

Preservación de Organos Sólidos

A. VELASQUEZ, M. D., H. ARISTIZABAL, M. D., MSCC.

Palabras claves: Organos sólidos, Aumento de resistencia, Criopreservación, Aumento de suministro, Perfusión-hipotermia, solución de Wisconsin.

Se presenta la evolución en el desarrollo del proceso de conservación de los órganos sólidos lo que en la actualidad ha permitido hacer trasplantes después de haber sido reseca- dos los órganos por períodos importantes de tiempo.

Esto ha permitido el gran avance en los trasplantes de hígado, páncreas, corazón, riñón, pulmón, corazón y corazón - pulmón

INTRODUCCION

El concepto del mantenimiento artificial de órganos fue expresado por Legallois hace más de 150 años, pero su implantación exitosa es reciente por la complejidad que ella supone. La hibernación animal como fenómeno natural ha sido un punto de referencia importante para los investigadores que han dedicado sus esfuerzos a la disciplina de la preservación de órganos.

John Hunter y Edward Jenner tuvieron múltiples inquietudes en la observación del fenómeno hibernario en distintas especies animales. La hibernación artificial fue el paso que se dio en el laboratorio para conocer y aplicar el fenómeno natural. Andjus en 1957 logró la hibernación de animales que no lo hacen en forma natural como las anguilas, los hamsters y los peces. Kalabukher en Rusia congeló murciélagos entre 5° y 7°C y luego los reanimó a su estado normal. Whittingham en 1972, supercongeló embriones de ratones y de conejos, los descongeló y luego los implanta en otro roedor, dando nacimiento a animales normales. Desde 1949, después de los trabajos del doctor Gye, en Inglaterra, se conservan células tumorales congeladas para producir tumores malignos en animales en experimentación. En la actualidad la criopreservación se usa para almacenar células, tejidos, frutos de anís y para el trasplante de animales pequeños como los peces. También en la literatura de ciencia ficción se descubre claramente desde hace más de 50 años este aspecto de la criopreservación y al respecto se pueden mencionar los libros

de Edgar R. Burrough "El amo de Marte" y el de Robert Ertinger "El prospecto de la inmortalidad" como prototipo de esta futurología.

PRINCIPIOS DE LA PRESERVACION DE ORGANOS

Hay una gran variedad de métodos para la preservación de órganos, como también hay diversas formas de presentar el problema teórico-práctico. El siguiente esquema a más de simple es lógico, y pretende la preservación del órgano donado mediante la prevención de cambios en su estructura tisular. Esto puede lograrse aumentando la resistencia a la lesión o restableciendo el suministro de sustancias vitales al órgano desprovisto de ellas.

Métodos que aumentan la resistencia

1. Hipotermia.
2. Presión hiperbárica.
3. Congelación.
4. Agentes farmacológicos.
5. Asociación de los métodos anteriores.

1. Hipotermia: Es el método más simple y más utilizado de preservación y en cuanto a su uso para conservar órganos, su eficacia fue demostrada por Schlosser en 1956 con riñones para trasplante. Aunque en la actualidad no se cuestiona su utilidad, sí se discute la forma de inducirla (superficie, infusión, perfusión), la naturaleza del fluido por utilizar y la duración de la protección hipotérmica. La clave de la hipotermia es la depresión del metabolismo que disminuye las necesidades de oxígeno y la acumulación de subproductos tóxicos. La depresión metabólica se relaciona con la reducción de la temperatura en forma directa: a 20°C, el consumo de oxígeno es de un 16% y a 4°C, de 5%. Los mejores resultados se han conseguido cerca del nivel crítico de cristalización. La hipotermia sola sin perfusión da un límite seguro hasta por 24 horas, aunque autores franceses han informado excelentes resultados hasta por 48 horas.

En los últimos años de la década de los 60s., dos importantes estudios demostraron que los riñones podían ser seguramente preservados por almacenamiento en frío y por períodos tan largos como de 72 horas por perfusión continua. Estos estudios modificaron el trasplante clínico de riñones de cadáver y lo convirtieron de un procedimiento de emergencia en uno electivo. Muchos investi-

Doctores, Alvaro Velásquez y Humberto Aristizabal, miembros del grupo de Trasplantes, Fac. de Medicina, U. de Antioquia, Hosp. Universit. San Vicente de Paúl, Medellín, Colombia.

gadores han verificado soluciones de almacenamiento en frío y han tenido preservación exitosa por 48 a 72 horas. La solución Collins o la solución de Eurocollins modificada, es la preferida en la mayoría de los centros para la conservación de riñones por almacenamiento en frío. Con los métodos actuales la conservación de hígado, corazón y páncreas sólo es posible por un tiempo no mayor de 6 a 10 horas.

