

Líquidos de preservación renal

J. M. Griñó

Hospital de Bellvitge. L'Hospitalet.

La preservación renal tiene como finalidad minimizar el daño del órgano durante la extracción, la conservación y también durante la reperfusión sanguínea, especialmente durante los primeros momentos después del implante.

Existen, esencialmente, dos métodos de preservación renal: la perfusión pulsátil y el almacenamiento del órgano en hipotermia simple. El primer método tiene como objetivo satisfacer los requerimientos metabólicos del órgano durante el almacenamiento mediante la infusión continua de un líquido que remeda el medio extracelular en situación aeróbica. Este método permitía la conservación del riñón hasta setenta y dos horas y gozó de gran difusión cuando, por exigencias de la histocompatibilidad, se efectuaban intercambios de órganos a grandes distancias. Sin embargo, este método es complejo y caro. Al perder relevancia el grado de histocompatibilidad entre donante y receptor requerido en el trasplante renal clínico, el método universalmente empleado en nuestro ámbito es el de la hipotermia simple, que resulta eficaz, sencillo y barato. El método de la hipotermia simple se basa en el enfriamiento del órgano para reducir su metabolismo para así retardar el daño celular. Este método requiere, primordialmente, el uso de líquidos de perfusión, y también se considera la utilidad de agentes protectores.

Principios básicos en el diseño y uso de líquidos de perfusión

Lavado del órgano

El lavado del órgano mediante la perfusión de un líquido, en su árbol vascular que arrastre la sangre (especialmente de la microcirculación) fue el primer objetivo de la perfusión renal, así como el enfriamiento. Inicialmente se recurrió a líquidos cuya composición remedaba el medio extracelular. El lavado vascular del órgano arrastra factores de la coagulación, isoaglutininas y elementos formes. En un modelo experimental de trasplante renal se ha demostrado que tras la isquemia fría quedan atrapados eritrocitos en los capilares, sobre todo medulares, y que el grado de atrapamiento se correlaciona con el tiempo de is-

quemia fría. La presencia de microagregados de hemáties en la microcirculación dificultaría la reperfusión sanguínea del órgano, lo que podría comprometer su función posterior¹.

Hipotermia

La hipotermia tiene como objetivo reducir el metabolismo celular, que de hecho no se detiene totalmente ni a 0° C, lo cual limita, por tanto, la duración de la preservación por la simple hipotermia. El mejor método para conseguir la hipotermia del órgano es la perfusión vascular mediante un líquido de perfusión a temperatura entre 0 y 4° C y la posterior inmersión en un frasco estéril que contenga este mismo líquido a la misma temperatura. Hoy día, la perfusión en frío de los órganos se realiza *in situ* en el donante cadáver mediante la técnica de perfusión en bloque, con lo que se evita prácticamente la isquemia caliente inicial. La hipotermia de superficie se usa durante la cirugía de la implantación para evitar el calentamiento del órgano antes de la reperfusión sanguínea. Las limitaciones de la hipotermia en la preservación de órganos de seres normotérmicos obligan a considerar cuáles son los mecanismos celulares adaptativos a la hipotermia severa que existen en los seres con capacidad de hibernación².

Composición electrolítica

La composición electrolítica de los líquidos de perfusión usados se asemeja, a grandes rasgos, a la del líquido extracelular o bien a la del líquido intracelular.

El mantenimiento de la composición iónica de los espacios intra y extracelulares se logra debido al continuo transporte activo de sodio hacia el exterior de la célula y de potasio hacia el interior de la misma, gracias al funcionamiento de la bomba Na/K que requiere energía. Cuando ésta falta el sodio invade pasivamente la célula.

Inicialmente se usaron líquidos de composición extracelular que contenían grandes concentraciones de sodio y bajas concentraciones de potasio. Tales soluciones extracelulares, como el suero salino isotónico o el Ringer lactato, provocaban una rápida pérdida de cationes intracelulares (K⁺ y Mg⁺⁺), con la consiguiente incorporación de sodio y agua³, lo que conducía a riñones no viables⁴. Hoy día, la mayoría de soluciones de perfusión utilizadas son de tipo intracelular con un alto contenido de potasio y muy inferior de sodio. Con ello se mantiene la composi-

Correspondencia: Dr. Josep Maria Griñó.
Servei de Nefrologia.
Hospital de Bellvitge.
Feixa Llarga, s/n.
08907 L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

ción electrolítica intracelular a pesar de la anulación funcional de la bomba Na/K.

