

SISTEMA DE PERFUSIÓN HIPOTÉRMICA DE RIÑÓN AISLADO CONTROLADO POR ORDENADOR

E. LLEDÓ GARCÍA, C. HERNÁNDEZ FERNÁNDEZ*, C. LLORENTE ABARCA, J.F. DEL CAÑIZO LÓPEZ**

*Servicio de Urología. Fundación Hospital Alcorcón. *Servicio de Urología. **Unidad de Medicina y Cirugía Experimental. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.*

PALABRAS CLAVE:

Trasplante renal. Preservación renal. Perfusión.

KEY WORDS:

Renal transplant. Renal preservation. Perfusion.

Actas Urol Esp. 26 (2): 77-84, 2002

RESUMEN

OBJETIVO: Evaluar un sistema de perfusión hipotérmica de riñón aislado controlado por ordenador diseñado por nuestro grupo. Se utiliza una bomba de perfusión que aplica presión de vacío. Esta bomba genera ondas pulsátiles de presión y flujo con morfología superponible a las producidas en el sistema circulatorio humano.

PROCEDIMIENTOS BÁSICOS: Estudio experimental llevado a cabo con riñones de cerdos miniatura. Tras nefrectomía bilateral transperitoneal, los órganos son perfundidos a presión constante de forma randomizada: de forma inmediata o después de 24 horas de hipotermia simple por inmersión en medio Eurocollins a 4°C. El sistema permite registro continuo de presión y flujo de perfusión así como resistencia vascular renal.

RESULTADOS: Se comprueba en tiempo real disminución progresiva de la resistencia vascular renal, junto con incremento del valor de flujo vascular renal. Este perfil es evidente tanto en las perfusiones inmediatas como diferidas.

CONCLUSIONES: El sistema de perfusión renal controlado por ordenador nos permite registrar las modificaciones hidrodinámicas renales en tiempo real. La microcirculación renal experimenta modificación activa durante el proceso cuya causa debe ser objeto de estudio.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To evaluate at the laboratory a self-designed computer-controlled kidney perfusion system. A vacuum powered tubular pump with active valves developed by our group is used. This pump is able to produce a flow and pressure patterns very similar to the pulse wave in the human circulatory system.

BASIC PROCEDURES: This is an experimental study performed with mini-pig kidneys. After transperitoneal bilateral nephrectomy, both organs are sorted either to immediate perfusion or to perfusion after a period of 24 hours of cold storage in Eurocollins solution. The system is able to record continuously perfusion pressure, flow and intrarenal resistance.

RESULTS: A progressive decrease in renal vascular resistance along with an increase in the flow value were observed during the procedures. These dynamic changes become evident both in immediate and deferred renal perfusions.

CONCLUSIONS: Computer-controlled kidney perfusion system provide us the opportunity of recording in real time renal microcirculatory state modifications during a perfusion. Vascular system seems to be actively modified by the perfusion. This fact should be researched in the next future.

La preservación de riñones mediante perfusión continua hipotérmica es una técnica que fue descrita por Humphries hace más de 30 años¹, y posteriormente desarrollada por Belzer². Según este autor, deben aportarse al riñón hipotérmico nutrientes adecuados para su reducido anabolismo durante la preservación, y eliminar todos los catabolitos.

Durante la década de los 70 se realizaron grandes esfuerzos para conseguir, por un lado, un tipo de solución de perfusión óptima, que permitiera alargar el tiempo de preservación sin resultar nocivo para el órgano²⁻⁴. Asimismo, se intentaba determinar cuáles debían ser los parámetros hidrodinámicos (presión de perfusión, flujo) más adecuados^{5,6,7}.

En los años 80, la utilización de estas técnicas fue disminuyendo debido a diversas causas: perfeccionamiento de técnicas de extracción de órganos en donantes a corazón batiente y perfusión in situ, introducción de soluciones para preservación de órganos mediante inmersión hipotérmica simple (Universidad de Wisconsin-Viaspan^R), junto con el alto precio de los sistemas de perfusión y su mantenimiento. Se llegó incluso a dudar de su valor real⁸.

Sin embargo, el renovado interés en la obtención de órganos provenientes de donantes en asistolia permitió rescatar las ventajas que podía ofrecer la perfusión continua hipotérmica para disminuir los efectos de la isquemia caliente inicial prolongada sobre el epitelio tubular y el endotelio vascular renal^{9,10}, así como determinar el grado de viabilidad del órgano¹¹.

