



# **UNIVERSIDAD DE MURCIA**

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Determinación del tiempo de isquemia caliente óptimo en el trasplante cardíaco en donación en asistolia a través del análisis del proceso de lesión del cardiomiocito durante la parada cardiaca en donantes tipo III de Maastricht.

**D.<sup>a</sup> María Dolores Victoria Rodenas**

**2023**





# UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Determinación del tiempo de isquemia caliente óptimo en el trasplante cardíaco en donación en asistolia a través del análisis del proceso de lesión del cardiomiocito durante la parada cardiaca en donantes tipo III de Maastricht.

**Autora:** D.<sup>a</sup> María Dolores Victoria Rodenas

**Directores:** Dr. Mario Royo-Villanova Reparaz

Dr. Antonio Manuel Lax Pérez

Dra. María del Carmen Asensio López





**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD  
DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

*Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022*

D./Dña. Nombre y apellidos **MARÍA DOLORES VICTORIA RODENAS**

doctorando del Programa de Doctorado en

Denominación de su programa de doctorado **CIENCIAS DE LA SALUD (PLAN 2013)**

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

Escriba el título de su tesis doctoral **DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE ISQUEMIA CALIENTE ÓPTIMO EN EL TRASPLANTE CARDÍACO EN DONACIÓN EN ASISTOLIA A TRAVÉS DEL ANÁLISIS DEL PROCESO DE LESIÓN DEL CARDIOMIOCITO DURANTE LA PARADA CARDÍACA EN DONANTES TIPO III DE MAASTRICHT.**

y dirigida por,

D./Dña. **MARIO ROYO-VILLANOVA REPARAZ**

D./Dña. **ANTONIO MANUEL LAX PÉREZ**

D./Dña. **MARÍA DEL CARMEN ASENSIO LÓPEZ**

**DECLARO QUE:**

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

*Si la tesis hubiera sido autorizada como tesis por compendio de publicaciones o incluyese 1 o 2 publicaciones (como prevé el artículo 29.8 del reglamento), declarar que cuenta con:*

- La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Murcia, a 05 de JUNIO de 2023

Fdo.:

*Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.*

Información básica sobre protección de sus datos personales aportados	
Responsable:	Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5. Edificio de la Convalecencia. 30003; Murcia. Delegado de Protección de Datos: dpd@um.es
Legitimación:	La Universidad de Murcia se encuentra legitimada para el tratamiento de sus datos por ser necesario para el cumplimiento de una obligación legal aplicable al responsable del tratamiento. art. 6.1.c) del Reglamento General de Protección de Datos
Finalidad:	Gestionar su declaración de autoría y originalidad
Destinatarios:	No se prevén comunicaciones de datos
Derechos:	Los interesados pueden ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición, limitación del tratamiento, olvido y portabilidad a través del procedimiento establecido a tal efecto en el Registro Electrónico o mediante la presentación de la correspondiente solicitud en las Oficinas de Asistencia en Materia de Registro de la Universidad de Murcia

## Agradecimientos

“La suerte es lo que ocurre cuando la preparación coincide con la oportunidad”

*Séneca*

“Los grandes logros de cualquier persona generalmente dependen de muchas manos, corazones y mentes”

*Walter Elias Disney*

Cuando trabajas en una Unidad de Cuidados Intensivos, te das cuenta desde muy temprano que el trabajo en equipo es fundamental y que tú solo puedes hacer muy poco para salvar la vida de tus pacientes. En cambio, cuando se unen los esfuerzos de múltiples profesionales sanitarios, las cosas marchan como es debido en situaciones críticas. En este sentido, el proceso de escribir una tesis doctoral puede asemejarse. Su desarrollo puede suponer un esfuerzo titánico y resultar hasta tedioso, pero rodeándote de las personas adecuadas, el viaje se hace más llevadero y agradable. Por este motivo, quisiera empezar dando las gracias a todos mis compañeros del Servicio de Medicina Intensiva del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca por ser una pieza clave en mi formación, por sus valiosas enseñanzas, su ayuda y colaboración en este trabajo. Gracias a todos los que se han convertido en amigos en este tiempo, por las risas en los momentos más necesarios y por transmitirme sus ganas de disfrutar de la vida. Gracias a los Residentes de Medicina Intensiva por ser un estímulo constante y una motivación para seguir mejorando como profesional día a día, sólo espero haber estado a la altura. Me gustaría nombrar especialmente a los que me han acompañado desde el principio de este periplo. Al Dr. José H. De Gea por plantar la semilla de la curiosidad investigadora, iniciar el proceso conmigo y por esperar pacientemente, aunque no diese los frutos deseados. Al Dr. Mario Royo-Villanova, por ser el viento que ha impulsado las velas de este barco con su mente brillante, su espíritu entusiasta y por convertirse en un amigo al que admiro profundamente. Estoy en deuda con la Dra. Silvia Sánchez, por ser un ejemplo, una excelente intensivista, una gran amiga y una trabajadora incansable, siendo fundadora y pieza indispensable de este trabajo.

Dar las gracias a mis compañeros del Servicio de Medicina Intensiva del Hospital General Universitario Los Arcos del Mar Menor, que me han acompañado en una etapa más madura de mi carrera profesional y con su gran profesionalidad, bondad, paciencia y cariño me han apoyado en las fases finales de este trabajo.

Agradecer a los Dres. Antonio Lax y María del Carmen Asensio su minucioso trabajo en un campo desconocido hasta ahora para mí. Gracias por su orientación y crítica como codirectores.

Por último, dar las gracias al Dr. Domingo Pascual por brindarme la oportunidad de participar en un proyecto tan ilusionante y motivante como este y por el tiempo invertido en la lectura, corrección y mejora de esta tesis.

No me gustaría olvidarme de dar las gracias a mi familia y amigos, por su abrazo constante, incluso en la distancia. Gracias a mis padres por ser mis mejores guías de vida. Finalmente, pero no por ello menos importante, gracias a Santos por elegir compartir su vida conmigo, por sumar y animarme a mejorar en todos los ámbitos cada día.

## **Dedicatoria**

A Silvia, por ser mi referente y mi amiga.

A Santos, por todo su amor y cuidado.

A mi madre, por enseñarme a no rendirme pese a las adversidades.

A mi padre, por enseñarme que la curiosidad es la base del desarrollo del talento y motor del aprendizaje.

A mis hermanas, por su ternura, cariño y entusiasmo incansable.

Este trabajo ha sido financiado por la Fundación Mutua Madrileña a través del proyecto AP167292017, por el Instituto de Salud Carlos III a través del proyecto PI19/00519 y por el Ministerio de Ciencia e Innovación a través del proyecto RYC2019-027635-I.

El trabajo desarrollado y que se presenta en esta memoria de Tesis Doctoral ha dado lugar a la publicación del siguiente trabajo de investigación:

**Sánchez-Cámara S., Asensio-López M.C., Royo-Villanova M., Soler F., Jara-Rubio R., Garrido-Peñalver J.F., Pinar E., Hernández-Vicente A., Hurtado J.A., Lax A., Pascual-Figal D.A.** Critical warm ischemia time point for cardiac donation after circulatory death. *Am J Transplant.* (2022);22(5):1321-1328. doi: 10.1111/ajt.16987.

## Abreviaturas

- AMPc: Adenosín monofosfato cíclico
- AR: Autorresucitación
- ATP: Adenosín trifosfato
- BCA: Ácido bicinconínico
- Ca<sup>2+</sup>: Ion Calcio
- CaMKII: Proteína Ca<sup>2+</sup>-calmodulina quinasa-II
- DA: Donación en asistolia
- DAC: Donación en asistolia controlada
- DCD: siglas en inglés de Donantes en Asistolia (*Donors after Circulatory Death*)
- DPI: Disfunción primaria del injerto
- ECG: Electrocardiograma
- ECMO: Oxigenación por membrana extracorpórea
- ERC: Enfermedad Renal Crónica
- ERO: Especies reactivas del oxígeno
- ETE: Ecocardiografía transesofágica
- EVI: Enfermedad vascular del injerto
- FC: Frecuencia cardíaca
- FE: Fracción de eyección
- FPI: Fallo primario del injerto
- GC: Gasto cardiaco
- H<sup>+</sup>: Hidrogeniones o ion
- HVI: Hipertrofia ventricular izquierda
- IC: Insuficiencia Cardíaca
- IMC: Índice de masa corporal
- ISHLT: siglas en inglés de Sociedad Internacional de Trasplante de Corazón y Pulmón (*International Society for Heart and Lung Transplantation*)
- IVUS: Ultrasonido intravascular
- K<sup>+</sup>: Ion potasio
- ME: Muerte encefálica
- Min: minutos
- mmHg: Milímetros de mercurio
- MTP: Poro de transición de permeabilidad mitocondrial
- Na<sup>+</sup>: Ion sodio
- NCX: Intercambiador sodio-calcio
- NHE: Intercambiador sodio-hidrógeno
- NYHA: siglas en inglés de la Sociedad del Corazón de Nueva York (*New York Heart Association*)
- OCS: siglas en inglés de Sistema de Cuidado de Órgano (*Organ Care System*). Proveniente de dispositivo de perfusión *ex situ Transmedic Organ Care System Heart™*
- ONT: Organización Nacional de Trasplantes
- PCR: Parada cardiorrespiratoria o cardiocirculatoria
- PKA: Proteína quinasa A
- PLN: Fosfolambano
- PP1: Proteína fosfatasa 1
- PRN: Perfusión regional normotérmica

- PTAN: Perfusión toraco-abdominal normotérmica
- PVDF: Fluoruro de polivinilideno
- RCP: Reanimación cardiopulmonar
- RISK: Quinasa de rescate de la lesión por reperfusión
- RMN: Resonancia magnética nuclear
- RS: Retículo sarcoplasmático
- RTSV: Retirada de tratamiento/terapia de soporte vital
- RVS: Resistencias vasculares sistémicas.
- S: segundos
- SAFE: Potenciación del factor activador de la supervivencia
- SERCA2a: Enzima Ca<sup>2+</sup>-ATPasa de retículo sarcoplasmático
- SLN: Sarcolipina
- SPECT: siglas en inglés de Tomografía de emisión por fotón único (*Single Photon Emission Computed Tomography*)
- SRTR: siglas en inglés de Registro Científico de Receptores de Trasplantes (*Scientific Registry of Transplant Recipients*)
- TSA: Troncos supraaórticos
- TC: Trasplante Cardíaco
- UCI: Unidad de Cuidados Intensivos
- UNOS: siglas en inglés de Red Unida para Compartir Órganos (*United Network for Organ Sharing*)
- VHB: Virus de la hepatitis B
- VHC: Virus de la hepatitis C
- VD: Ventrículo derecho
- VI: Ventrículo izquierdo
- VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

## Índice de contenidos

Agradecimientos.....	6
Dedicatoria .....	8
Abreviaturas.....	11
Índice de contenidos.....	13
Índice de Figuras .....	15
Índice de Tablas.....	18
1. INTRODUCCIÓN .....	19
1.1. El trasplante cardiaco actualmente.....	19
1.1.1. Utilización de donantes añosos.....	27
1.1.2. Utilización de donantes con enfermedades infecciosas.....	29
1.1.3. Utilización de donantes con anomalías cardíacas preexistentes .....	31
1.1.4. Dispositivos de mantenimiento y transporte de órganos para trasplante diferido .....	33
1.2. El proceso de donación cardiaca.....	35
1.2.1. Rechazo y tratamiento inmunosupresor .....	39
1.2.2. Disfunción primaria del injerto .....	43
1.2.3. Fisiopatología de la Disfunción primaria del injerto .....	45
1.3. El donante en asistolia controlada (tipo III de Maastricht).....	48
1.3.1. El proceso de donación cardíaca en asistolia controlada tipo III de Maastricht .....	53
1.3.2. Selección de donantes cardiacos en asistolia controlada .....	59
1.3.3. Cambios fisiológicos en el corazón durante el proceso de donación en asistolia controlada.....	60
1.3.4. Reanimación y obtención del corazón en el proceso de donación en asistolia controlada .....	63
1.3.5. Aspectos éticos en la donación cardíaca en asistolia controlada.....	74
1.4. Justificación del estudio .....	80
1.5. Bases bioquímicas y proceso de muerte celular.....	89
1.5.1. Regulación de la actividad de SERCA2a por PLN .....	90
1.5.2. Implicación de las mitocondrias y las caspasas en el proceso de muerte celular programada .....	94
2. HIPÓTESIS.....	97

Hipótesis principal .....	97
Hipótesis secundaria .....	97
3. OBJETIVOS .....	98
Objetivo principal .....	98
Objetivo secundario .....	98
4. MÉTODOS .....	99
4.1. Diseño del estudio .....	99
4.2. Ámbito .....	99
4.3. Población de estudio .....	99
4.4. Aspectos éticos.....	99
4.5. Recogida y procesamiento de muestras cardíacas.....	101
4.6. Procesamiento de los explantes cardíacos.....	103
4.7. Estudio de la capacidad contráctil de los explantes y análisis de los datos obtenidos .....	103
4.7.1. Electroforesis en geles de acrilamida y transferencia Western.....	103
4.7.2. Activación de la muerte celular por apoptosis.....	104
4.7.3. Análisis estadístico .....	104
5. RESULTADOS .....	106
5.1. Características de la población.....	106
5.2. Contractilidad cardíaca .....	108
5.3. Función mitocondrial.....	110
5.4. Muerte celular apoptótica.....	112
5.5. Análisis de sensibilidad basado en diferencias en el período entre la retirada de medidas de soporte vital y la parada cardiocirculatoria .....	112
6. DISCUSIÓN .....	115
7. CONCLUSIONES.....	130
BIBLIOGRAFÍA.....	131
ANEXOS.....	145

## Índice de Figuras

<b>Figura</b>	<b>Título y descripción</b>	<b>Página</b>
<b>Figura 1</b>	<b>Procedimientos de trasplante cardiaco en España de 1991-2022.</b> Fuente: Memoria de actividad donación y trasplante cardiaco en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (4).	20
<b>Figura 2</b>	<b>Evolución anual de la edad del donante y el porcentaje de donantes con edad &gt; 45 años (2012-2021).</b> IC95%: intervalo de confianza del 95%. Fuente: F. González-Vílchez et al. Registro Español de Trasplante Cardiaco. XXXIII Informe Oficial de la Asociación de Insuficiencia Cardiaca de la Sociedad Española de Cardiología. Rev Esp Cardiol. 2022;75(11):926-935 (5).	22
<b>Figura 3</b>	<b>Número de corazones implantados en España desde el año 2013 al 2022 por grupo de edad del donante y porcentaje total de utilización.</b> Fuente: Memoria de actividad donación y trasplante cardiaco en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (4).	23
<b>Figura 4</b>	<b>Procedimientos de trasplante cardiaco realizados en España desde el año 2013 al 2022 según el tipo de donante.</b> Fuente: Memoria de actividad donación y trasplante cardiaco en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (4).	25
<b>Figura 5</b>	<b>Prevalencia de positividad para Anti-VHC en los donantes de órganos (%) en España entre 2013 y 2022.</b> Fuente: Memoria de Actividad de Donación y Trasplante en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (27).	30
<b>Figura 6</b>	<b>Evolución de las indicaciones de inclusión en lista para trasplante cardiaco (%) en España desde 2018 a 2022.</b> Fuente: Memoria de actividad donación y trasplante cardiaco en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (4).	37
<b>Figura 7</b>	<b>Vías para la donación de órganos de personas fallecidas.</b> (A) Los pacientes que donan órganos tras una muerte encefálica tienen una función cardiorrespiratoria intacta que permite la evaluación del corazón del donante antes de la obtención del órgano. (B) Los pacientes que donan órganos tras una muerte circulatoria han sufrido una parada cardiaca hipoxémica tras la retirada del tratamiento de soporte vital y la evaluación del corazón del donante sólo puede realizarse tras la reanimación del órgano. Adaptado de White C.W. et al/ Front Cardiovasc Med. 2018 Feb 13; 5:8 (6).	55
<b>Figura 8</b>	<b>Monitorización del donante durante la PTAN.</b> Adaptado de Pérez Redondo M et al./ J. Cardiothorac. Surg.. 2020; 15:333 (79).	57
<b>Figura 9</b>	<b>Protocolo español de obtención de corazones procedentes de DA controlada.</b> Adaptado de Miñambres E et al. / Am J Transplant. 2021 Apr;21(4):1597-1602 (78).	58
<b>Figura 10</b>	<b>Figura 10. Fases fisiológicas tras la RTSV.</b> Se han identificado cinco fases fisiológicas después de la	63

	<p>RTSV: (1) del 0 al 1,5 min la hipoxemia causa vasoconstricción pulmonar; (2) del 1,5 al 4 min las catecolaminas endógenas producen un aumento de la FC, función biventricular, GC y RVS; (3) del 4 al 7 min la función biventricular y el GC disminuyeron rápidamente; (4) del 7 al 8 min tiene lugar el paro circulatorio y después, comienza la fase de “punto muerto”, tras la cual se inician las vías apoptóticas y el lactato y la PaCO<sub>2</sub> arteriales aumentan hasta alcanzar valores de <math>4,9 \pm 0,4</math> mmol/L y <math>91 \pm 5</math> mmHg, respectivamente. Durante todas las fases, el VD experimenta una marcada distensión en comparación con el VI. Modificado de Anguela-Calvet L et al. / <i>Transplantation</i>. 2021 Jul 1;105(7):1482-1491 (87).</p>	
<b>Figura 11</b>	<p><b>Cambios iónicos durante el proceso de isquemia-reperfusión.</b> (A) Cambios iónicos durante la isquemia. El metabolismo anaeróbico da lugar a la producción de iones H<sup>+</sup> que activan el intercambiador sodio-hidrógeno (NHE) y la acumulación de Na<sup>+</sup> en el interior del miocito. La ATPasa Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> no es capaz de extraer el exceso de Na<sup>+</sup> y mantener el potencial de membrana normal debido a la falta de disponibilidad de ATP. En consecuencia, a medida que progresa la isquemia, se produce una acumulación de Na<sup>+</sup> e H<sup>+</sup> en el interior del miocito y la despolarización del potencial de membrana. (B) Cambios iónicos durante la reperfusión. La reperfusión elimina los H<sup>+</sup> que se han acumulado en el espacio intersticial y crea un gradiente significativo para el intercambio Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup>. La entrada de Na<sup>+</sup> en el miocito durante la reperfusión temprana obliga al intercambiador sodio-calcio (NCX) a funcionar en modo inverso e importar iones de Ca<sup>2+</sup> a través del sarcolema. La homeostasis iónica intracelular no se puede restaurar hasta que la ATPasa Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> logre restablecer el potencial de membrana en reposo y los niveles normales de Na<sup>+</sup> intracelular, lo que permitirá que el NCX vuelva al modo de funcionamiento normal y expulse el exceso de Ca<sup>2+</sup> del citoplasma. Adaptado de White CW et al./ <i>Front Cardiovasc Med</i>. 2018;5(February) (6).</p>	66
<b>Figura 12</b>	<p><b>Patogénesis de la lesión por isquemia-reperfusión.</b> La sobrecarga de Ca<sup>2+</sup> intracelular y la producción de ERO provocan la apertura del MPT y la propagación de la muerte celular. La normalización del pH intracelular durante la reperfusión es un factor modulador importante en la patogénesis de la lesión por isquemia-reperfusión. Adaptado de White CW et al./ <i>Front Cardiovasc Med</i>. 2018;5(February) (6).</p>	70
<b>Figura 13</b>	<p><b>Diferentes técnicas de canulación de un sistema de oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO) en la donación cardíaca en asistolia controlada.</b> A) Canalización de ECMO veno-arterial periférica a través de la arteria y la vena femorales. Se infla un balón de oclusión aórtica en la aorta torácica descendente y se inicia perfusión regional</p>	72

	normotérmica (PRN) abdominal hasta que se coloca un clampaje aórtico en los vasos del arco. Una vez realizada la exclusión del flujo cerebral, se desinfla el balón de oclusión aórtica y posteriormente se inicia la perfusión regional normotérmica toraco-abdominal (PTAN). B) Canalización de ECMO venoarterial periférica a través de arteria y vena femorales. No hay balón de oclusión aórtico y la ECMO no comienza hasta que se pinzan los vasos del arco aórtico. C) Canalización central de ECMO venoarterial a través de aurícula derecha y aorta ascendente. El arco aórtico y los vasos femorales se pinzan antes del inicio de la ECMO. Fuente: <i>Anguela-Calvet L et al. / Transplantation. 2021 Jul 1;105(7):1482-1491 (87).</i>	
<b>Figura 14</b>	<b>Evolución de la actividad trasplantadora en función del tipo de donante (números absolutos) en España entre 2013-2022.</b> Fuente: <i>Memoria de Actividad de Donación y Trasplante en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (27).</i>	86
<b>Figura 15</b>	<b>Número total y Tasa anual (pmp) de donantes de órganos según el tipo de donante en España entre los años 2001-2022.</b> Fuente: <i>Memoria de Actividad de Donación y Trasplante en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (27).</i>	86
<b>Figura 16</b>	<b>Regulación del transporte de Ca<sup>2+</sup> del RS por el complejo proteico multimérico SERCA/PLN.</b> Modificado de <i>Kranias y Hajjar Circ Res. 2012 June 8; 110(12): 1646-1660 (103).</i>	90
<b>Figura 17</b>	<b>Estimulación de receptores β-adrenérgicos en la regulación de la actividad PLN/SERCA.</b> La activación de PKA da como resultado una mayor fosforilación de PLN, amplificando los efectos estimulantes β-adrenérgicos, favoreciendo el transporte de Ca <sup>2+</sup> en el RS y la contractilidad. Modificado de <i>Kranias y Hajjar Circ Res. 2012 June 8; 110(12): 1646-1660 (103).</i>	94
<b>Figura 18</b>	<b>Tiempo de duración de cada donante en sufrir la PCR (parada cardiocirculatoria) desde la RTSV (retirada de tratamiento de soporte vital) en relación con la mediana.</b>	108
<b>Figura 19</b>	<b>Cambios temporales del estado de la PKA y del PLN. (A) Niveles de fosforilación de PKA en relación con el total de PKA expresada en el miocardio. (B) Niveles de fosforilación de PLN en relación con el total de PLN expresado en el miocardio.</b>	109
<b>Figura 20</b>	<b>Cambios temporales en los complejos mitocondriales II y IV. (A) Actividad del complejo II o Succinato deshidrogenasa. (B) Actividad del complejo IV o Citocromo c oxidasa.</b>	111
<b>Figura 21</b>	<b>Cambios temporales en actividad de la caspasa 3/7 como marcador de muerte apoptótica.</b>	112
<b>Figura 22</b>	<b>Análisis de sensibilidad utilizando los tiempos entre la RTSV (retirada de terapia de soporte vital) y la PCR (parada cardiocirculatoria) por debajo (círculo) y por encima (triángulo) del valor medio (9 min) para todos los parámetros estudiados.</b>	113

## Índice de Tablas

<b>Tabla</b>	<b>Título y descripción</b>	<b>Página</b>
Tabla 1	<b>Características de los donantes y del procedimiento quirúrgico en el Registro Español de Trasplante Cardíaco (2011-2020).</b> Adaptado de <i>F. González-Vílchez et al. / Rev Esp Cardiol. 2021;74(11):962-970.</i>	24
Tabla 2	<b>Contraindicaciones absolutas y relativas para trasplante cardíaco.</b>	38
Tabla 3	<b>Esquema de Gradación del Rechazo Celular Agudo según la Sociedad Internacional de Trasplante de Corazón y Pulmón (ISHLT por sus siglas en inglés) - 2004.</b>	40
Tabla 4	<b>Esquema de Gradación del Rechazo agudo mediado por anticuerpos o rechazo humoral.</b> La histopatología del rechazo agudo mediado por anticuerpos implica hallazgos histológicos e inmunopatológicos. Incluye la presencia de anticuerpos anti-células endoteliales del donante, anti-HLA, etc. Conlleva un peor pronóstico que el rechazo celular.	41
Tabla 5	<b>Clasificación de Maastricht modificada (Madrid 2011).</b> Categorías de donación en asistolia.	52
Tabla 6	<b>Diferentes combinaciones de recuperación y preservación de injertos cardíacos.</b> Adaptado de <i>Anguela-Calvet L et al. / Transplantation. 2021 Jul 1;105(7):1482-1491 (87).</i>	69
Tabla 7	<b>Evolución de Resultados Globales de la Autoevaluación del Programa de Garantía y Calidad del Proceso de Donación en España desde el año 2000 hasta 2019.</b> Fuente: <i>Memoria de Resultados de la Autoevaluación del Año 2019 del Programa de Garantía de Calidad del Proceso de Donación (95).</i>	81
Tabla 8	<b>Duración de los tiempos de isquemia caliente total, isquemia caliente funcional e isquemia fría por encima de la cual aumenta la frecuencia de complicaciones postrasplante para los diferentes órganos.</b>	88
Tabla 9	<b>Características clínicas de los donantes en asistolia tipo III de Maastricht de la cohorte del estudio.</b>	107
Tabla 10	<b>Modelo lineal mixto para medidas seriadas en cada parámetro estudiado referido a los datos mostrados en las figuras 19-22.</b>	114

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. El trasplante cardiaco actualmente

El trasplante de corazón (TC) es el tratamiento de elección para pacientes candidatos con insuficiencia cardíaca (IC) avanzada. El trasplante de órganos sólidos se ha convertido en una terapia consolidada que salva o mejora la calidad de vida de un número aproximado de 40.000 pacientes cada año en el mundo (1). Su consolidación es consecuencia de los excelentes resultados logrados con prácticamente todos los tipos de trasplantes.

Actualmente, la supervivencia a los 5 años del TC en nuestro país se sitúa en torno al 75% con una mediana de supervivencia de 12,5 años, variando en función del diagnóstico primario (2). La mayoría de los corazones para trasplante provienen de donantes en muerte cerebral. La escasez relativa de donantes y órganos para satisfacer las necesidades crecientes de trasplante es sin duda el mayor obstáculo que impide el pleno desarrollo de esta terapia.

Con un número aproximado de 4.000 procedimientos de trasplantes anualmente en España, todavía no se cubren de manera adecuada las necesidades de trasplante de nuestra población. En 2021 se realizaron 302 TC (Figura 1) y cuando se revisa la situación de la lista de espera se objetiva una mortalidad anual en lista del 2%, lo cual probablemente sea una infraestimación, por cuanto un porcentaje similar de pacientes se excluye cada año de dicha lista (8% en 2021 en concreto de la lista de TC), en muchos casos por un empeoramiento de su situación clínica (3).

