo de EC y 58.49 $\pm$ 3.15 g en el grupo de GIV.

No encontramos diferencia significativa al comparar los pesos pulmonares antes de la preservación entre los grupos de estudio. Estos resultados se ilustran gráficamente en la figura 8.

### **PESO PRE-TRASPLANTE**

Los valores promedio  $\pm$  EE obtenidos al pesar los pulmones después de 15 horas de preservación a 4°C y antes de realizar los trasplantes fueron: 66.68 $\pm$ 4.13 g en el grupo de ET, 62.27 $\pm$ 4.14 g en el grupo de EC y 60.59 $\pm$ 3.26 g en el grupo de GIV. No encontramos diferencia estadística al comparar los pesos pulmonares antes y después de la preservación, ni al comparar los pesos pre-trasplante entre los grupos de estudio. Estos resultados se ilustran en la figura 8.

El peso pulmonar pre-trasplante promedio  $\pm$  EE en el grupo de TIN fue 62.72 $\pm$ 9.6 g.

### **PESO POST-TRASPLANTE**

Los valores promedio  $\pm$  EE obtenidos al pesar los pulmones tres horas después del trasplante fueron: 81.83 $\pm$ 6.54 g en el grupo de TIN, 174.28 $\pm$ 27.72 g en el grupo de ET, 155.75 $\pm$ 50.15 g en el grupo de EC y 105.96 $\pm$ 8.46 g en el grupo de GIV.

Aunque no se encontró diferencia estadísticamente significativa al comparar los pesos pulmonares post-trasplante entre los grupos de ET, EC y GIV, el peso pulmonar post-trasplante en estos tres grupos de estudio fue significativamente mayor que el peso post-trasplante del grupo de TIN. ( $p < 0.05$ ). Figura 8.

Los valores promedio  $\pm$  EE obtenidos de los pesos pulmonares antes y después de 15 horas de preservación a 4°C así como los pesos obtenidos a las 3 horas post-trasplante se muestran en la tabla 2 y en la figura 8.

Tabla II.- Valores promedio de los pesos pulmonares expresados en gramos  $\pm$  error estándar.

## Peso del pulmón trasplantado

Grupo	Pre-preserv	Pre-tx	Post-tx	* Incremento (%)
TIN		62.72 $\pm$ 9.60	81.83 $\pm$ 6.54	19.11 ( 30.46)
ET	65.48 $\pm$ 4.23	66.66 $\pm$ 4.13	174.28 $\pm$ 27.72	107.42 (166.66)
EC	57.65 $\pm$ 3.94	62.27 $\pm$ 4.14	155.75 $\pm$ 50.15	93.48 (150.12)
GIV	58.49 $\pm$ 3.15	60.59 $\pm$ 3.26	105.96 $\pm$ 8.46	45.37 ( 74.88)

Valores promedio del peso del pulmón trasplantado expresado en gramos  $\pm$  ee.

\*Diferencia entre el peso post-tx y el peso pre-tx.

## Peso Pulmonar

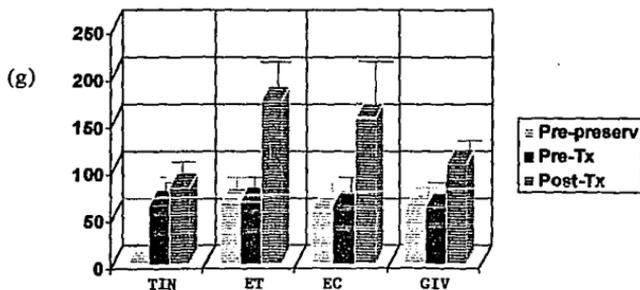


Figura 8.- Valores promedio de los pesos pulmonares pre-preservación, pre-trasplante y post-trasplante.

En todos los grupos de estudio se presentó un incremento en el peso pulmonar post-trasplante con respecto al peso pulmonar pre-trasplante. Este incremento en peso fue de 19.11 g (30.46%) en el grupo de TIN, 107.42 g (166.66%) en el grupo de ET, 93.48 g (150.12%) en el grupo de EC y 45.37 g (74.88%) en el grupo de GIV y fue significativo para los grupos de ET, EC y GIV. ( $p < 0.05$ ). Figura 9.

