

REVISION DE TEMAS

Preservación de Organos Sólidos

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

El concepto mismo 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.

HISTORIA

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 la hacen en forma natural como las anguilas, los hámsters y los peces. Kalabukhov en Rusia congeló murciélagos entre 5 y 7° C y luego los reanimó a su estado normal. Whittingham en 1972 supercongela embriones de ratones y de conejos, los descongela y luego los implanta en otro roedor, naciendo animales normales. Desde 1949, después de los trabajos del doctor Gye en Inglaterra, se conservan células tumorales congeladas para reproducir tumores malignos en animales de experimentación. En la actualidad la criopreservación se usa para almacenar células, tejidos, frutas y aun para el transporte de animales pequeños como los peces. También en la literatura de ciencia ficción se describe claramente desde hace más de 50 años este aspecto de la criopreservación y al respecto se pueden mencionar los libros de Edgar R. Burroughs "El amo de Marte" y el de Robert Ertinger "El prospecto de la inmortalidad" como prototipos 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 principio a más de simple es lógico: la prevención de cambios en el órgano donado y extraído se puede lograr tanto aumentando la resistencia a la lesión como restableciendo el suministro de sustancias vitales al órgano privado de ellas.

METODOS QUE AUMENTAN LA RESISTENCIA

Han sido utilizados cinco métodos para aumentar la resistencia a la lesión, a saber:

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 para la preservación y conservación de órganos, y su eficacia fue demostrada por Schlosser en 1956 con riñones para trasplante. Aunque en la actualidad no se niega 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 grados es de un 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 60, dos importantes estudios demostraron que los riñones podían ser seguramente preservados por almacenamiento en frío y por períodos tan largos hasta 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 investigadores han utilizado 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, por 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 la manera como afecta el metabolismo. La mayoría de las

Doctores: Alvaro Velásquez O. y Humberto Aristizábal G., Grupo de Trasplantes, Fac. de Med., U. de Antioquia, Hosp. Univ. San Vicente de Paúl, Medellín, Colombia.

enzimas en animales normotérmicos muestra 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 grados C y K_1 y K_2 son las velocidades, duración a la temperatura 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 de temperatura corporal a 0° C de 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) y 5) suministre sustratos para regenerar compuestos de fosfato de alta energía durante la reperfusión.

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 ATPasa), la cual utiliza mucha de su energía (ATP) derivada de la fosforilación oxidativa. La bomba de Na^+ hace que efectivamente al Na^+ un impermeante en el exterior de la célula que contrarresta la presión coloidosmótica derivada de las proteínas intercelulares y otros aniones impermeables en cerca de 110-140 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 y ésta 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 (con muerte encefálica); c) lavado inicial del órgano a 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, Acquatella y Ross; e) adición de agentes farmacológicos a la solución si ésta no los tiene en su composición: bicarbonato de sodio, heparina, vasodilatadores, dextrán y 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, 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 al edema celular que, de no ser prevenido o corregido, llevan a la destrucción del órgano.

La osmolaridad intra y extracelular es la misma; casi todas las células expuestas a hipotermia retienen agua. El espacio intracelular tiene un elevado contenido proteínico y aniónico no difusible que origina 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 expulsa sodio 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 la bomba de sodio (hipotermia), el resultado inicial es un intercambio de potasio por sodio; penetra más sodio en la célula que el potasio que sale de la misma, porque existen en ella aniones no difusibles; esto elimina el potencial de membrana y permite la penetración de cloruros de fácil difusión, lo cual conlleva a 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 24 horas, solos o mezclados con oxígeno al 5%. La hipótesis del O_2 hiperbárico se basa en la Ley de Henry (1903), por la cual la cantidad de O_2 disuelto en un líquido, aumenta entre 3-4 y 10-15 atm.

No se conocen los mecanismos por los cuales la hiperbaria actúa, pero en teoría podrían mencionarse los siguientes: a) impide el edema celular; b) aumenta el O_2 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 expansión 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 tres 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 un sistema circulatorio óptimo y su lesión en el 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.

Dentro de los métodos de preservación por congelación, es preciso comentar los siguientes:

A. Preservación de 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 dextranes 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 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 3.5 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 enfriamiento 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 10 a 15° C y no se presenta por debajo de 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 controlado

Hay evidencia que aun a temperatura de congelación, continúa la biodegradación por acción enzimática.

Estudios de viabilidad muestran que temperaturas entre 70 y 100° C permiten almacenamiento seguro por semanas a meses; períodos mayores necesitan temperaturas en 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, se pueden producir lesiones irreparables en los órganos.