Basándonos en la naturaleza multidisciplinaria de nuestro grupo de trabajo, hemos desarrollado un sistema de perfusión extracorpórea (SPEC) renal con control informático de parámetros físicos e hidrodinámicos (presión media de perfusión (PMP), flujo vascular renal (FVR), temperatura (T) y resistencia vascular intrarenal (RVR). Utilizamos un nuevo tipo de bomba diseñado en nuestro laboratorio: la bomba pulsátil de vacío (BPV). Este diseño nos permite:

1. Llevar a cabo una evaluación hidrodinámica continua en tiempo real de parámetros de perfusión renal en hipotermia.
2. Evaluar la respuesta vascular renal a la presión de vacío durante la perfusión.

No hemos encontrado referencias previas a ese respecto en la literatura.

MATERIAL Y METODOS

El SPEC renal ha sido íntegramente desarrollado en nuestro laboratorio y se describe en la Fig. 1. Todos los riñones en este estudio han sido perfundidos a una presión constante predeterminada de 40 mmHg. El flujo es controlado por el propio sistema informático. Cada 10 minutos el ordenador registra las ondas de flujo y presión instantáneas durante un ciclo completo.

A) SISTEMA DE PERFUSIÓN.

Consta de:

- *Bomba pulsátil de vacío.* Diseñada totalmente en nuestro laboratorio. Controlada por la consola computarizada. El dispositivo de bombeo consiste en una cámara rígida externa (carcasa de metacrilato) y una cámara elástica interna fabricada en Tecoflex^R (poliuretano elástico de grado biomédico) (Fig. 2). En la cámara rígida se aplica presión negativa mediante una fuente de vacío

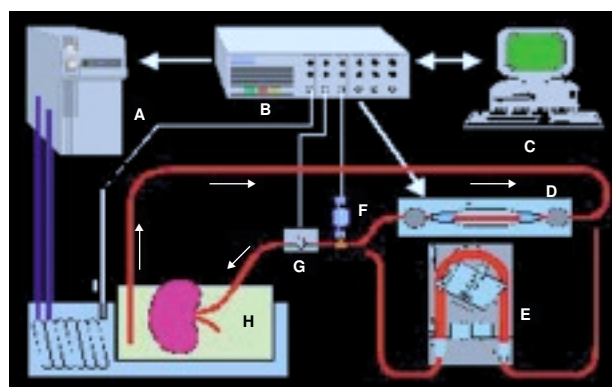


FIGURA 1. Sistema de perfusión renal extracorpórea: A) Sistema de frío. B) Interface electrónica. C) Control. D) Bomba Pulsátil. E) Bomba rodillos. F) Transductor presión. G) Transductor flujo. H) Cámara órgano. I) Transductor temperatura.

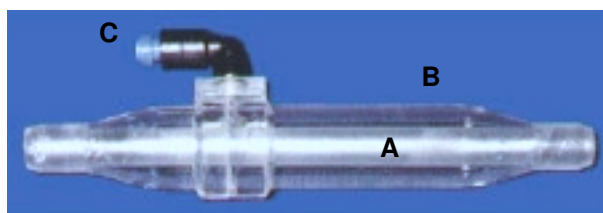


FIGURA 2. Bomba pulsátil de vacío. A) Tubo elástico (Tecoflex), B) Cámara rígida (metacrilato). C) Conexión a la consola.

controlada por la consola. Este vacío generado produce una expansión de la cámara elástica tubular. En un determinado momento, la consola detiene la aplicación de vacío y conecta la cámara rígida con la atmósfera. Esto induce la recuperación elástica de las paredes de la cámara y la impulsión de la solución de perfusión (Fig. 3). Dos sistemas valvulares aplicados en los tubos de entrada y salida bajo el control de la consola aseguran la dirección del flujo.

– *Sistema de enfriamiento.* Utilizamos un generador de frío (Unidad Refrigeradora Frigorador, Lambra S.L.), que dispone de un espiral metálico que se coloca en el baño externo de agua a la cámara de órgano, manteniendo este medio a 2,8-3,2°C. Esto permite mantener la temperatura del interior de la cámara de órgano en un rango constante de 3,8°C-4,2°C. La activación y desactivación del aparato de frío es controlada por el ordenador mediante retroinformación suministrada al sistema desde el baño de agua a través de una sonda de temperatura (temperatura < 2,8°C se desactiva, >3,2°C se activa). Mediante este control podemos mantener una temperatura con oscilación constante en el órgano.