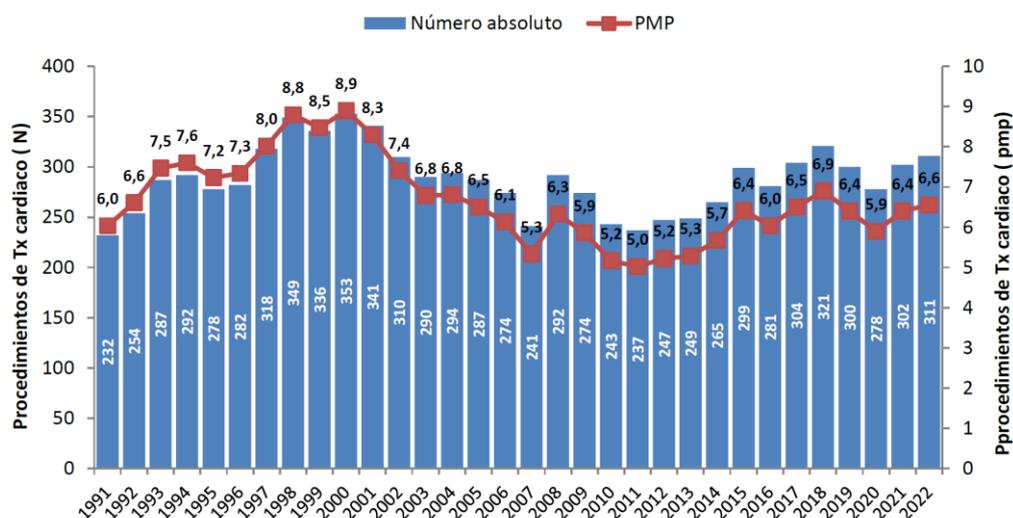


Figura 1. **Procedimientos de trasplante cardíaco en España de 1991-2022.** Fuente: Memoria de actividad donación y trasplante cardíaco en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (4).

La actividad del TC en España durante 2020 y 2021 (2)(5) confirma las tendencias previas a una discreta disminución del trasplante urgente (probablemente en relación con los cambios acontecidos en los criterios de inclusión en lista de espera que se instauraron en julio de 2017) realizado sobre todo con dispositivos de asistencia ventricular, una ligera disminución de la edad del donante con aumento del uso de donantes con parada cardíaca previa y una disminución del tiempo de isquemia. La supervivencia continúa mejorando situándose en el periodo 2012-2021 en el 80,6% durante el primer año post-trasplante y el 72,5% a los 5 años, significativamente superior a la observada en toda la serie anterior (5). En 2020 se realizaron 278 trasplantes, un 7,3% menos que el año anterior. En el último registro correspondiente al año 2021 (5) se observa una recuperación de la actividad de trasplante hasta cifras previas a la pandemia por SARS-CoV-2, que no ha tenido un impacto global significativo en los resultados. En el año 2021 se realizaron 302 TC, un 8,6% más que el año anterior. En la población adulta (edad > 18 años en el momento del trasplante), la media de edad desde 2012 fue  $53,3 \pm 11,8$  años ( $52,9 \pm 11,8$  años en 2021) y el 25,5% eran mujeres (26,2% en 2021). Las demás características y los resultados en términos de supervivencia muestran una clara tendencia a la estabilización en la última década. Respecto a 2019, en los años de la pandemia por SARS-CoV-2 (2020 y 2021) no se detecta un

impacto relevante en los resultados en la fase aguda tras el trasplante y en la serie histórica.

En los primeros 5 años post-trasplante, las causas específicas de muerte más prevalentes son la infección (24,9%) y el fallo primario del injerto (FPI) (20,6%), que se concentran prácticamente en el primer año y el primer mes tras el trasplante respectivamente. Entre el segundo y el quinto año tras el trasplante, las causas más frecuentes son la enfermedad vascular del injerto/muerte súbita (23,3%) y la neoplasia (20,7%).

En los últimos años las características del receptor han permanecido prácticamente inalteradas, salvo por una tendencia significativa a una mayor proporción de receptores con cirugía cardíaca previa ( $p < 0,01$ ), un cambio significativo en el tipo de asistencia circulatoria utilizada antes del trasplante ( $p < 0,001$ ) y una tendencia no significativa a una mayor proporción de receptores de sexo femenino (5). En 2021 se confirma la evolución detectada en la última década, particularmente desde 2017, en el tipo de dispositivos de asistencia circulatoria con que los pacientes acceden al trasplante, con el uso mayoritario de dispositivos de asistencia ventricular de corta duración sobre el del sistema de oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO) o el balón de contrapulsación, este último con un uso puramente testimonial. Se observa un importante incremento de los pacientes trasplantados con dispositivos de asistencia ventricular de tipo continuo, que supone un 71,9% del total de dispositivos de asistencia circulatoria utilizados en 2021.

En la última década, el tiempo de isquemia promedio tiende a disminuir debido a un aumento de los procedimientos con tiempos de isquemia cortos ( $< 120$  min) a expensas de las intervenciones con tiempos moderadamente largos. Parece establecido el recurso a donantes que se podría considerar subóptimos, a menudo sobredimensionados respecto al tamaño del receptor, los tiempos de isquemia fría mayoritariamente por debajo de las 4 horas y la práctica de la técnica bicava. De hecho, en 2021, al igual que en el trienio previo, 3 de cada 4 trasplantes se realizaron con la técnica bicava.

La edad del donante ha seguido una tendencia bifásica significativa en la última década con un incremento hasta 2017 y una disminución a partir de entonces. Se mantiene un alto porcentaje de trasplantes con donante mayor de 45 años, que suponen prácticamente la mitad de los casos (en el año 2000 el 76% de los trasplantes provenían de donantes menores de 45 años). No obstante, tras un pico en 2017, en los años siguientes se aprecia una sutil tendencia a la moderación en los trasplantes añosos (Figura 2 y Figura 3). Relacionada con la edad del donante está la causa de la muerte, con el accidente cerebrovascular como la principal de ellas. El principal obstáculo con el que nos encontramos actualmente en España en este sentido, es un estancamiento a la baja del número de donantes óptimos. Antiguamente, la causa de muerte mayoritaria de los donantes cardíacos era el accidente de tráfico; ahora, la mayoría de donantes (57%) provienen de accidentes cerebrovasculares. Persisten las tendencias a un porcentaje creciente de trasplante con injertos que han sufrido parada previa al procedimiento (Figura 2 y Figura 4).

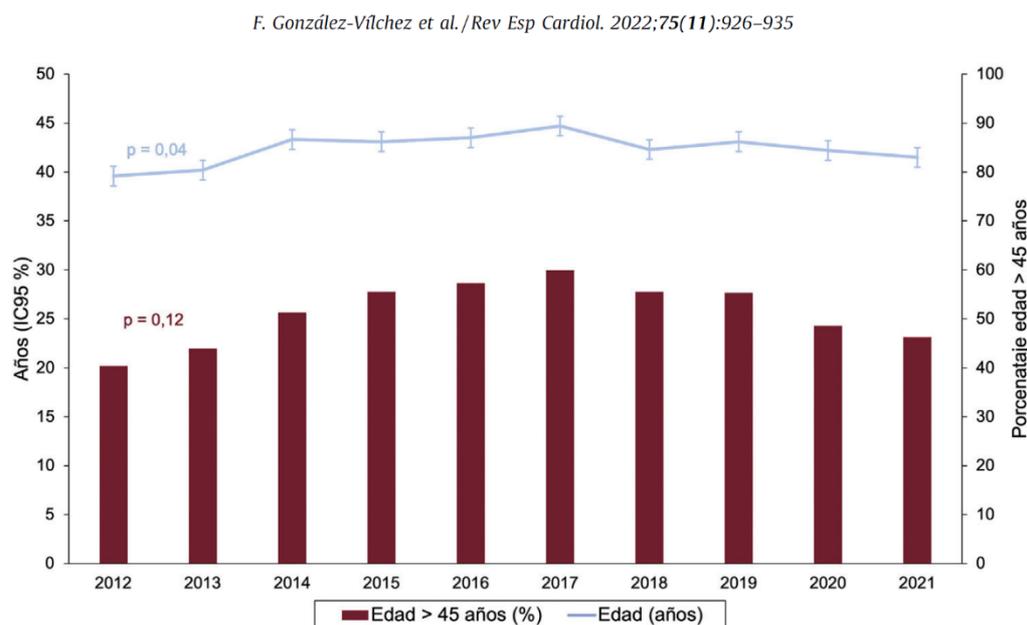


Figura 2. Evolución anual de la edad del donante y el porcentaje de donantes con edad > 45 años (2012-2021). IC95%: intervalo de confianza del 95%. Fuente: F. González-Vílchez et al. Registro Español de Trasplante Cardíaco. XXXIII Informe Oficial de la Asociación de Insuficiencia Cardíaca de la Sociedad Española de Cardiología. Rev Esp Cardiol. 2022;75(11):926–935 (5).

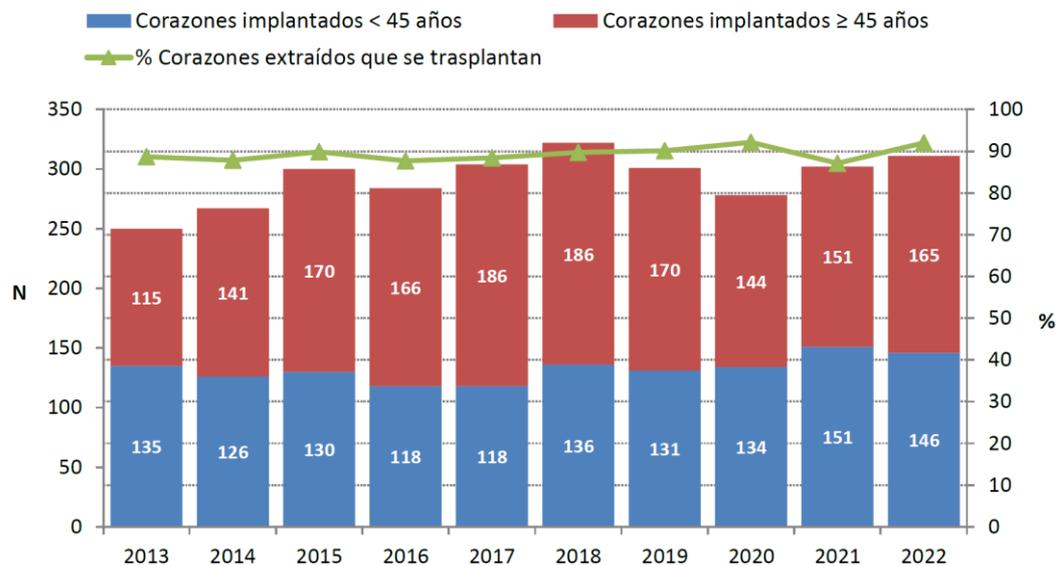


Figura 3. Número de corazones implantados en España desde el año 2013 al 2022 por grupo de edad del donante y porcentaje total de utilización. Fuente: Memoria de actividad donación y trasplante cardiaco en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (4).

	2011-2013 (n=732)	2014-2016 (n=846)	2017-2019 (n=925)	P <sub>tendencia</sub>	2020 (n=278)
<b>Edad (años)</b>	39,7±14,6	43,4±14,3	43,2±15,4	<0,001	42,2±14,9
Edad > 45 años	41,8	54,3	56,5	<0,001	48,9
<b>Varones</b>	61,2	58,9	62,0	0,92	56,5
Donante mujer-receptor varón	23,4	24,9	21,4	0,47	19,8
<b>Peso (kg)</b>	72,6±18,6	74,7±17,9	74,5±19,8	0,04	73,1±19,1
Peso receptor: donante	0,94±0,20	0,93±0,19	0,93±0,20	0,68	0,93±0,20
Peso receptor: donante > 1,2	9,4	6,9	8,4	0,09	8,3
Peso receptor: donante < 0,8	21,0	22,0	23,9	0,12	24,1
<b>Causa de muerte</b>				<0,001	
Traumatismo	30,8	23,3	19,7		20,9
Cerebrovascular	57,0	63,0	64,8		66,9
Otras	12,2	13,7	15,6		12,2
<b>Parada cardíaca antes de trasplante<sup>a</sup></b>	12,4	16,6	18,7	<0,01	20,9
<b>Ecocardiograma antes de la donación<sup>b</sup></b>				0,16	
No realizado	2,9	1,0	1,7		0,0
Normal	94,3	96,5	95,7		100,0
Disfunción general leve	2,8	2,5	2,6		0,0
<b>Tiempo de isquemia (min)</b>	210,9±60,0	197,7±72,2	197,0±72,8	<0,001	193,5±70,8
≤120	8,9	12,5	17,9	<0,01	16,2
120-180	19,4	22,5	19,8		22,3
180-240	42,9	38,3	34,7		40,6
>240	28,8	26,7	27,7		22,0
<b>Técnica qx bicava</b>	68,5	70,1	71,6	0,77	79,7

\* Los valores expresan porcentaje o media ± desviación estándar; a Sobre 2.725 trasplantes; b Sobre 2.468 trasplantes.

**Tabla 1. Características de los donantes y del procedimiento quirúrgico en el Registro Español de Trasplante Cardíaco (2011-2020).** Adaptado de *F. González-Vílchez et al. / Rev Esp Cardiol. 2021;74(11):962-970.*

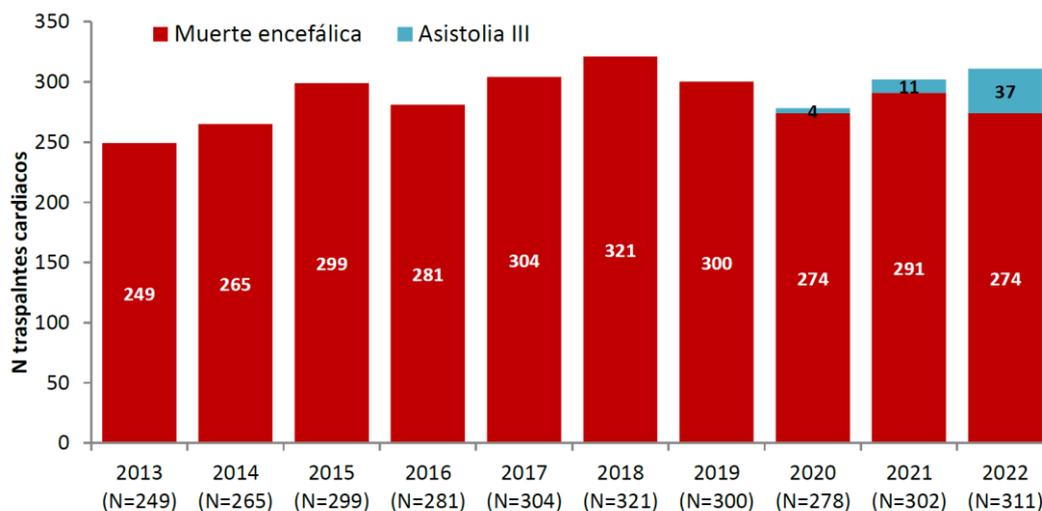


Figura 4. **Procedimientos de trasplante cardíaco realizados en España desde el año 2013 al 2022 según el tipo de donante.** Fuente: Memoria de actividad donación y trasplante cardíaco en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (4).

Es probable que en nuestro contexto clínico actual nos encontremos ante una cifra máxima de supervivencia, sutilmente superior al 80% durante el primer año postrasplante. Podría, por tanto, pensarse que todavía existe un margen de mejora relacionada con el aumento de experiencia de los grupos más recientemente incorporados a los programas de asistencia ventricular o la expansión de la donación en asistolia (DA) (5).

A día de hoy, entre 120 y 130 personas están a la espera de poder recibir un corazón en España. De estos pacientes, alrededor de un 60% está recibiendo un TC, mientras que el 40% restante continúa en la lista de espera. En Canadá, por ejemplo, en los últimos 10 años, la tasa de mortalidad anual de los pacientes en espera de un TC ha sido del 16% (6). En Reino Unido la lista de espera para un TC ha aumentado un 162% en la última década, con un 30% de pacientes que mueren o se deterioran hasta el punto de ser retirados definitivamente de la lista de espera (7). En general, el impacto clínico del TC se ve limitado por la escasez crítica de órganos de donantes adecuados.

Muchos centros de todo el mundo han ampliado los criterios de aceptación de candidatos a trasplante a lo largo de los últimos años según han acumulado experiencia clínica con el TC, y los resultados clínicos en el postrasplante han

mejorado. Esto, junto a cambios demográficos de la población, ha supuesto también cambios significativos en las características de los receptores. Estos hechos han propiciado que la supervivencia condicional a 5 años haya mejorado significativamente en la era más reciente (2008-2013), a pesar del trasplante a receptores cada vez más complejos, con un número mayor de comorbilidades, y del uso creciente de donantes de mayor riesgo. Las variables continuas que se asociaron significativamente con un mayor riesgo de mortalidad a 1 año fueron la mayor edad del donante, mayor IMC del receptor, mayor tiempo de isquemia, peor función renal y hepática del receptor, menor volumen de procedimientos del centro de trasplante y mayor resistencia vascular pulmonar y panel de anticuerpos reactivos del receptor en el momento del trasplante (8).

Los corazones de donantes suelen considerarse "marginales" debido a factores de riesgo como edad avanzada, desajuste de tamaño con el receptor previsto, tiempo de isquemia prolongado, presencia de hipertrofia ventricular izquierda e infección por hepatitis B/C. Recientemente, existe un creciente interés por ampliar el *pool* estándar de donantes aceptando corazones de donantes marginales, incorporando sistemas de transporte novedosos que permitan la obtención de injertos a distancia y la reanudación de la DA.

Una de las mayores preocupaciones asociadas al uso de estos órganos marginales o de criterio ampliado es el riesgo desconocido de fallo y disfunción del injerto tras su implantación. Existe evidencia científica de que la evolución de los pacientes trasplantados con injertos de donantes de más edad o donantes añosos es peor que la de los receptores de órganos más jóvenes (9). El concepto de emparejamiento discriminado por edad (donantes añosos para receptores de más edad, *old for old* en la jerga profesional), una estrategia que se ha demostrado válida en trasplante renal y hepático, no se ha desarrollado en el ámbito del TC (10). Esto se debe al riesgo incrementado de FPI, complicación que conlleva elevada mortalidad. También se ha observado que los corazones de donantes de mayor edad predisponen al receptor a desarrollar vasculopatía del injerto cardíaco o enfermedad vascular del injerto (EVI) (11).

Las posibilidades que se vislumbran en este momento para expandir el número de donantes son tres: en primer lugar, la utilización de órganos de donantes de criterio ampliado (por encima de los 55 años [previa práctica sistemática de estudio angiográfico], donantes con enfermedades infecciosas, con hipertrofia o disfunción del ventrículo izquierdo [VI]); en segundo lugar, el uso de dispositivos de mantenimiento del injerto cardiaco que permitan superar la barrera que el tiempo de isquemia (inferior a 4-6 horas en la práctica actual) supone para la obtención y el transporte de órganos a grandes distancias; y por último continuar con la expansión de la utilización de corazones de pacientes donantes en parada cardiaca.

La reintroducción de la donación cardíaca después de la determinación de muerte circulatoria o DA en 2014 ofreció un aumento en la actividad de trasplantes de alrededor del 30% (12) llegando a alcanzar un incremento del 48% en la actividad de trasplante cardiaco en algunos centros (13).

#### 1.1.1. Utilización de donantes añosos

Desde el año 2000 se utilizan corazones de donantes en situación de muerte encefálica (ME) con criterios ampliados, con una supervivencia comparable a la de los donantes óptimos en situación de ME, según se desprende de múltiples estudios unicéntricos (14)(15). A pesar de tratarse de estudios unicéntricos con criterios de inclusión y exclusión diferentes, sus resultados sugieren que los corazones de donantes de edad avanzada con disfunción ventricular leve son viables para el trasplante.

Un informe publicado recientemente por el Registro de Trasplantes Torácicos de la Sociedad Internacional de Trasplante de Corazón y Pulmón (*ISHLT* por sus siglas en inglés) (11) mostraba que la mediana de edad de los donantes en todo el mundo aumentó de 31 a 35 años durante el periodo de 1992-2000 al periodo de 2010-2018. Esto se debió en gran parte a un aumento generalizado de la edad de los donantes en Europa.

Se ha observado que los corazones de donantes más jóvenes se asocian a una mayor supervivencia del receptor a 1 año y a 5 años (condicionada a la supervivencia a 1 año). En un análisis más detallado, la menor edad del donante parece beneficiar a los receptores de al menos 40 años, pero no a los más jóvenes

(11). En un estudio multicéntrico español se determinó que la edad del donante mayor de 50 años se asociaba a una mayor incidencia de EVI a los 5 años postrasplante (RR 1,67) (16). Por lo tanto, la edad del donante  $\geq$  50 años presagia un mayor riesgo de desarrollo de EVI y una peor supervivencia del receptor. Sin embargo, con el aumento de la demanda de injertos cardíacos y una reserva limitada de donantes, los clínicos deben sopesar el riesgo incrementado de aceptar un corazón de un donante de más edad frente al riesgo de permanecer en lista de espera y la morbimortalidad asociada.

La razón biológica de los peores resultados obtenidos en el trasplante de corazones procedentes de donantes mayores de 55 años se atribuye a la presencia de enfermedad coronaria aterosclerótica. Hoy, la necesidad de intervención inmediata en pacientes con infarto agudo de miocardio ha propiciado que más de 100 hospitales de la red pública española dispongan de guardia permanente de hemodinámica capaz de realizar coronariografías urgentes todos los días del año (17). La dotación de salas de hemodinámica es, de conformidad con la Encuesta RECALCAR de 2022 (18), de 1 sala por cada 314.668 habitantes, existiendo notables variaciones entre Comunidades Autónomas (situándose algo por encima de los criterios de planificación recomendados de una sala por cada 400.000 habitantes). El 94% de las unidades que cumplimentaron la encuesta (73 Unidades asistenciales del área del corazón que han contestado la encuesta en 2022 con laboratorio de hemodinámica) y realizaban angioplastia primaria (15 o más al año), tenían establecido un mecanismo de activación. Por ello, no debería ser un problema la práctica de coronariografías a pacientes en situación de muerte cerebral en hospitales de tercer nivel.

Se ha argumentado en contra la posible toxicidad renal del contraste angiográfico (los riñones son también injertos utilizables en estos donantes) y el riesgo de inestabilización de los donantes durante los traslados. Estos aspectos han sido descartados en diversos estudios en los que se utilizaron cantidades mínimas de contraste y se controlaron estrictamente los tiempos de traslado de los pacientes. En Estados Unidos es práctica habitual, recogida en guías de práctica clínica, la realización de coronariografías a donantes de género masculino de más de 45 años y mujeres por encima de los 55 (19).

Con esta política, y basado en datos de la Organización Nacional de Trasplantes, en España podríamos disponer de entre 250 y 300 injertos cardiacos adicionales cada año, contando con que solo el 50% de ellos fuera utilizable (17). La disponibilidad de donantes se vería incrementada de manera notable; sin embargo, el impacto real de esta medida no parece tan claro si tenemos en cuenta que la media de edad de los donantes en Europa es de 42 años, mientras en Estados Unidos se mantiene en torno a los 30 (9).

### 1.1.2. Utilización de donantes con enfermedades infecciosas

La infección por el virus de la hepatitis B (VHB) es frecuente en todo el mundo; sin embargo, la prevalencia varía geográficamente, con tasas bajas en Europa occidental y Estados Unidos y altas en el sudeste asiático y el África subsahariana. Es poco probable que el VHB se transmita con el TC (20)(21)(22), ya que la mayoría de los receptores han recibido la vacuna o son tratados con lamivudina profiláctica tras el trasplante. En un estudio, sólo 1 de 33 pacientes que no recibieron lamivudina profiláctica o no tenían inmunidad previa desarrolló viremia VHB tras recibir un corazón de un donante con anticuerpos anti-VHB positivos (21). En particular, de los 32 pacientes restantes, 5 recibieron profilaxis con lamivudina, 7 tenían inmunidad previa frente al VHB y el resto no tenía ninguna de las dos, y ninguno de ellos desarrolló el VHB. Con estos datos, se puede afirmar que los corazones de donantes infectados por el VHB pueden utilizarse con seguridad para trasplantes, especialmente si los receptores reciben vacunación previa contra el VHB o profilaxis con lamivudina.

La infección por hepatitis C (VHC) es otra infección común transmitida por vía parenteral. Con la epidemia de opioides en Estados Unidos en una revisión reciente de la base de datos del Registro Científico de Receptores de Trasplantes (*SRTR*, por sus siglas en inglés) reveló que, entre 2000 y 2017, la cuarta causa más común de muerte de donantes fue por sobredosis de drogas (10,8%) y según algunos estudios los donantes fallecidos por sobredosis tienen más probabilidades de ser VHC positivos (1,3% frente a 0,2%)(23). En la última década en España, entre el 0,8-1,8% de los donantes en general fueron VHC positivos (Figura 5). Es probable que la infección por el VHC se transmita de donantes virémicos a receptores seronegativos, con tasas de transmisión del 80 al 100% (24)(25). Una revisión de los datos del

SRTR de 1994 a 2003 reveló que los receptores de corazones de donantes VHC positivos tienen una mayor mortalidad a corto y largo plazo, más probabilidades de desarrollar EVI (8,8% frente a 3,6%) y un mayor riesgo de morir por enfermedad hepática (13,7% frente a 0,4%) (26), en comparación con los receptores de corazones VHC negativos.

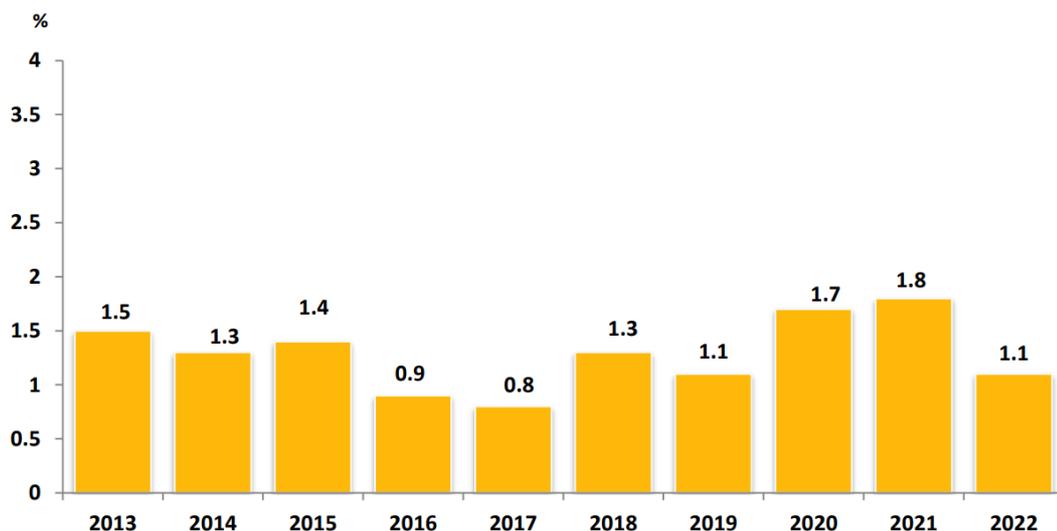


Figura 5. Prevalencia de positividad para Anti-VHC en los donantes de órganos (%) en España entre 2013 y 2022. Fuente: Memoria de Actividad de Donación y Trasplante en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (27).