Prevención del edema celular

Con la hipotermia simple debe mantenerse el volumen y morfología celulares y la composición electrolítica dentro de los límites normales. Ello se pretende conseguir, como se ha señalado previamente, con el uso de líquidos intracelulares e impermeantes. Los impermeantes son sustancias con capacidad osmótica y relativamente impermeables a las membranas celulares y, por tanto, capaces de mantener la tonicidad extracelular y evitar así la entrada de agua al interior de la célula.

Se han utilizado diferentes impermeantes en los sucesivos líquidos de perfusión. La glucosa (Pm 180) fue uno de los impermeantes inicialmente utilizados y es el único que contiene la solución de Eurocollins⁵. La sucrosa (Pm 342) parece más eficaz como impermeante que la glucosa y ha sido utilizada con éxito en líquidos de perfusión, aun cuando su composición electrolítica no sea de tipo intracelular⁶, lo que sugiere que es más importante el mantenimiento de la tonicidad extracelular que la composición electrolítica. El manitol (Pm 182) es también un buen impermeante, puesto que difícilmente penetra en la célula y no es metabolizado. Sacks y cols.⁷ obtuvieron buenos resultados en un modelo de preservación renal canina tras setenta y dos horas de isquemia fría utilizando un líquido de perfusión con manitol. Nosotros desarrollamos un líquido de perfusión hipertónico intracelular que contiene manitol, con buenos resultados clínicos⁸. Con posterioridad se aumentó la tonicidad de este líquido (M-400), resultando eficaz en la prevención del daño renal inducido por isquemia caliente⁹ y en la práctica clínica¹⁰. Otros impermeantes utilizados son el ácido lactobiónico y la rafinosa que, asociados al fosfato, se utilizan conjuntamente en la solución de la Universidad de Wisconsin¹¹.

La mayoría de líquidos de perfusión utilizados resultan isotónicos, o más o menos hipertónicos en relación con el plasma, como resultado de su composición electrolítica y el contenido de impermeantes.

La presencia de coloides (almidón, albúmina) no parece esencial en la preservación renal, e incluso hepática, en hipotermia simple, aunque sí parece aconsejable en la preservación pancreática y cardíaca¹¹.

Mantenimiento del pH

Cada vez se ha considerado de mayor importancia el mantenimiento del pH en la preservación renal. La presencia de acidosis celular intrarrenal se asocia a insuficiencia renal, especialmente cuando el pH intracelular es inferior a 6^{12,13}. La capacidad de la célula para mantener el pH dentro de los límites normales depende de la presencia y eficacia de tampones capaces de absorber el exceso de hidrogeniones, evitando la caída del pH intracelu-

lar. Los tampones más usados han sido el bicarbonato, pero sobre todo el citrato⁶ y el fosfato^{5,6}. Dentro del margen fisiológico de pH, la capacidad tampón del citrato parece inferior a la del fosfato. El citrato es peor tampón a pH entre 6 y 7 en comparación con el fosfato, que resulta un tampón excelente en este rango de pH¹⁴. Recientemente se ha descrito otro tampón: el custodiol (HTK-Histidine-buffered tryptophan ketoglutarate) en la solución de Bretschneider¹⁵, que ofrece buenos resultados clínicos en la preservación renal.

Reserva energética

El ATP es necesario para la supervivencia de la célula. Durante la isquemia se produce una reducción renal de ATP¹⁶. Así, se considera que es preciso mantener unos niveles mínimos de ATP para asegurar la viabilidad de los órganos a lo largo de la preservación. Se ha intentado incrementar los niveles de ATP principalmente con la adición de adenosina¹⁷ e inosina¹⁸. Actualmente, el líquido de la Universidad de Wisconsin (UW) contiene adenosina¹¹, que parece ser uno de los componentes esenciales de este líquido¹⁹.