El congelamiento y la perfusión aeróbica continua, son teóricamente los únicos medios de obtener una preservación a largo plazo, meses o años. La hipotermia simple tiene un tiempo definido más allá del cual el órgano no es viable.

La hipotermia, un elemento importante en la preservación, disminuye la velocidad a la cual las enzimas intracelulares degradan los componentes celulares esenciales necesarios para la viabilidad del órgano. La hipotermia no para el metabolismo sino que retarda la velocidad de la muerte celular. La efectividad de la hipotermia puede ser inferida de cómo afecta el metabolismo. La mayoría de las enzimas en animales normotérmicos muestran una disminución de 1,5 a 2 veces en la actividad por cada 10°C de disminución en la temperatura; este efecto análogo a la regla de Van't Hoff puede expresarse como $Q_{10} = (K_2/K_1)$, donde Q_{10} es el coeficiente de Van't Hoff para un cambio en la temperatura de 10°C y K_1 y K_2 son las velocidades, duración a las temperaturas T_1 y T_2 , respectivamente. Esta ecuación muestra que para una vía enzimática con Q_{10} de 2, la velocidad metabólica es suprimida en cerca de 12 a 13 veces cuando la temperatura se reduce de 37°C, temperatura corporal, a 0°C, temperatura de preservación.

Para que una solución de preservación sirva a varios órganos debe tener una composición que, 1) minimice el edema celular inducido por la hipotermia, 2) impida la acidosis intracelular, 3) evite la expansión del espacio intersticial durante el período de limpieza, 4) prevenga la lesión debido a los radicales de oxígeno (especialmente durante la reperfusión), 5) suministre sustratos para regenerar compuestos de fosfato de alta energía durante la perfusión.

El mecanismo por el cual la hipotermia induce el edema celular está suficientemente documentado. Normalmente las células están bañadas en una solución extracelular rica en Na^+ y baja en K^+ ; esta relación es mantenida por la bomba de Na^+ (Na-K ATP asa) la cual utiliza mucha de su energía (ATP) derivada de la fosforilación oxidativa. La bomba de Na^+ hace que efectivamente el Na^+ , un impermeante en el exterior de la célula, contrarreste la presión coloidosmótica derivada de las proteínas intracelulares y otros aniones impermeables en cerca de 110 a 140 mOsm/kg. La preservación hipotérmica anaeróbica suprime la actividad de la bomba de sodio y disminuye el potencial de membrana del plasma, consecuentemente el Na^+ y el Cl^- entran a la célula, la cual se edematiza porque acumula agua. Esta tendencia al edema puede ser contrarrestada.

A la hipotermia del órgano se llega después de seguir unos pasos progresivos que en resumen son los siguientes:

A. Mantenimiento del donante en buenas condiciones de perfusión y metabolismo.

B. Anticoagulación sistémica del donante (donante con muerte encefálica).

C. Lavado inicial del órgano o normotermia para evitar la vasoconstricción y facilitar el procedimiento.

D. Infusión con la solución por utilizar, previamente enfriada a 4°C. Hay en la actualidad varias fórmulas para preparar estas soluciones como las de Collins, Acquattella, Ross, Wisconsin.

E. Adición de agentes farmacológicos a la solución si ésta no los tiene en su composición: bicarbonato de sodio, heparina, vasodilatadores, dextrán, antibióticos.

F. La presión de infusión debe ser controlada entre 60 y 100 mmHg.

G. Terminada la infusión y conseguida la hipotermia en unos 8 a 10 minutos de infusión, el órgano se introduce en la misma solución y en un recipiente adecuado en el cual se coloca dentro de un refrigerador previamente calibrado a 4°C.

