

# Conservación de órganos a bajas temperaturas, Estudio de la perfusión de un crioprotector: el Dimetilsulfoxide.

J. KACHELHOFFER, C. MENDEL, P. WONG, R. ARRIAGA  
y J. F. GREENTER

El estudio es efectuado dentro del marco de investigaciones sobre la conservación de órganos a bajas temperaturas y en presencia de sustancias protectoras tales como el Glicerol o el Dimetilsulfóxido (DMSO).

En el curso de ensayos de conservación de segmentos de intestino, de perro, anteriormente reportados (1), un edema, generalmente importante, ha sido observado de manera sistemática, después de recalentamiento y eliminación por perfusión del crioprotector. Era importante precisar las causas y modalidades de su aparición. Con este fin, han sido estudiados los efectos de la perfusión vascular de soluciones de DMSO.

## I) MATERIAL Y MÉTODO

### 1°) Principio y dispositivo experimental

Manifestándose el edema en particular por un aumento de peso, la continua medida del peso del órgano en el curso de la perfusión, de impregnación o de eliminación del crioprotector, permite descubrir su aparición y apreciar su importancia en función de las condiciones experimentales variables. Las variaciones de peso del órgano son así estudiadas en función de la composición del perfusante y de la duración de las fases de perfusión (impregnación, lavado).

El dispositivo experimental es simple, una bomba envía el perfusante, oxigenado por barboteo de oxígeno puro, a través de un cambiador térmico sumergido en un baño termoestabilizado a 15°C, antes de alimentar el lecho vascular del órgano. Este, un segmento de intestino delgado de perro, quirúrgicamente resecaado, es suspendido en un brazo fijado en el platillo de una balanza. La presión de perfusión y la temperatura del perfusante son medidos por medio de registradores conectados en la rama arterial, y si se hace necesario se ajustan.

### 2°) Perfusantes

El perfusante de referencia, llamado "perfusante vector" del DMSO (P. V.) es una mezcla de electrólitos (\*) en tasas próximas, exceptuando el magnesio, de aquellas del suero sanguíneo y de albúmina plasmática (40 gr/1.) Esta composición y sus tasas son respetadas en todos los perfusantes cualquiera que sea por otra parte su contenido en DMSO o en otro coadyuvante, el Manitol. El pH de todas las soluciones se ajustan a 7,4.

### 3°) Modalidades de perfusión

Desde la realización de la resección quirúrgica, el segmento de intestinos es caracterizado y luego lavado de su sangre por perfusión de 100 a 200 ml.

---

(\*) Na<sup>+</sup>: 147 mEq/l; k<sup>+</sup>: mEq/l; Ca<sup>++</sup>: 1,8 mEq/l  
Mg<sup>++</sup>: 40 mEq/l; Cl<sup>-</sup>: 135 mEq/l; Lactato: 16,5 mEq/l  
Albúmina plasmática: 40 gr/l

de "perfusante vector" conteniendo heparina (5000 U.I./l). Inmediatamente después el órgano es colocado en su sitio sobre el platillo de la balanza y conectado al sistema de perfusión. Es pesado desde que aparece el perfusante en la rama venosa; este peso constituye el peso de referencia. La perfusión efectuada a 15°C bajo una presión arterial media de 60 mm Hg., comporta dos tiempos: una fase de impregnación de los tejidos con crioprotector, seguida de una fase de eliminación del crioprotector. En un primer grupo de experiencias, el perfusante está exento de DMSO a lo largo de toda la perfusión (perfusante vector) y las variaciones de peso del órgano comparadas a aquellas obtenidas por perfusión de Lactato Rínger. Otras series experimentales tienen como objeto el estudio de las variaciones ponderales en función, ya sea de la concentración de DMSO (5, 10, 15, o 20% de volumen) ya sea de la duración del período de impregnación de los tejidos del órgano protector, o en fin de la adición de Manitol (10% del peso) al perfusante de extracción del DMSO.

A lo largo de todas las fases de perfusión, extracciones venosas son efectuadas a intervalos regulares para la dosificación de electrolitos. (Na + , K+). Además, los segmentos de intestino perfundidos por soluciones al 10% de DMSO han sido conectados con fines experimentales a un dispositivo de circulación extracorpórea con el propósito de apreciar las degradaciones funcionales eventualmente ocasionadas por las condiciones de perfusión utilizadas.

## II—Resultados

Los segmentos de intestino perfundidos con Lactato Rínger presentan después de 40 minutos de perfusión, un edema correspondiente a un aumento medio de peso de 45%, mientras que el "perfusante vector" mantiene durante el mismo lapso de tiempo un peso del órgano notablemente constante.

La presencia de DMSO en el perfusante se traduce en el curso de los 3 a 10 primeros minutos de perfusión por una caída de peso, del orden de 5% del peso inicial, seguida de un aumento progresivo. La supresión del crioprotector en el perfusante, entraña por el contrario un importante y brutal aumento del peso pudiendo sobrepasar el 100% del valor inicial, 15 minutos después del comienzo de la fase de eliminación del crioprotector. La importancia de las variaciones ponderales es función a la vez de la concentración de DMSO y de la duración de la fase de impregnación. La adición de Manitol a la solución de extracción del DMSO presente en los tejidos, no suprime todas las variaciones de peso, pero las atenúa sensiblemente, sobre todo si el período de impregnación es de duración inferior a 15 minutos.