«Scavengers»

La reperfusión sanguínea renal tras la isquemia, con el aporte súbito de oxígeno, provoca la degradación de los metabolitos de las bases púricas (acumulados durante la isquemia) a hipoxantina que, a su vez, se degrada a ácido úrico gracias a la acción de la xantinoxidasa. El metabolismo del ácido úrico genera radicales libres de oxígeno (RLO), lesivos para las células. Después de la reperfusión, la cantidad de RLO generados supera a los «scavengers» (o barredores) fisiológicos, por lo que se cree pueden inducir daño renal tras la reperfusión^{20,21}. El uso de «scavengers» puede contribuir a evitar el daño renal inducido por RLO tras la reperfusión^{22,23} sanguínea renal. Se han ensayado diversos «scavengers» tanto en modelos experimentales como clínicos de preservación. La superóxido dismutasa (SOD), «scavenger» del radical superóxido, ha sido ampliamente estudiada en modelos experimentales^{22,24,25} de preservación renal. La SOD recombinante parece ofrecer resultados prometedores en la prevención de la insuficiencia renal postrasplante en clínica humana²⁶.

El glutatión es también un «scavenger» útil en la preservación renal experimental²⁷ y parece un componente esencial de la solución UW¹⁹.

El manitol, además de impermeante, es también un potente «scavenger» de radicales libres hidróxilo²³, y se halla incluido en diversos líquidos de perfusión^{6,8,28}.

Protectores

Podemos denominar así aquellas sustancias, sobre todo fármacos, usados en la preservación de órganos con

el fin de obtener un beneficio adicional al que ofrece el líquido de perfusión para mejorar la función del aloinjerto tras la preservación.

Puesto que debido al insulto isquémico acontece una entrada de Ca^{++} a la célula que comportará su muerte, se ha estudiado la utilidad de los antagonistas del calcio en la preservación renal²⁹. El verapamil parece que puede ser de los más útiles en la preservación renal^{30,31}.

La prostaciclina, por su efecto vasodilatador y natriurético, se ha considerado de interés en la protección del insulto isquémico³², pero sobre todo se ha estudiado en la preservación pulmonar³³.

La isquemia renal produce un aumento en la liberación de factor activador de las plaquetas (PAF)³⁴, y así los antagonistas del PAF protegen contra el insulto isquémico renal³⁵. En una experiencia preliminar hemos observado que el antagonista del PAF, BN-52021, ofrece un efecto protector adicional al líquido Eurocollins en un modelo de isquemia caliente renal.

El factor natriurético atrial, potente vasodilatador, parecía resultar beneficioso en la prevención de la insuficiencia renal isquémica en animales³⁶, pero estas impresiones no se han confirmado en el trasplante renal humano³⁷.

El alopurinol, inhibidor de la xantinoxidasa, previene la degradación de la xantina a ácido úrico y la aparición de RLO. El alopurinol parecía de utilidad en la prevención del daño isquémico, especialmente más allá de dieciséis horas de isquemia fría²³, circunstancia habitual en la clínica. El alopurinol se halla incluido en el líquido UW y parece ser uno de sus componentes esenciales, tanto en la preservación renal¹⁹ como hepática²⁸, aunque en la preservación renal en el trasplante clínico no observamos un efecto beneficioso adicional al introducirlo al líquido M-400³⁸.

Los esteroides, y concretamente la dexametasona, al considerarse estabilizadores de las membranas celulares se han introducido en el líquido UW¹⁹.

Líquidos de perfusión renal

El diseño de los distintos líquidos de perfusión se basa en la consideración empírica de los principios teóricos expuestos previamente. Podemos decir que la mayoría de líquidos imitan en su composición electrolítica al medio intracelular, excepto el PBS-140⁶, y contienen distintos impermeantes (para alcanzar distintas tonicidades) y tapones. A estos líquidos podríamos llamarles «electrolíticos», y su composición se detalla en la tabla I. En este grupo estarían el HOC (solución hipertónica de citrato), el Eurocollins (EC), el PBS-140, que contiene sucrosa como impermeante, y el M-400, que contiene manitol como impermeante. Este líquido ha sido impulsado desde nuestro equipo, dado que contiene la misma composición electrolítica que el EC; el manitol es, además de impermeante, un «scavenger» de radicales de hidróxido, y el tampón fosfato es un buen tampón como se ha descrito

Tabla I. Composición de líquidos de preservación renal

Componentes (mmol/l)	HOC	EC	PBS	M-400
Sodio	80	10	120	10
Potasio	80	115	—	115
Magnesio	35	—	—	—
Cloruro	—	15	—	15
Bicarbonato	—	10	—	10
Citrato	55	—	—	—
Sulfato	40	—	—	—
Fosfato	—	50	60	50
Glucosa	—	195	—	—
Manitol	185	—	—	220
Sucrosa	—	—	140	—
Osmolaridad (mOsm/l)	400	355	310	400
				(mOsm/kg)
pH	7,0	7,0	7,2	7,4

previamente. Existe otro líquido de gran difusión actual, la solución UW. Este líquido se caracteriza por mantener una composición electrolítica similar al medio intracelular, pero contiene además nuevos impermeantes (lactobionato, rafinosa), adenosina, glutatión, alopurinol y dexametasona. Pero sobre todo, además de estos componentes, contiene un almidón («hydroxyletil starch») como sustancia coloidal. La composición del líquido UW se detalla en la tabla II.