H. La isquemia en normotermia se debe evitar al máximo, ya que en la práctica es el factor clave de la lesión tisular.

Aunque lo expuesto sobre la hipotermia es en esencia cierto, en la práctica hay muchos efectos nocivos que crean grandes problemas en la conservación de órganos. La inactivación de la bomba de sodio y potasio y la parálisis en la generación de energía celular, son dos hechos bien conocidos que hay que enfrentar y que conducen a edema celular que de no ser prevenido o corregido llevan a la destrucción del órgano.

La osmolaridad intra y extracelular es la misma y casi todas las células expuestas a hipotermia retienen agua. El espacio intracelular tiene un elevado contenido proteínico y aniónico no difusible que originan el llamado equilibrio de Donnan, lo cual da como resultado una redistribución de iones que facilita una mayor osmolaridad intracelular con una redistribución concomitante de agua tisular. También el interior de la célula es electronegativo y esta orientación del potencial de membrana en reposo impide la acumulación de iones permeables provenientes del líquido intersticial. La bomba de sodio lo expulsa del interior de la célula con la misma rapidez con que penetra por difusión debido al gradiente de los dos compartimientos. En este proceso se consume energía y el resultado final es mantener el sodio fuera de la célula, el potasio intracelular y la electronegatividad interna que impide el ingreso de iones pequeños con carga negativa como los cloruros. Por lo tanto, la bomba de sodio equilibra la distribución de solutos y estabiliza el volumen de las células. Es de suponer que todo trastorno que altere el mecanismo de la bomba de sodio producirá edema celular. Si se inhibe ésta (hipotermia), el resultado inicial es un intercambio de potasio por sodio; la cantidad de sodio que penetra en la célula es mayor que la del potasio que sale de ella, porque existen en la célula aniones no difusibles; esto elimina el potencial de membrana y permite la penetración de cloruros de fácil difusión, lo cual produce una mayor penetración de sodio para igualar la presión osmótica interna y externa. La presión oncótica proteínica y la alta concentración intracelular de sodio y cloruros, conducen a un estado de turgencia celular progresivo que lesiona el órgano, ya sea durante el período de conservación o poco después de reimplantarlo, debido al compromiso de la microcirculación.

Para mejorar esta situación, será necesario en el futuro un mayor conocimiento de estos procesos metabólicos que permitan una aplicación adecuada en la práctica clínica.

2. *Presión Hiperbárica:* En 1964 Manax utilizó por primera vez la combinación de hipotermia y oxígeno hiperbárico para preservar riñones y pudo aumentar hasta 24 horas el período seguro de preservación. Muchos autores repitieron el mismo experimento con riñones y otros órganos. Sin hipotermia, la hiperbaria no tiene ninguna utilidad. La hiperbaria (3 a 15 atm), puede también conseguirse con helio o nitrógeno, con buenos resultados hasta por 24 horas, solos o mezclados con oxígeno al 5%. La hipótesis del O₂ hiperbárico se basa en la Ley de Henry (1903), por la cual la masa de O₂ disuelto en un líquido, aumenta proporcionalmente con la presión entre 3-4 y 10-15 atm.

No se conoce el mecanismo por el cual la hiperbaria preserva los tejidos, pero en teoría podrían mencionarse los siguientes:

- A. Impide el edema celular.
- B. Aumenta el O₂ utilizable por los tejidos (Ley de Henry).
- C. Inhibe el metabolismo celular que depende de enzimas con grupos sulfhidrilos (SH-).

La hiperbaria e hipotermia simultáneas, se producen en cámaras de variable diseño. En la actualidad, la hipotermia simple y la perfusión-hipotermia, han desplazado este método de conservación de órganos.

3. *Congelación:* Con la extensión mundial de los programas de trasplantes de órganos y tejidos y el intercambio internacional de éstos para su mejor aprovechamiento, es necesario desarrollar nuevos métodos de preservación que superen el límite de 3 días que en la actualidad se consiguen con perfusión - hipotermia. Los beneficios de una preservación más prolongada son:

- A. Utilización óptima de un mayor número de órganos, de acuerdo con las nuevas legislaciones adoptadas en el mundo sobre trasplantes de órganos.
- B. Mejor clasificación de histocompatibilidad utilizando métodos más refinados como el cultivo mixto de linfocitos.
- C. La cirugía, en lugar de ser urgente, pasa a ser electiva, lo cual permite una óptima preparación de los pacientes.
- D. Se crea la posibilidad futura de alterar la antigenicidad del órgano a la tolerancia del huésped.