En cuanto a los electrolitos estudiados (Na + , K + ) sus concentraciones en las muestras venosas, no evolucionan de manera idéntica. En particular, a la caída inicial de las tasas de sodio corresponde un importante máximo del potasio.

El estudio de la reanudación funcional, por puesta en circulación extracorpórea de segmentos de intestino después de perfusión de crioprotector hace ver que las modalidades de perfusión menos traumatizantes son obtenidas por medio de una fase de impregnación de corta duración (inferior a 15 minutos) y de una extracción del DMSO intratisular en presencia de Manitol. En tales condiciones, las características hemodinámicas y el consumo de oxígeno son casi normales. No obstante, las capacidades de absorción de las asas intestinales parecen sensiblemente disminuidas.

### III—*Discusión*

Pareciera, al analizar estos resultados, que el edema, sistemáticamente observado en el curso de los ensayos de conservación de segmentos de intestinos a bajas temperaturas, se instala esencialmente al final del ciclo de conservación. Este hecho es de importancia, porque si interviniera durante el período de impregnación de los tejidos con protector una gran cantidad de agua intratisular se cristalizaría durante la congelación, entrañando así lesiones importantes e irreversibles.

La caída inicial de peso, así como el aumento importante después de la supresión del DMSO en el perfusante, hay que ponerlos en relación como lo proponen Cady (2) y Rivers (3), con variaciones bruscas de la presión osmótica. En efecto, la aparición brutal de DMSO en el lecho vascular provoca una deshidratación tisular explicando a la vez el descenso de peso del órgano y la disminución por dilución de la concentración de sodio. Inversamente, durante la supresión del protector en el perfusante, el DMSO presente en el tejido intestinal desplaza el agua del compartimiento vascular hacia los tejidos, provocando así el edema y el aumento de la tasa de electrólitos. Las causas del aumento progresivo de peso que intervienen después del descenso ponderal inicial, no están claras. Es probable que la toxicidad propia del DMSO, tanto como el importante choque osmótico que éste provoca, sean responsables de trastornos de la permeabilidad de las paredes vasculares y de la destrucción de membranas celulares. La diferencia arterio-venosa significativa de las tasas de potasio, aboga en favor de tal hipótesis, aunque la tasa inicialmente elevada pueda resultar de una lisis de glóbulos rojos aun presentes en el lecho vascular como consecuencia de una eliminación incompleta.

Otros autores (Cady (2), Barner (4), han observado análogas variaciones ponderales, durante perfusión de riñones en presencia de Glicerol. Sin embargo, aprecian una fase inicial de deshidratación sensiblemente más larga. Este hecho se explica por una velocidad de difusión de Glicerol más débil que la del DMSO, aumentando así el tiempo necesario para el establecimiento de un equilibrio entre ambos lados de la pared vascular (5, 6).

En cuanto al efecto favorable del Manitol, este es doble: por una parte, su presencia atenúa el choque osmótico que resulta por la supresión del DMSO en el perfusante; por otra parte, la pared vascular siendo muy poco permeable a esta sustancia, constituye lo que Barner (4) llama un "antagonismo osmótico del DMSO".

### IV—*Conclusión*

Este estudio muestra que el edema observado al final del proceso de conservación de órganos efectuados a bajas temperaturas y en presencia de DMSO está ligado esencialmente a la utilización de este crioprotector y, por este hecho, no es una consecuencia directa de la congelación o de la descongelación. El análisis de los resultados permite por otra parte precisar las condiciones óptimas de utilización de este agente crioprotector a saber: duración de la fase de impregnación; inferior a 15 minutos, extracción del DMSO intratisular en presencia de Manitol.

(Trabajo del Grupo de Investigaciones de Cirugía Experimental y de Biofisiopatología Digestiva del I.N.S.E.R.M. Estrasburgo.

Director: Profesor J. F. Grenier).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.—J. KACHELHOFFER, P.; WONG, et J. F. GRENIER. C R. Soc. Biol., 1969, 163, N° 1, p. 207.
- 2.—CADY, B.; BARNER, H. B.; RIVERS, R. J.; HAYNES, L. L.; WATKINS, E. Cryobiology, 1966, Vol. 3, N° 2, p. 76.
- 3.—RIVERS, R. X; CADY- B.; BARNER, H. B.; HAYNES, L. L.; . . ATKINS, E. Surg. Forum, 1961, 12 p. 134.
- 4.—BARNER, H. B. Cryobiology, 1965, Vol. 1, N° 4, p. 292.
- 5.—BICKIS, I. J., KAZAKS. K.; FINN, 3. J.; HENDERSON, I. W. D. Cryobiology, 1967, Vol. 4, N°1, p. 1.
- 6.—NIWAYAMA, G.; JOHNSON, C. F.; GRACE, . T.; FIDEN, E.; MILLER, M. Cryobiology, 1967, Vol. 3, N° 5, p. 385.