Resultados clínicos de los distintos líquidos de perfusión renal

Es difícil establecer comparaciones entre los resultados clínicos obtenidos en cuanto a la incidencia de insuficiencia renal postrasplante de los distintos líquidos en el trasplante renal de cadáver, tanto por el diseño de los distintos estudios como por la variación del número de pacientes incluidos. Hemos recogido datos recientes de

Tabla II. Composición del líquido UW

Na	30
K	125
Mg	5
H ₂ PO ₄	25
SO ₄	5
Lactobionato	100
Rafinosa	30
Adenosina	5
Glutatión	3
Insulina	100 U/l
Penicilina	0,133 g/l
Dexametasona	8 mg/l
Hydroxyethyl starch	50 g/l
Alopurinol	1 mm/l
Osmolalidad	320 mOsm

la literatura de los distintos líquidos empleados en trasplante renal de cadáver y los resultados se detallan en la tabla III. Podemos decir que en el trasplante renal de cadáver no existe una clara superioridad de ninguno de los líquidos utilizados en la práctica clínica. Por tanto, el uso de líquidos sencillos y baratos (de tipo «electrolítico»), dados los buenos resultados que ofrecen, continúa vigente sin necesidad de recurrir a líquidos complejos y caros, como la solución UW.

La preservación renal en la extracción multivisceral de órganos

En la década de los ochenta, al consolidarse los programas de trasplante de distintos órganos sólidos, además del renal, se plantea el uso de un líquido idóneo y común en la perfusión de los distintos órganos a extraer, especialmente el hígado. Inicialmente se usaba el EC, líquido tradicionalmente empleado en la preservación renal. En la actualidad hay tendencia a usar el líquido UW en la extracción multivisceral, puesto que permite alargar el tiempo de isquemia fría del hígado extraído con respecto al líquido EC⁴¹, aunque algunos de los componentes del líquido UW, considerados inicialmente esenciales, no parecen serlo en realidad^{19,28}, como es el almidón. El líquido UW ha sido clásicamente comparado en la preservación hepática con el EC, pero no existen prácticamente estudios clínicos comparativos con los otros líquidos mencionados, excepto con la solución hipertónica de Marshall, que contiene citrato y manitol, sin que la cualidad de la preservación sea significativamente diferente entre los dos líquidos⁴². Por otra parte, cabe mencionar que recientemente se ha referido en un modelo experimental de preservación hepática («isolated perfused liver») que no existe diferencia significativa en los resultados obtenidos comparando el Ringer lactato con el líquido UW tras treinta horas de conservación hipotérmica del hígado⁴³.

Todo lo expuesto indica, por una parte, que los líquidos «electrolíticos» proporcionan resultados difíciles de mejorar en la preservación renal clínica y, por otro lado, que debe profundizarse todavía más en el estudio de la posible idoneidad de los distintos líquidos de perfusión en la extracción multivisceral. El uso de los mencionados

protectores puede aportar beneficios adicionales en la preservación de órganos en general.