La preservación de órganos y tejidos por congelación es la respuesta del futuro a la actual situación.

El método de congelación es una práctica común en la actualidad para la conservación de muchos tejidos como piel, sangre, semen, etc., pero cuando se trata de órganos más complejos, aún existen en la criobiología situaciones difíciles de superar, pero que van a ser dominados, a no dudarlo, en corto o mediano plazo. Estos problemas son:

A. Los órganos sólidos tienen diversos tejidos y células que por lo menos en teoría difieren en requerimientos de sustancias crioprotectoras o tienen índices diferentes de congelación y descongelación. Este es un hecho ya demostrado en el laboratorio para muchas células de mamíferos.

B. Los problemas termodinámicos asociados con órganos sólidos, son mayores que en las suspensiones celulares como la sangre. La relación volumen/área de estos órganos, lleva a una falta de distribución uniforme tanto en la hipotermia para la congelación, como de calor para la descongelación. Esto conduce a una congelación rápida de la superficie externa mientras la parte central del órgano mantiene temperaturas por encima de la congelación. En la descongelación sucede lo contrario.

C. A diferencia de las suspensiones celulares, que se nutren por difusión simple, los órganos necesitan sistema circulatorio óptimo y su lesión en nivel microcirculatorio excluye toda posibilidad de función del órgano.

D. Un órgano necesita la función integrada de sus componentes tisulares para cumplir su misión: el hepatocito necesita del drenaje biliar, el nefrón del sistema tubular, etc. Si se lesiona una estructura, es obvio que se afectan las demás.

a) *Preservación a corto plazo:* La introducción y remoción de los crioprotectores supone un método de preservación *ex-vivo* a corto plazo antes de la reimplantación del órgano. Este método como es lógico será la perfusión-hipotermia que en la actualidad se utiliza, la cual, a diferencia de la hipotermia de superficie, facilita la distribución y salida uniforme tanto del factor temperatura como de los crioprotectores. El fluido de perfusión aún está en controversia, pero el trabajo clínico y experimental actual indica que el plasma crioprecipitado de alta calidad y carente de potencial inmune da la mejor función del órgano.

b) *Criopreparación:* El objetivo de esta fase es conseguir la concentración y distribución uniforme de la sustancia crioprotectora en todo el órgano sin producir un daño tóxico o el llamado "shock osmótico" celular. Los agentes crioprotectores son varios: las macromoléculas como el PVP, el almidón hidroxietílico (HES) y los dextrans, son útiles sólo para suspensiones celulares por no ser difusibles; los difusibles como el DMSO (dimetil - sulfóxido), etilene - glicol, son los más utilizados para preservación de órganos. Los estudios demuestran que el DMSO y el glicerol, adquieren el equilibrio del tejido líquido de perfusión en 20 minutos. El problema de ambos es su efecto tóxico celular y el shock osmótico, puesto que sus mejores efectos se consiguen entre 1 y 23.5 M, lo cual da un efecto osmótico mayor de 3.000 mosm/kg. El shock osmótico que se produce tanto en la introducción como en el retiro de los crioprotectores, puede conducir a una lesión irreversible de la función. El efecto tóxico de estas sustancias es menos claro y en general se acepta que superado el shock osmótico, la toxicidad es menos significativa.

c) *Congelación controlada:* Se refiere al descenso de la temperatura desde 4°C, cuando el órgano está en perfusión-hipotermia, hasta temperatura subcero y la transición al estado sólido. La velocidad del enfria-

miento debe ser óptima para evitar el fenómeno del "shock frío" que afecta la permeabilidad de la membrana celular. Esta permeabilidad celular aumentada sucede alrededor de los 10 a 15°C y no se presenta por debajo de los 10°C; por otra parte es reversible después de la reimplantación del órgano. Hay estudios que demuestran que el descenso gradual de 1°C/minuto previene el "shock frío". También el descenso brusco produce ruptura de los órganos sólidos cuando hay diferencias superficie/interior de la temperatura; por lo tanto el descenso debe ser controlado hasta 25°C.