– *Medida de flujo.* Se utilizó un flujómetro ultrasónico T-109 (Transonic Systems Inc).

– *Medida de presión.* Utilizamos un transductor de presión desechable (Transpac L978-39 Abbott CCS).

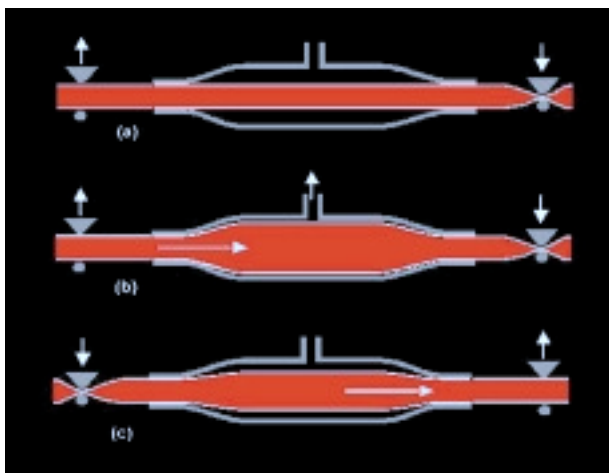


FIGURA 3. a) y b) BOMBA DE VACÍO - DIÁSTOLE: Cierre válvula de salida, apertura válvula de entrada aplicación de vacío (expansión membrana); c) BOMBA DE VACÍO SÍSTOLE: apertura válvula de salida, cierre válvula de entrada, aplicación de presión atmosférica (retorno de membrana).

– *Medida de resistencia vascular renal.* Fueron calculadas por el sistema, según el cociente PMP arteria renal / F medio arteria renal mmHg/ml/mt.

– *Sistema de control.* Basado en un ordenador personal equipado con una tarjeta de adquisición de datos (Keithley Metrabyte DAS-1600). El software de control se desarrolló utilizando el programa Test Point (Capital Equipment Corp.).

– *Interface electrónica.* También diseñado por nuestro grupo, contiene todos los amplificadores de entrada y circuitos de salida requeridos para adaptar los niveles de señal a la tarjeta de adquisición de datos.

B) ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.

Utilizamos en la experiencia preliminar 3 cerdos miniatura con peso 35-40 kg. Doce horas antes de la intervención los animales eran sometidos a ayuno con administración de agua *ad libitum*.

La premedicación se realizaba 15-20 minutos antes de la cirugía con una mezcla de clorhidrato de ketamina (15 mg/kg) y atropina (0,025 mg/kg) administrada por vía intramuscular en la masa muscular del cuello. Conseguido el estado de sedación el animal era transportado a la mesa de quirófano y se colocaba en decúbito supino con las patas sujetas en extensión. Se inducía la anestesia con pentotal sódico (20 mg/kg). Tras la inducción, el mantenimiento de la anestesia se realizaba con Protóxido de Nitrógeno (4 l/mt NO₂ y 2 l/min O₂), bromuro de pancuronio (2 mg cada 20 min) y fentanilo (0,075 mg cada 20 min). Durante la cirugía los animales recibieron 1.500 ml de suero salino (CINa 0,9%) y 250 ml de solución de manitol al 20%. Se heparinizó por vía sistémica con 5.000 UI de heparina sódica al inicio de la intervención.

La técnica quirúrgica consistía en, tras laparotomía, nefrectomía bilateral, llevada a cabo con la menor manipulación posible del pedículo vascular. Tras la extracción de los órganos, se colocaba y fijaba en la arteria renal principal una cánula de diámetro 2,1x51 mm. Los riñones eran perfundidos por gravedad (100 cm) en medio hipotérmico (suero a 4°C) con solución Eurocollins fría (8-10°) hasta que el efluente mostraba ausencia de restos hemáticos y la coloración del órgano era uniforme. Tras esta maniobra se procedía a pesaje de los órganos.

C) PROCESO DE PERFUSIÓN EN BOMBA. Los riñones de un mismo animal eran sometidos de forma randomizada a perfusión inmediata (Grupo 1) o bien a perfusión diferida tras 24 horas de hipotermia simple por inmersión a 4°C en medio Eurocollins (Grupo 2).

Todos los riñones fueron perfundidos a presión constante predeterminada de 40 mmHg, con una temperatura controlada de 3,8-4,2°C durante 180 minutos, utilizándose solución de Eurocollins. Los riñones fueron posteriormente sometidos a completo estudio anatomopatológico.