E. Descongelación controlada

Esta es la etapa en la cual la investigación está más atrasada. En suspensiones celulares se ha visto que mientras más rápido sea el calentamiento, mejor será 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 sólido 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 largo tiempo. 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 microondas con frecuencia de 2.450 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 hipertemia, 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: a) 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 osmolaridad 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; b) la reinstalación de la perfusión, permite evaluar la integridad del árbol vascular antes del trasplante; y c) 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, pueden seguir el categorismo siguiente: a) estabilizadores de membrana: esteroides, cloroquina, barbitúricos y clorpromazina; b) inhibidores del metabolismo: sulfato de magnesio, fluoruro de

sodio, clorpromazina y tiouracilo; c) diuréticos, manitol, dextrán, mersail, úrea; d) anticoagulantes: heparina, citrato, edta; e) vasodilatadores: procaína, xilocaína, papaverina, divencilina, difenhidramina; y f) crioprotectores: glicerol, dmsó, pvp y sucrosa.

Métodos que aumentan el suministro

Los métodos que aumentan el suministro de sustancias vitales al órgano privado de ellas, pueden resumirse así:

1. Perfusión-hipotermia *in vitro*
2. Perfusión *ex-vivo*
3. 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 en sí limita la supervivencia del huésped a 10 o 12 días; por lo pronto los xenobancos no parecen tener perspectivas.

La perfusión *in vitro* se inicia con Couch en 1954 y se hace una realidad en 1964 con Humphries, quien fue capaz de preservar, para este tiempo, riñones por más de 24 horas con función normal al momento del reimplante. Aunque los intentos iniciales se hicieron con sangre total, pronto se vieron los inconvenientes: aumento de la viscosidad con la hipotermia; gran afinidad de la hemoglobina por el O₂, lo cual impide su liberación a los tejidos; bloqueo progresivo de la microcirculación.

Pronto se vio que con bajas temperaturas no era necesario el uso de la hemoglobina para transportar el oxígeno a los tejidos y que esto se podía lograr con otros fluidos. El plasma crioprecipitado diluido permitió extender el período de preservación hasta 3 días, lo cual ha sido favorecido por el uso de los oxigenadores de membrana que evitan la desnaturalización de proteínas y lipoproteínas del líquido de perfusión. Sin embargo, es indudable que la perfusión *in vitro* es lesiva por múltiples factores: hipotermia con edema celular, falta de nutrientes, toxicidad de los equipos y pobre eliminación de desechos.

Con todo, en la actualidad sería posible llegar hasta siete días de preservación.

Como el método de perfusión siempre está asociado con la hipotermia, todo lo dicho sobre ésta es aplicable a esta técnica.

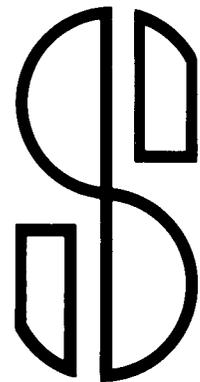
REFERENCIAS

1. Collins H, Bravo-Shugarnon MB, Terasaki PI: Kidney preservation for transplantation Initial perfusion and 30 hours ice Storage. *Lancet* 1969; 2:219.
2. Belzer FO, Ashby BS, Dumphy: 24 and 72 hours preservation of canine Kidney. *Lancet* 1967; 2:536.
3. Ross H, Marshall VC, Scott MO: 72 hours canine Kidney preservation without continuous perfusion. *Transplantation* 1976; 21:498.
4. Billingham RE: *Transplantation Proceedings* 1976 Jun; 8:7.
5. Abbott WM and Sell KW: Organ Preservation in Transplantation. *Transplantation Proceedings* 1969; 1:781.
6. Rudolf LE: Hypotermia and Pressure Oxygen in Whole Organ Storage. *Transplantation*