## Incremento en el peso pulmonar

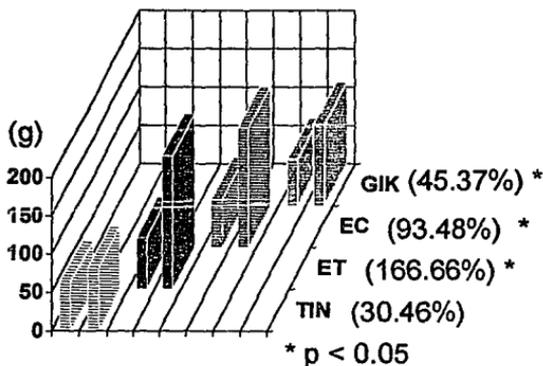


Figura 9.- El incremento en el peso pulmonar pre-trasplante expresado en gramos/ porcentaje fue:

TIN (19.11g / 30.46%), ET (107.42g / 166.66%), EC (93.48g / 150.12%) y GIV (45.37g / 74.88%).

$p < 0.05$  en los grupos de ET, EC y GIV.

## DISCUSION

El principal factor que limita la aplicación de un trasplante pulmonar es la escasez de donadores (Yamazaki:1990, Baldwin:1987) dado que la complicación más relevante de una muerte cerebral es la formación de edema pulmonar neurogénico, además de que como consecuencia de los largos periodos de intubación traqueal y ventilación mecánica asistida a los que están sometidos los posibles donadores, es muy alta la posibilidad de encontrar una infección pulmonar activa (Zenati:1989, Wang:1989).

Aunado a la escasez de donadores, no se ha desarrollado un método adecuado que permita la preservación de los pulmones durante periodos de tiempo prolongados sin dañar su funcionalidad (Bando:1988, Wang:1989, Locke:1988).

Se han utilizado diferentes métodos, técnicas y soluciones de preservación para tratar de proteger al pulmón durante la isquemia, sin embargo, los resultados de estos experimentos han sido un tanto diferentes y conflictivos y con ninguno de ellos ha sido posible realizar procuraciones rutinarias distantes (Keshaujee:1989, Zenati:1989).

Actualmente, está bien establecido que periodos cortos de isquemia fría entre 5 y 7 horas son compatibles con una buena función pulmonar, independientemente de la técnica o solución utilizada para la preservación del pulmón a trasplantar (Cooper:1989, Veith:1976, Novick:1976, Hachida:1988°).

La existencia de un método de preservación adecuado para periodos de tiempo prolongados, convertiría el procedimiento quirúrgico de emergencia en una cirugía más selectiva, ya que permitiría una tipificación más específica del tejido mejorando la selección del receptor, además de que facilitaría el transporte de órganos del donador al receptor (Keshaujee:1989, Hachida:1988°).

A diferencia de los llamados órganos sólidos, el pulmón muestra una marcada sensibilidad a la isquemia, dada la presencia de la membrana alveolo-capilar. Durante el almacenamiento del pulmón, la solución de preservación permanece en la cámara capilar ocasionando cambios en la vasculatura y se difunde a la fase alveolar, afectando principalmente a las células alveolares tipo II que sintetizan, almacenan y secretan el surfactante pulmonar (Hachida:1988° y 1989).

Con el fin de evaluar los efectos tóxicos de las soluciones de Collins y Collins Sacks que se han utilizado para preservación pulmonar, Hachida y col (1988°) cultivaron "in vitro" células alveolares tipo II, y compararon dichos efectos contra los producidos por una solución electrolítica a la que le adicionaron glucosa e insulina.

Después de 72 horas de incubación, las células alveolares tipo II presentaron menor toxicidad y mayor viabilidad ( $84.7 \pm 4.4$ ) % cuando se cultivaron en la solución de glucosa e insulina en comparación con la solución de Collins ( $66.6 \pm 3.6$ ) % y la solución de Collins Sacks ( $62.6 \pm 2.2$ ) %.

Los daños ocasionados en el pulmón por efecto de la preservación, se reflejan en forma inmediata sobre la función pulmonar. La disfunción pulmonar seguida al trasplante, está bien caracterizada por una disminución en la presión parcial de oxígeno, un aumento en la resistencia vascular pulmonar y por la formación de edema (Novick:1992, Conte:1991, Patterson:1993).