RESULTADOS

Todos los valores de flujo de perfusión se expresaron respecto a 100 g de peso del riñón con el fin de que los valores (flujo y R.V.R.) sean comparables con independencia del peso del órgano. Los riñones de ambos grupos tuvieron un comportamiento hidrodinámico similar, con RVR iniciales elevadas y tendencia a descender durante la perfusión, hasta alcanzar un valor estable (Fig. 4). Sin embargo, los valores absolutos de FVR y RVR fueron, respectivamente, superiores e inferiores en las perfusiones inmediatas en comparación a las realizadas tras 24 de hipotermia simple. En el grupo 1, el FVR alcanzado fue de 83 ml/mto/100 g frente a 63 ml/mto/100 g en el grupo 2 ($p<0.05$). Las RVR, que en el grupo 1 alcanzaron un valor medio estable de 0,89 mmHg/ml/mto/100 g, fueron de 1,03 mmHg/ml/mto/100 g en el grupo 2 ($p<0,05$). En todos los casos se pudo objetivar aumento de peso del órgano perfundido tras los 180 minutos, aunque el incremento fue mayor en el grupo 2 (incremento medio peso grupo 1: 21,5 g vs 28,5 g en grupo 2) ($p>0,05$).

El estudio anatomopatológico mostró cambios discretos consistentes en ocupación líquida del espacio de Bowman glomerular así como de la luz tubular (Fig. 5). Estas alteraciones fueron más aparentes en los órganos perfundidos de forma diferida.

DISCUSIÓN

La utilización de sistemas de perfusión extracorpórea renal no es nueva. En 1895 Langerdorff¹² diseñó un sistema de perfusión por gravedad, basado en un reservorio de medio líquido conectado mediante un tubo en sifón al órgano.

Hooker¹³ en 1910 perfunde con sangre completa riñones aislados de perro y concluye que la magnitud del pulso de presión se correlacionaba con el flujo sanguíneo conseguido y la cantidad de orina producida.

En esa línea, Coyne, Rudolph y Alport¹⁴ estudian riñones aislados perfundidos en hipotermia con onda de presión continua con una solución a la que se añadía dextrano para conseguir aumentar la presión oncótica. Plantean la existencia de una relación entre el edema tisular renal y el flujo tanto durante la perfusión como tras la revascularización del órgano: según estos autores, presiones de perfusión superiores a 60 mmHg serían nocivas al inducir disminución del flujo de perfusión por compresión vascular secundaria a dilatación tubular por ocupación líquida luminal.

F.O. Belzer^{2,15} desarrolló en la década de los 60 modelos de máquinas de perfusión extracorpórea. Tenía en cuenta unos principios hidrodinámicos generales (flujo pulsátil, que se conseguía mediante modificación de bombas de rodillos convencionales; presión máxima de perfusión predeterminada en 40 mmHg). Por otro lado, definió unos criterios de calidad del órgano perfundido en base al aspecto macroscópico del riñón tras el lavado por gravedad postnefrectomía y al flujo alcanzado durante la perfusión (valores superiores a 100 ml/mto se concebían como óptimos). Relacionó estos criterios con un mayor porcentaje de función inmediata del injerto tras el trasplante. La medición de los valores de flujo era realmente artesanal y se llevaba a cabo mediante clampaje del drenaje venoso durante un período definido de tiempo. Otro problema añadido era el tamaño de los aparatos, excesivamente grande.

Posteriormente los sistemas de perfusión extracorpórea de riñones caen en desuso. Sin embargo en la década de los 80 y 90 se revalorizan de forma importante debido a su aplicación en la preservación de órganos procedentes de donantes en parada cardíaca^{9,10,11}.

Se plantean varias cuestiones en relación a los sistemas de perfusión renal:

– *Morfología de la onda de pulso.* Los trabajos presentados en la literatura no definen claramente las características morfológicas de las ondas de pulso generadas por los sistemas^{5,16}. En nuestro laboratorio, hemos comparado morfológicamente

las ondas de pulso producidas por la BPV y el modelo clásico de rodillos (BR) (Figs. 6 y 7). Como puede verse en las figuras, en el caso de la BR, la presión máxima generada es idéntica a la presión media de perfusión correspondiendo los descensos de presión al intervalo temporal de pérdida de contacto de los cabezales de la bomba con los tubos del circuito. Esto ha permitido hablar a muchos autores de presiones "sistólicas" y "diastólicas". Esas caídas de presión condicionan un importante flujo retrógrado que se corrige en la evolución de giro del ciclo de la bomba. La morfología y efecto de esa "alternancia pulsátil" no tienen relación con una verdadera onda de presión pulsátil fisiológica. Sin embargo, en la BPV la presión máxima producida por la bomba es diferente a la presión media. La morfología de las ondas, como puede verse, es similar a las producidas en el sistema circulatorio humano.