En un análisis SRTR más reciente, realizado entre 1995 y 2013, se obtuvieron resultados similares y se demostró que los receptores VHC negativos de corazones de donantes VHC positivos presentan una mayor mortalidad (HR 1,78) y una mayor incidencia de fallo del injerto, con el consiguiente aumento de riesgo de muerte o necesidad de un nuevo trasplante (28).

Antes de 2014, la base del tratamiento del VHC era el interferón, que se asociaba a cardiotoxicidad y a un mayor riesgo de rechazo agudo (29). Desde 2014, se han desarrollado varios fármacos antivirales de acción directa para tratar el VHC. Estos fármacos son bien tolerados y pueden lograr una respuesta virológica sostenida de hasta el 99% a las 12 semanas (30). Los estudios iniciales del fármaco antivírico de acción directa sofosbuvir en receptores de trasplantes de hígado y riñón con VHC demostraron resultados alentadores con una elevada respuesta virológica sostenida

(del 87 al 100%) y una interacción mínima con el tratamiento inmunosupresor para el trasplante (31)(32). Varios informes han demostrado una supervivencia similar, así como una incidencia comparable de rechazo agudo y neoplasias malignas, en receptores de corazones de donantes positivos para el VHC que recibieron tratamiento con antivirales de acción directa tras el trasplante, en comparación con los que recibieron órganos de donantes negativos para el VHC (33). Sin embargo, la incidencia de EVI a 1 año en los receptores de corazones de donantes VHC-positivos aumentó (31% frente a 15%), y la mayoría (78%) presentaba vasculopatía de grado 1 (34). El grupo de Vanderbilt también observó una tendencia a una mayor incidencia de disfunción primaria grave del injerto en los receptores de corazones de donantes seropositivos al VHC. Atribuyeron esta observación a que los corazones VHC positivos se ofrecían preferentemente a candidatos con mayor gravedad que recibían asistencia circulatoria mecánica, que también es un factor de riesgo de disfunción primaria del injerto (DPI) (34). Estos resultados sugieren que la utilización de donantes seropositivos al VHC es segura y factible, y representa una importante forma de ampliar la reserva de donantes en la actualidad.

En cuanto al Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), el TC de donantes seropositivos está restringido a protocolos de investigación. Se notificó un caso de transmisión no intencionada de VIH debido a un error de laboratorio (35). El receptor recibió terapia antirretroviral en las 48 horas posteriores al trasplante y continuaba vivo y sin manifestar la enfermedad 4 años después. Un estudio que incluyó 27 trasplantes renales de donantes VIH positivos a receptores seropositivos demostró seguridad a corto plazo (36). Debido a la multitud de implicaciones éticas, es probable que la investigación en este campo sea limitada.

### 1.1.3. Utilización de donantes con anomalías cardíacas preexistentes

El uso de corazones de donantes con hipertrofia ventricular izquierda (HVI) ha dado resultados desiguales en diferentes receptores y continúa siendo controvertido. Marelli et al. (37) sugieren que los corazones de donantes con HVI leve pueden utilizarse de forma selectiva, especialmente si no existen criterios electrocardiográficos (ECG) y si el tiempo de isquemia es corto. Sin embargo, Kuppahally et al. (38) informaron de que los receptores de corazones de donantes con HVI ( $\geq 1,2$  cm) tenían peor supervivencia y mayor incidencia de EVI.

Posteriormente, Pinzon et al. (39) revisaron la base de datos UNOS (siglas en inglés de *United Network for Organ Sharing*) entre 2006 y 2010 con casi 3.000 receptores y estratificaron los donantes de corazón en grupos sin HVI (< 1,1 cm), con HVI leve (1,1 a 1,3 cm) y HVI moderada-severa ( $\geq$  1,4 cm). Se observó una supervivencia similar a los 30 días y al año en los receptores de los tres grupos. Sin embargo, los corazones procedentes de donantes con factores de riesgo adicionales, como una edad avanzada o un tiempo de isquemia fría prolongado ( $\geq$ 4 horas) presentaron una peor supervivencia (39), lo que sugiere una interacción entre la HVI y otros factores de riesgo del donante. Una conferencia de consenso celebrada en 2017 identificó la HVI como uno de los factores de riesgo más importantes a tener en cuenta al evaluar los órganos de donantes, y aproximadamente la mitad de los participantes afirmaron que un órgano con HVI superior a 1,3 cm se consideraría inaceptable (40). Las guías de la ISHLT de 2022 para el cuidado de los receptores de TC (41) establecen que el uso de órganos procedentes de donantes con tabique del VI o pared posterior del VI > 13 mm deben utilizarse con precaución, especialmente junto con otras características de alto riesgo como edad  $\geq$  55 años y un tiempo de isquemia > 4 horas.

Los corazones de donantes con alteraciones segmentarias de la contractilidad o disfunción ventricular izquierda a menudo se rechazan para trasplante. Sin embargo, los corazones de donantes con disfunción ventricular izquierda inicial suelen mostrar una recuperación funcional durante el tratamiento del donante. Se cree que este fenómeno puede deberse al aumento de catecolaminas tras la ME que puede causar una disfunción transitoria del VI y sería altamente reversible. Múltiples grandes estudios retrospectivos han demostrado que los corazones de donantes con una fracción de eyección (FE) inicial baja pueden presentar una disfunción reversible, sobre todo en el contexto de una edad más temprana o de muerte cerebral/lesión cerebral grave que provoque una miocardiopatía neurogénica por estrés. En caso de ME, las recomendaciones para el manejo del donante incluyen la sustitución hormonal, la optimización de las condiciones de precarga y poscarga cardíacas (diuréticos, vasopresores) y la repleción de catecolaminas (inótrópos). Se han utilizado corazones de donantes con FE inicial baja que mejoran sin diferencias significativas en la supervivencia a corto y largo

plazo en comparación con donantes con FE inicial normal  $\geq 55\%$ . La función sistólica de estos corazones de donantes puede seguir mejorando tras el trasplante. Así pues, los corazones de donantes con FE inicial baja que mejoran con un tratamiento adecuado del donante deben considerarse para el trasplante (41).

#### 1.1.4. Dispositivos de mantenimiento y transporte de órganos para trasplante diferido

El transporte de los órganos del donante es uno de los pasos finales en el proceso de donación. Durante el transporte de los órganos se producen lesiones isquémicas.

Los sistemas de almacenamiento en frío ralentizan el proceso de lesión isquémica (42). Los sistemas tradicionales de almacenamiento en frío pueden provocar un enfriamiento desigual y lesiones por congelación en el corazón del donante. Existen sistemas de transporte que mantienen una refrigeración uniforme del corazón del donante. La obtención cardíaca con este tipo de sistemas consiste en llenar el recipiente del órgano con solución de conservación en frío. El corazón del donante se perfunde con la solución estándar y a continuación se procede a la obtención. A continuación, el corazón obtenido se ancla en el contenedor de órganos y el contenedor de órganos se coloca dentro de un contenedor exterior, que está rodeado de bolsas de hielo. El sistema contiene un sensor de temperatura y las bolsas de hielo mantienen una temperatura constante de 4 a 8 °C. Hay estudios realizados con estos dispositivos que sugieren que su uso podría reducir el riesgo de FPI al optimizar la temperatura durante el transporte, consiguiendo transferir corazones de donantes con un tiempo de transporte de 3 horas y 25 min y un tiempo total de isquemia de 5 horas y 12 min sin disfunción del órgano (29).

Se han desarrollado técnicas de preservación de órganos que permiten la perfusión cardíaca *ex vivo* con el fin de preservar la función de los órganos del donante y ampliar la reserva de donantes al permitir la obtención desde distancias más largas. Se han descrito diferentes métodos de perfusión cardíaca *ex vivo*, incluida la perfusión *ex vivo* normotérmica e hipotérmica. Existen dispositivos, derivados de modelos experimentales, que permiten infundir sangre caliente en un circuito cerrado en que el injerto cardíaco mantiene el latido y perfunde el circuito coronario. Las ventajas teóricas son numerosas: se evitan las alteraciones

miocárdicas asociadas a la asistolia y la necesidad de enfriar el injerto, permiten monitorizar, e incluso corregir, parámetros bioquímicos que reflejan el metabolismo miocárdico, permiten realizar coronariografías y, lo más importante, facilitan la extensión del tiempo entre el explante del injerto y su implante en el receptor sin aumentar el riesgo de FPI, lo que permite extracciones a largas distancias. Las pruebas actuales sugieren que la preservación con máquinas de perfusión *ex situ* aseguran el suministro de oxígeno y protegen mejor a los cardiomiocitos, conservan las reservas celulares de adenosín trifosfato (ATP) y mantienen mejor las condiciones de la membrana. Además, la perfusión continua evita la acumulación de metabolitos tóxicos (como el lactato y la adenosina) que pueden contribuir a una función ventricular deficiente o servir de sustrato para la generación de radicales libres durante la reperfusión del órgano.

En la actualidad, sólo hay un dispositivo disponible para uso clínico, que es el *Transmedic Organ Care System (OCS) Heart*. Este sistema utiliza una combinación de sangre del donante y una solución patentada para perfundir el corazón en hipotermia leve (34 °C). La ventaja de la perfusión normotérmica es su capacidad para reanimar el corazón y permitir al clínico realizar una evaluación funcional del corazón del donante. Aparte del *Transmedic OCS Heart™* que se utiliza de forma clínica actualmente, se han probado otros cuatro dispositivos de perfusión cardiaca en estudios con animales con buenos resultados. Los cuatro dispositivos utilizan perfusión mecánica hipotérmica a 4 °C (43).

El uso de dispositivos de perfusión *ex situ* en la obtención de corazones de donantes se limita actualmente a unos pocos centros de Estados Unidos y Europa. Se calcula que el uso de la tecnología de estas máquinas ha permitido un aumento del 15-20% en el volumen de trasplantes al utilizar corazones que de otro modo serían rechazados (43). Su elevado coste, la complejidad añadida que supone su uso y lo moderado de sus beneficios en los datos publicados (en el mejor de los casos, permitirían aumentar los tiempos de isquemia en 2-3 horas) han hecho que, hasta el momento, estos dispositivos no hayan supuesto una solución real para paliar el problema de la escasez de donantes.

## 1.2. El proceso de donación cardíaca

El primer paso para iniciar el proceso de donación cardíaca es la selección y valoración del potencial donante. La evaluación y validación del corazón donante para TC se establece en varias fases sucesivas. La primera fase se lleva a cabo por el equipo coordinador de trasplantes del hospital donde se encuentra el potencial donante, y consiste en averiguar datos sobre la causa y el diagnóstico de la muerte, superficie corporal del donante, peso, tamaño y diámetros del tórax, grupo sanguíneo, antecedentes infecciosos u oncológicos que puedan contraindicar el trasplante, datos analíticos de laboratorio, hematológicos y gasométricos, evolución clínica y hemodinámica del donante, y el tipo y dosis de soporte vasoactivo. La segunda fase consiste en la valoración cardiorrespiratoria y hemodinámica del donante. Se debe descartar la existencia de traumatismo torácico con afectación orgánica y la enfermedad estructural de los órganos intratorácicos. Durante esta fase, se debe verificar que todas las pruebas complementarias (radiografía de tórax, ECG, ecocardiografía, gasometría arterial...) se encuentran dentro de la normalidad y, en casos determinados, incluye realizar una coronariografía para verificar que la circulación coronaria sea normal. La valoración final se realiza por el equipo extractor, que confirma los datos obtenidos en las fases previas. La tercera fase llevada a cabo por el equipo extractor consiste en contrastar los datos previos proporcionados por la coordinación de trasplantes y evaluar el aspecto macroscópico del órgano. En este momento se valora la morfología, el tamaño y la motilidad cardíaca, así como la palpación de las arterias coronarias y la contracción de los ventrículos.

La viabilidad postrasplante de los órganos depende del manejo adecuado de los donantes en ME antes de la obtención del injerto. Las alteraciones de la precarga y la poscarga también contribuyen a la inestabilidad hemodinámica que se produce tras una isquemia cerebral irreversible.

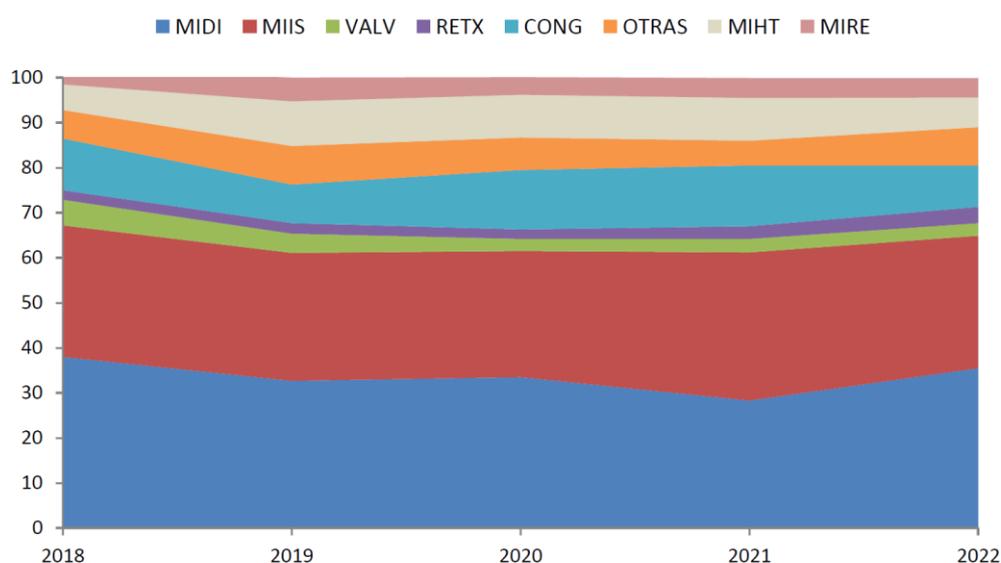
El sistema de clasificación de Maastricht se utiliza para describir cuatro categorías diferentes de donantes de DA según las circunstancias de la muerte del donante. La DA no controlada (categorías I y II de Maastricht) se refiere a los donantes que han sufrido una parada cardíaca (PCR) inesperada y una reanimación infructuosa. La DA controlada (categorías III y IV de Maastricht) se refiere a

donantes que sufren una retirada de la terapia de soporte vital (RTSV) planificada y progresión a PCR.

Cuando el corazón se considera válido para trasplante, se libera la aorta ascendente de sus adherencias al tronco de la arteria pulmonar, se disecciona la vena cava superior extrapericárdica y se separa la vena cava inferior de la reflexión pericárdica a este nivel. Al finalizar la disección de los órganos admitidos válidos como injertos para trasplante, se administra al donante una dosis de heparina sódica y se canulan la aorta y la vena cava abdominal para la infusión de las soluciones protectoras y el drenaje de los órganos abdominales que van a ser extraídos. Al mismo tiempo, se canula la aorta ascendente para infusión de la solución cardiopléjica. Una vez ocluida la aorta ascendente distal a la cánula, se inicia la infusión de la solución cardiopléjica a baja temperatura a través de la cánula insertada en la aorta ascendente. En este punto, es importante evitar la sobredistensión de las cavidades cardíacas derechas e izquierdas. Mientras se perfunde la solución cardiopléjica, el corazón se enfría de forma tópica. Una vez comprobada la parada electromecánica del corazón, la ausencia de distensión de las cavidades cardíacas y finalizada la infusión de la solución cardiopléjica, se produce la resección del corazón. Se secciona la aorta ascendente a nivel del tronco innominado y la arteria pulmonar a nivel de su bifurcación. En el caso de que no exista extracción pulmonar, las cuatro venas pulmonares se fragmentan a nivel de su entrada en el pericardio, la vena cava superior distal a la desembocadura de la vena ácigos y la vena cava inferior en su unión con la aurícula derecha. Es importante también seccionar el tronco de la arteria pulmonar antes de la bifurcación para poder disponer de los dos troncos arteriales principales independientes para cada pulmón. La cirugía de banco para preparar el injerto cardíaco puede hacerse en el mismo momento de la extracción o momentos antes del implante. El tipo de preparación va a depender de la técnica de implante.

La indicación del TC se realiza en pacientes con IC en situación terminal, pobre calidad de vida con una grave incapacidad física al esfuerzo, riesgo de muerte súbita, sin otras alternativas de tratamiento médico y/o quirúrgico, sin otras enfermedades asociadas que contraindiquen o limiten la práctica de este procedimiento y con una expectativa de vida inferior a un año. En la Figura 6 aparecen las indicaciones de TC

más frecuentes y su evolución en España a lo largo de los últimos años. Se consideran indicaciones absolutas de TC el shock cardiogénico refractario y aquellas situaciones en clase IV de la *New York Heart Association* (NYHA) con bajo gasto mantenido que precisan soporte inotrópico y/o mecánico. Otras indicaciones aceptadas son: la angina refractaria con disfunción ventricular izquierda no susceptible de ser tratada de forma percutánea ni quirúrgica y las arritmias malignas no tratables con fármacos ni con desfibrilador implantable (44).



\* **MIIS:** incluye Miocardiopatía dilatada isquémica y Enfermedad coronaria. **CONG:** Cardiopatía congénita. **MIDI:** Miocardiopatía dilatada. **MIHT:** Miocardiopatía hipertrófica. **MIRE:** Miocardiopatía restrictiva. **RETX:** Retrasplante agudo o crónico. **VALV:** Valvulopatía. **OTRAS:** Displasia arritmogénica, Enfermedades metabólicas, Endocarditis, Sdr. De Eisenmenger, Enfermedad/Insuf. Renal Crónica (ERC/IRC).

Figura 6. **Evolución de las indicaciones de inclusión en lista para trasplante cardiaco (%) en España desde 2018 a 2022.** Fuente: Memoria de actividad donación y trasplante cardiaco en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (4).

Los recientes avances en el tratamiento médico de la IC (fármacos, dispositivos de resincronización, desfibriladores implantables, etc.) han producido importantes mejoras en cuanto a la supervivencia de estos pacientes y mejora en la calidad de vida.

Las contraindicaciones para el trasplante cardíaco son cada día más escasas, por ello se prefiere hablar de condiciones que aumentan la morbimortalidad

postrasplante y que solas o combinadas pueden hacer desestimable el trasplante, con tendencia actualmente a individualizar caso por caso. En la Tabla 2 pueden observarse las contraindicaciones al TC según su grado de recomendación.

Contraindicaciones absolutas	Contraindicaciones relativas
Enfermedad sistémica con una esperanza de vida <2 años a pesar del trasplante cardíaco.	Diabetes mellitus con mal control glucémico o afección orgánica (distinta de retinopatía).
<b>Hipertensión arterial pulmonar irreversible.</b>	Edad >70 años.
Enfermedad multisistémica con disfunción grave de órganos extracardíacos	Obesidad (IMC >35 kg/m <sup>2</sup> ).
Enfermedad cerebrovascular sintomática clínicamente grave.	Disfunción renal irreversible (contraindicación relativa para el trasplante cardíaco aislado).
<b>Alto riesgo de incumplimiento terapéutico por motivos psiquiátricos o psicosociales.</b>	Neoplasias malignas con posibilidades de recidiva. Infección activa no controlada.
Consumo abusivo y activo de tabaco, alcohol, cocaína u otras drogas.	Embolia pulmonar aguda (en las últimas 6-8 semanas).
	Consumo de tabaco (en los últimos 6 meses).
	Abuso reciente de sustancias (drogas o alcohol).
	Apoyo social inadecuado o discapacidad cognitivo-conductual que impida un cuidado adecuado.
	Otras afecciones que aumenten el riesgo de complicaciones perioperatorias o limiten la tolerancia a la inmunosupresión (por ejemplo, enfermedad vascular periférica que limite la rehabilitación y no sea susceptible de revascularización).
	Fragilidad.

Tabla 2. Contraindicaciones absolutas y relativas para trasplante cardíaco.

La edad del receptor para el trasplante cardíaco es un criterio controvertido. Según el registro de ISHLT, se han efectuado trasplantes cardíacos desde la edad perinatal hasta los 77 años, con una edad media de 50,7 años. En el límite superior

de edad (65-70 años), se ha demostrado que la incidencia de rechazo parece ser menor al resto (se sospecha que por una posible menor reactivación del sistema inmunitario), la morbilidad postoperatoria es significativamente mayor y el grado de recuperación funcional es inferior al de los pacientes más jóvenes.

La técnica quirúrgica descrita por Shumway y Lower para el implante del corazón en el TC se conoce por los cirujanos cardíacos como “técnica clásica o de sutura biauricular”. Consiste en la anastomosis de las dos aurículas por separado (izquierda y derecha) entre el receptor y el donante, y de las arterias (aorta y pulmonar) entre el receptor y el donante. La técnica más frecuente hoy en día fue introducida por Sarsam en 1993, que intentó aunar los beneficios de la técnica de sutura biauricular de Shumway y Lower y la llamada técnica de “trasplante cardíaco total” de mayor complejidad técnica, introducida por Yacoub en Inglaterra y Dreyfus en Francia unos años antes. La técnica “bicava” presentada por Sarsam aparece como procedimiento intermedio y supone una alternativa que pretende preservar mejor la morfología y fisiología de la aurícula izquierda, dejando la aurícula derecha del donante intacta. Esta técnica, dado que preserva mejor la fisiología auricular, podría ayudar a mejorar el gasto cardíaco y la situación clínica y funcional del paciente. El implante ortotópico con técnica bicava consiste en anastomosar las dos venas cavas de forma independiente preservando la anatomía y la función de la aurícula derecha, el resto de las anastomosis se efectúan según la técnica clásica (44).

### 1.2.1. Rechazo y tratamiento inmunosupresor

El rechazo del corazón trasplantado es la respuesta natural del injerto frente al huésped. La detección de antígenos extraños del corazón del donante trasplantado desencadena la respuesta inmune del receptor, que lesiona los miocitos y las células endoteliales de los vasos, cuyo diagnóstico en la fase aguda puede realizarse a través de la biopsia endomiocárdica.

Tanto el rechazo microvascular hiperagudo como el rechazo celular precoz desempeñan un papel en el fallo agudo del injerto cardíaco. El rechazo hiperagudo se define como la disfunción inmediata del aloinjerto trasplantado poco después de la reperfusión con sangre del receptor (usualmente minutos después de la

reperfusión). Es relativamente poco frecuente, con una incidencia entre el 2% y el 12% de todas las muertes por FPI (45). Se debe a anticuerpos preformados contra antígenos del sistema HLA del donante ABO (por incompatibilidad del grupo sanguíneo) o contra antígenos endoteliales. Esto resulta en daño endotelial, edema intersticial, hemorragia e isquemia y/o necrosis miocárdica. En la histopatología se han observado zonas de hemorragias miocárdicas amplias, marginación de polimorfonucleares intravasculares y microtrombosis vasculares.

A diferencia del rechazo hiperagudo, el rechazo celular agudo es mucho más frecuente. Casi el 50% de los receptores de TC experimentan al menos un episodio de rechazo celular agudo en los primeros meses tras el trasplante. Aunque la gravedad es variable, el rechazo celular grave puede conducir a un fallo precoz del injerto e incluso a la muerte. Entre los factores de riesgo se encuentran la menor edad del receptor y el hecho de que los receptores y/o donantes sean mujeres. La anatomía patológica se caracteriza por la presencia de infiltrados linfocitarios, polinucleares, edema de los miocitos y necrosis de los mismos; cuando aumenta la gravedad de la lesión se produce eosinofilia, vasculitis y hemorragias en el foco de lesión (véase Tabla 3). La gran mayoría de este tipo de rechazo es clínicamente asintomático y el diagnóstico se establece mediante biopsia endomiocárdica.

Grado	Severidad	Hallazgos histológicos
<b>0</b>	Ninguno	Normal.
<b>1R</b>	Leve	Infiltrado intersticial y/o perimiocítico con un solo foco de daño de miocitos.
<b>2R</b>	Moderado	Dos o más focos de infiltrado inflamatorio con daño de miocitos.
<b>3R</b>	Grave	Infiltrados inflamatorios difusos con múltiples focos de daño de miocitos, edema, hemorragia y vasculitis

Tabla 3. Esquema de Gradación del Rechazo Celular Agudo según la Sociedad Internacional de Trasplante de Corazón y Pulmón (ISHLT por sus siglas en inglés) - 2004.

Existe un rechazo agudo mediado por anticuerpos o rechazo humoral. El diagnóstico de sospecha es clínico y está condicionado por síntomas y signos de disfunción del injerto sin evidencia de rechazo celular significativo en la biopsia. El diagnóstico se establece mediante la infiltración de células mononucleares y macrófagos cargadas de lípidos en los vasos respetando por lo general la lámina elástica interna y con escasa o nula calcificación. Es generalmente difusa y afecta a los vasos arteriales y venosos, epicárdicos, intramiocárdicos y capilares (véase Tabla 4).

Grado	Hallazgos inmuno-histológicos
0 = sin hallazgos inmuno-histológicos de rechazo humoral.	<b>Histología:</b> grandes núcleos endoteliales, acumulación de macrófagos en el lumen vascular, edema, necrosis, fragmentación capilar.
1 = hallazgos inmunológicos o histológicos de rechazo humoral.	<b>Inmunopatología:</b> C4d, CD68, CD3, pan-célula B CD20, CD31/34, proteínas del complemento.
2 = hallazgos histológicos e inmunológicos sin datos de rechazo humoral grave ("patológico").	
3 = hallazgos histológicos e inmunológicos con rechazo humoral grave ("patología grave").	

Tabla 4. **Esquema de Gradación del Rechazo agudo mediado por anticuerpos o rechazo humoral.** La histopatología del rechazo agudo mediado por anticuerpos implica hallazgos histológicos e inmunopatológicos. Incluye la presencia de anticuerpos anti-células endoteliales del donante, anti-HLA, etc. Conlleva un peor pronóstico que el rechazo celular.