Bibliografía

- Jacobson J, Odland B, Tufueson G y Wahlberg J: Effects of cold ischemia and reperfusion on trapping of erythrocytes in the rat kidney. *Transpl Int*, 1:75-76, 1988.
- Storey KB y Storey JM: Frozen and alive. *Scientific American*, 263:62-67, 1990.
- Keeler R, Swinney J, Taylor RMR y Uldall PR: The problem of renal preservation. *Br J Urol*, 38:653-657, 1966.
- Martin DC, Smith G y Fareed DO: Experimental renal preservation. *J Urol*, 103:681-684, 1970.
- Collins GM, Hartley LC y Clunie GJA: Kidney preservation for transplantation. *Br J Surg*, 59:187-189, 1972.
- Lam FT, Mavor AID, Potts DJ y Giles GR: Improved 72-hour renal preservation with phosphate-buffered sucrose. *Transplantation*, 47:767-771, 1989.
- Sacks SA, Petritsch PH y Kaufman JJ: Canine kidney preservation using a new perfusate. *Lancet*, 1:1024-1028, 1973.
- Griño JM, Miravittles R, Castelao AM, Sabater R, Gil-Vernet S, Franco E, Andrés E, Maestre P y Alsina J: Flush solution with manitol in the prevention of post-transplant renal failure. *Transplant Proc*, 19:4140-4142, 1987.
- Torras J, Bordialba JR, Serón D, Carreras M, Castelao AM, Poveda R, Alsina J y Griño JM: Prevención del daño renal inducido por isquemia caliente mediante el uso de un líquido de perfusión que contiene manitol. *Nefrología* (en prensa).
- Porras I, González-Posada JM, Losada M, Jordano A, Lorenzo V, González Miranda F, Santolaria F y Torres A: A multivariate analysis of the risk factors for posttransplant renal failure: Beneficial effect of a flush solution with mannitol. *Transplant proc* (en prensa).
- Southard JH, Van Gulik TM, Ametani MS, Vreugdenhil PK, Lindell SL, Pienar BL y Belzer FO: Important components of the UW solution. *Transplantation*, 49:251-257, 1990.
- Bore PJ, Sehr PA, Chan L, Thulbom KR, Ross BD y Rada JK: The importance of pH in renal preservation. *Transplant Proc*, 13:707-709, 1981.
- Nghiem DD, Elkadi H y Southard JH: Importance of pH in renal preservation. *Transplant Proc*, 20:872-874, 1988.
- Diem K y Lentner C: Buffer solutions. En: *Geigy Scientific Tables*. 7.ª ed. Basle: Ciba-Geigy; 280, 1970.
- Groenewoud AF, Bucholz B, Gubematis F, Holscher M, Hoyer J, Isemmer F, Niebel W y Wilms H: First results of the Multicenter Study of HTK protection for kidney transplants. *Transplant Proc*, 22:2212, 1990.
- Kasiske BL, O'Donnell MP y Keane WF: Direct effects of altered temperature on renal structure and function. *Renal Physiol Biochem*, 11:80-88, 1988.
- Buhl MR, Kemp G y Kemp E: Adenosine stimulated postimplantational regeneration of 5-adenine nucleotides in rabbit kidney grafts. *Life Sci*, 19:1889-1896, 1976.
- Fernando AR: Enhanced preservation of the ischemic kidney with inosine. *Lancet*, 1:555-557, 1976.
- Biguzas M, Jablonski P, Howden BO, Thomas AC, Walls K, Scott DF y Marshall VC: Evaluation of UW solution in rat kidney preservation. *Transplantation*, 49:1051-1055, 1990.
- Canavesse C, Stratta P y Vercellone A: The cas for oxygen free radicals in the pathogenesis of ischemic acute renal failure. *Nephron*, 49:9-15, 1988.
- Green CJ, Healing G, Lunec J, Fuller BJ y Simpkin: Evidence of free-radical-induced damage in rabbit kidneys after simple hypothermic preservation and autotransplantation. *Transplantation*, 41:161-165, 1986.
- Bosco PJ y Schweizer RT: Use of oxygen radical scavengers on autografted pig kidneys after warm ischemia and 48-hour perfusion preservation. *Arch Surg*, 123:601-604, 1988.
- Koyama I, Bilkey GB, Williams GM e Im MJ: The role of oxygen

Tabla III. Resultados clínicos de los distintos líquidos de preservación renal

	N.º pacientes	IRPT (%)	Referencia
EC	739	19	39
UW	152	20	39
PBS-140	19	15	40
HOC	22	50	40
M-400	60	10	10
Bretscheider	202	11	15

IRPT = Insuficiencia renal postrasplante.