d) Almacenamiento frío prolongado: Hay evidencia de que aun a temperatura de congelación, continúa la biodegradación por acción enzimática. Estudios de viabilidad muestran que temperaturas entre 70 a 100°C, permiten almacenamiento seguro por semanas y meses; períodos mayores necesitan temperaturas en el nivel del nitrógeno líquido (-196°C). El enfriamiento entre -25 a -196°C es menos crítico que el alcanzar la zona subcero. Un aspecto adicional de la preservación a estas temperaturas es que los órganos se rompen como el cristal y, cuando hay estructuras como el pedículo vascular o el uréter en este estado, se pueden producir lesiones irreparables en dichos órganos.

e) Descongelación controlada: Esta es la etapa en la cual la investigación está más atrazada. En suspensiones celulares se ha visto que mientras más rápido sea el calentamiento mejor el resultado, pero se acepta que haya una forma óptima de hacerlo.

Los órganos sólidos crean ciertos problemas físicos con la transferencia del calor y su distribución, que no están presentes en las suspensiones celulares. Los estados sólidos (hielo) y líquido del agua tienen diferentes capacidades de conducción del calor; el estado de hielo del agua tisular tiene un "calor específico"; el número de calorías por gramo que se necesita para cambiar la temperatura en 1°C, equivale a la mitad del estado líquido; por lo tanto cuando la licuefacción ocurre, aquellas áreas que pasan del estado sólido al líquido actúan como aislantes en la conducción del calor. Por esta razón la inmersión simple de un órgano congelado, lleva a la licuefacción rápida de la superficie, mientras el interior permanece sólido por tiempo prolongado. Por esta razón los criobiólogos han utilizado otros métodos para descongelación rápida como la radiación electromagnética (EMR), que promete ser el método del futuro. Se usan variantes de horno de micro-ondas con frecuencia de 2450 MHZ. Sin embargo, se presenta el fenómeno de fugas o puntos calientes en los sitios que primero se licuan, permitiendo que en estos puntos haya hipertermia mientras en los otros hay congelación con el consiguiente daño tisular. Se espera que la combinación de altas y bajas frecuencias por pulsos en cámaras resonantes, diseñadas para enfocar la radiación al interior de los órganos, obvien las dificultades.

f) Restitución de la perfusión-hipotermia: Este paso es necesario por varias razones: 1) Para la remoción gradual de la sustancia crioprotectora del órgano congelado antes del trasplante y así evitar el "shock osmótico" si se trasplantara después de la descongelación sin extraer el crioprotector. La diferencia en osmola-

ridad entre una criopreparación y el plasma normal es de más de 3.000 mosm/kg a 317 mosm/kg; si se expone el órgano a un cambio tan grande en la osmolaridad, durante la reimplantación se produce un severo edema del órgano, pobre perfusión y pérdida irreversible de la función. La extracción del crioprotector se debe hacer durante la perfusión/hipotermia a 10°C, lo cual también disminuye el efecto tóxico de éste sobre la célula, que es dependiente de la temperatura. 2) La reinstalación de la perfusión, permite evaluar la integridad del árbol vascular antes del trasplante. 3) Permite evaluar la viabilidad del órgano por análisis enzimáticos, funcionales e histológicos.

g) Reimplantación: Es un aspecto técnico superado; sin embargo, es de esperar que con la preservación por congelación se presenten más casos de falla funcional inicial con mayor necesidad de hemodiálisis postrasplante. En resumen, se considera que el desarrollo del equipo y la tecnología para preservación por congelación, requiere de los esfuerzos concertados de expertos en ciencias biológicas, físicas y en bioingeniería.

4. *Agentes farmacológicos.* Se ha demostrado la utilidad de muchas sustancias en la preservación de órganos; sin embargo, una droga por sí misma no es garantía suficiente de éxito; es la unión de múltiples factores lo que conducirá a un resultado satisfactorio. Las sustancias farmacológicas que tienen algunas acciones conocidas y demostradas se pueden clasificar de la siguiente manera:

- A. Estabilizadores de membrana: esteroides, cloroquina, barbitúricos, clorpromazina.
- B. Inhibidores del metabolismo: NSG04, fluoruro de Na, clorpromazina, tiouracilo.
- C. Diuréticos: manitol, dextran, mersail, úrea.
- D. Anticoagulantes: heparina, citrato, EDTA.
- E. Vasodilatadores: procaína, xilocaína, papaverina, diltiazem, difenhidramina.
- F. Crioprotectores: glicerol, DMSO, PVP, sucrosa.