El rechazo crónico se conoce como vasculopatía del injerto cardíaco o enfermedad vascular del injerto (EVI). Es la complicación tardía más importante en el TC, ya que habitualmente conduce a un desenlace fatal o a la necesidad de retrasplante. Se caracteriza por un rápido y progresivo estrechamiento concéntrico y difuso de las arterias coronarias del corazón trasplantado. La patogénesis de la EVI es compleja e implica procesos aloinmunes y no inmunes, aunque lo que parece que es claro es que ambos, los factores de riesgo tanto de los donantes como de los receptores, predisponen al desarrollo de la enfermedad. El diagnóstico se realiza mediante coronariografía y especialmente con ecografía intracoronaria (ultrasonido intravascular [IVUS]). El engrosamiento máximo de la íntima durante

el primer año postrasplante valorado mediante IVUS ha demostrado ser un predictor del pronóstico a largo plazo.

Una vez establecida la enfermedad, el único tratamiento efectivo hasta hace pocos años era el retrasplante, tratamiento con alta mortalidad y reservado para pacientes muy seleccionados. Desgraciadamente, en las dos últimas décadas se ha avanzado poco o nada en el tratamiento de la EVI y en los últimos tiempos los objetivos van encaminados a desarrollar estrategias que prevengan o retrasen el desarrollo de la EVI. A principios de siglo, se vio que las estatinas y los inhibidores de la señal de proliferación prevenían el desarrollo de EVI, y han sido ampliamente adoptados en la práctica clínica. Sin embargo, desde entonces no se han producido avances importantes en el tratamiento farmacológico de la EVI. El uso precoz de ramipril, un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, pareció mejorar la función microvascular de las arterias coronarias, pero no redujo el volumen de la placa coronaria en un estudio unicéntrico (46). Más recientemente, el rituximab, un anticuerpo monoclonal que se une al antígeno CD20 en la superficie de los linfocitos B, causó inesperadamente un aumento del volumen de la placa coronaria en un ensayo clínico multicéntrico (47).

El objetivo de la inmunosupresión es prevenir o tratar el rechazo del aloinjerto cardíaco minimizando al mismo tiempo las toxicidades de los fármacos y tratando de afectar lo menos posible a la capacidad de defensa del receptor frente a las infecciones y las neoplasias. La terapia inmunosupresora tiene tres objetivos: la inducción citolítica, el mantenimiento y el tratamiento de los episodios de rechazo. La mayoría de los regímenes inmunosupresores utilizados clínicamente consisten en una combinación de varios agentes utilizados simultáneamente y el diseño del régimen sigue varios principios generales. Los regímenes inmunosupresores pueden clasificarse como de inducción, mantenimiento o antirrechazo. Los regímenes de inducción proporcionan una inmunosupresión intensa y precoz durante el postoperatorio, mientras que los regímenes de mantenimiento se utilizan durante toda la vida del paciente para prevenir el rechazo tanto agudo como crónico. La utilización de uno u otro fármaco dentro de cada combinación depende del perfil clínico de cada paciente, teniendo en cuenta los efectos adversos y la capacidad de prevenir episodios de rechazo.

### 1.2.2. Disfunción primaria del injerto

La disfunción primaria del injerto (DPI) es una de las principales causas de morbimortalidad precoz postrasplante tras un TC (48). Se considera que puede llegar a ser responsable del 40% de la mortalidad en el primer mes post-TC. Como consecuencia de las investigaciones unicéntricas llevadas a cabo antes de un consenso científico acerca de la definición de esta patología, la incidencia del DPI oscilaba entre el 2,3% y el 28,2% (48). Esta considerable heterogeneidad dificultó determinar y evaluar con precisión los factores de riesgo asociados a la DPI y los predictores de resultados tempranos y tardíos. Durante la conferencia de consenso sobre la DPI tras TC en la 33ª reunión anual de la Sociedad Internacional de Trasplante de Corazón y Pulmón (*ISHLT* por sus siglas en inglés) en abril de 2013, se estableció la definición de DPI como la disfunción ventricular izquierda, derecha o biventricular que se produce dentro de las 24 horas posteriores a la cirugía del trasplante, no atribuible a otra causa distinguible como rechazo hiperagudo, hipertensión pulmonar o hemorragia intraoperatoria grave. La DPI del VI se subdivide a su vez en leve, moderada y grave según el nivel de soporte circulatorio inotrópico o mecánico que precise. Algunos factores de riesgo de DPI incluyen tiempos totales de isquemia prolongados, donantes añosos y los trasplantes procedentes de donantes mujeres a receptores hombres (48). Hay controversia con respecto al uso de amiodarona pretrasplante por una posible asociación con el desarrollo posterior de DPI.

A pesar de los grandes avances logrados en este campo, los pacientes trasplantados presentan riesgo de disfunción aguda del injerto, una de las principales causas de mortalidad precoz y tardía. Las causas más frecuentes de fallo del aloinjerto en pacientes trasplantados de órganos intratorácicos incluyen la DPI secundaria a una preservación inadecuada de corazón o los pulmones durante su almacenamiento en frío, el rechazo celular y diversos factores relacionados con el donante y el receptor. Durante el almacenamiento en frío y la reperfusión temprana, los aloinjertos de corazón son vulnerables a la sobrecarga de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) intracelular, la acidosis, la inflamación celular, las lesiones mediadas por especies reactivas de oxígeno (ERO) y la respuesta inflamatoria (45). La conservación del corazón para trasplantes se limita a 4-6 horas de almacenamiento isquémico en frío

y la preservación efectiva de los pulmones se ha descrito hasta en 10-12 horas. Es conocido que períodos de isquemia más prolongados afectan negativamente a la supervivencia del injerto y del paciente. En contraposición, el hígado, el riñón y el páncreas se han conservado con seguridad hasta 24-36 horas, aunque este hecho ha ido asociado a una disfunción transitoria del injerto. Estas mejoras en la preservación de órganos se deben, en parte, al desarrollo de nuevas soluciones de conservación. El éxito de los trasplantes también se ha visto favorecido por mejoras en la inmunosupresión, como el uso de distintas combinaciones de fármacos existentes para tratar el rechazo refractario y la introducción del micofenolato mofetil en la década de los noventa.

En un estudio realizado por Smith et al. en la Universidad de Pittsburg (48) en el que participaron 448 pacientes trasplantados cardíacos, se identificó como principal factor de riesgo de desarrollar DPI un mayor tiempo de isquemia. No se encontraron diferencias significativas con respecto a la edad, el sexo, la raza, el IMC o los antecedentes de dispositivos de soporte circulatorio mecánicos previos al trasplante entre los receptores con DPI frente a aquellos que no desarrollaron DPI. Tampoco hubo diferencias significativas con respecto al peso, la predicción de la masa cardíaca o la discordancia de sexos entre receptor y donante a la hora de desarrollar DPI, aunque sí se encontró una tendencia a la significación en los receptores con antecedente de diabetes y en la incompatibilidad de sexo entre donante femenino y receptor masculino. La incompatibilidad de sexo entre donante femenino y receptor masculino (y no a la inversa) se considera un factor de riesgo de DPI clásico (previo al consenso de la ISHLT). Un estudio que incluyó 18.240 trasplantes ortotópicos de corazón entre 1999 y 2007 usando datos de la UNOS determinó que los pacientes varones recibiendo órganos procedentes de donantes de sexo no coincidente presentaban una supervivencia significativamente menor, mientras que no ocurría lo mismo con las mujeres receptoras (49). Algunas explicaciones que se han dado a este fenómeno han sido las posibles diferencias inmunológicas (influencias hormonales en la respuesta inmunológica) derivadas del trasplante entre diferentes sexos, o a la creciente atención prestada a la coincidencia en el tamaño del donante y el receptor, reconociendo que los resultados inferiores observados en los trasplantes entre diferente sexo pueden deberse a diferencias en

el tamaño del corazón. De hecho, los trasplantes de donante femenina a receptor masculino suelen infraestimarse y ser de tamaño inferior a lo esperado, en función de la masa cardíaca prevista, lo que puede explicar en parte el aumento de mortalidad subsiguiente (8).

Sin embargo, el tiempo total de isquemia del órgano observado en el estudio de Smith et al. (48) difirió en aproximadamente 14 minutos (min) de media entre los grupos con y sin DPI. En la regresión logística, tratando el tiempo de isquemia como una variable continua, cada aumento de 10 min en el tiempo de isquemia se asoció con un aumento del 5% en las probabilidades de desarrollar DPI tras el ajuste por edad. La mortalidad fue mayor en aquellos pacientes que desarrollaron DPI, falleciendo el 32,4% durante la hospitalización inicial, frente a solo un 4,0% de los pacientes que no desarrollaron DPI (48).

### 1.2.3. Fisiopatología de la Disfunción primaria del injerto

La lesión miocárdica del corazón del donante puede producirse tan pronto como al inicio de la muerte cerebral irreversible o tan tarde como al inicio de la reperfusión. El corazón donante es susceptible a una serie de daños durante el proceso de trasplante (ME y sus consecuencias en el donante, tiempo de isquemia fría durante el transporte, isquemia caliente durante la cirugía de implante, y finalmente, el daño por reperfusión tras la retirada del clamp aórtico en el receptor). Además, existen factores sistémicos en el receptor que crean un “ambiente hostil” que puede comprometer el funcionamiento del injerto tras la reperfusión. Por tanto, existen factores relacionados con el donante, con el procedimiento y con el receptor que contribuyen al desarrollo del DPI.

La causa más frecuente de disfunción aguda del aloinjerto en el postoperatorio es el aturdimiento miocárdico secundario a una protección miocárdica inadecuada (45). Es un fenómeno frecuente y a veces letal, pero potencialmente reversible. Los principales mecanismos implicados en la etiología de este aturdimiento miocárdico son la sobrecarga de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular y el estrés oxidativo inducido por las ERO generadas durante la reperfusión temprana. La recuperación de esta disfunción postisquémica puede tardar hasta 7-10 días, dependiendo de la gravedad y la duración de la lesión isquémica.

El proceso de ME en el donante va asociado a una serie de eventos que resultan en un empeoramiento de la función contráctil del miocardio y que sensibilizan al corazón al daño por isquemia-reperfusión. Uno de ellos es la liberación miocárdica de catecolaminas inmediatamente tras la ME que provoca una sobrecarga de  $\text{Ca}^{2+}$  en el citosol y en la mitocondria (50). Dependiendo de su severidad, la sobrecarga de  $\text{Ca}^{2+}$  mitocondrial puede activar la autofagia, apoptosis o necrosis (51). La sobrecarga de  $\text{Ca}^{2+}$  de las proteínas contráctiles produce contracción y se asocia a una imagen histológica típica conocida como “contracción en bandas de necrosis” (52)(45)(53). La administración de catecolaminas exógenas durante la resucitación del donante puede contribuir a la desensibilización de la señal del receptor  $\beta$ -mitocondrial tras la muerte cerebral y a la activación de múltiples mediadores proinflamatorios, incluido el complemento (54)(55)(56). El deterioro del rendimiento miocárdico tras la muerte cerebral está asociado a la desensibilización de los receptores beta del sistema de transducción de señales miocárdico.

Está descrito un descenso de los niveles séricos de varias hormonas, como la triyodotironina, cortisol (este tras un ascenso transitorio) y de la insulina, lo que podría contribuir a la depresión de la contractilidad miocárdica (57). Existe una gran variabilidad en cuanto a la tolerancia de los corazones donantes al proceso de isquemia fría y caliente que es inevitable en el proceso de trasplante. Los corazones de donantes añosos son especialmente susceptibles al daño por isquemia (58). Esto puede deberse en parte a enfermedad coronaria no conocida o a hipertrofia del ventrículo izquierdo (VI) en aquellos donantes con historia de hipertensión arterial (37). Sin ser menos importante, existe un fallo de los mecanismos cardioprotectores relacionados con la edad como el pre y el post-condicionamiento isquémico (59). La restauración de estos mecanismos cardioprotectores endógenos mediante fármacos que activen directamente las vías de activación o sus dianas sería una estrategia atractiva para mitigar el efecto de la isquemia en estos corazones añosos.

La mayoría de los corazones donados se almacenan en una solución de preservación fría y son transportados en hielo. El almacenamiento en hipotermia consigue enlentecer, sin parar completamente, el metabolismo celular. Aunque la hipotermia y el almacenamiento isquémico en frío son los principios básicos de la preservación de órganos y el retraso de la muerte celular, activan ciertos procesos

que pueden ser deletéreos para el órgano preservado. Entre ellos se incluyen: hinchazón celular, edema extracelular, acidosis celular, agotamiento del sustrato metabólico, lesión por reperfusión, sobrecarga de  $\text{Ca}^{2+}$  y lesión endotelial. La actividad enzimática de enzimas mitocondriales también se reduce y puede causar una disminución de los niveles de ATP mitocondrial. Esta disminución de los fosfatos de alta energía puede comprometer la capacidad de la célula y de sus elementos subcelulares para mantener una homeostasis iónica normal y puede provocar una DPI.

Consecuentemente, el daño por isquemia progresivo es una consecuencia inevitable del almacenamiento prolongado. Además, la pérdida del normal metabolismo aerobio paraliza la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa de membrana, lo que conlleva un aumento del volumen de agua intracelular y el paso al metabolismo anaerobio durante el almacenamiento en hipotermia, produciéndose un rápido descenso de los fosfatos de alta energía y el desarrollo de acidosis láctica (60).

La acidosis intracelular activa la bomba  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  la cual intercambia iones hidrógeno ( $\text{H}^+$ ) por sodio ( $\text{Na}^+$ ) a través de la membrana celular (61). El aumento del  $\text{Na}^+$  en la célula provoca el aumento del intercambio  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  con el consiguiente acúmulo de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular.

La reperfusión con sangre oxigenada provoca aún más sobrecarga de  $\text{Ca}^{2+}$  y la aparición de ERO que interfieren en la función de múltiples enzimas intracelulares (62).

Esta combinación de sobrecarga de  $\text{Ca}^{2+}$  con el estrés oxidativo activa la formación de poros de transición de permeabilidad mitocondrial (MTP), un canal no específico que se forma en la membrana mitocondrial y permite la liberación al citoplasma celular de factores proapoptóticos como el Citocromo C (63).

El agua que entra a la célula a través de los MTP causa hinchazón mitocondrial y puede llevar a la rotura de la membrana, provocando la muerte celular por necrosis. Las drogas que inhiben la formación de los MTP, como la ciclosporina, han mostrado reducir el daño por reperfusión y suponen un potencial tratamiento para mitigar el daño por isquemia-reperfusión en el contexto del TC (63)(64).

### 1.3. El donante en asistolia controlada (tipo III de Maastricht)

La DA describe la obtención de órganos de donantes que han sido declarados muertos según criterios circulatorios. En los primeros programas de trasplantes se utilizaron órganos procedentes de donantes con DA controlada (DAC), incluidos los primeros TC realizados por Christiaan Barnard (65); sin embargo, esta práctica se abandonó en gran medida tras la aceptación de los criterios de ME.

En los primeros años del trasplante clínico, los riñones se obtenían bien de donantes vivos, bien de donantes en asistolia (66) que en terminología anglosajona se han denominado “*Non Heart Beating Donors, Donors after Cardiac Death*” o, más recientemente y por consideraciones relativas al diagnóstico del fallecimiento, “*Donors after the Circulatory Determination of Death, Donors after Circulatory Death (DCD)*”. Más tarde, la amplia aceptación del concepto y los criterios para el diagnóstico de la ME hicieron que la donación tras el fallecimiento en estas circunstancias reemplazara casi totalmente a la DA. Sin embargo, la escasez de órganos para trasplante y los resultados cada vez más prometedores con el trasplante de órganos procedentes de estos donantes, que parecían ya olvidados, han hecho que se renueve el interés por la DA. Este interés ha determinado el desarrollo de numerosas conferencias de consenso y guías de actuación que han tratado de hacer frente a las cuestiones técnicas, éticas y legales inherentes a este tipo de donación y que varían a su vez dependiendo de la clase de DA considerada (67)(68)(69)(70)(71).

Los órganos sólidos destinados para trasplante pueden proceder pues, de donantes fallecidos por ME o de aquellos fallecidos tras PCR.

Si nos referimos al ámbito nacional, en el último Documento de Consenso emitido por la Organización Nacional de Trasplantes (ONT) (72) en el año 2012 se establece que “... *siendo la nomenclatura en el ámbito internacional aún no homogénea, se ha optado por no formalizar un cambio en la denominación de este tipo de donación por el momento, si bien reconociendo la posibilidad futura de dicho cambio. En el presente documento se utiliza el término ‘Donación en Asistolia’, por ser el más integrado en nuestra jerga y literatura*”. Nos referiremos por tanto de aquí en adelante a este tipo de donación, como donación en asistolia (DA).

El diagnóstico de muerte constituye una fase crítica dentro del proceso de donación, donde el rigor profesional, el respeto por los principios éticos fundamentales y la transparencia, han de estar garantizados.

El diagnóstico de muerte a efectos de la donación se encuentra regulado en nuestro país por el Real Decreto 2070/1999, del 30 de diciembre, por el que se regulan las actividades de obtención y utilización clínica de órganos humanos y la coordinación territorial en materia de donación y trasplante de órganos y tejidos. De acuerdo con nuestra legislación, el fallecimiento de una persona puede diagnosticarse por medio de la confirmación del cese irreversible de las funciones cardiorrespiratorias (muerte por PCR) o del cese irreversible de las funciones encefálicas (ME). A la hora de diagnosticar la muerte por criterios cardiorrespiratorios, es importante determinar qué se entiende por pérdida irreversible y cómo se constata el cese de la función cardiorrespiratoria.

Con respecto a la irreversibilidad del proceso, es importante establecer una diferenciación entre la DA no controlada y la controlada. En el ámbito de la DA no controlada, la irreversibilidad viene determinada por la imposibilidad de restaurar la función cardiorrespiratoria tras la aplicación de maniobras de reanimación cardiopulmonar (RCP) avanzada durante un tiempo determinado y atendiendo a las pautas establecidas en los protocolos de actuación desarrollados por las sociedades profesionales competentes. La condición de irreversibilidad también exige respetar un periodo de observación sin maniobras de cardio-compresión y ventilación mecánica durante el cual se constate el cese de la función cardiorrespiratoria, que en nuestro país se encuentra estipulado en 5 min.

Con respecto a la determinación del cese irreversible de la función cardiorrespiratoria en el seno de la DAC, es exigible un tiempo de observación tras el cese de la misma lo suficientemente prolongado como para asegurar que no puede producirse el fenómeno de autorresucitación (AR). Aunque los datos disponibles son todavía limitados, las series indican que no se han producido casos de AR (sin RCP previa) después de 65 segundos (s) del cese de la función circulatoria tras la RTSV (73). Recientemente se ha llevado a cabo un estudio prospectivo colaborativo internacional en Canadá, Reino Unido y la República Checa para describir los

resultados tras la decisión de practicar o no RCP: En 69 de 480 pacientes (14%) se observó un retorno de la circulación sin asistencia (definido por una presión de pulso única  $\geq 5$  mmHg) hasta 4 min y 20 s después de la observación de la asistolia (74). No se observó circulación en ninguno más allá de 5 min y todos los pacientes fallecieron.

La presencia de un latido cardiaco en un plazo de 60 s que dé lugar a una presión de pulso  $> 5$  mmHg es un criterio propuesto para determinar la reanudación de la circulación que puede utilizarse para definir la AR tras una PCR en la DAC; sin embargo, este criterio es un sustituto de la circulación que no mide realmente si se está produciendo circulación o perfusión cerebral. Si la circulación se restablece de acuerdo con esta definición durante el periodo de observación, éste debe reanudarse.

Dado que la AR puede producirse dentro de los 5 primeros min tras la PCR (74), este periodo de observación no debe ser menor de 5 min. En la DAC, la muerte puede declararse tras un periodo de observación de 5 min sin circulación, lo que confirma que la ausencia de circulación es permanente. Sustentado en el razonamiento anteriormente expuesto, la mayoría de países siguen exigiendo periodos de observación acordes, aunque no superiores a 5 min (con la excepción de Italia) (75)(76). En el caso de nuestro país, el RD 2070/1999 no diferencia específicamente entre la DA controlada y la no controlada, por lo que, en la actualidad en España, el periodo de observación a aplicar en ambas se establece en los 5 min antes mencionados.

La determinación del cese de la función cardiaca debe sustituirse conceptualmente por la del cese de la función circulatoria. Es la ausencia de contractilidad cardiaca efectiva la que determina el cese de la función circulatoria, pudiendo esta situación coexistir con la presencia de actividad eléctrica, que sería irrelevante para el diagnóstico si no es capaz de generar pulso. Por el contrario, si no existe actividad eléctrica cardiaca, no hay contractilidad cardiaca, por lo que la ausencia de actividad ECG es suficiente para constatar la ausencia de función circulatoria.

Cuando se utiliza la medición de la actividad cerebral para determinar la muerte, el cese de las funciones neurológicas debe ser irreversible pero la norma circulatoria exige que el cese sea permanente, pero no necesariamente irreversible. Esta diferencia existe porque la denominada ME se desarrolló como una determinación retrospectiva que atestigua una pérdida funcional en el cerebro ocurrida con anterioridad (ya sea por una lesión o en el curso clínico de los cuidados). En el momento en que se determina la muerte sobre esta base, el cese de las funciones cerebrales es claramente irreversible debido al tiempo transcurrido desde la lesión. En cambio, en el contexto de la RTSV, la determinación de muerte circulatoria se realiza en tiempo real, con la declaración de la muerte en el momento del cese permanente, que puede producirse antes de que la pérdida de las funciones cerebrales sea irreversible (77).

Tras el cese circulatorio sistémico, cuando no hay intento de reanimación y se ha excluido la posibilidad de AR (“tiempo de no tocar” establecido en 5 min en nuestro país como hemos señalado anteriormente), la muerte se define como la pérdida permanente de la capacidad de consciencia y de todas las funciones del tronco encefálico, determinada por el cese permanente de la circulación cerebral.

El diagnóstico de muerte y su posterior certificación han de preceder a la extracción de órganos. Los profesionales encargados del diagnóstico y la certificación serán médicos con cualificación o especialización adecuadas para esta finalidad, distintos de aquellos médicos que hayan de intervenir en la extracción o el trasplante, y no sujetos a las instrucciones de éstos.

Dado que la interrupción de la función cerebral es consecuencia del cese permanente del flujo sanguíneo al cerebro, los exámenes neurológicos utilizados en la donación en ME, no se realizan en la DAC.

La Clasificación de Maastricht de 1995 (modificada en Madrid en 2011) se utiliza para describir cuatro categorías diferentes de donantes tras PCR de acuerdo a las circunstancias de la muerte del mismo.

La clasificación de los donantes en asistolia adoptada en Maastricht atiende al lugar y a las circunstancias en las que se produce el cese de la función circulatoria (y

respiratoria) que precede a la constatación del fallecimiento y a la donación (67). Tales circunstancias determinan tiempos de isquemia caliente diferentes y por tanto tienen relevancia por presentar una relación potencial con la viabilidad de los órganos para trasplante y con los resultados postrasplante. La clasificación de Maastricht se describe en la Tabla 5. En resumen, se considera la existencia de cuatro categorías de donantes en asistolia. Los tipos I (fallecido a la llegada) y II (resucitación infructuosa) de Maastricht también se han denominado conjuntamente donantes en asistolia no controlados. Los tipos III (a la espera del paro cardiaco) y IV (paro cardiaco en muerte encefálica) han sido también denominados donantes en asistolia controlados y se refiere a donantes que sufren una retirada planificada de la terapia de soporte vital y progresión a PCR.

Donación en asistolia no controlada		Donación en asistolia controlada	
Tipo I: Fallecido fuera del hospital	Tipo II: Resucitación infructuosa	Tipo III: A la espera del paro cardiaco	Tipo IV: Paro cardiaco en muerte encefálica
Incluye víctimas de una muerte súbita, traumática o no, acontecida fuera del hospital que, por razones obvias, no son resucitadas.	Incluye pacientes que sufren una parada cardiaca y son sometidos a maniobras de reanimación que resultan no exitosas.	Incluye pacientes a los que se aplica adecuación del tratamiento de soporte vital* tras el acuerdo entre el equipo sanitario y éste con los familiares o representantes del paciente.	Incluye pacientes que sufren una parada cardiaca mientras se establece el diagnóstico de muerte encefálica o después de haber establecido dicho diagnóstico, pero antes de que sean llevados a quirófano. Es probable que primero se trate de restablecer la actividad cardiaca, pero, cuando no se consigue, puede modificarse el proceso al de donación en asistolia.
	<b>II.a. Extrahospitalaria</b> La parada cardiaca ocurre en el ámbito extrahospitalario y es atendida por el servicio de emergencias extrahospitalario, quien traslada al paciente al hospital con maniobras de cardio-compresión y soporte ventilatorio.		

\* Incluye la retirada de cualquier tipo de asistencia ventricular o circulatoria (incluyendo ECMO).

Tabla 5. **Clasificación de Maastricht modificada (Madrid 2011).** Categorías de donación en asistolia.

La contemplación de la donación de órganos y tejidos tras el fallecimiento debe formar parte integral de los cuidados al final de la vida. Por ello, nuestro sistema

sanitario ha de estar preparado para facilitar la donación en los casos de personas que van a fallecer tras la retirada o adecuación del tratamiento de soporte vital (término más aceptado actualmente), posibilitando la donación tipo III de Maastricht.

Se consideran potenciales donantes en asistolia tipo III aquellos pacientes, sin contraindicaciones aparentes para la donación, en los que, por su patología de ingreso y su evolución posterior, se ha decidido por parte del equipo sanitario que lo atiende conjuntamente con su familia la adecuación de la terapia de soporte vital, y en los que se espera, como ya hemos descrito anteriormente, que, tras la retirada de estas medidas, se produzca la PCR dentro de un periodo de tiempo que sea compatible con la donación de órganos. La mayoría de los potenciales donantes tipo III de Maastricht son pacientes con patología neurológica grave, con pronóstico funcional catastrófico y en los que la evolución a ME no es previsible. Otros pacientes pueden provenir de patologías médicas respiratorias y/o cardiológicas con evolución y pronóstico desfavorables, en los que las medidas terapéuticas aplicadas han resultado ineficaces. También pueden ser donantes en asistolia aquellos pacientes que reciben la prestación de ayuda para morir en base a los requisitos especificados en nuestra legislación, y que han expresado su deseo de donar órganos tras su fallecimiento.

No hay un límite de edad absoluto para la DAC, pero se tiende a ser más restrictivo que en la donación en ME. En general, se establece un límite de 65 años, aunque este límite puede reevaluarse a medida que se adquiere experiencia con este tipo de donación.