El movimiento de vaivén de la columna líquida en el árbol vascular es característico de todas las circulaciones extracorpóreas movidas por bombas de rodillos. Este comportamiento aumenta el cizallamiento endotelial, estimula la síntesis y secreción de óxido nítrico y endotelina y es probablemente responsable de fenómenos proliferativos neointimales endovasculares en las fistulas arteriovenosas utilizadas para hemodiálisis. Hasta ahora no se han investigado los efectos hidrodinámicos de una perfusión pulsátil con onda de pulso similar a la cardíaca en condiciones de hipotermia.

Desde hace unos 10 años el grupo de trabajo que ha desarrollado este diseño trabaja en una línea de I+D en dispositivos de asistencia circulatoria (ventrículos artificiales) para soporte extracardiaco en pacientes con fallo ventricular profundo¹⁷. La característica principal de estos ventrículos artificiales es la generación de una onda de pulso muy similar a la del corazón humano, con posibilidad de suministrar flujos de hasta 6 litros/min.

Tratando de resolver los problemas que presentan estos dispositivos, entre ellos su elevado coste, desarrollamos en nuestro laboratorio la BPV que presenta las siguientes características:

1. El perfil del dispositivo es prácticamente tubular, con una cámara líquida de paredes elásticas

2. En lugar de comprimir la cámara líquida con un gas a presión, se aplica vacío a la misma durante la diástole. La sístole se produce de forma pasiva por la recuperación elástica de las paredes. Este mecanismo tiene dos efectos beneficiosos. En primer lugar la cámara al dilatarse con el vacío presenta un perfil siempre homogéneo, sin arrugas, con lo que se minimizan las zonas de remanso. En segundo lugar, en caso de perforación de la membrana nunca entrará gas en el sistema circulatorio ya que la presión en la cámara neumática siempre es inferior a la cámara circulatoria.

3. En lugar de válvulas mecánicas (de precio muy elevado) se utilizan estenosadores de tubo externo activos sobre las cánulas controlados por la consola, con lo que el precio del dispositivo disminuye de forma muy importante permitiendo su aplicación.

4. Esta morfología del dispositivo hace que puedan construirse fácilmente bombas de cualquier tamaño y flujo. En este caso puede construirse una bomba de muy pequeño tamaño y portátil.

– *Presión y flujo de perfusión óptimos.* El flujo vascular renal bajo condiciones fisiológicas es de 3-5 ml/mt/gr peso⁵; en hipotermia a 4°C cabe esperar que los requerimientos metabólicos y por tanto, el flujo necesario disminuyan de forma proporcional para el órgano¹⁶. Algunos autores han planteado que en condiciones de hipotermia, flujos o presiones de perfusión altos pueden ser nocivos²⁰. Aparentemente, la autoregulación no sería funcionante en un riñón aislado, hipotérmico y denervado⁵. En estas condiciones, el objetivo del sistema debe ser el conseguir una perfusión óptima y uniforme.

Los sistemas de perfusión de riñón aislado pueden ajustarse a presión o flujo constantes²¹. Según Pegg y Green¹⁸ el control de la perfusión por presión constante sería preferible al flujo constante, obteniéndose mejores resultados funcionales tras el trasplante. Otros autores son partidarios de ajustar el sistema a flujo constante según peso del órgano (1-2 ml/mt/gr) observando la caída de presión de perfusión con el tiempo^{21,22}.

Nosotros hemos optado en una primera fase por predeterminedar a través del sistema informático la presión media de perfusión, con el objetivo de evaluar su efecto en los flujos obtenidos para tiempos de perfusión cortos (180').