- free radicals in mediating the reperfusion injury of cold ischemic kidneys. *Transplantation*, 40:59-62, 1985.
24. Schmeider J, Friderichs E y Giertz H: Equitative protection by human and bovine SOD against renal reperfusion in rats. *Basic Life Sci*, 49:891-894, 1988.
 25. Vicens A, López-Boado MA, Alcaraz A, Sáenz A, Piera C, Hotter G, Ramos E, Klaustermeier J, Targarona EM y Fernández-Cruz L: Beneficial effect of superoxide dismutase (SOD) on erythrocyte trapping and 6-keto-PGF_{1a} TxB₂ ratio after ischemia-reperfusion in kidney transplantation. *Transplant Proc*, 22:2221-2223, 1990.
 26. Schneeberger H, Schleibner S, Schilling M, Illner WD, Abendroth D, Hancke E, Jänicke U y Land W: Prevention of acute renal failure after kidney transplantation by treatment with rh-SOD: Interim analysis of a double-blind placebo-controlled trial. *Transplant Proc*, 22:2224-2225, 1990.
 27. Paller MS: Renal work, glutathione and susceptibility to free radical-mediated postischemic injury. *Kidney Int*, 33:843-849, 1988.
 28. Yu W, Coddington D y Bitter-Suermann: Rat liver preservation. I. The components of UW solution that are essential to its success. *Transplantation*, 49:1061-1066, 1990.
 29. Schrier RW y Hensen J: Cellular mechanism of ischemic acute renal failure: role of Ca⁺⁺ and calcium entry blockers. *Kilm Wochenschr*, 66:800-807, 1988.
 30. Leahy AL, Titzpatrick JM y Wait RB: Variable results of calcium blockade in post-ischemia renal failure. *Eur Usol*, 14:222-225, 1985.
 31. Nakamoto M, Shapiro JI, Mills SD, Schrier RW y Chan L: Improvement of renal preservation by verapamil with isolated rat kidney. *Transplantation*, 45:313-315, 1988.
 32. Tobimatsu M, Ueda Y, Saito S, Tsumagarit y Konomi K: Effects of a stable prostacyclin analog on experimental acute renal failure. *Ann Surg*, 208:65-70, 1988.
 33. Hooper TL, Thomson DS, Jones MT, Cook L, Owen S, Wilkes S, Woodcock A, Webster AH, Hasleton P, Campbell CS, Rahman AM y McGregor CGA: Amelioration of ljug ischemic injury with prostacyclin. *Transplantation*, 49:1031-1035, 1990.
 34. López-Farré A, Torralbo M y López Novoa JM: Glomeruli from ischemic rat kidney produce increased amounts of platelet activating factor. *Biochem Biophys Res Commun*, 152:129-135, 1988.
 35. López-Farré A, Bemabéu F, López-Farré D, Ramón y Cajal S, Braquet P y López-Novoa JM: Platelet activating factor antagonists treatment protects against postischemic acute renal failure in rats. *J Pharmacol Exp Therp*, 253:328-333, 1990.
 36. Gianello P, Poelaert D, Ramboux A, Squifflet JP, Berbinschi A, Donckier J, Ketelslegers JM, Lambotte L y Alexanar G: Beneficial effect of atrial natriuretic factor on ischemically injured kidneys in the rat. A new approach to improve early renal function. *Transplantation*, 45:860-863, 1988.
 37. Ratcliffe PJ, Richardson AJ, Kirby JE, Moyses C, Shelton JR y Morris PJ: Effect of intravenous infusion of atriopeptin 3 on immediate renal allograft function. *Kidney Int*, 39:164-168, 1991.
 38. López Costea MA: Prevención del fracaso renal agudo en el trasplante renal de cadáver: acción del manitol y el alopurinol en la solución de preservación. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona, 1989.
 39. Collins G, Bry W, Warren R, Mollenkopf y Feduska N: Clinical comparison of UW with Collins solution for cadaveric kidney preservation. *Transplant Proc*, 23:1305-1306, 1991.
 40. Lam FT, Ubhi CS, Mavor AID, Lodge JPA y Giles GR: Clinical evaluation of PBS 140 solution for cadaveric renal preservation. *Transplantation*, 48:1067-1068, 1989.
 41. Stratta RJ, Wood RP, Langnas AN, Duckworth RM, Markin RS, Marujo W, Grazi GL, Saito S, Dawidson I, Ridders LF, Pillen TJ y Shaw BW: The impact of extended preservation on clinical liver transplantation. *Transplantation*, 50:438-433, 1990.
 42. Badger IL, Michell ID, Buist LJ, Sherlock D, Buckels JAC y McMaster P: Human hepatic preservation using Marshall's solution and University of Wisconsin solution in a controlled, prospective trial. *Transplant Proc*, 22:2183-2184, 1990.
 43. Morgan GR, Harvey PCR y Strasberg SM: Comparison of Ringer's lactate versus UW solution as flushing solutions assessed in the isolated perfused rat liver. *Transplantation*, 50:351-353, 1990.