Estos hallazgos se caracterizan por complicaciones en cascada ocasionadas por el efecto del periodo de isquemia prolongada y las condiciones de hipotermia. Estas complicaciones se inician con las alteraciones en el metabolismo e integridad de la membrana de los neumocitos tipo II responsables de la producción de surfactante pulmonar que es indispensable para el mantenimiento de la distensibilidad pulmonar. A menor distensibilidad la resistencia vascular pulmonar se incrementa en forma importante y en consecuencia la presión media de la arteria pulmonar se ve incrementada, esto produce una disminución del gasto cardíaco por efecto de la suma de esta resistencia del lecho vascular pulmonar, y como una etapa final de esta cascada de complicaciones se produce edema pulmonar. El reflejo de todo esto es una disminución en el intercambio gaseoso.

Los resultados del presente estudio indican que después de una preservación prolongada de 15 horas a 4°C, los pulmones que fueron perfundidos con solución de glucosa-insulina-verapamil mostraron una mayor oxigenación y un menor peso post-trasplante que aquellos que fueron perfundidos con solución de Eurocollins o mediante enfriamiento tóxico lo que indica que la glucosa, la insulina y el verapamil juegan un papel importante en la conservación y mantenimiento del metabolismo celular durante la isquemia.

La técnica tradicional de preservación pulmonar consistía en la inmersión del pulmón en solución salina fría, sin embargo, no se obtenía un enfriamiento homogéneo del órgano; ya que el pulmón tiende a flotar en la solución (Novick:1992), actualmente, el método de preservación más utilizado incluye una perfusión a través de la arteria pulmonar con lo que se consigue un enfriamiento más uniforme.

Bajo condiciones normales, el pulmón consume carbohidratos como glucosa y mantiene la energía almacenada en forma de Adenosín Tri Fosfato (ATP). Después de 120 y 180 minutos de isquemia a 37 C, la concentración de glucosa disminuye mucho más rápido que cualquier otro indicador bioquímico (Hachida:1988\*), y los niveles de ATP disminuyen aproximadamente en un 90% (Patterson:1993), lo que sugiere que el tejido pulmonar metaboliza glucosa como principal fuente de energía. La adición de glucosa a las soluciones de preservación puede entonces, favorecer el metabolismo celular durante el almacenamiento (Hachida:1988, Patterson:1993).

La hipotermia prolonga la preservación pulmonar, ya que se produce una disminución en la velocidad a la cual las enzimas intracelulares degradan los metabolitos necesarios para mantener la viabilidad del órgano, lo que disminuye el consumo energético celular (Beizer:1988, Novick:1992, Patterson:1993). Sin embargo, los periodos de

hipotermia profundos provocan una obstrucción vascular (Patterson:1993), afectan los mecanismos de transporte a través de la membrana celular e incrementan la concentración de calcio intracelular (Novick:1992, Hachida:1988°).

De acuerdo con la teoría de Sodi-Pallares (1961, 1962 y 1964, Calva:1965) quien utilizó desde hace más de 3 décadas un tratamiento polarizante a base de soluciones que contenían glucosa insulina y potasio como una posibilidad terapéutica de integración iónica celular en los padecimientos cardiovasculares existe mejoría del metabolismo celular en particular formación de enlaces de alta energía que son afectados por periodos de hipoxia prolongada (Sodi : 1961, 1962 y 1964), así como una corrección de la distribución de concentraciones iónicas y de cargas oléctricas a través de la membrana celular y un restablecimiento de grado satisfactorio de polarización en las células afectadas dado que las condiciones de isquemia, hipoxia e hipotermia alteran los mecanismos de transporte iónico activo a través de la membrana provocando movimientos ionicos anormales (Sodi:1961 y 1962). Sin embargo en este estudio los efectos benéficos de la solución de glucosa-insulina-verapamil sobre la función pulmonar pueden atribuirse a estos tres componentes más que a la concentración de potasio en dicha solución ya que la solución de Eurocollins contiene una concentración de potasio mayor que la que contenida en la solución de glucosa-insulina-verapamil.