#### 1.3.1. El proceso de donación cardíaca en asistolia controlada tipo III de Maastricht

El trasplante experimental y clínico de corazones de DAC se ha restringido a donantes de la categoría III de Maastricht. Estos donantes suelen presentar una lesión neurológica irreversible, son dependientes de terapias de soporte vital avanzado, pero no cumplen los criterios formales de ME (Figura 7). Si se considera que los cuidados médicos continuados son inútiles y se toma la decisión de la RTSV, puede obtenerse el consentimiento para la donación de órganos. En este caso, se retiran las terapias de soporte vital y se proporcionan cuidados paliativos de

acuerdo con las prácticas institucionales. Se vigila al paciente para detectar la progresión a apnea y PCR, que se declara cuando ya no hay pulso en un trazado de presión arterial (asistolia mecánica). Sin embargo, algunas jurisdicciones exigen la progresión a asistolia eléctrica antes de declarar la parada circulatoria. Antes de que se declare la muerte circulatoria y se pueda proceder a la obtención de órganos, se observa un periodo de espera de al menos 5 min (que puede variar en función de los protocolos establecidos por cada país) por imperativo ético. Por lo tanto, el diagnóstico de muerte se basa en el cese de la función cardiorrespiratoria (6).

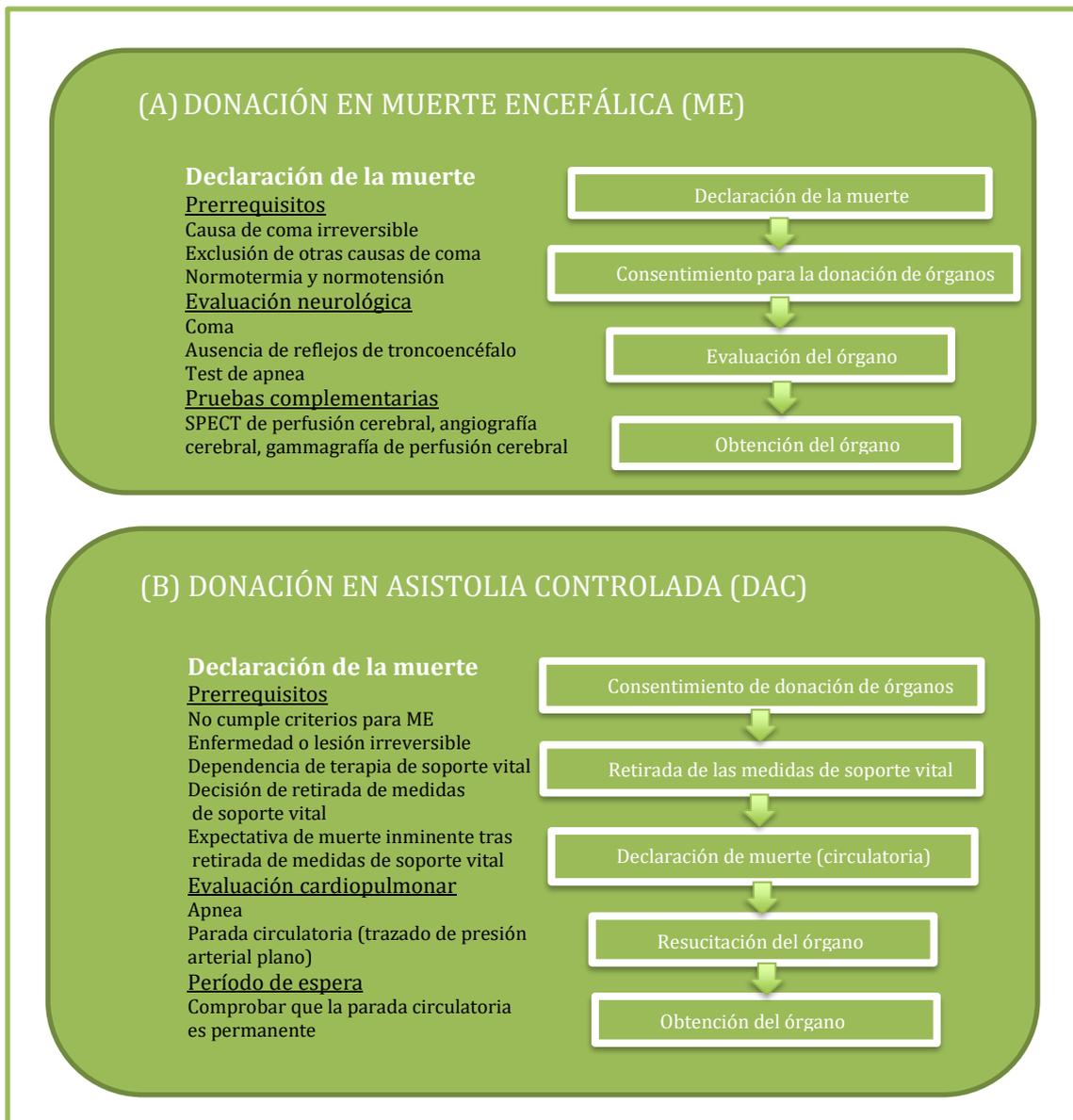


Figura 7. Vías para la donación de órganos de personas fallecidas. (A) Los pacientes que donan órganos tras una muerte encefálica tienen una función cardiorrespiratoria intacta que permite la evaluación del corazón del donante antes de la obtención del órgano. (B) Los pacientes que donan órganos tras una muerte circulatoria han sufrido una parada cardíaca hipoxémica tras la retirada del tratamiento de soporte vital y la evaluación del corazón del donante sólo puede realizarse tras la reanimación del órgano. Adaptado de *White C.W. et al/ Front Cardiovasc Med. 2018 Feb 13; 5:8 (6)*.

Los corazones donados tras muerte circulatoria experimentan un periodo de isquemia caliente durante la progresión a PCR y declaración de muerte, cuya duración es un criterio importante en la selección de corazones para trasplante. El tiempo de isquemia caliente se refiere oficialmente al tiempo transcurrido entre la PCR y la reperfusión del órgano; sin embargo, algunos donantes de la categoría III

de Maastricht mantienen un estado cardiorrespiratorio estable durante un tiempo prolongado antes de la eventual progresión a la PCR. Por lo tanto, el tiempo de isquemia caliente funcional se entiende clásicamente como el tiempo que transcurre desde que la presión arterial sistólica disminuye por debajo de 60-50 mmHg (dependiendo de los diferentes programas de trasplantes) durante al menos 2 min hasta la reperfusión del órgano. El tiempo de isquemia caliente funcional pretende proporcionar una estimación más precisa de la lesión isquémica real sufrida por los órganos del donante tras la adecuación de la terapia de soporte vital.

En un estudio español reciente, se describe la experiencia en 2020 de tres centros en los que se llevaron a cabo 4 trasplantes cardíacos procedentes de donantes en asistolia controlada por primera vez en España (78). El trasplante cardíaco en DAC se planteó en donantes locales con una edad igual o menor de 45 años, sin cardiopatía previa, en los que el equipo tratante y los representantes legales del paciente (o el paciente consciente) habían tomado la decisión de la adecuación de las medidas de soporte vital porque ya no se consideraba beneficioso para el paciente continuar con el tratamiento. Los tres hospitales españoles implicados en esta experiencia habían desarrollado protocolos de trasplante cardíaco en DAC aprobados localmente y por el Comité de Trasplantes del Sistema Nacional de Salud.

De acuerdo con el marco normativo español, se obtuvo autorización específica de los representantes legales del potencial donante para las intervenciones *ante mortem*. Estas consistieron en la administración de heparina (500 unidades/kg) y la canulación de los vasos femorales inmediatamente antes de la RTSV. La monitorización del donante consistió en un catéter Swan-Ganz. La actividad cerebral se monitorizó durante el procedimiento en todos los casos mediante el índice biespectral (BIS™) (véase la Figura 8).

La RTSV se realizó siempre en el quirófano. La PCR y los cuidados al final de la vida se llevaron a cabo siguiendo el protocolo de cada hospital por parte del médico de cuidados intensivos a cargo de la atención del paciente. La PCR se evaluó por la ausencia de una onda de pulso en la arteria femoral, y la muerte se declaró tras un periodo de 5 min sin contacto. Se practicó rápidamente una esternotomía y se abrió

el pericardio. A continuación, se pinzaron los tres vasos del arco aórtico para excluir la circulación cerebral inmediatamente antes de iniciar la perfusión toraco-abdominal normotérmica (PTAN). Simultáneamente, se intubó al donante y se inició de nuevo la ventilación mecánica invasiva utilizando una FiO<sub>2</sub> de 1, una PEEP de 5 cmH<sub>2</sub>O y un volumen corriente de 6-8 ml/Kg. Se alcanzó un objetivo de índice de flujo >3 L/min/m<sup>2</sup>, una presión arterial media de al menos 50 mmHg y una temperatura central >35 °C (véase la Figura 9).

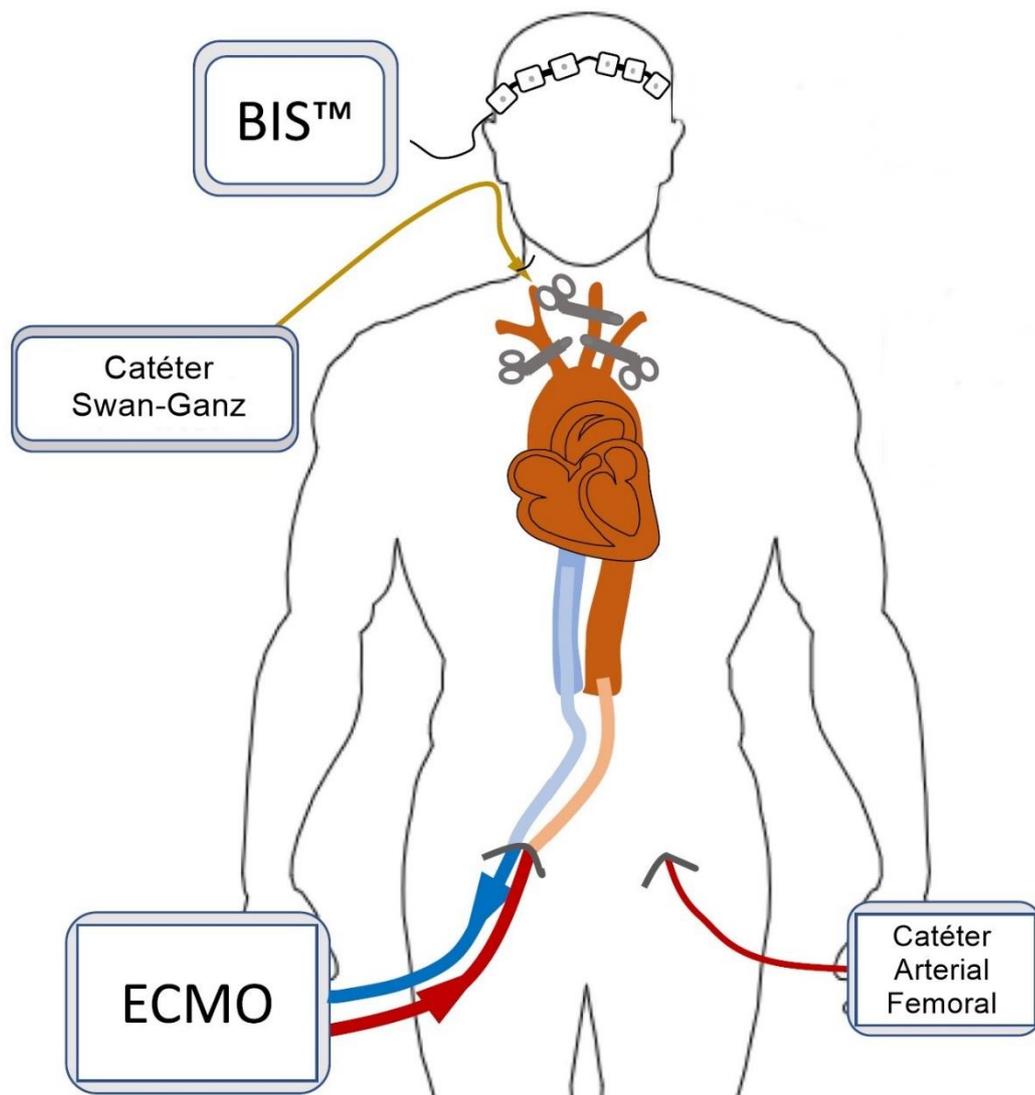
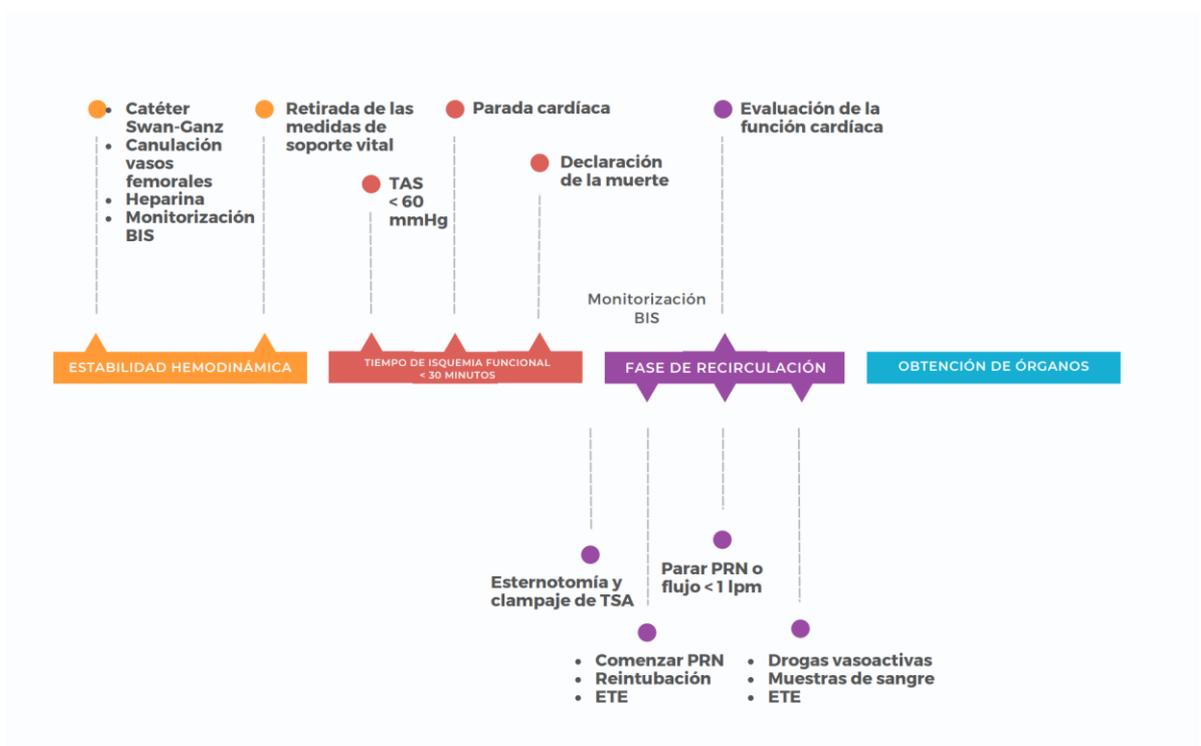


Figura 8. **Monitorización del donante durante la PTAN.** Adaptado de Pérez Redondo M et al./ *J. Cardiothorac. Surg.*. 2020; 15:333 (79).

Según la ecocardiografía transesofágica (ETE) y la presión arterial media, se inició también la infusión de noradrenalina, dobutamina o isoproterenol para

favorecer el automatismo y contractilidad cardiacas. Una vez que los corazones volvían espontáneamente a ritmo sinusal y se evaluaba la función cardiaca, se desconectaba la PTAN o se reducía el flujo a <1 L/min según el protocolo local. A continuación, se evaluó continuamente la función cardiaca mediante ETE, catéter de Swan-Ganz e inspección visual directa. La viabilidad final del corazón dependía de una FE del VI >50%, un índice cardiaco >2,5 L/min/m<sup>2</sup>, una presión de enclavamiento capilar de la arteria pulmonar <12 mmHg, una presión arterial media >60 mmHg y un tamaño y función normales del ventrículo derecho (VD) tras la retirada de la perfusión normotérmica toraco-abdominal o la disminución de su flujo a <1 L/min.



\* PRN: Perfusión regional normotérmica; BIS: Índice bispectral; TSA: Troncos supraaórticos; ETE: Ecocardiografía transesofágica.

Figura 9. **Protocolo español de obtención de corazones procedentes de DA controlada.** Adaptado de Miñambres E et al. / *Am J Transplant.* 2021 Apr;21(4):1597-1602 (78).

El tiempo de isquemia caliente funcional se definió como el tiempo transcurrido desde la caída a una presión arterial sistólica por debajo de 60 mmHg hasta el inicio de la PTAN (se incluye un periodo de 5 min sin contacto), y se estableció un límite de tiempo máximo de 30 min para la aceptación del órgano.

La fase de recirculación se definió desde la interrupción de la PTAN o la disminución del flujo a menos de 1 l/min hasta el clampaje de la aorta ascendente para la extracción del órgano.

Durante la cardiectomía, se pinzó la aorta ascendente y se inició la perfusión en la raíz con un litro de solución de preservación (Celsior o Del Nido). Inmediatamente, la sección de la vena cava inferior y de las venas pulmonares permitió la purga de aire del corazón. Tras la escisión completa del órgano, éste se trasladó rápidamente al quirófano contiguo, donde ya se había completado la cardiectomía del receptor. La técnica de trasplante fue la anastomosis bicava. Se administró cardioplejía sanguínea anterógrada fría a intervalos durante la implantación.

### 1.3.2. Selección de donantes cardiacos en asistolia controlada

Los criterios de selección de donantes de DA difieren entre centros y regiones. El grupo del Royal Papworth Hospital de Reino Unido selecciona donantes de entre 18 y 57 años y con una FE del > 50% antes de la RTSV, que no tengan antecedentes de infarto de miocardio, enfermedad coronaria o valvular, cardiopatía congénita, diabetes insulino dependiente, infección por hepatitis B y C/VIH o antecedentes de neoplasia (13). Los criterios de selección de donantes del grupo del St. Vincent's Hospital de Australia son ligeramente diferentes. Sus criterios iniciales de selección de donantes desde julio de 2014 hasta diciembre de 2017 incluían edad del donante < 40 años sin antecedentes de enfermedad cardíaca, estabilidad hemodinámica con mínimo soporte inotrópico y/o vasopresor y ≤ 30 min de tiempo de isquemia caliente desde la RTSV. En enero de 2018, el grupo australiano amplió sus criterios de selección de donantes de DAC para incluir donantes de edad < 55 años y refinó su tiempo de isquemia caliente aceptable a 30 min desde la caída de la presión arterial sistólica por debajo de 90 mmHg (80)(81). El grupo español, por su parte, consideró a donantes locales < 45 años sin cardiopatía previa, estableciendo un límite de tiempo máximo de 30 min de isquemia caliente funcional (78). En los hospitales Centre Hospitalier Universitaire de Liège y UZ Leuven de Bélgica seleccionaron como donantes a pacientes ≤ 60 años con ≤ 30 min de tiempo de isquemia caliente desde la RTSV, sin otros criterios de exclusión diferentes a los de la donación tras la ME (82)(83).

### 1.3.3. Cambios fisiológicos en el corazón durante el proceso de donación en asistolia controlada

En la DA, la muerte del donante se diagnostica al cesar los latidos del corazón y la circulación sanguínea efectiva. Debido a las preocupaciones sobre los posibles efectos nocivos de la isquemia caliente en la función y viabilidad del corazón del donante, el corazón del donante en asistolia no se consideró para el trasplante clínico inicialmente. Comprender el impacto fisiológico de la extubación del donante y la isquemia caliente en el corazón de la DAC es fundamental para desarrollar una estrategia de reanimación satisfactoria. Tras la extubación, el corazón de la DAC se ve obligado a funcionar en un entorno cada vez más hipoxémico mientras intenta mantener el aporte de oxígeno sistémico.

Durante años se ha teorizado que el daño miocárdico es proporcional al tiempo que transcurre entre la retirada del soporte y la declaración de la muerte. Además, el corazón sufre una segunda ola de lesión tras la implantación y la restauración del flujo sanguíneo (lesión por reperfusión), principalmente debido a la oxidación, estrés e inflamación a los que se ve sometido. La reperfusión que sigue al trasplante inunda el corazón del donante con ERO y mediadores inflamatorios que se han acumulado (tanto en el tejido del donante como del receptor) durante los períodos de isquemia. Esto provoca daño y muerte celulares y una segunda oleada inflamatoria. Sin embargo, se cree que la isquemia caliente antes del explante de órganos probablemente sirva como base para un aumento del daño tisular durante la isquemia fría, lo que exacerba los efectos de la lesión por isquemia y reperfusión y hace que la lesión sea más grave (84).

A pesar de los éxitos recientes de la donación cardíaca en asistolia, los datos que describen los cambios fisiológicos que ocurren después de la RTSV son limitados, y existe una falta de comprensión acerca de la fisiología de la muerte. Esto se ejemplifica en las diferentes definiciones de asistolia en el donante (asistolia eléctrica, pulso ausente, ausencia de onda de pulso en el trazado de presión arterial invasiva, ausencia de gasto cardíaco, etc.), en las variables duraciones de periodos de espera antes de que se pueda declarar la muerte (2-20 min), y en las distintas definiciones del tiempo funcional de isquemia caliente que son empleadas.

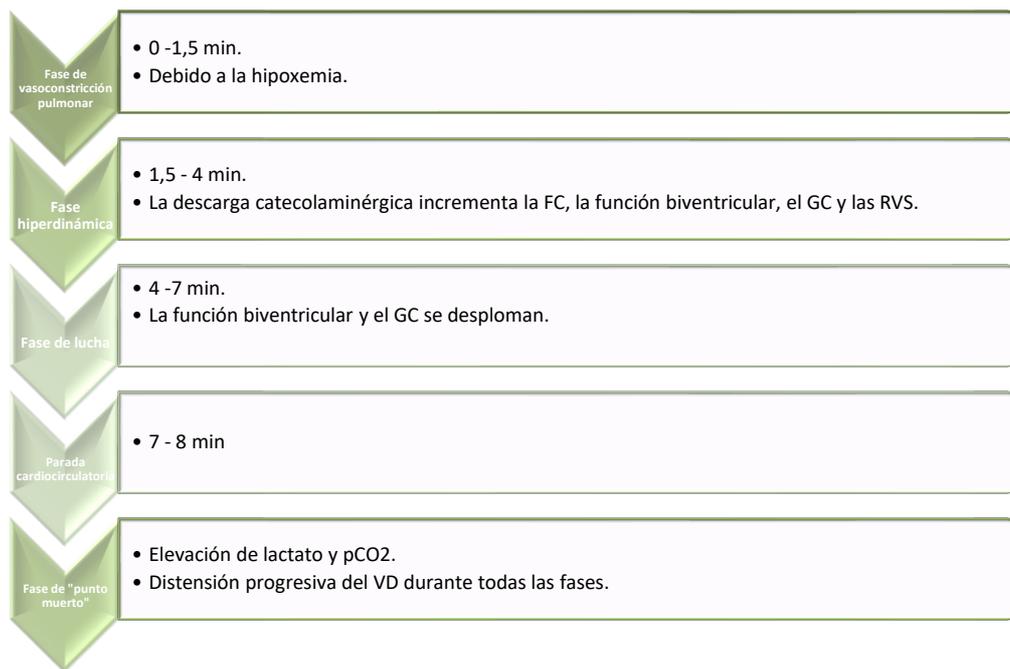
El impacto que produce la extubación en el corazón del donante no ha sido bien evaluado. En un estudio realizado en un modelo porcino de DA se describieron los cambios fisiológicos que ocurren después de la RTSV, concluyendo que se producía una vasoconstricción pulmonar hipóxica y un aumento significativo de catecolaminas que provocan la distensión del VD (85). Estos cambios fueron monitorizados de forma continua durante 20 min tras la RTSV registrando la presión intraventricular, el volumen y la función ventricular usando un catéter de conductancia colocado en ambos ventrículos e imágenes de resonancia magnética nuclear (RMN). En este estudio identificaron cinco fases fisiológicas tras la RTSV (85): una primera fase de vasoconstricción pulmonar (0-1,5 min), seguidamente una fase hiperdinámica (1,5-4,0 min), una tercera fase “de lucha” en la que disminuyen precipitosamente la función biventricular y el gasto cardíaco (GC) (4,0-7,0 min), la fase de PCR (7.0-8.0min), y una quinta y última fase de retraimiento, estancamiento o “punto muerto” (8.0-20.0min).

En este estudio se observó que en una primera fase se producía una distensión del VD junto con una reducción del GC secundarios a vasoconstricción hipóxica pulmonar. Posteriormente, se objetivó un aumento de adrenalina de unas 120 veces que produjo una fase hiperdinámica transitoria en la que se produjo un incremento insostenible de la demanda sistémica de oxígeno con transición a un metabolismo anaeróbico. Sorprendentemente, el aumento del GC durante la fase hiperdinámica no aumentó de forma significativa el suministro de oxígeno sistémico debido al extremadamente bajo contenido de oxígeno presente en la sangre arterial. La PCR ocurrió entre  $7,6 \pm 0,3$  min después de la RTSV, momento en el que la RMN demostró un 18,7% aumento en el volumen del VD y una disminución del 12,9% en el VI en comparación con sus valores basales.

Después de la RTSV, el corazón del donante se ve obligado a funcionar en un ambiente cada vez más hipóxico mientras intenta mantener la demanda de oxígeno sistémico. Estos estudios y otros previos han sugerido que este proceso se asocia con un período hiperdinámico mediado por catecolaminas y una distensión ventricular que puede exacerbar la severidad del daño al que se ven sometidos los corazones en asistolia. La distensión del VD aumenta el estrés al que se ve sometido su pared libre, disminuye la presión de perfusión coronaria, y afecta de manera

negativa a la recuperación de la función miocárdica después de un período de isquemia. Estos resultados resaltan la importancia de evaluar la función del VD antes del trasplante para minimizar el riesgo de fracaso del injerto postrasplante. Así mismo, el aumento de catecolaminas asociado a la fase hiperdinámica puede tener efectos perjudiciales en el corazón proveniente de DA. La disfunción miocárdica resultante de la liberación de catecolaminas en el contexto de un aumento de presión intracraneal y la progresión a ME es un fenómeno bien descrito. La exposición experimental a catecolaminas ha demostrado que tiene lugar una acumulación de lactato, agotamiento de ATP y necrosis de la banda de contracción en unos 30 min (86). La creciente concentración de lactato observado durante esta fase también sugiere que el inicio de la isquemia caliente funcional no se retrasa por el período de circulación hiperdinámica y la recuperación de la presión arterial sistémica. Pese a estos datos, la mayoría de programas de trasplante se basan exclusivamente en criterios hemodinámicos a la hora de definir el inicio del tiempo de isquemia caliente funcional.