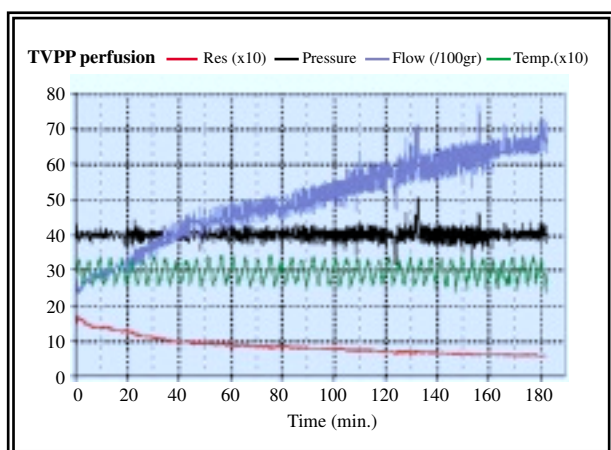


FIGURA 4. Gráfica continua de perfusión de 180 min, presión constante. Se observa descenso progresivo de RVR hasta valor estable, incremento de FVR.

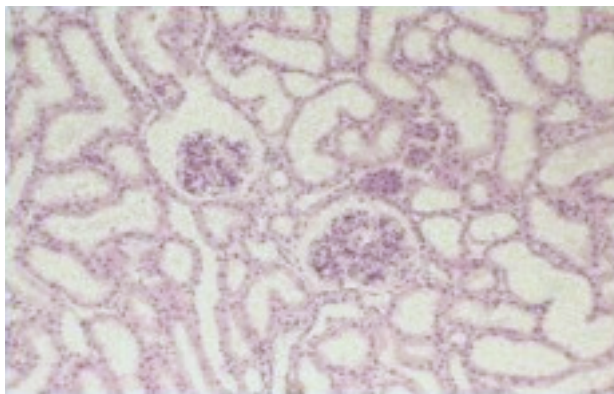


FIGURA 5. Ocupación líquida del espacio de Bowman glomerular y del espacio intratubular.

Algunos autores optan por definir como presión de perfusión un valor de 50-60 mmHg^{6,15,16}; otros autores prefieren valores inferiores por posibles efectos lesivos endoteliales¹⁶. El valor pronóstico del flujo durante la perfusión ha sido previamente discutido^{15,16}. Sin embargo, el parámetro dinámico que mejor puede reflejar el estado inicial y evolutivo de la microcirculación intrarenal es la RVR ($RVR = \text{Presión media perfusión} / \text{flujo medio perfusión, mmHg/ml/mto/gr peso}$), independientemente de las condiciones del órgano con las que se inicie la perfusión hipotérmica¹⁰.

En todos nuestros experimentos aplicamos una presión media constante de 40 mmHg. Observamos la evolución del FVR y de la RVR. Nuestro registro es continuo y en tiempo real, por lo que podemos estudiar cualquier alteración pri-

maria del órgano o su respuesta a modificaciones en los parámetros establecidos (presión perfusión, temperatura) que queramos introducir.

– *Lesiones anatomopatológicas secundarias a la perfusión.*

Las PPR mayores de 60 mmHg pueden producir aumentos de peso significativos en el órgano, junto con lesiones de la membrana basal endotelial y de las propias células endoteliales²³. El aumento de peso resulta más evidente cuando el medio de perfusión tiene una presión oncótica baja.

Las lesiones a nivel de endotelio y membrana basal pueden ser la causa de microtrombosis múltiples al trasplantar el órgano. Este hallazgo patológico debe diferenciarse al aparecer en el pos-trasplante inmediato con lesiones secundarias a rechazo acelerado.

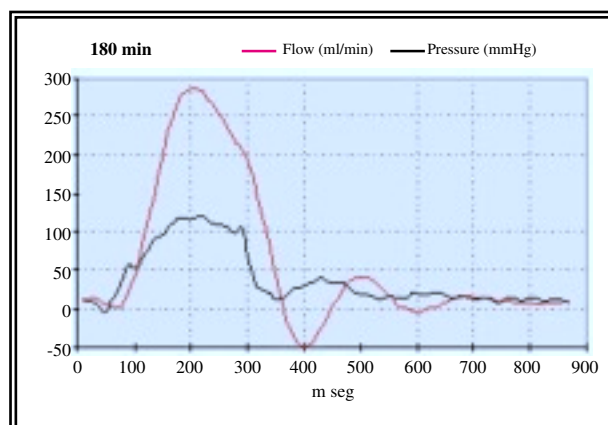


FIGURA 6. Caracterización en tiempo real de ondas de presión y flujo instantáneos en bomba de vacío.