La glucosa extracelular constituye un factor importante para la entrada de potasio y salida de sodio, tales mecanismos están influidos aún más por el metabolismo de la glucosa bajo la acción de la insulina. La insulina es importante en el mecanismo energético celular ya que incrementa la permeabilidad de la membrana a la glucosa y otros azúcares, incrementa la velocidad de transporte de la 2 deoxi-D-glucosa a través de las células alveolares tipo II (Sadis:1994). Se ha observado que al incubar células alveolares tipo II con 1.2 ng de insulina / ml de medio de cultivo en presencia de 2 deoxi-D-glucosa marcada se estimula la ingesta de glucosa de un 40 a 90% (Kim:1994). Se ha reportado que en las membranas basolaterales de las células alveolares tipo II existe la presencia de receptores para insulina. Las características bioquímicas de estos receptores son similares a las de los receptores identificados en otras células epiteliales (Sadis:1994). Los neumocitos tipo II contienen cerca de 17000 sitios de unión para la insulina de los cuales del 20 al 30% son de alta afinidad (Kim:1994). Los mecanismos por los cuales la insulina estimula el transporte iónico en las células alveolares tipo II no están claramente establecidos sin embargo, se sabe que interviene en el transporte activo de cloro, potasio y sodio a través del epitelio alveolar. La insulina incrementa el transporte de sodio en células aisladas de pulmón de rata y cultivadas "in vitro" sobre filtros millipore tratados con colágeno (Sadis:1994), e influye directamente en los

procesos metabólicos celulares que llevan a la formación de enlaces fosfato de alta energía principalmente a nivel de la fosforilación oxidativa que es obstaculizada por el calcio que actúa como factor de disociación entre el proceso de la oxidación y el de la fosforilación (Sodi:1961, 1962 y 1964). La insulina puede incrementar la bomba de sodio-potasio y parece favorecer la entrada de sodio a través de un cotransporte de glucosa-sodio responsable del mecanismo de la absorción de fluido observado en pulmones de rata "in situ" llenos de líquido (Cott:1994). Se ha identificado un transportador sodio dependiente mediador en el transporte de glucosa en cultivos primarios de células tipo II que es estimulado por la insulina, sin embargo permanece incierto si este cotransporte contribuye significativamente al transporte iónico a través de las monocapas de las células tipo II. (Cott:1994). Por otro lado existen otros sistemas de transporte ligados al sodio que pueden también estar estimulados por efecto de la insulina, por ejemplo se ha observado que en las células alveolares tipo II aisladas existe un cotransporte de aminoácidos dependiente de sodio que puede estimularse por acción de la insulina. (Cott:1994).

La concentración de carbohidratos en la solución de glucosa-insulina-verapamil, es mayor que la concentración de glucosa contenida en la solución de Eurocollins, además de que en la solución de glucosa-insulina-verapamil este último compuesto es un fármaco con efecto vasodilatador y bloqueador de canales de calcio que ha demostrado mejorar el funcionamiento del corazón y del riñón post-isquemia y es efectivo para disminuir el daño por isquemia pulmonar (Hachida:1988<sup>o</sup>). El acúmulo intracelular de calcio ocasiona un déficit energético importante ya que por una parte se presenta un aumento excesivo de la actividad de las ATP-etas dependientes de calcio con lo que se acelera hasta niveles incompatibles el consumo de ATP mitocondrial, y por otro lado estos organelos pierden la capacidad de fosforilación y consecuentemente la síntesis de ATP por efecto de la calcificación (Lossnitzer:1983). Los pulmones perfundidos y preservados con solución de glucosa-insulina-verapamil presentan una mejor función pulmonar que los preservados con solución de Eurocollins o mediante enfriamiento tóxico lo que puede atribuirse a la presencia de la glucosa, la insulina y el verapamil en dicha solución.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

## CONCLUSIONES

1.- Los grupos de pulmones preservados con solución de glucosa-insulina-verapamil y con solución de Eurocollins en los que se perfundió la solución fría a través de la arteria pulmonar, presentaron en general, una mejor función pulmonar en comparación con el grupo de pulmones preservados en solución salina mediante enfriamiento tóxico.

2.- Después de 15 horas de preservación a 4°C, el grupo de pulmones preservados con solución de glucosa-insulina-verapamil, presentó una mejor oxigenación que los grupos de pulmones preservados con solución de Eurocollins o mediante enfriamiento tóxico.

3.- La resistencia vascular pulmonar fué mayor en los grupos de enfriamiento tóxico y Eurocollins, y menor en el grupo de glucosa-insulina-verapamil; sin embargo, la resistencia vascular pulmonar se incrementó en forma significativa en todos los grupos de estudio incluyendo el grupo de trasplante inmediato.

4.- El peso pulmonar post-trasplante fué significativamente mayor en todos los grupos de estudio, cuando se comparó con el peso post-trasplante del grupo control, sin embargo, este aumento fué menor para el grupo de pulmones preservados con solución de glucosa-insulina-verapamil.