Es por estos motivos (la lesión secundaria a isquemia caliente, la distensión ventricular y la oleada de catecolaminas que ocurre después de la RTSV) que resulta imprescindible y de particular importancia, realizar evaluaciones de la viabilidad del órgano antes del trasplante.



\* RTSV: Retirada del Tratamiento de Soporte Vital; FC: Frecuencia Cardíaca; GC: Gasto Cardíaco; RVS: Resistencias Vasculares Sistémicas; VD: Ventrículo Derecho; VI: Ventrículo Izquierdo.

Figura 10. **Fases fisiológicas tras la RTSV.** Se han identificado cinco fases fisiológicas después de la RTSV: (1) del 0 al 1,5 min la hipoxemia causa vasoconstricción pulmonar; (2) del 1,5 al 4 min las catecolaminas endógenas producen un aumento de la FC, función biventricular, GC y RVS; (3) del 4 al 7 min la función biventricular y el GC disminuyeron rápidamente; (4) del 7 al 8 min tiene lugar el paro circulatorio y después, comienza la fase de "punto muerto", tras la cual se inician las vías apoptóticas y el lactato y la PaCO<sub>2</sub> arteriales aumentan hasta alcanzar valores de  $4,9 \pm 0,4$  mmol/L y  $91 \pm 5$  mmHg, respectivamente. Durante todas las fases, el VD experimenta una marcada distensión en comparación con el VI. *Modificado de Anguela-Calvet L et al. / Transplantation. 2021 Jul 1;105(7):1482-1491 (87).*

#### 1.3.4. Reanimación y obtención del corazón en el proceso de donación en asistolia controlada

En el caso de los corazones provenientes de donantes en ME, tras la declaración de muerte cerebral, se evalúa la función cardíaca para determinar la idoneidad para la donación. En el momento de la obtención del órgano, el donante tiene una función cardíaca intacta y el corazón no está isquémico. Los corazones se detienen electromecánicamente con una solución cardiopléjica fría e hiperpotasémica y se almacenan estáticamente en frío hasta que se trasplantan. El corazón de donante en ME solo está expuesto a isquemia en el tiempo que transcurre entre la obtención del órgano y el trasplante.

En el caso del corazón de DAC ya ha sufrido una isquemia caliente significativa tras la RTSV en el donante y no toleraría la lesión isquémica adicional durante el almacenamiento estático en frío. Por lo tanto, a la hora de llevar a cabo la obtención y preservación del corazón proveniente de DAC hay que tener en cuenta los siguientes pasos: 1) reanimación del órgano en el momento de la obtención para minimizar los efectos perjudiciales de la isquemia caliente tras la extubación del donante, 2) una estrategia de preservación que minimice la lesión isquémica adicional y proporcione una oportunidad para el reacondicionamiento del órgano, y 3) la capacidad de evaluar la viabilidad del órgano antes del trasplante.

La hipoxemia y la hipercapnia progresivas tras la extubación del donante y la adecuación del tratamiento de soporte vital provocan la vasoconstricción pulmonar y la distensión del VD. Estos cambios provocan un aumento de catecolaminas con la consiguiente fase circulatoria hiperdinámica transitoria; sin embargo, las reservas de energía del miocardio se agotan rápidamente, el GC disminuye y el donante sufre una PCR. El corazón del donante permanece en un estado caliente, distendido e isquémico durante el periodo de parada obligatorio desde el punto de vista ético. En el momento de la obtención del órgano, el corazón de la DAC ha resistido la exposición a una oleada de catecolaminas y ha sufrido una lesión isquémica significativa.

La lesión isquémica sufrida por el corazón de DAC provoca el agotamiento de las reservas de ATP y el metabolismo anaeróbico, que causan acidosis intracelular, la activación del intercambiador sodio-hidrógeno (NHE) y la entrada de  $\text{Na}^+$  en el miocito. La ATPasa  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  funciona normalmente para expulsar los iones de  $\text{Na}^+$  que entran en el miocito a través del NHE. Sin embargo, en el contexto de la DAC, la acidosis intracelular se desarrolla simultáneamente con el agotamiento de las reservas de ATP. El efecto combinado del aumento de la actividad del NHE y la inhibición de la ATPasa  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  produce una acumulación patológica de  $\text{Na}^+$  intracelular.

La reperfusión posterior en el momento de la obtención del órgano normaliza rápidamente el pH extracelular y crea un gradiente importante de iones  $\text{H}^+$  a través de la membrana plasmática que provoca una mayor afluencia de  $\text{Na}^+$  a través del

NHE. Este aumento del  $\text{Na}^+$  intracelular obliga al intercambiador sodio-calcio (NCX) a funcionar en modo inverso e importar iones de  $\text{Ca}^{2+}$  a través del sarcolema (véase Figura 11). En este contexto, se ha evaluado que aumentos transitorios de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, pueden desencadenar la activación de la proteína quinasa dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$ , de endonucleasas y proteasas (p. ej., la calpaína). La activación de la calpaína y su posterior acción sobre las proteínas contráctiles se ha relacionado con la reducción de la sensibilidad al  $\text{Ca}^{2+}$  de los miofilamentos observada en el corazón aturdido. La sobrecarga de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular resultante propaga la muerte del miocito mediante el desarrollo de hipercontracción, la generación de ERO, la activación del MPT y la puesta en marcha del proceso de muerte celular por apoptosis con la activación en la fase inicial de las caspasas 3 y 7.

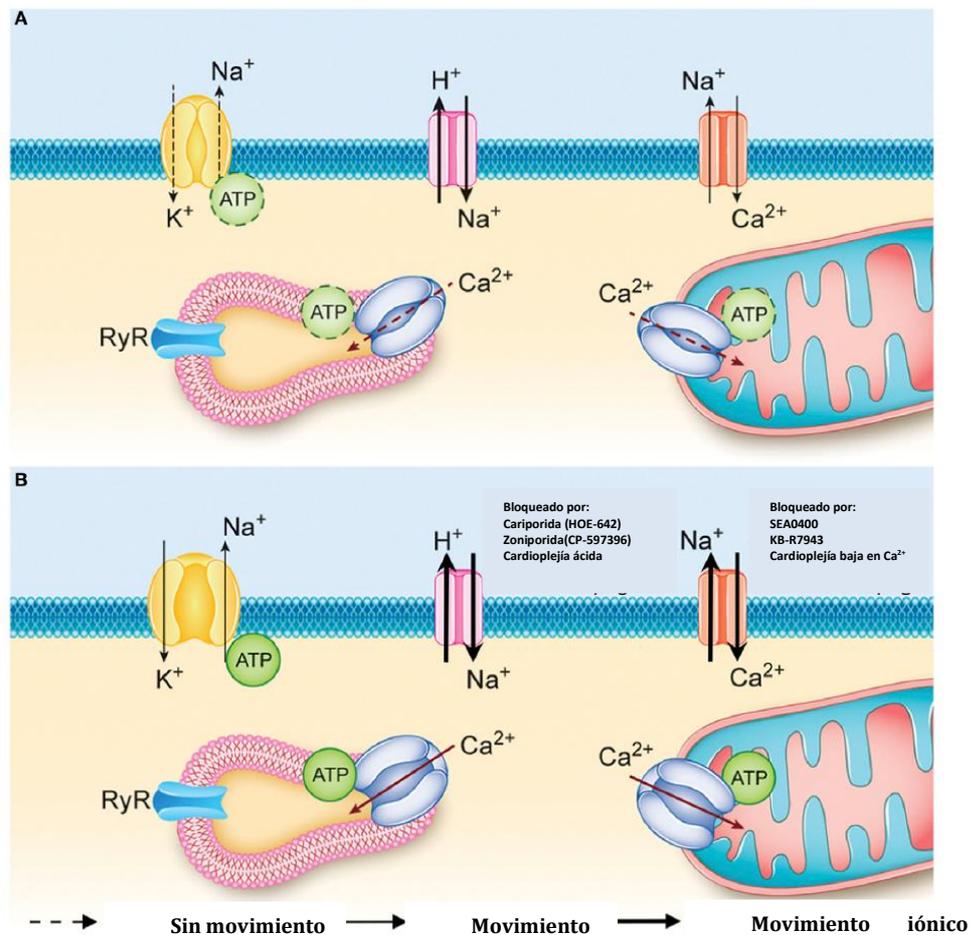


Figura 11. **Cambios iónicos durante el proceso de ischemia-reperfusion.** (A) Cambios iónicos durante la ischemia. El metabolismo anaeróbico da lugar a la producción de iones H<sup>+</sup> que activan el intercambiador sodio-hidrógeno (NHE) y la acumulación de Na<sup>+</sup> en el interior del miocito. La ATPasa Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> no es capaz de extraer el exceso de Na<sup>+</sup> y mantener el potencial de membrana normal debido a la falta de disponibilidad de ATP. En consecuencia, a medida que progresa la ischemia, se produce una acumulación de Na<sup>+</sup> e H<sup>+</sup> en el interior del miocito y la despolarización del potencial de membrana. (B) Cambios iónicos durante la reperfusion. La reperfusion elimina los H<sup>+</sup> que se han acumulado en el espacio intersticial y crea un gradiente significativo para el intercambio Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup>. La entrada de Na<sup>+</sup> en el miocito durante la reperfusion temprana obliga al intercambiador sodio-calcio (NCX) a funcionar en modo inverso e importar iones de Ca<sup>2+</sup> a través del sarcolema. La homeostasis iónica intracelular no se puede restaurar hasta que la ATPasa Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> logre restablecer el potencial de membrana en reposo y los niveles normales de Na<sup>+</sup> intracelular, lo que permitirá que el NCX vuelva al modo de funcionamiento normal y expulse el exceso de Ca<sup>2+</sup> del citoplasma. Adaptado de *White CW et al./ Front Cardiovasc Med. 2018;5(February)* (6).

La entrada de Na<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup> en el miocito desempeña un papel fundamental en la patogenia de la lesión por ischemia-reperfusion. La reperfusion en el momento de la obtención del órgano normaliza el pH extracelular y genera un gradiente

significativo de iones  $H^+$  a través de la membrana plasmática que provoca la entrada de  $Na^+$  a través del NHE y de  $Ca^{2+}$  a través de la NCX inversa. La inhibición de estos flujos iónicos al principio del periodo de reperfusión representa una oportunidad importante para limitar la hipercontracción y la activación del MPT. Retrasar la normalización del pH al inicio de la reperfusión mediante la administración de una solución cardiopléjica ácida inhibe el NHE y limita la sobrecarga de  $Ca^{2+}$  y el daño por isquemia-reperfusión.

Limitar la gravedad de la lesión por isquemia-reperfusión en el momento de la obtención de órganos representa la piedra angular de la reanimación cardiaca en la DAC. Los avances en el conocimiento del postcondicionamiento isquémico han facilitado el desarrollo de estrategias de reanimación cardiaca en la DAC que pueden utilizarse para minimizar esta lesión por isquemia-reperfusión en el momento de la obtención de los órganos.

El tiempo de isquemia caliente se refiere al tiempo comprendido entre la RTSV y la reperfusión de los órganos, y el tiempo de isquemia caliente funcional comprende el período de tiempo desde que la presión arterial sistólica desciende por debajo de 50 ó 60 mmHg durante al menos 2 min hasta la reperfusión de los órganos.

Con el objetivo de minimizar el daño por isquemia-reperfusión, se han desarrollado 4 métodos de reanimación cardíaca en la DA que han proporcionado resultados exitosos en la práctica clínica (véase Tabla 6). El primer enfoque se llama obtención directa: implica la administración de una solución cardiopléjica durante la obtención de los órganos que limita los efectos perjudiciales de la lesión por isquemia-reperfusión. Con este enfoque, se realiza una cardiectomía rápida, el corazón se conecta a un dispositivo de perfusión cardíaca *ex situ* y se conserva en un estado normotérmico y latiendo hasta que se lleva a cabo el trasplante (este método se realiza en Sídney, Inglaterra y Bélgica) o se puede trasplantar directamente después de conservación en frío. En la obtención directa con reperfusión cardíaca *ex situ*, se obtiene sangre autóloga del donante (1,2–1,5 L) de la aurícula derecha para cebar el circuito de perfusión.

Si la extracción es multiorgánica, requiere la coordinación entre la recuperación del corazón y el hígado. Dado que la recuperación del corazón requiere unos 1500

ml de sangre del donante para la bomba de preservación *ex situ* (dispositivo OCS™-Heart), la extracción de esta sangre de donante proveniente de la aurícula derecha requiere prestar atención a las diferencias de tiempo de isquemia caliente que se calculan para el corazón frente al hígado. El tiempo de isquemia caliente para el hígado comienza en el momento de la extubación. En el corazón del donante comienza cuando la SatO2 cae por debajo del 70% o la presión arterial sistólica desciende por debajo de 50 mmHg. Esta diferencia calculada puede permitir que un corazón de DAC se recupere más de 30 min después de la extubación (pero no el hígado). Para la recuperación del hígado de DAC, la perfusión en frío de los órganos abdominales con pinzamiento de la aorta diafragmática debe iniciarse antes de los 30 min siguientes a la extubación.

Técnica	Ventajas	Limitaciones
<b>Obtención directa + preservación en frío</b>	Reducción de los efectos perjudiciales del daño por isquemia-reperfusión.  Menos costosa.	No hay evaluación de la función cardíaca del donante y del receptor en el mismo centro de trasplante.
<b>Obtención directa + perfusión cardíaca <i>ex situ</i></b>	Reducción de los efectos perjudiciales del daño por isquemia-reperfusión.  Evaluación de viabilidad miocárdica basada en tendencias de lactato.  Permite transporte a largas distancias.  Minimización de la lesión por isquemia fría.  Sin intervenciones en el donante de órganos.	Coste alto del dispositivo de perfusión <i>ex situ</i> .  Requiere personal médico dedicado al manejo de la perfusión <i>ex situ</i> .
<b>Perfusión regional normotérmica + preservación en frío</b>	Evaluación de la función del corazón del donante <i>in situ</i> .  Reperfusión más temprana.	Sin evaluación <i>ex situ</i> de la función del corazón del donante.  Requiere canulación.  Necesidad de aislar la circulación cerebral.  Requiere perfusionistas dedicados al manejo de la PRN y con experiencia en canulación.  Consideraciones éticas.
<b>Perfusión regional normotérmica + perfusión cardíaca <i>ex situ</i></b>	Evaluación de la función del corazón del donante <i>in situ</i> .  Evaluación de viabilidad miocárdica basada en tendencias de lactato.  Transporte a largas distancias.  Minimización de la lesión por isquemia fría.  Reperfusión más temprana.	Coste alto del dispositivo de perfusión <i>ex situ</i> .  Requiere personal médico dedicado al manejo de la perfusión <i>ex situ</i> .  Requiere canulación.  Necesidad de aislar la circulación cerebral.  Requiere profesionales sanitarios dedicados al manejo de la PRN y con experiencia en canulación.  Consideraciones éticas.

\* PRN, perfusión regional normotérmica.

Tabla 6. **Diferentes combinaciones de recuperación y preservación de injertos cardíacos.**  
Adaptado de Anguela-Calvet L et al. / *Transplantation*. 2021 Jul 1;105(7):1482-1491 (87).

En el momento de la obtención del órgano, el corazón DAC está agotado energéticamente y es vulnerable a la afluencia de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  tras la reperfusión. La reactivación de la producción de ATP en el miocito sobrecargado de  $\text{Ca}^{2+}$  tras una isquemia prolongada puede producir oscilaciones de  $\text{Ca}^{2+}$  y desarrollar una hipercontracción (véase Figura 12). La reperfusión inicial con una solución cardiopléjica inhibe la contracción miocárdica al inicio de la reoxigenación. Esto facilita la repleción de las reservas energéticas miocárdicas y el restablecimiento de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular antes de la activación de la unidad contráctil miofibrilar, evitando así la hipercontracción.

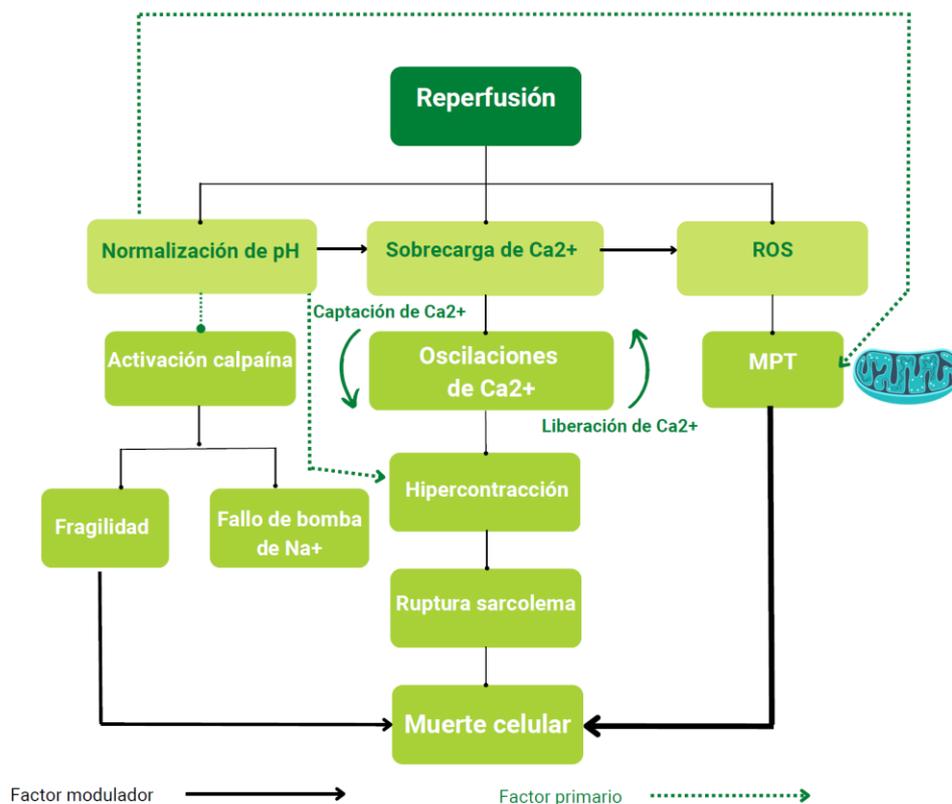


Figura 12. **Patogénesis de la lesión por isquemia-reperfusión.** La sobrecarga de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular y la producción de ERO provocan la apertura del MPT y la propagación de la muerte celular. La normalización del pH intracelular durante la reperfusión es un factor modificador importante en la patogénesis de la lesión por isquemia-reperfusión. Adaptado de *White CW et al./ Front Cardiovasc Med. 2018;5(February) (6)*.

El segundo enfoque se denomina perfusión regional normotérmica (PRN): siguiendo a la declaración de muerte circulatoria, se realiza una esternotomía media rápida y se aísla la circulación cerebral (se realiza un clampaje de los vasos del arco

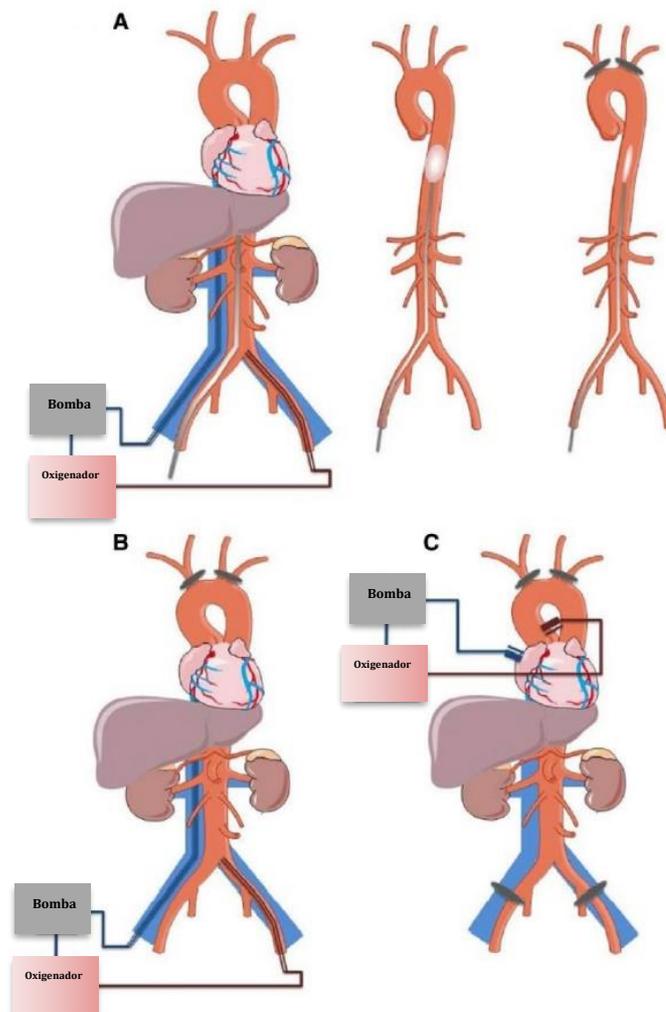
aórtico) para evitar la reperfusión cerebral. Con el cerebro excluido de la circulación, el donante se coloca en ECMO veno-arterial (véase Figura 13) y se perfunde durante un período de tiempo variable que no excede los 60 min. Posteriormente, el donante se desconecta de ECMO, lo que facilita la evaluación de la función cardíaca del donante *in situ*. La función del injerto se evalúa con ETE; el GC y las presiones intracardíacas se controlan con un catéter de Swan-Ganz. Los criterios de aceptación para el trasplante de corazones en asistolia después de la PRN incluyen los siguientes: presión venosa central <12 mmHg, presión de enclavamiento capilar pulmonar <12 mmHg, índice cardíaco de al menos 2,5 L/min/m<sup>2</sup> y FE de al menos el 50%. Los órganos viables se paralizan luego con una solución cardiopléjica tradicional y se pueden conectar a un dispositivo de reperfusión cardíaca *ex situ* latiendo hasta el trasplante o se pueden trasplantar directamente.

La experiencia reciente ha demostrado que el uso de la PTAN seguido de almacenamiento en frío, sin la necesidad de dispositivos de perfusión cardíaca *ex situ*, reduce la complejidad del procedimiento y los costes globales implicados (88).

Según los datos de estudios preclínicos y clínicos, la PRN parece revertir los trastornos metabólicos causados por la isquemia caliente, restableciendo la fisiología tras el agotamiento energético y la eliminación de metabolitos (77). Este efecto de precondicionamiento de la PRN puede atenuar la lesión por isquemia-reperfusión.

La preservación cardíaca con PTAN no solo limita la lesión por isquemia-reperfusión, sino que permite una preservación cercana a la fisiológica de varios órganos de manera simultánea (torácicos y abdominales), reduciendo la necesidad de técnicas de preservación *ex situ* de coste elevado. La PTAN convierte un proceso de extracción urgente en electivo, similar a la extracción de órganos que se efectúa en el donante en ME. Finalmente, permite la evaluación de los órganos previamente a su extracción a través de su apariencia macroscópica y el comportamiento de diferentes parámetros bioquímicos. Todo ello deriva en una mejora potencial de los resultados del trasplante de órganos de DAC, algo que ha sido especialmente relevante en el caso del hígado, lo que ha supuesto un aumento aproximado del 20-30% de la utilización de injertos hepáticos procedentes de este tipo de donantes. La

PRN mejora los resultados postrasplante hepático con una reducción muy significativa de las lesiones biliares isquémicas, la necesidad de retrasplante y la pérdida del injerto. Los últimos estudios realizados ya hablan de una supervivencia del paciente y del injerto equiparables a las de los trasplantados de donantes en ME (89).



\* ECMO, sistema de oxigenación por membrana extracorpórea; PRN, perfusión regional normotérmica.

Figura 13. **Diferentes técnicas de canulación de un sistema de oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO) en la donación cardíaca en asistolia controlada.** A) Canalización de ECMO veno-arterial periférica a través de la arteria y la vena femorales. Se infla un balón de oclusión aórtico en la aorta torácica descendente y se inicia perfusión regional normotérmica (PRN) abdominal hasta que se coloca un clampaje aórtico en los vasos del arco. Una vez realizada la exclusión del flujo cerebral, se desinfla el balón de oclusión aórtico y posteriormente se inicia la perfusión regional normotérmica toraco-abdominal (PTAN). B) Canalización de ECMO veno-arterial periférica a través de arteria y vena femorales. No hay balón de oclusión aórtico y la ECMO no

comienza hasta que se pinzan los vasos del arco aórtico. C) Canalización central de ECMO venoarterial a través de aurícula derecha y aorta ascendente. El arco aórtico y los vasos femorales se pinzan antes del inicio de la ECMO. Fuente: *Anguela-Calvet L et al. / Transplantation. 2021 Jul 1;105(7):1482-1491 (87).*

Se ha teorizado que la sangre hipoxémica y ácida del donante en asistolia en el momento de la perfusión de ECMO en realidad puede ser beneficiosa, ya que podría limitar la lesión por isquemia-reperfusión y disminuiría la producción de ERO. Los sustratos de energía y los tampones que existen en la sangre del donante también pueden facilitar la restauración de las reservas de energía del miocardio (6)(90). Messer y Large han propuesto dos métodos para reducir el tiempo de isquemia caliente mientras permiten que el cirujano se ocupe del clampar los vasos del arco aórtico. Uno consiste en perfundir el corazón de forma aislada colocando una pinza a través de la aorta ascendente y tomando una línea de perfusión de 0,635 mm desde el circuito de perfusión normotérmica hasta la raíz aórtica. La segunda técnica consiste en administrar 1 L de solución cardiopléjica oxigenada con sangre fría a través de la raíz aórtica de forma aislada tan pronto como se abre el tórax. La PTAN fue descrita por primera vez por el equipo de Papworth en el Reino Unido para restaurar la circulación de sangre al corazón del donante en asistolia *in situ*, así como a los órganos abdominales, para donantes tipo III de Maastricht.