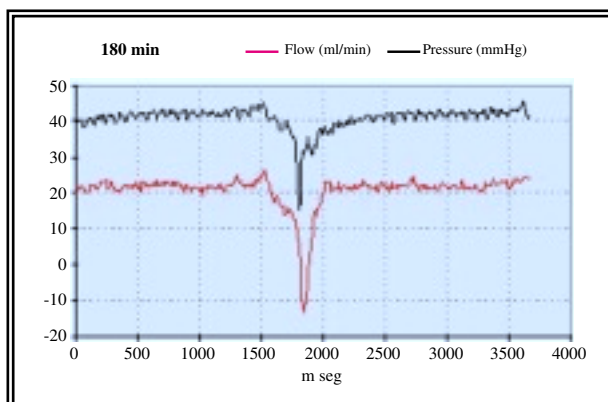


FIGURA 7. Caracterización en tiempo real de ondas de presión y flujo instantáneos en bomba convencional de rodillos.

Nosotros realizamos perfusiones hipotérmicas cortas (3 horas), con el objetivo de evaluar el sistema y estudiar los cambios precoces en los parámetros hidrodinámicos. En el estudio anatómico posterior pudimos apreciar discreta ocupación líquida luminal tubular proximal y del espacio de Bowman glomerular, con aumentos de peso en ambos grupos.

El estado del endotelio en los dos grupos fue aceptable, sin evidentes lesiones celulares ni de la membrana basal. Este hecho podría ser perfectamente explicado por el tiempo de perfusión corto. Sin embargo no aclaraba en absoluto la evolución de las RVR -con diferencias significativas- cuyo valor debería atribuirse a un menor o mayor grado de obstrucción orgánica de la luz vascular o bien a una respuesta dinámica de la microcirculación renal.

El aumento de peso tras la perfusión, mayor en el grupo de órganos sometidos a 24 horas de hipotermia simple, probablemente secundario a la baja presión oncótica del medio de perfusión (líquido Eurocollins), podría producir compresión vascular extrínseca por edema intersticial y celular^{7,14}. Ello daría lugar a una resistencia vascular mayor.

Sin embargo, observaciones de nuestros modelos de experimentación presentes nos han permitido estudiar más concretamente la influencia de determinados parámetros hidrodinámicos en la evolución de las resistencias vasculares, minimizando los aumentos de peso al utilizar un medio de perfusión con una presión oncótica elevada (medio de Belzer).

Pensamos actualmente en el papel de causas dinámicas-vasculares en la evolución de las RVR en el caso de perfusiones hipotérmicas cortas, que constituyen nuestros objetivos de investigación.

CONCLUSIONES

Presentamos un sistema de perfusión hipotérmica de riñón aislado controlado por ordenador. Aplicamos un nuevo modelo de bomba de perfusión, gobernado por presión de vacío. Mediante un control constante analizamos en tiempo real las variaciones dinámicas de presión media de perfusión/flujo medio de perfusión, RVR y temperatura. Ello nos permite evaluar las condiciones basales y evolutivas del órgano, su respuesta a diferentes condiciones hidrodinámicas predeterminables y su correlación con el estudio patológico posterior.