Métodos que aumentan el suministro

- A. Perfusión/Hipotermia *in vitro*
- B. Perfusión *ex vivo*
- C. Huésped intermediario

Aunque la perfusión de órganos se inicia con los trabajos de Carrel, sólo recientemente se ha visto la necesidad de utilizar este método en la preservación de órganos para investigación o trasplantes. La perfusión tiene la potencialidad de preservación en períodos cortos o intermedios, puesto que es un método que no sólo provee el suministro de los ingredientes vitales, sino que remueve los productos de deshecho. La perfusión se puede hacer de las tres maneras antes descritas; las dos últimas tienen grandes inconvenientes, empezando por el problema inmunológico que exigiría en los huéspedes intermediarios la irradiación corporal total, lo cual por sí limita la supervivencia del huésped a 10 o 12 días; por lo pronto los xenobancos no parecen tener perspectivas.

Una nueva solución de almacenamiento en frío.

En los últimos años, Belzer y colaboradores han venido trabajando en una solución que permita una preservación por 72 horas del páncreas, 72 horas del riñón y 30 o más horas para la preservación del hígado; esta ha sido llamada la solución de Wisconsin y su composición se puede ver en la Tabla 1.

Tabla 1. Solución de Wisconsin

Sustancias	Cantidad en 1 L
Lactabionato de K ⁺	100 mmol
K H ₂ Po ₄	25 mmol
Mg So ₄	5 mmol
Rafinosa	30 mmol
Adenosín	5 mmol
Glutationa	3 mmol
Insulina	100 U
Penicilina	40 U
Dexametasona	8 mg
Alopurinol	1 mmol
Hidroetil Starch	60 mg

Hay diferencias importantes entre esta solución y la de Collins; en lugar de la glucosa utiliza un anión (lactabiona-

to) con una masa molecular relativamente alta de 358 daltons para prevenir el edema celular.

La rafinosa, un sacárido con una masa molecular de 594 daltons que ayuda al soporte osmótico.

El hidroxietil Starch previene la expansión del espacio extracelular.

Esta solución al no poseer glucosa podría evitar los efectos indeseables por la producción de ácido láctico e hidrogeniones; sin embargo, contiene un ión hidrógeno y un *buffer* (fosfato), precursores para la resíntesis del ATP durante la reperfusión (adenosina), impermeantes efectivos y no metabolizables (lactoboinato y rafinosa). La glutatona es depletada durante la isquemia del órgano. El alopurinol inhibe la xanteno oxidasa y la generación de radicales libres de oxígeno. La adenosina estimula la síntesis de ATP después de la preservación de los órganos.

Esta solución ha demostrado ser efectiva para hígado, páncreas y riñón.

ABSTRACT

We present the evolution and development of organ preservation which permits that solid organs can be preserved for long periods of time before being transplanted. This fact has permitted an advance in liver, kidney, heart, lung and heart-lung transplantation.