La activación de las vías de postcondicionamiento isquémico en el momento de la obtención de órganos brinda la oportunidad de mitigar la lesión por isquemia-reperfusión y resucitar el corazón proveniente de DAC. Murry et al. demostraron por primera vez en 1986 que los periodos repetitivos de isquemia breve podían proteger al miocardio de un posterior período de isquemia prolongada y establecieron el concepto de preconditionamiento isquémico (91). Posteriormente, en 2003, Zhao et al. señalaron que los ciclos repetidos de isquemia y reperfusión tras una lesión isquémica prolongada (postcondicionamiento isquémico) pueden atenuar la lesión miocárdica inducida por reperfusión en el mismo grado alcanzado con el preconditionamiento isquémico (92). Estos descubrimientos tienen enormes implicaciones para el TC en DAC, ya que la administración de terapias al donante antes de la declaración de la muerte (precondicionamiento isquémico) es éticamente reprobable en muchos países. Sin embargo, la activación de vías de postcondicionamiento isquémico en el momento de la obtención del órgano ofrece

la oportunidad de mitigar la lesión por isquemia-reperfusión y resucitar el corazón en DAC. La ventana terapéutica es estrecha y el éxito se alcanza en los primeros minutos de la reperfusión del órgano; por tanto, mejorar la composición de la cardioplejía de reperfusión inicial para activar las vías de poscondicionamiento isquémico e inhibir los mediadores del daño inducido por isquemia-reperfusión es un objetivo primario en la reanimación cardiaca en la DAC.

La activación de las quinasas prosupervivencia en el momento de la reperfusión confiere una potente cardioprotección frente a la lesión por isquemia-reperfusión mediante la inhibición del MPT y la activación de las vías de la quinasa de rescate de la lesión por reperfusión (RISK) y de la potenciación del factor activador de la supervivencia (SAFE). Se ha demostrado que la administración de eritropoyetina, adenosina e insulina durante la reperfusión activa la vía RISK y mitiga la lesión por isquemia-reperfusión miocárdica. También se ha demostrado que la cardioplejía suplementada con eritropoyetina activa la vía SAFE e inhibe la transición del MPT. Además, la insulina provoca vasodilatación, inhibe la apoptosis, limita la respuesta inflamatoria y reduce la generación de ERO. La adenosina inhibe la apoptosis mediante la regulación al alza de la proteína antiapoptótica Bcl-2 y tiene propiedades antiinflamatorias que atenúan la infiltración de neutrófilos en las células endoteliales y la producción de ERO. Se ha demostrado que el donante de óxido nítrico (nitratos) gliceriltrinitrato activa las quinasas prosupervivencia y Bcl-2. En general, diversos activadores farmacológicos de las vías RISK y SAFE confieren protección frente al daño por isquemia-reperfusión y son muy prometedores para optimizar la reanimación cardiaca en la DAC (6).

#### 1.3.5. Aspectos éticos en la donación cardíaca en asistolia controlada

La toma de decisiones al final de la vida debe basarse no solo en el pronóstico médico del paciente, sino también en consideraciones sociales, morales y de bienestar. La oportunidad de participar en el proceso de donación de órganos procedentes de personas fallecidas debería ser un componente rutinario en los cuidados al final de la vida. Es importante recalcar que siempre prevalecerá el plan de final de vida que el paciente o su representante desee, independientemente de la donación. La donación debe ser parte de la planificación compartida de la asistencia al final de la vida, pero no un absoluto.

La decisión de la RTSV deriva de la conclusión de que la continuación del tratamiento no permitirá al paciente sobrevivir o no producirá un resultado funcional con una calidad de vida aceptable que el paciente (o su representante legal) y el equipo tratante consideren beneficioso. El pronóstico que lleve a una decisión de RTSV sólo debe ser establecido por el médico tratante en colaboración con un equipo multidisciplinar más amplio, consultas de subespecialidades y en conversación con el paciente (si está consciente) o su familia. Los médicos implicados en el proceso de trasplante y recuperación de órganos no tienen ningún papel ni responsabilidad en la decisión sobre la RTSV. Los programas de DAC deben desarrollarse dentro de un marco normativo integral que enfatice la independencia de las decisiones relacionadas con la RTSV de la consideración de la donación de órganos. Aunque muchos pacientes hospitalizados mueren en estas circunstancias en todo el mundo, sólo se han desarrollado programas de DAC en diecisiete países: Australia, Austria, Bélgica, Canadá, China, España, Estados Unidos, Francia, Irlanda, Italia, Noruega, Nueva Zelanda, Países Bajos, Reino Unido, República Checa, Suecia y Suiza (77). No existen programas de DAC en las jurisdicciones en las que el poder legislativo no ha promulgado una ley que establezca los criterios pertinentes para determinar la muerte o las sociedades profesionales no han elaborado directrices sobre los cuidados al final de la vida que apoyen una vía hacia la DAC. Además de los criterios clínicos, estas directrices deben especificar cómo se separará la decisión de RTSV de la decisión de que el paciente se convierta en donante de órganos tras su muerte.

Por lo general, la decisión de la RTSV debe retrasarse para administrar el tratamiento adecuado en la UCI durante un período de hasta 72 h. Este período de observación en la UCI mejora la fiabilidad de establecer un pronóstico: al determinar si el paciente puede ser declarado muerto por criterios neurológicos o si su estado está evolucionando a ME o si el estado neurológico se está deteriorando (o no mejora) y la decisión de RTSV es apropiada. La decisión de proceder a la RTSV debe ser llevada a cabo por un equipo médico con experiencia clínica relevante utilizando las pruebas científicas disponibles y basándose en las preferencias y valores del paciente, expresadas personalmente o por representación. Tanto por razones éticas como jurídicas, la transición de la decisión sobre el RTSV a la decisión sobre la donación de órganos debe gestionarse cuidadosamente.

Las dudas sobre la donación de cadáveres entre el público general también impiden el desarrollo de los programas de DAC. La educación es esencial para que los pacientes y sus familias entiendan cómo se determina la muerte y no tengan inquietudes acerca del proceso una vez que se declara muerto a un potencial donante. Disponer de un coordinador de trasplantes en la UCI permite responder a las preguntas de los familiares de un posible donante y obtener el permiso para la donación de órganos. Aunque los líderes religiosos manifiestan ocasionalmente su preocupación por la donación en caso de fallecimiento, los familiares pueden estar seguros de que la práctica cuenta con el apoyo de la mayoría de las principales religiones.

La PRN, basada en el uso de dispositivos de ECMO para restablecer el flujo sanguíneo en el donante tras el fallecimiento y antes de la recuperación del órgano, se ha revelado como una estrategia de preservación óptima para mejorar la utilización de los órganos y los resultados de los receptores de trasplantes en la DAC. Se utilizan una bomba extracorpórea y un oxigenador de membrana para recuperar la sangre venosa del donante, oxigenarla y devolverla a la circulación arterial de la región de interés, normalmente la cavidad abdominal. Se coloca un balón de oclusión o una pinza en la aorta torácica para restringir la circulación a la región abdominal y evitar la perfusión del cerebro. En los casos en que se considera la donación del corazón, el restablecimiento de la circulación tras la muerte puede ampliarse al tórax, con el pinzamiento de los vasos del cayado aórtico. Esta estrategia de preservación *in situ* restablece los sustratos energéticos celulares, elimina los productos metabólicos de desecho e induce mecanismos antioxidantes y otros mecanismos protectores contra la lesión por isquemia-reperusión. La técnica también permite a los clínicos validar los órganos antes de la obtención. De esta forma, la PRN consigue convertir un procedimiento de recuperación urgente en electivo, con el potencial de reducir los daños y pérdidas de órganos debidos a accidentes quirúrgicos.

La PRN es práctica habitual en España y obligatoria para la recuperación hepática en Francia e Italia. El uso de la PRN se está extendiendo a otros países, con una clara necesidad de una infraestructura bien financiada y diseñada. Existen diferentes enfoques para la práctica de la PRN, según los marcos normativos de cada país. Por ejemplo, la canulación o identificación *ante mortem* de vasos femorales está

permitida en Bélgica, España, Francia, Italia, Noruega y Suecia, mientras que está prohibida en el Reino Unido (93) (solo las jurisdicciones de Bélgica y España permiten la canulación *ante mortem* en Europa).

Existen controversias éticas reconocidas sobre el uso de la PRN en la DAC, pero parece adecuado desde el punto de vista moral pensar que es un procedimiento que merece la pena desde la perspectiva de los receptores necesitados. La principal preocupación ética y legal sobre el uso de PRN en la DAC está relacionada con el restablecimiento de la circulación en el donante tras la determinación del fallecimiento, que podría invalidar retroactivamente el diagnóstico de muerte. La definición de muerte se basa en la pérdida permanente de la capacidad de consciencia y todas las funciones del tronco encefálico que puede producirse como consecuencia de una lesión cerebral devastadora o de la pérdida permanente de circulación (cerebral). Si no se intenta reiniciar la circulación sistémica, el cese permanente de la circulación al cerebro conduce inevitablemente al cese permanente de la función cerebral. El restablecimiento de la circulación cerebral invalidaría la determinación de la muerte porque el concepto unificador de muerte exige que la circulación cerebral haya cesado indefinidamente, dando lugar al cese permanente de la función cerebral. Una vez declarada la muerte, hay que asegurarse de que la circulación cerebral no se restablece ni espontánea ni artificialmente. Cuando se utiliza la PRN, deben aplicarse medios técnicos para evitar la reperfusión del cerebro cuando se pone en marcha la bomba. Las técnicas aplicadas para aislar el cerebro incluyen la oclusión con balón o el pinzamiento quirúrgico de la aorta en la PRN abdominal, que puede controlarse mediante la ausencia de presión constante en la arteria radial. En el caso de la PTAN, el pinzamiento de los vasos del arco aórtico desvía el flujo colateral cerebral. También se puede insertar una cánula abierta a la atmósfera en la aorta ascendente, siendo importante en este caso destacar que el drenaje libre de los vasos del arco aórtico a la presión atmosférica o negativa desvía el flujo sanguíneo colateral lejos del cerebro. La monitorización de la ausencia de circulación cerebral (perfusión o función) durante la PTAN es un componente esencial de dichos protocolos. La actividad cerebral o la perfusión cerebral debe ser monitorizada de forma constante durante el procedimiento para

identificar una exclusión fallida de la circulación hacia el cerebro que podría llevar a tener que detener la PNR (en España se exige como mínimo el índice biespectral).

Ocluir la aorta torácica o los vasos del arco aórtico para excluir deliberadamente la circulación cerebral plantea dos problemas: 1) la implicación del cirujano encargado de la recuperación del injerto en la muerte del paciente, y 2) el uso de una intervención invasiva únicamente para satisfacer la permanencia del cese de las funciones cerebrales. Excluir intencionadamente la circulación al cerebro no es la causa de la muerte del paciente, sino la enfermedad o afección que llevó a la decisión de la RTSV. Además, el cirujano que ocluye la aorta torácica o los vasos del arco aórtico para perfundir los órganos trasplantables no provoca más la muerte del donante que el cirujano que recupera un corazón para trasplantarlo después de que el donante haya sido declarado muerto. En cuanto a la segunda preocupación, el uso de técnicas para impedir la perfusión cerebral respeta dos decisiones tomadas por el donante o sus representantes: en primer lugar, la decisión de no ser reanimado tras la declaración de fallecimiento, que implica la intención de que no se restablezca la circulación cerebral, y en segundo lugar la decisión de beneficiar a los pacientes que necesitan la donación de órganos, lo que implica maximizar el beneficio de los órganos que se utilizarán para el trasplante.

Debido a la mejora de los resultados postrasplante, la PRN abdominal puede ayudar a maximizar el número de órganos recuperados y trasplantados en la DAC, pero se necesitan estudios de investigación minuciosos que cuantifiquen este impacto en la utilización de órganos. La PRN abdominal ha demostrado beneficios en el trasplante de hígado en DAC. Se ha asociado a una mayor supervivencia del paciente y del injerto y a una reducción significativa de la tasa de aparición de disfunción precoz del aloinjerto, trombosis de la arteria hepática, colangiopatía isquémica y complicaciones biliares de todo tipo. Ha permitido ampliar de forma segura la edad del donante en el trasplante hepático con buenos resultados postrasplante. En estudios recientes se ha visto también que la PRN abdominal condujo a una disminución del riesgo de disfunción tardía del injerto y de pérdida del injerto durante el primer año postrasplante en el trasplante renal (94).

Existen pocas experiencias sobre trasplante cardiaco en DAC utilizando PTAN, pero los resultados hasta la fecha son alentadores. El grupo de Papworth describió los resultados de 100 corazones de donantes en DAC, con resultados de los receptores similares a los descritos para receptores de donantes en ME (13).

El sistema de PRN debe ser gestionado por coordinadores de trasplantes experimentados y la recuperación debe ser llevada a cabo por equipos quirúrgicos suficientemente cualificados, especialmente cuando se trata de injertos abdominales y torácicos. Para que esta tecnología se pueda ampliar, parece conveniente establecer acuerdos de cooperación, de modo que los equipos con los conocimientos y la experiencia suficiente proporcionen el apoyo necesario a centros más pequeños o con recursos más limitados.

Una preocupación frecuente sobre la PRN es su coste potencial. Aunque no se han publicado estudios sobre la repercusión económica de la PRN en la DAC, los gastos adicionales asociados a la PRN oscilan entre 2.000 y 3.500 euros por procedimiento, por lo que es probable que los costes sean muy inferiores a los de los dispositivos de perfusión mecánica *ex situ*, que también son específicos de un solo órgano y no conducen necesariamente a los resultados óptimos observados con la PRN. La PRN es única porque ofrece la posibilidad de preservar hasta cinco injertos diferentes en el mismo donante (corazón, riñones, hígado y páncreas). El tratamiento simultáneo de múltiples órganos utilizando el mismo dispositivo y los mismos recursos es una ventaja de esta modalidad en comparación con la perfusión *ex situ* con máquina. De hecho, Tchana-Sato et al. (82) estimaron un ahorro de 68.000 euros al no colocar los corazones de su estudio en un dispositivo de perfusión mecánica *ex situ*.

En definitiva, se ha demostrado en múltiples estudios que la aplicación de la PRN en la DAC ha supuesto una estrategia de preservación que puede aumentar el número de órganos disponibles para trasplante y mejorar los resultados postrasplante, ayudándonos a aprovechar al máximo el gesto altruista de la donación de órganos, con los beneficios que ello conlleva para un gran número de pacientes en lista de espera.

#### 1.4. Justificación del estudio

La mortalidad relevante para la donación de órganos, entendiendo como tal la mortalidad por tráfico y por enfermedad cerebrovascular, ha sufrido un descenso ostensible a lo largo de los años en España. Además, se han producido cambios notables en la atención al paciente neurocrítico en nuestro país, con una realización creciente de craniectomías descompresivas, tanto en patología traumática como no traumática. Estos dos fenómenos están determinando un descenso paulatino en el potencial de donación en ME. Según datos procedentes del Programa de Garantía de Calidad en el Proceso de la Donación que realiza la Organización Nacional de Trasplantes (ONT) de nuestro país, si en el año 2001 se estimaba que 62,5 personas pmp fallecían en situación de ME, en el año 2009 esa tasa se encontraba en 53,5 pmp y progresivamente a lo largo de los años ha ido en descenso hasta obtenerse 26,2 donantes de órganos eficaces en ME pmp en 2021 (3), llegando a suponer en 2019 solo un 1,8% de todos los *exitus* de los hospitales españoles (Tabla 7). No obstante, la efectividad global ha aumentado, llegando a alcanzarse en 2019 un 65,6% de fallecidos en ME que se convirtieron en donantes, frente a un 59,5% en 2010 (95).

## DATOS GENERALES

	2000-2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Hospitales	131	140	142	142	142	145	145	151	151	151	151
Exitus en hospital	949.173	121264	109558	108.519	120.840	113.934	122046	11.5179	127.216	142.525	128.614
Exitus en UC	182.650	20.730	19.036	19.544	20.051	18.702	19.892	2.0613	21.881	2.182	21.068
Muertes Encefálicas	22.054	2.295	2.398	2.239	2.321	2.225	2.087	2.365	2.365	2.420	2.372
Donantes Reales	12.087	1.365	1.543	1.478	1.492	1.408	1.374	1.522	1.603	1.607	1.556

## CAPACIDAD GENERADORA DE ME

	2000-2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
% ME/Exitus Hospital	2.2	2.0	2.2	2.1	1.92	2	1.7	2.05	1.9	1.7	1.8
% ME/Exitus en UC	12.1	12.1	12.6	11.5	11.6	12	10.5	11.5	10.8	11	11.3

## EFFECTIVIDAD GLOBAL

	2000-2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
% Donantes/ME	54.8	59.5	64.3	66	64.3	63.3	65.8	64.4	67.8	66.4	65.6

Tabla 7. **Evolución de Resultados Globales de la Autoevaluación del Programa de Garantía y Calidad del Proceso de Donación en España desde el año 2000 hasta 2019.** Fuente: Memoria de Resultados de la Autoevaluación del Año 2019 del Programa de Garantía de Calidad del Proceso de Donación (95).

Además de lo expuesto anteriormente, el perfil del potencial donante en ME también se está modificando. En 1999, la media de edad de las personas fallecidas en ME era de 52 años frente a 62,86 años en el 2019. Del mismo modo, si en 1999 el 50% de los donantes fallecieron por enfermedad cerebrovascular y el 22% por un accidente de tráfico, los porcentajes correspondientes en el año 2019 fueron de 68% y 11%, respectivamente. Por tanto, es justo reconocer que la efectividad de nuestro sistema ha logrado mantenerse o incluso mejorar a pesar de los cambios acontecidos, que en nada favorecen a la donación en ME. Esta mejora se sustenta en gran parte en la expansión paulatina de los criterios clínicos para la donación aceptados por nuestra red de profesionales de la donación y el trasplante, como se pone de manifiesto en el progresivo incremento del número de donantes de edad avanzada. En el año 2011, más del 50% de nuestros donantes tenía una edad  $\geq$  60 años, algo no descrito en ningún otro país del mundo (72).

En el contexto antes descrito, la necesidad de desarrollar fuentes alternativas a la donación de órganos de personas en ME resulta evidente. Está justificada la exploración de fuentes alternativas de donantes para mitigar la creciente disparidad entre el número de receptores de trasplantes elegibles y los órganos disponibles. Según datos de la Organización Mundial de la Salud, los aproximadamente 147.000 trasplantes de órganos que se realizan anualmente cubren sólo el 10% de las necesidades mundiales identificadas (1). Los estudios sobre la carga mundial de morbilidad revelan que esta necesidad es probablemente varias veces mayor, teniendo en cuenta el coste implicado de la discapacidad y la pérdida prematura de vidas que podrían evitarse con el trasplante de órganos. En concreto, la DA, en creciente expansión en diversos países de nuestro entorno y erigiéndose como fuente fundamental ya en España, se vislumbra como una estrategia imprescindible a la hora de asegurar la disponibilidad de órganos para trasplante.

El primer TC fue realizado por Christiaan Barnard en 1967 en Ciudad del Cabo (Sudáfrica) utilizando un corazón de una donación controlada después de la muerte circulatoria o asistolia (65). El donante y el receptor estaban en quirófanos adyacentes para minimizar el tiempo de isquemia total. La operación del primer TC humano efectuado en el mundo duró en total cuatro horas y cuarenta y cinco min. La noticia tuvo una gran repercusión no solo en los círculos científicos de la cardiología y la cirugía cardíaca de la década de 1960, sino que los medios de comunicación de la época se hicieron eco de la noticia. Fue portada de las revistas TIME y LIFE el 15 de diciembre de 1967 (Imagen 1) con el título «*Gift a human Heart*» en esta última, yendo más allá de los aspectos médicos del trasplante. La noticia fue percibida a escala mundial como uno de los grandes acontecimientos de la segunda mitad del siglo XX. Aunque el receptor sólo sobrevivió 18 días, fue la "prueba de concepto" que dio lugar a la adopción del TC en todo el mundo. En general, los primeros resultados fueron malos, por lo que muchas unidades abandonaron el TC. No fue hasta la década de 1980 cuando se produjo un resurgimiento del TC con la introducción de la legislación sobre muerte cerebral, la aceptación clínica de los criterios para establecer la muerte de tronco cerebral y, lo que es más importante, el descubrimiento de la ciclosporina como terapia inmunosupresora para el rechazo agudo del injerto. La técnica en asistolia fue

abandonada por estos motivos. Sin embargo, el aumento del tiempo en la lista de espera para un TC y la ampliación de las indicaciones para esta terapia, han hecho que la donación cardíaca en asistolia vuelva a considerarse de nuevo para aumentar el *pool* de donantes.



Imagen 1. Portada de las revistas TIME y LIFE del 15 de diciembre de 1967 en las que se publicó la noticia del primer trasplante de corazón a nivel mundial en Sudáfrica por el Dr. Christiaan Barnard.

Un hecho menos conocido es que al mismo tiempo que se extrajo el corazón de Denise Darvall (la primera donante del primer TC en el mundo) otro equipo de cirujanos extirpó el riñón derecho, se empaquetó en hielo y fue transportado al Hospital Kart Bremen, a más de 30 Km de distancia, donde fue trasplantado a un niño de diez años de edad. Este dato, con escasa relevancia en el contexto del primer TC mundial, supuso el primer precedente para efectuar extracciones multiorgánicas y practicar trasplantes a distancia.

Varios autores han intentado describir la posible repercusión de la DAC en el número de TC que podrían realizarse. Según diversos estudios, el uso de corazones procedentes de DA podría representar un aumento en la obtención de órganos de entre el 15-17% hasta en un 30 % si se adoptara ampliamente, con una reducción

estimada de la mortalidad en la lista de espera de un 40% (96). Según estimaciones previas en EE.UU. y Europa, la actividad de TC podría incrementarse hasta en un 50%. En España, este incremento podría ser de hasta un 10% sólo considerando donantes en asistolia controlada menores de 45 años sin presuntos antecedentes de cardiopatía (78). Messer et al. examinaron 3.073 donantes de DAC remitidos durante un periodo de 3 años en el Reino Unido y descubrieron que 149 (5%) eran donantes de corazón adecuados, lo que podría haber aumentado la actividad de trasplantes en un 30% (97). En EE.UU. y Australia, el trasplante de DAC podría aumentar la actividad de trasplantes entre un 4 y un 17% (98)(99). En general, el trasplante de DAC puede aumentar significativamente el volumen anual de trasplantes en muchos países, con la consiguiente reducción de la mortalidad en lista de espera.

La determinación de la muerte requiere la ausencia de circulación, no de función cardiaca, y una vez que la circulación cesa permanentemente, el donante estará muerto cuando su encéfalo se infarte. Por lo tanto, la extracción del corazón y el reinicio de su función en otro lugar no tiene impacto alguno en el estado de muerte del donante ni en la determinación de la irreversibilidad del proceso. En el año 2013 ya se publicó en *The Journal of Heart and Lung Transplantation* un trabajo el que se analizaba la viabilidad de corazones explantados tras parada circulatoria en un modelo porcino con esperanzadores resultados (76).

Recientemente existe una inquietud cada vez mayor sobre este tema en el mundo científico con la publicación de series de casos en humanos exitosas. La opción de donación cardíaca en asistolia ha sido posible ya en más de un centenar de casos de niños y adultos a nivel mundial con excelentes resultados, la serie más grande (79 pacientes) en Royal Papworth Hospital con un 97% de supervivencia a los 30 días (13). En la actualidad, existen programas clínicos de trasplante de corazón en DA en Reino Unido, Bélgica, Estados Unidos, Australia y España, realizando el primer TC en DA a finales de 2019 (79)(87).

La reintroducción de la DA de corazón en 2014 ofreció un aumento en la actividad de trasplantes de hasta un 48% según las series y diferentes centros (13). En España, la DA representó hasta el 42% de la actividad total de obtención de

órganos en 2022, un 38% más que el año anterior (véanse Figura 14 y Figura 15) (27). La PTAN permite la reperfusión *in situ* del corazón. En recientes estudios, se ha visto que la supervivencia es similar entre grupos de donantes con PTAN en comparación con aquellos órganos procedentes de donantes en ME (12). En 2012, Noterdaeme et al. publicaron un estudio unicéntrico en Bélgica en el que no hubo diferencia estadística significativa entre los donantes potenciales de corazón en asistolia y los donantes en ME que realmente donaron su corazón, con la excepción del uso de inotrópicos (100). Otro estudio unicéntrico similar es el de Messer et al. que estudiaron los resultados del TC de DA (2015-2017) comparándolo con una cohorte retrospectiva (2013-2017) en donantes en ME. La variable primaria de este estudio fue la supervivencia a los 90 días. Se realizaron veintiocho TC de DA durante el período de estudio de 25 meses. La supervivencia a los 90 días no fue significativamente diferente entre los receptores de trasplante en DA y ME emparejados (DA = 92 %, ME = 96 %; P = 1,0). La duración de la estancia hospitalaria, el número de rechazos tratados, la función del aloinjerto y la supervivencia durante el primer año fueron similares en ambos grupos. Se encontró que el GC inicialmente era mejor en el grupo de DA (P = 0,03). Cuando se compararon los métodos de recuperación del corazón en DA, no hubo diferencia en los resultados clínicos entre la obtención y perfusión directa y la PRN (101).

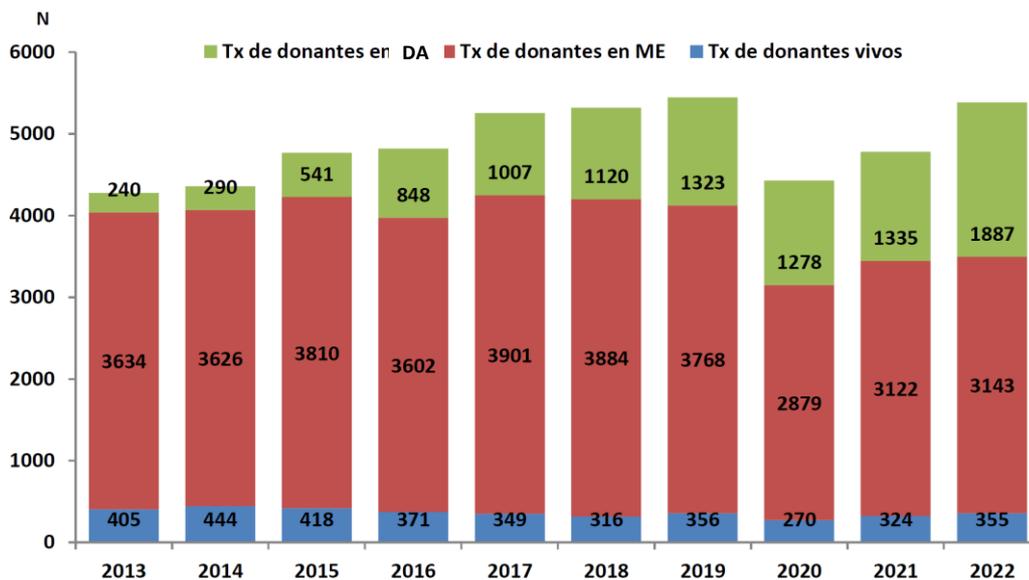


Figura 14. Evolución de la actividad trasplantadora en función del tipo de donante (números absolutos) en España entre 2013-2022. Fuente: Memoria de Actividad de Donación y Trasplante en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (27).