5.- Después de 15 horas de preservación a 4°C, la función pulmonar parece mejorar cuando se utiliza solución de glucosa-insulina-verapamil versus solución de Eurocollins o enfriamiento tóxico.

6.- La solución de glucosa-insulina-verapamil puede prepararse con facilidad y a bajo costo en todos los hospitales, y puede ser una alternativa útil en preservación pulmonar para países con recursos económicos limitados.

## REFERENCIAS

- Baile, E.M., Jasso-Victoria, R., Sotres-Vega, A., Selman, M., Villalba, J., Arreola, J., Oimos, R., Pare, P. and Santillán-Doherty, P. (1992): Measurement of tracheal and bronchial blood after lung autograft in dogs with and without omentopexy. **Transplantation Proceedings**. 24:2024-2029.
- Baldwin, J.C., Frist, W.H., Starkey, T.D., Harjula, A., Starnes, V.A., Stinson, E.B., Oyer, P.E. and Shumway, N.E. (1987): Distant graft procurement for combined heart and lung transplantation using pulmonary artery flush and simple topical hypothermia for graft preservation. **Ann Thorac Surg**. 43:670-673.
- Bando, K., Teramoto, S., Tago, M., Seno, S., Teraoka, H., Murakami, T. and Senoo, Y. (1988): Core-cooling, heart perfusion, lung immersion technique provides successful cardiopulmonary preservation for heart-lung transplantation. **Ann thorac Surg**. 46:625-630.
- Belzer, F.O. and Southard, J.H. (1988): Principles of solid organ preservation by cold storage. **Transplantation**. 45:673-676.
- Calva E., Mujica A., Bisteni A., and Sodi Pallares D. (1965): Oxidative phosphorylation in cardiac infarct.: Effect of glucose-KCl-insulin solution. **Am J Physiol**. 2:371-375.1965.
- Conte, J., Katz, N., Wallace, R. and Foegh, M. (1991): Long term lung preservation with the PAF antagonist BN 52021. **Transplantation**. 51:1152-1156.
- Cooper, J.D., Egan, T.M. and Kaiser, L.R. (1989): **Lung transplantation**. Current problems in surgery. Board. Chicago, Illinois. U.S.A. 29-47.
- Cott R. (1994): Active transport of sodium across epithelial monolayers. In Efros Richard & Chang H. (Ed.), **Fluid and solute transport in airspaces of the lung**, Dekker Inc., New York, 101-118.
- Derom, F., Barbier, F. and Ringoim, S. (1971): Ten month survival after lung homotransplantation in man. **J Thorac and Cardiovasc Surg**. 61:835-846.
- Hachida, M., Hoon, D. and Morton, D. (1988): A comparison of solutions for lung preservation using pulmonary alveolar type II cell viability. **Ann Thorac Surg**. 45:643-646.\*
- Hachida, M. and Morton, D. (1988): The protection of ischemic lung with verapamil and hydralazine. **J Thorac Cardiovasc Surg**. 95:178-183.º
- Hachida, M. and Morton D. (1989): A new solution (UCLA formula) for lung preservation.: **J Thorac Cardiovasc Surg**. 97:513-520.
- Hardesty, R.L. and Griffith, B.P. (1987): Autoperfusion of the heart and lung for preservation during distant procurement. **J Thorac Cardiovasc Surg**. 93:11-18.