REFERENCIAS

- Collins G H, Bravo-Shugarnon M B, Terasaki P I: Kidney preservation for transplantation. Initial perfusion and 30 hours ice storage. *Lancet* 1969; 2:219
- Belzer F O, Ashy B S, Dumphy: 24 and 72 hours preservation of canine kidney. *Lancet* 1967; 2:536
- Ross H, Marshall V C, Scott M O: 72 hours canine kidney preservation without continuous perfusion. *Transplantation* 1976; 21:498
- Billingham R E: Transplantation Proceedings 1976 Jun; 8:7
- Abbott W M and Sell K W: Organ Preservation in Transplantation. *Transplant Proc* 1969; 1:781
- Rudolf L E: Hypothermia and Pressure Oxygen in Whole Organ Storage. *Transplant Proc* 1969; 1:795
- Collins G M et al: Kidney Preservation for Transplantation. *Transplant Proc* 1969; 1:801
- Zimmermann W E et al: The Avoidance of Primary Hypoxic Damage During Liver Preservation by Perfusion with Hb-Free Solution. *Transplant Proc* 1969; 1:819
- Filo R S et al: Current Status of kidney Freeze Preservation. *Transplant Proc* 1976; 8:215
- Opels G, Terasaki P I: Decreased Transplant Survival Rate of Shared and Nonshared Machine-Preserved Cadaver kidney. *Transplant Proc* 1977; 9:1505
- Collins G M: Hypothermic kidney storage. *Transplant Proc* 1977; 9:1529
- Collins G M et al: Influence of Preservation Method on Early Transplant Failure. *Transplant Proc* 1977; 9:1523
- Southard J H et al: Energy Metabolism in kidneys stored by simple hypothermia. *Transplant Proc* 1977; 9:1535
- Pharmacologic Agents of Potential Value in Protecting kidney from ischemic damage. *Transplant Proc* 1977; 9:1579
- Belzer F O, Hoffman R M, Southard J H: Conservación de los riñones. *Ciñ Quirúrg de Norteam* 1978; 2:261
- Starzl T E: Reflexiones personales en trasplante. *Ciñ Quirúrg de Norteam* 1978; 5:879
- Feduska N J et al: Comparative Study of Albumin Solution and Cryoprecipitated Plasma for Renal Preservation: A Preliminary Report. *Transplant Proc* 1979, 11:472
- Lie T S Ukikusa M: Significance of Alkaline Preservation Solutions in the Transplantation. *Transplant Proc* 1984; 16:134
- Abonna G M, Hei J, Stherland Der: Factor Necessary for Successful 48 Hours Preservation of Pancreas Grafts (Abstract). American Society of Transplantation Surgeons. 13th Annual Meeting, 1987 May; 28-29
- Parks P A, Bulkley G B, Granger D N: Role of Oxygen Free Radicals in Shock, Ischemia and Organ Preservation. *Surgery* 1983
- Southard J H, Marsh D C, McAnulty J F, Belzer F O: Oxygen-derived Free Radical Damage in Organ Preservations: Activity of Superoxide Dismutase and xanthine Oxidase. *Surgery* 1987; 101:566
- McCord J M: Oxygen-derived Free Radicals in Post Ischemic Tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312:158

23. Walhberg J A, Southard J H, Belzer F O: Development of a Cold Storage Solution for Pancreas Preservation. *Cryobiology* 1986; 23:477
24. Alpine G, Garrick R A, Jones M H, Nures R, Tavoloni N: Water and Mon-electrolyte permeability of Isolated Rat Hepatocytes. *Am J Physiol* 1986; 251:872
25. Newsholme E A, Start C: Regulation in Metabolism. London: Wiley 1974; 247
26. Vessell E S: Significance of the Heterogeneity of Lactic Dehydrogenase Activity in Human. *Ann NY Acad Sci* 1963; 94:912
27. Walberg J A, Love R A, Landegaard L, Southard J H, Belzer F O: 72 Hours Preservation of the Canine Pancreas. *Transplantation* 1987; 43:5
28. Ploeg R J, Goossans D, Cameis D, McAnulty J F, Southard J H, Belzer F O; Kidney Preservation with Belzer's New Pancreas Preservation Solution. *Transplante Proc* (in press).
29. Jamieson N V, Sundberg R, Lindell S et al: *Transplant Proc* (in press).
30. Hoffman R M, Southard J H, Lutz M F, Mackety A, Belzer F O: 72 Hours Preservation of Dog kidney Using a Purely Synthetic Perfusate Containing Hydroxethyl Starch. *Arch Surg* 1983; 118: 919
31. Fuller B J, Lunec J, Healing G, Simpkins, Gree G J: Reduction of Susceptibility to Lipid Peroxidation by Desferoxamine in Rabbit kidneys Subjecte to 24 Hours Cold Ischemia and Preservation. *Transplantation* 2987; 43:604
32. Freeman B A, Crapo J D: Free Radicals and Tissue Injury. *Lab Invest* 1982; 47:412
33. Southard J H, Rice M J, Belzer F O: Preservation of Renal Function by Adenosine-Stimulated ATP Synthesis in Hypothermically Perfused Dog kidney. *Cryobiology* 1985; 22:237
34. D'Alessandro A, Southard J H, Kalayoglu M, Belzer F O: Comparisson of Cold Storage and Perfusion of Dog Livers on Function of Tissue Slicés. *Cryobiology* 1987; 23:161