REFERENCIAS

1. HUMPHRIES AL. Problems of organ transplantation. *Transplantation* 1967; **5 (4) Suppl**: 1139-56.
2. BELZER FO, ASHBY BS, DUNPHY JE. 24 and 72 hour preservation of canine kidneys. *Lancet* 1967; **2 (515)**: 536-538.
3. CLAES G, BLOHME Y. Experimental and clinical results of continuous albumin perfusion of kidneys. En *Organ Preservation*, editado por DE Pegg. Churchill-Livingstone. London and Edinburgh, 1973; 51-57.
4. PETERSSON PA, ERWIN PE, BERGGARD Y. Correlation between sodium and potassium-stimulated ATPase activity and renal function after transplantation of canine kidneys. *Eur Surg Res* 1974; **6**: 1.
5. GRUNDMANN R, RAAB M, MEUSEL A, KIRCHHOFF A, PICHLMAIER H. Analysis of the optimal perfusion pressure and flow rate of the renal vascular resistance and oxygen consumption in the hypothermic perfused kidney. *Surgery* 1975; **77 (3)**: 451-461.
6. MILLER HC, WESLEY ALEXANDER J, SMITH EJ. Evaluation of kidney preservation methods. Letters to the Editor, *Lancet* 1973; **21**: 880-881.
7. FLAX SW, UPDIKE SJ, BURKHOLDER PM, GUTMANN FD, BARBER TA, UEHLING DT, WEBSTER JG. Pressure-flow relationships and pathological changes during renal preservation. *Virchows Arch A Path Anat and Histol* 1978; **380**: 273-281.
8. OPELZ G, TERASAKI PI. Advantage of cold storage over machine perfusion for preservation of cadaver kidneys. *Transplantation* 1982; **33 (1)**: 64-68.
9. BOOSTER MH, WIJNEN RMH, YIN M, TIEBOSCH ATM, HEINEMAN E, MAESSEN JG, BUURMAN WA, KURVERS HAJM, STUBENITSKY BM, BONKE H, KOOTSTRA G. Enhanced resistance to the effects of normothermic ischemia on kidneys using pulsatile machine perfusion. En Booster MH: The Non Heart Beating Donor, a New Source of Kidneys for Transplantation. Ed. UPM, Maastricht, 1995; 49-64.
10. BOOSTER MH, WIJNEN RMH, YIN M, HEIDENDAL GAK, VAN KRONENBURG MJPG, KEMERINK GJ, HALDERS SGEA, HEINEMAN E, KOOTSTRA G. Beneficial effect of machine perfusion on the preservation of renal microcirculatory integrity in ischemically damaged kidneys. En Booster MH: The Non Heart Beating Donor, a New Source of Kidneys for Transplantation. Ed. UPM, Maastricht, 1995; 65-77.
11. DAEMEN JWHC, OOMEN APA, JANSSEN MA, VAN DE SCHOOT L, VAN KREEL BK, HEINEMAN E, KOOTSTRA G. Glutathione S-transferase as predictor of functional outcome in transplantation of machine-preserved non-heart beating donor kidneys. *Transplantation* 1997; **63**: 89-93.
12. Langerdorff O. Untersuchungen am ukerlebenden Säugethierherzen. *Arch Ges Physiol* 1895; **61**: 291-332.
13. Hooker DR. A study of the isolated kidney: the influence of pulse pressure upon renal function. *Am J Physiol* 1910; **27**: 24-44.

14. COYNE JA, RUDOLF LE, ALLPORT EL. Perfusion pressure and its relation to vascular resistance in isolated canine kidneys. In *Organ perfusion and preservation* (JC Norman Ed.), pp 33-34. Appleton, New York, 1964.
15. BELZER FO, KOUNTZ SL. Preservation and transplantation of human cadaver kidneys: a two-year experience. *Ann Surg* 1970; **172** (3): 394-404.
16. YLAND MJ, TODO S, ZHU Y, SUZUKI T, HAMADA N, ZHANG S, SUBBOTIN VM, TAKEYOSHI Y, DORIA C, HIKIDA S, BERNARDO JF. An automated and portable low-flow pulsatile perfusion system for organ preservation. *Transpl Int* 1996; **9**: 535-540,.
17. ANTORANZ JC, DEL CAÑIZO JF, DESCO M. Hydrodynamic response of a VAD with a compliant cannula: results of in vitro tests. *Int J Artif Organs* 1994; **17**: 635-642.
18. PEGG DE, GREEN CJ. Renal preservation by hypothermic perfusion: the importance of pressure control. *Criobiology* 1973; **10**: 56-66.
19. Sterling WA, Pierce JC, Lee HM, Hume DM, Hutcher EN, Mendez-Picón G. Renal preservation by hypothermic storage plus pulsatile perfusion. *Surg, Gyn & Obst* 1972; **135**: 589-592,.
20. WOLFF GL, DLUHY RG, LAULER DP. Physiology of the pump-perfused in situ dog kidney. *Am J Physiol* 1969.
21. LOKKEGAARD H, GYRD-HANSEN N, IVERSEN HANSEN R, HASSELAGER E, NERSTROM B, RASMUSEN F. Kidney preservation with pulsatile and non-pulsatile hypothermic serum perfusion. *Acta Med Scand* 1970; **188**: 245-255.
22. ROSENTHAL JT, HERMAN JB, TAYLOR RJ, BROZNICK B, HAKALA TR. Comparison of pulatitle machine perfusion with cold storage for cadaver kidney preservation. *Transplantation* 1984; **37** (4): 425-426,.
23. CERRA FB, RAZA S, ANDRES GA, SIEGEL JH. The endotelial damage of pulsatile renal preservation and its relationship to perfusion pressure and colloid osmotic pressure. *Surgery* 1977; **81** (5): 534-541.

Dr. D. E. Lledó García
 Servicio de Urología
 Fundación Hospital Alcorcón
 C/ Budapest, 1
 28922 Alcorcón (Madrid)

(Trabajo recibido el 22 de junio de 2001)