- tion Proceedings 1969; 1:795.
7. Collins GM, et al: Kidney Preservation for Transplantation. Transplantation Proceedings 1969; 1:801.
 8. Zimmermann WE, et al: The Avoidance of Primary Hypoxic Damage During Liver Preservation by Perfusion with Hb-Free Solution. Transplantation Proceedings 1969; 1:819.
 9. Filo RS, et al: Current Status of Kidney Freeze Preservation. Transplantation Proceedings 1976; 8:215.
 10. Opels G. and Terasaki PI: Decreased Transplant Survival Rate of Shared and Non-shared Machine-Preserved Cadaver Kidney. Transplantation Proceedings 1977; 9:1505.
 11. Collins GM: Hypothermic Kidney Storage. Transplantation Proceedings 1977; 9:1529.
 12. Collins GM, et al: Influence of Preservation Method on Early Transplant Failure. Transplantation Proceedings 1977; 9:1523.
 13. Southard JH, et al: Energy Metabolism in Kidney Stored by Simple Hypothermia. Transplantation Proceedings 1977; 9:1535.
 14. Pharmacologic Agents of Potential Value in Protecting Kidney from Ischemic Damage. Transplantation Proceedings 1977; 9:1579.*
 15. Belzer FO, Hoffman RM, Southard JH: Conservación de los riñones. Clínicas Quirúrgicas de Norteamérica 1978; 2:261.
 16. Starzl TE: Reflexiones personales en trasplante. Clínicas Quirúrgicas de Norteamérica 1978; 5:879.
 17. Feduska NJ, et al: Comparative Study of Albumin Solution and Cryoprecipitated Plasma for Renal Preservation: A Preliminary Report. Transplantation Proceedings, 1979; 11:472.
 18. Lie TS, Ukikusa M: Significance of Alkaline Preservation Solutions in the Transplantation. Transplant Proc 1984; 16:134.
 19. Abonna GM, Hei J, Stherland Der: Factor Necessary for Successful 48 Hours Preservation of Pancreas Grafts (Abstract). American Society of Transplant Surgeons 13th Annual Meeting, 1987 May; 28-29.
 20. Parks PA, Bulkley GB, Granger DN: Role of Oxygen Free Radicals in Shocks, Ischemia and Organ Preservation. Surgery 1983; 94:428.
 21. Southard JH, Marsh DC, McAnulty JF, Belzer FO: Oxygen-derived Free Radical Damage in Organ Preservation: Activity of Superoxide Dismutase and Xanthine Oxidase. Surgery 1987; 101:566.
 22. McCord JM: Oxygen-derive Free Radical in Post Ischemic Tissue Injury. N Engl J Med 1985; 312:158.
 23. Walberg JA, Southard JH, Belzer FO: Development of a Cold Storage Solution for Pancreas Preservation. Cryobiology 1986; 23:477.
 24. Alpine G, Garrick RA, Jones MH, Nures R, Tavoloni N: Water and Monelectrolyte permeability of Isolated Rat Hepatocytes. Am J Physiol 1986; 251: 872.
 25. Newsholme EA, Start C: Regulation in Metabolism. London: Wiley 1974; 247.
 26. Vesell ES: Significance of The Heterogeneity of Lactic Dehydroge. Nace Activity in Human. Ann NY Acad Sci 1963; 94:912.
 27. Walberg JA, Love RA, Landegaard L, Southard JH, Belzer FO: 72 Hours Preservation of The Canine Pancreas. Transplantation 1987; 43:5.
 28. Ploeg RJ, Goossans D, Cameis D, McAnulty JF, Southard JH, Belzer FO: Kidney Preservation with Belzer's New Pancreas Preservation Solution Transplant Proc (in press).
 29. Jamieson NV, Sundberg R, Lindell S, et al: Transplant Proc (in press).
 30. Hoffman RM, Southard JH, Lutz MF, Mackety A, Belzer FO: 72 Hours Preservation of Dog Kidney Using a Purely Synthetic Perfusate Containing Hydroxethyl Starch. Arch Surg 1983; 118:919.
 31. Fuller BJ, Lunec J, Healing G, Simpkins, Green GJ: Reduction of Susceptibility to Lipid Peroxidation by Desferroxamine in Rabbit Kidneys Subjected to 24 Hours-Cold Ischemia and Preservation. Transplantation 1987; 43:604.
 32. Freeman BA, Crapo JD: Free Radicals and Tissue Injury. Lab Invest 1982; 47:412.
 33. Southard JH, Rice MJ, Belzer FO: Preservation of Renal Function by Adenosine-Stimulated ATP Synthesis in Hypothermically Perfused Dog Kidney. Cryobiology 1985; 22:237.
 34. D'Alessandro A, Southard JH, Kalayoglu M, Belzer FO: Comparisson of Cold Storage and Perfusion of Dog Livers on Function of Tissue Slices. Cryobiology 1987; 23:161.



**SOMEC
20 ANOS**



*Una entidad sin ánimo de lucro
al servicio de sus afiliados y la familia*