- Jones, M.T., Heshieh, C., Yoshikawa, K., Patterson, G.A. and Cooper, J.D. (1988): A new model for assesment of lung preservation. : **J Thoracic Surg. 96:608-614.**
- Keshaujee, S.H., Yamazaki, F., Cardoso, P.F., Mc Ritchie, D.I., Patterson, G.A. and Cooper, J.D. (1989): A method for save twelve-hour pulmonary preservation. **J. Thorac Cardiovasc Surg. 98:529-534.**
- Kim J. and Crandall E. (1994): Specialized alveolar epithelial transport processes. In Effros Richard & Chang H. (De.), **Fluid and solute transport in airspaces of the lung**, Dekker Inc., New York, 219-239.
- Locke, T., Hopper, T., Flecknell, P. and Mc Gregor, G. (1988): Preservation of the lung. **J Thorac Cardiovasc Surg. 96:786-795.**
- Lossnitzer K., Pfennissdorf G., and Brauer H. (1983): **Miocardio, vasos sanguineos, calcio**. Knoll A.G. Ludwischafen. Munchen.
- Nellems, J.M., Rebeck, A.S. and Cooper, J.D. (1980): Human lung transplant. **Chest. 78:569-573.**
- Novick, R.L. Menkis, A.H. and Mc Keinze, F. (1992): New trends in lung preservation:A collective review. **J Heart and Lung Transplantation. 11:377-392.**
- Patterson, A. and Cooper, J. (1993): Lung Transplantation. **Chest Surg Clinics of North America. 3:29-48.**
- Reitz, B.A., Hunt, S.A. and Gandiani, V. (1983): Clinical heart lung transplantation. **Transplantation Proceedings. 15:1256-1259.**
- Santillán-Doherty, P., Jasso, R., Sotres, A. Grupo de trasplante pulmonar del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. (1990): Trasplante pulmonar. **Rev INER. 3:148-153. \***
- Sadi M., Yue G., Hu P., Oh Y. and Benson D. (1994): Mechanism of active sodium transport across freshly isolated and cultured adult alveolar type II pneumocytes. In Effros Richard & Chang H (De.), **Fluid and solute transport in airspaces of the lung**, Dekker Inc., New York, 179-210.
- Santillán-Doherty, P. (1990): Transplante unilateral de pulmón en un caso de fibrosis pulmonar terminal. **Rev Invest Clin. 42:127-134.º**
- Santillán-Doherty, P., Jasso-Victoria, R., Sotres-Vega, A., Arreola, J., Olmos, R., Andrade, R., Villaiba, J., Sada, E., Coó, J. and Papadakis, M. (1992): Pulmonary perfusion during lung transplant rejection and experimental pneumonia. **Transplantation. 53:533-535.**
- Santillán-Doherty, P., Jasso-Victoria, R., Diliz, H. (1993): Lung procurement in Mexico. **Transplantation Proceedings. 25:3139-3140.**

- Sierra, F.J. (1986): **Enseñanza de la Cirugía. Técnica quirúrgica en animales.** Universidad Nacional Autónoma de Tamaulipas. México.
- Spinelli, S.J. and Reed, G.K. (1984): **Farmacología y Terapéutica Veterinaria.** Interamericana. México. D.F.
- Sodi Pallares D. (1961): Posibilidad de una terapéutica de integración iónica celular en los padecimientos cardiovasculares. **Arch Inst Card Mex. 31:557-573.**
- Sodi Pallares D., Testelli M., Fishleder L., Biseni A., Medrano G., Friedland Ch., and De Michelli A. (1962): Effects of an intravenous infusion of a potassium-glucose-insulin solution on the electrocardiographic signs of myocardial infarction. **Am J of Cardiol. 2:166-181.**
- Sodi Pallares D. (1964): Estudios experimentales a nivel celular del tratamiento polarizante. : **Arch Inst Card Mex. 34:675-718.**
- Toledo, L. and Condie, R. (1978): Lung transplantation. Hypothermic storage for 24 hours in a colloid hyperosmolar solution. **J Thorac Cardiovasc Surg. 76:846-852.**
- Veith, F.J., Crane, R., Torres, M., Colon, I., Jack, W., Hagstrom, C., Pinsker, K. and Koerner, S.K. (1976): Effective preservation and transportation of lung transplant. **J Thorac Cardiovasc Surg. 72:97-105.**
- Wang, L.S., Yoshikawa, K., Miyoshi, S., Nakamoto, K., Hshie, C., Yamazaki, F., Guerreiro, P., Schaeters, H., Brito, J., Keshavjee, S., Paterson, A. and Cooper, J. (1989): The effect of ischemic time and temperature on lung preservation in a simple ex vivo rabbit model used for functional assessment. **J Thorac Cardiovasc Surg. 98:333-342.**
- William, V.L. (1983): **Anestesia Veterinaria.** Continental. México. D.F.
- Yamazaki, F., Yokomise, H., Keshavjee, S.H., Miyoshi, S., Cardoso, P.F., Slutsky, A.S. and Patterson, G.A. (1990): The superiority of an extracellular fluid solution over Eurocollins solution for pulmonary preservation. **Transplantation. 49:690-694.**
- Zenati, M., Dowling, R.D., Armitage, J.M., Kormos, R.L., Dummer, S., Hardesty, R.L. and Griffith, B.P. (1989): Organ procurement for pulmonary transplantation. **Ann Thorac Surg. 48:882-888.**