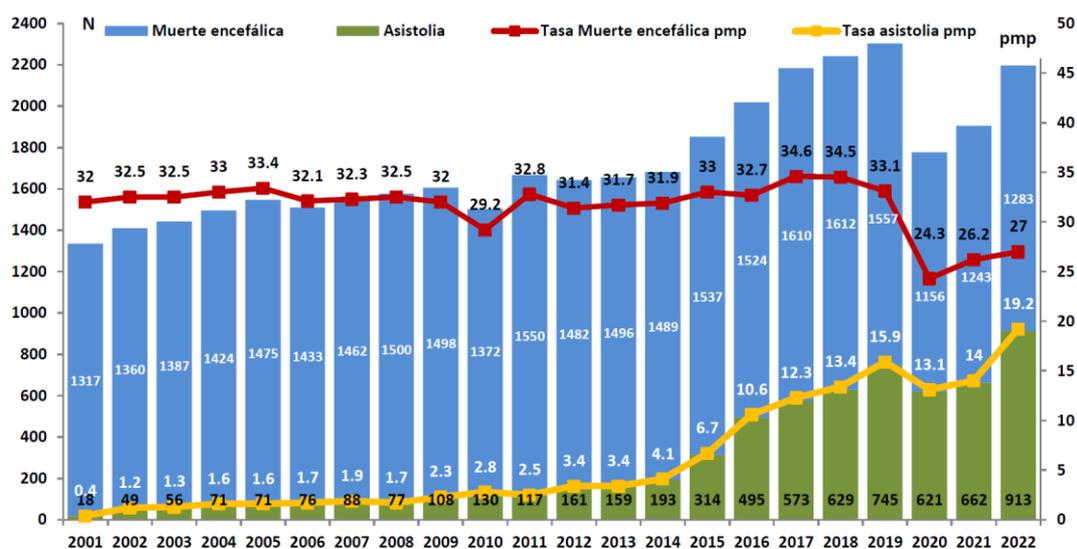


Figura 15. Número total y Tasa anual (pmp) de donantes de órganos según el tipo de donante en España entre los años 2001-2022. Fuente: Memoria de Actividad de Donación y Trasplante en España 2022. Organización Nacional de Trasplantes (27).

El trasplante de órganos procedentes de donantes en asistolia controlada tipo III de Maastricht se ha revelado como una de las mejores estrategias para aumentar la reserva de donantes en todo el mundo. El periodo de isquemia caliente del donante

inherente al proceso de DAC, relacionado con la progresión de la hipoxemia y la hipotensión tras la RTSV, puede dañar los órganos destinados al trasplante y, en particular, el hígado y el corazón, ya que las células biliares y miocárdicas son muy susceptibles a la isquemia caliente. Los corazones de donantes de DA sufren una lesión isquémica significativa antes de la obtención del órgano. El uso de PTAN restaura la función cardíaca, reduce la lesión miocárdica, suministra reservas energéticas y mantiene la homeostasis mediante la perfusión continua de sangre caliente. También permite evaluar la viabilidad del corazón y de los órganos abdominales para el trasplante antes de la extracción.

A día de hoy el TC de donantes en asistolia controlada puede considerarse una práctica no solo aceptable desde punto de vista ético y legal, sino también factible desde el punto de vista médico. No está, sin embargo, establecido en el corazón como en el resto de órganos, el tiempo de isquemia caliente y fría en el escenario de la donación en PCR (Tabla 8). La duración segura del periodo de almacenamiento isquémico en frío sigue siendo un reto y constituye el principal obstáculo para aumentar el uso de donantes de corazón no locales con almacenamiento en frío. El corazón es muy sensible a la isquemia, tanto fría como caliente y en general se ha determinado que los corazones procedentes de DAC vuelvan a perfundirse antes de 4 horas de isquemia fría, aunque son necesarios más estudios para determinar el límite superior de tolerancia del corazón procedente de DAC a la isquemia fría. Por otra parte, al contrario que en el proceso de donación tras ME, en la DA los órganos sufren un período de isquemia caliente entre la RTSV y la fase de asistolia o cese circulatorio y obtención del injerto cardíaco. En este contexto, emana la preocupación sobre la funcionalidad y calidad de ese injerto obtenido mediante DAC, ya que el grado lesión isquémica y el subsiguiente daño infligido por isquemia-reperfusión se correlaciona con el retraso en la función del injerto tras el trasplante. Resulta de vital importancia por este motivo establecer el punto exacto donde la función cardíaca se ve deteriorada y se incrementa el riesgo de DPI.

Entre todos los órganos sólidos, el pulmón es único en cuanto a la capacidad de la perfusión *ex situ* para reparar o mejorar la función del pulmón de un donante fallecido, ya que las células pulmonares pueden sobrevivir durante horas tras la

ausencia de circulación sanguínea oxigenada. Esta tolerancia a lesión isquémica caliente hace del pulmón un órgano privilegiado en el contexto de la DAC.

	Tiempo de isquemia caliente TOTAL	Tiempo de isquemia caliente funcional o verdadera	Tiempo de isquemia fría
<i>RIÑÓN</i>	45-60 min		24h
<i>HÍGADO</i>	30-45 min	20-30 min	8-10h
<i>PÁNCREAS</i>	45-60 min		18h
<i>PULMÓN</i>	60 min		

Tabla 8. Duración de los tiempos de isquemia caliente total, isquemia caliente funcional e isquemia fría por encima de la cual aumenta la frecuencia de complicaciones postrasplante para los diferentes órganos.

La determinación de ese punto temporal, ayudaría a los equipos de TC a la hora de la obtención de un injerto óptimo en los donantes tras asistolia. En este sentido, la localización de la RTSV puede tener un impacto en la duración de la isquemia caliente y, en última instancia, en los resultados postrasplante. Sin embargo, la ubicación y los procedimientos de RTSV deben desarrollarse de acuerdo con los protocolos locales, que hagan hincapié en la necesidad de garantizar la calidad de los cuidados y evitar el tratamiento excesivo o insuficiente del dolor y el sufrimiento (77).

El conocimiento de la franja temporal exacta que permita la obtención de un injerto cuya viabilidad sea óptima en los donantes en asistolia, ayudaría al perfeccionamiento de los tiempos quirúrgicos de extracción e implante cardiaco. Sin embargo, el tiempo exacto asociado con la lesión celular irreversible del miocardiocito es actualmente desconocido. Por ello, consideramos necesarios estudios que evalúen la viabilidad del corazón en PCR y los tiempos óptimos para su extracción e implante.

## 1.5. Bases bioquímicas y proceso de muerte celular.

Una característica general y esencial, que contribuye a la disminución del rendimiento contráctil en el miocardio dañado, está relacionada con la alteración de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  en el contexto de la disfunción mitocondrial en relación con la funcionalidad del retículo sarcoplasmático (RS). En este contexto, los flujos de  $\text{Ca}^{2+}$  que coordinan los procesos de contractilidad del miocardio están controlados por complejos multienzimáticos y bombas dependientes de energía entre las que se incluyen diferentes quinasas y fosfatasas, así como la enzima  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasa de RS (SERCA2a). La enzima SERCA2a es una bomba de  $\text{Ca}^{2+}$  cuya actividad depende de los niveles de ATP y de otras proteínas reguladoras entre las que se incluye el Fosfolambano (PLN); una proteína cuya actividad está determinada por su estado de fosforilación. La forma desfosforilada de PLN es capaz de interactuar con SERCA2a y bloquear el transporte de  $\text{Ca}^{2+}$  desde el citosol hasta el interior del RS, mientras que su fosforilación por la proteína quinasa A (PKA) o por la proteína  $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulina quinasa-II (CaMKII) induce una modificación estructural que hace que PLN no tenga afinidad de unión por SERCA2a permitiendo el bombeo de  $\text{Ca}^{2+}$  y por ende el aumento de la capacidad contráctil del miocardio. De hecho, alteraciones en la función reguladora que implica la regulación de la interacción entre SERCA2a y PLN se han identificado como importantes participantes en la disfunción cardíaca y en el remodelado tras el fallo cardíaco (102).

El papel fundamental del  $\text{Ca}^{2+}$  en la contracción muscular fue descubierto por primera vez hace un siglo por Ringer (1883), quien demostró que el corazón de una rana no podía contraerse en ausencia de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular. Desde entonces, se ha confirmado que el  $\text{Ca}^{2+}$  es un regulador fisiológico de los procesos de contracción, obtención de energía, supervivencia celular y otros procesos regulatorios. En este sentido, la alteración en la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  es una característica constante en procesos patológicos relacionados con la disfunción miocárdica entre los que se puede destacar la IC. El  $\text{Ca}^{2+}$  es también una molécula de señalización para muchos otros procesos celulares, incluida la supervivencia y la muerte celular. Como tal, la desregulación del manejo del  $\text{Ca}^{2+}$  observado en la IC, también está relacionada con el deterioro del rendimiento del músculo cardíaco y la viabilidad del tejido.

Los eventos que conducen finalmente a la disfunción cardíaca generalmente se inician tras una lesión del ventrículo (infarto de miocardio, isquemia, infección, enfermedad valvular...), activando los sistemas renina-angiotensina y nervioso simpático junto con la liberación de citoquinas (103). Estas, a su vez, pueden causar un daño directo a los cardiomiocitos dando como resultado: 1) la alteración de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$ ; 2) activación del proceso de muerte celular apoptótica con la activación de las caspasas -3 y -7; y 3) una pérdida gradual de la capacidad contráctil (Figura 16).

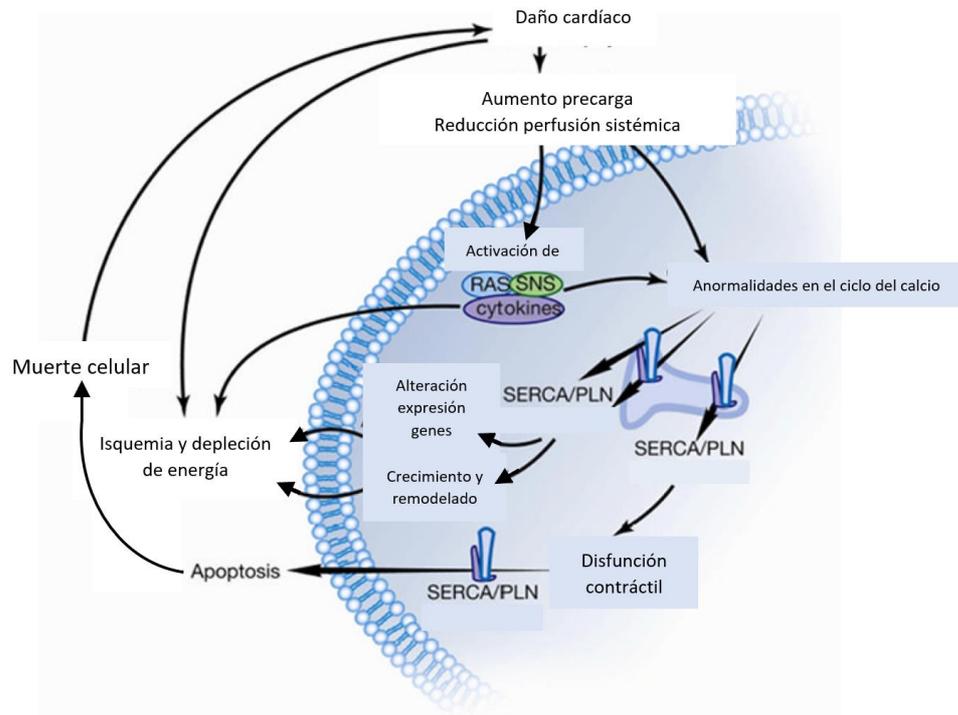


Figura 16. **Regulación del transporte de  $\text{Ca}^{2+}$  del RS por el complejo proteico multimérico SERCA/PLN.** Modificado de Kranias y Hajjar *Circ Res.* 2012 June 8; 110(12): 1646–1660 (103).

### 1.5.1. Regulación de la actividad de SERCA2a por PLN

La enzima SERCA es una proteína que está formada por una única cadena polipeptídica anclada en la membrana de forma asimétrica. El número de aminoácidos depende de la isoforma, pero en todos los casos es próximo a 1.000. La masa molecular es de aproximadamente 110 kDa. Hasta la fecha, se han encontrado tres isoformas siendo la isoforma SERCA2a la más abundante en músculo cardíaco y esquelético de contracción lenta. En el corazón, la actividad de la enzima SERCA2a controla tanto la tasa de extracción de  $\text{Ca}^{2+}$  del citosol como la carga de  $\text{Ca}^{2+}$  dentro

del RS, lo que representa un factor determinante para los procesos de relajación y contracción cardíaca. En la IC humana y en modelos experimentales de daño isquémico tras un infarto de miocardio, los niveles de expresión y actividad de la enzima SERCA2a se reducen de forma significativa, lo que se ha relacionado con alteraciones no solo de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en el interior del RS sino también con una disfunción contráctil (103).

En el tejido muscular cardíaco, la actividad enzimática de SERCA2a está regulada por una pequeña fosfoproteína comprendida por 52 aminoácidos llamada PLN. Se considera un regulador reversible de SERCA2a y, por ende, de la función cardíaca. El PLN desfosforilado es en realidad un inhibidor de SERCA2a. Su fosforilación mitiga esta inhibición, dando lugar a la aparición del concepto de estimulación inducida por fosforilación. Este hallazgo, junto con la identificación de una proteína fosfatasa asociada al RS cardíaco que puede desfosforilar PLN, ha llevado a la comprensión actual de PLN como un inhibidor reversible de la actividad de la enzima SERCA2a. PLN y sarcolipina (SLN) se unen a los dominios citosólicos y/o transmembrana de SERCA2a, con evidencia acumulada que sugiere que estas interacciones conducen a la inhibición de la afinidad de la bomba por el  $\text{Ca}^{2+}$ . PLN existe en equilibrio entre sus formas monomérica y pentamérica. El PLN monomérico es principalmente la unidad inhibidora activa que se une a SERCA2a cuando es desfosforilado por la enzima proteína fosfatasa 1 (PP1), mientras que el pentámero actúa como un reservorio de formas monoméricas. Algunos estudios indican que el PLN pentamérico aún puede interactuar con SERCA2a, pero no inhibirlo. SERCA2a unida a PLN monomérico tiene su afinidad reducida por el  $\text{Ca}^{2+}$ . La inhibición de SERCA2a por PLN resulta en la disminución de la carga de  $\text{Ca}^{2+}$  del RS, que está disponible para la liberación y la disminución de la fuerza de contracción. La fosforilación de PLN favorece la formación de pentámeros, aliviando la inhibición de SERCA2a, dando como resultado una mayor carga de  $\text{Ca}^{2+}$  en el RS y un aumento de la contractilidad.

El papel de PLN en la función cardíaca fue aclarado por la generación y caracterización de modelos animales alterados genéticamente. Gracias a estos estudios se profesa que la relación PLN/SERCA2a es un determinante crítico de contractilidad basal y que existen algunas bombas SERCA2a de repuesto que no son

funcionalmente inhibidas por PLN. El efecto general del PLN es disminuir la contractilidad y la tasa de relajación muscular, lo que reduce el volumen sistólico y la frecuencia cardíaca, respectivamente. En corazones que fallan, el ciclo de  $\text{Ca}^{2+}$  deprimido se ha asociado con la expresión reducida de SERCA2a y un aumento de la inhibición por PLN desfosforilado. Tal como se ha descrito anteriormente, PLN puede ser fosforilada por PKA y CAMKII y desfosforilada por la PP1, regulando de forma reversible SERCA2a y la contractilidad cardíaca. Existen estudios que han confirmado el papel de PLN como mediador crítico de los efectos estimulantes  $\beta$ -adrenérgicos, y cambios en su fosforilación se asociaron con alteraciones funcionales del RS cardíaco y su contractilidad (Figura 17). PLN ha demostrado ser un importante regulador de la actividad de SERCA2a y hasta ahora, es la única proteína asociada a SERCA2a directamente involucrada en el desarrollo de enfermedades cardíacas, incluida la IC. El papel destacado de PLN en la regulación del ciclo de  $\text{Ca}^{2+}$  y en el acoplamiento excitación-contracción fue todavía más amparado por la identificación de variantes genéticas naturales en el gen PLN humano. Se han reconocido varias mutaciones naturales identificadas en la región de codificación de PLN en pacientes con IC. Se ha identificado, por ejemplo, una mutación consistente en la eliminación del aminoácido 14 en PLN (mutación R14Del), desarrollándose en los portadores heterocigotos dilatación ventricular, disfunción, arritmias ventriculares episódicas y muerte a mediana edad. Curiosamente, esta mutación PLN está presente en el 15% de las cardiopatías dilatadas y en el 12% de las cardiopatías arritmogénicas del VD de pacientes holandeses (102).

La PKA es una familia de enzimas cuya actividad depende de los niveles celulares de AMP cíclico (AMPC), por lo que también se las conoce como proteínas quinasas dependientes de AMPC. La PKA tiene varias funciones en la célula, incluida la regulación del metabolismo del glucógeno, el azúcar y los lípidos. En una cascada mediada por un receptor acoplado a proteína G conocido como receptor adrenérgico  $\beta$ 1, activado por catecolaminas (en particular, norepinefrina o noradrenalina), la PKA se activa y fosforila numerosos objetivos: canales de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L, PLN, troponina I, proteína C de unión a miosina y canales de  $\text{K}^+$ . Esto aumenta la inotropía y la lusitropía (tasa de relajación del miocardio), aumentando la fuerza de contracción y

permitiendo que los músculos se relajen más rápido. Cuando el PLN es fosforilado por la PKA, se pierde su capacidad para inhibir a SERCA2a. Por lo tanto, los activadores de la PKA, como la adrenalina (liberada por estimulación simpática), pueden aumentar la tasa de relajación de los miocitos cardíacos.

En los últimos años el conocimiento sobre el complejo proteico PLN/SERCA2a se ha ampliado con la identificación de diferentes interacciones con otras proteínas. Estas proteínas incluyen a HS-1 asociada a la proteína X-1 (HAX1), la subunidad reguladora RGL de la fosfatasa PP1, la propia PP1, el inhibidor-1 y la chaperona Hsp20 (*Heat shock proteins* -Hsps- o proteínas de choque térmico). Además, PLN/SERCA2a interactúa con la llamada proteína fijadora de Ca<sup>2+</sup> rica en histidina (HRC por sus siglas en inglés *histidine-rich calcium binding protein*) en la luz del RS. La adecuada función cardíaca se mantiene a través de este conjunto de proteínas reguladoras del transporte de Ca<sup>2+</sup> en el RS, coordinando una delicada relación entre la absorción, almacenamiento y liberación de Ca<sup>2+</sup> en el RS, así como la supervivencia o muerte celular. Alteraciones en la actividad de cualquiera de estas piezas del engranaje puede contribuir a la depresión de la función cardíaca y la remodelación, especialmente en condiciones de estrés.

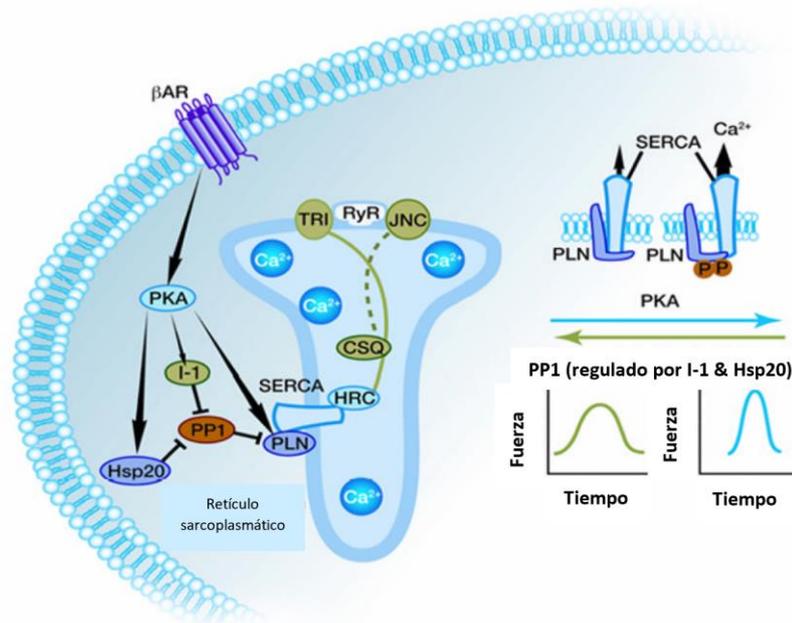


Figura 17. **Estimulación de receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la regulación de la actividad PLN/SERCA.** La activación de PKA da como resultado una mayor fosforilación de PLN, amplificando los efectos estimulantes  $\beta$ -adrenérgicos, favoreciendo el transporte de  $\text{Ca}^{2+}$  en el RS y la contractilidad. *Modificado de Kranias y Hajjar Circ Res. 2012 June 8; 110(12): 1646–1660 (103).*

### 1.5.2. Implicación de las mitocondrias y las caspasas en el proceso de muerte celular programada

Las mitocondrias juegan un papel central en la apoptosis. La permeabilización de la membrana externa mitocondrial conduce a la liberación de factores proapoptóticos como el citocromo c y el factor inductor de apoptosis. Además, se cree que la pérdida de potencial de membrana mitocondrial contribuye a la muerte celular por alteración de la función mitocondrial normal. Las mitocondrias de las células sometidas a apoptosis inducida por estrés pueden actuar como amplificadores de la actividad de las caspasas, al igual que en la apoptosis mediada por receptores de muerte.

Como en el resto de células, las mitocondrias desempeñan un papel fundamental en las vías de supervivencia y muerte de los cardiomiocitos (104)(105)(106). En este contexto, la muerte celular por apoptosis es la principal forma de daño miocárdico tras la PCR. En respuesta al daño isquémico, las proteínas proapoptóticas se liberan desde el espacio intermembrana de las mitocondrias al citosol; este proceso culmina con la activación de las caspasas efectoras 3 y 7 y la

degradación de los componentes celulares (107). El proceso requiere la permeabilización de la membrana externa mitocondrial, un evento que se considera el "punto de no retorno" durante la muerte celular (106). Además, los complejos II y IV de la cadena de transporte mitocondrial se han revelado como factores importantes en la inducción de la muerte celular por apoptosis (108)(109). Tras la permeabilización de la membrana externa mitocondrial, la célula está condenada a morir.

Las caspasas son una familia de enzimas perteneciente al grupo de las cisteína proteasas, también conocidas como tiol proteasas, caracterizadas por presentar un residuo de cisteína que media la ruptura de otras proteínas. Son mediadores esenciales de los procesos de apoptosis, la muerte celular programada. La familia de las caspasas está compuesta por 16 proteínas de las que 13 se corresponderían con proteínas humanas.

A pesar de que es probable que existan múltiples rutas para regular la función mitocondrial en la apoptosis, algunos estudios han demostrado que las caspasas 3 y 7 son cruciales para la apoptosis y contribuyen a algunos acontecimientos mitocondriales, como el control de la pérdida del potencial de membrana mitocondrial y la liberación del factor inductor de apoptosis (107). También pueden servir para amplificar la señal de muerte inicial ayudando a promover la liberación de citocromo c.

Se sabe que las mitocondrias cardíacas contribuyen a la lesión por reperfusión, y la mayor parte de la evidencia proviene de la literatura sobre el infarto agudo de miocardio. Wyss et al. (110) investigaron los efectos de la duración de la isquemia caliente global en las mitocondrias cardíacas y la recuperación funcional cardíaca. Sometieron a corazones de rata a períodos de isquemia caliente de 0/21/24/27/30/33 min seguidos de 60 min de reperfusión. La recuperación funcional se determinó a los 60 min de reperfusión, mientras que la integridad mitocondrial se midió a los 10 min de reperfusión. La disfunción mitocondrial ocurrió con períodos más cortos de isquemia que la disfunción cardíaca y hubo una fuerte correlación positiva entre la disfunción mitocondrial durante la reperfusión temprana y la disfunción cardíaca postisquémica. El estudio también concluyó que

los parámetros mitocondriales son predictores potenciales de recuperación postisquémica tardía y pueden ser de gran valor para la evaluación de los injertos cardíacos. Otra observación importante fue que, en general, los corazones demostraron una tolerancia relativamente buena a períodos de isquemia caliente menores de 27 min (110) (111).

## 2. HIPÓTESIS

Hipótesis principal: existe un tiempo de isquemia caliente determinado, a partir del cual el miocardiocito experimentaría un deterioro irreversible que afectaría directamente a la viabilidad del órgano.

Hipótesis secundaria: los marcadores bioquímicos e histológicos implicados en el proceso de degradación celular pueden ayudar a determinar el tiempo de isquemia caliente crítico y, por tanto, determinar un período válido y seguro para la extracción del corazón en el trasplante cardíaco en asistolia.

### 3. OBJETIVOS

De acuerdo con las consideraciones anteriormente referidas, nos propusimos los objetivos siguientes:

Objetivo principal: analizar el proceso de degradación y muerte celular en la parada circulatoria desde el punto de vista bioquímico y relacionarlo temporalmente para identificar el momento en el que se produce la lesión irreversible del miocardiocito.

Objetivo secundario: determinar el tiempo crítico de isquemia caliente en el trasplante cardíaco basándonos en una monitorización estrecha *in vivo* de los cambios bioquímicos que experimentan los miocardiocitos durante el proceso de DA de órganos abdominales y pulmones.

## **4. MÉTODOS**

### **4.1. Diseño del estudio**

Se trata de un estudio unicéntrico y prospectivo realizado en un hospital terciario de referencia en la región (Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca). Este estudio tiene como objetivo determinar el punto crítico de tiempo de isquemia caliente basado en cambios bioquímicos *in vivo*. Se sometió a donantes en asistolia no cardíacos (donantes de órganos intraabdominales y/o pulmones), sin enfermedad cardiovascular conocida, a biopsias endomiocárdicas seriadas inmediatamente antes de retirar la terapia de soporte vital, en situación de parada circulatoria y cada 2 min a partir de entonces. Las muestras se procesaron en grupos representativos para evaluar la homeostasis del calcio, la función mitocondrial y la viabilidad celular.

### **4.2. Ámbito**

El estudio se llevó a cabo en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, hospital terciario y centro de referencia de trasplantes en la región de Murcia. En el desarrollo del presente estudio trabajaron conjuntamente intensivistas, cardiólogos y bioquímicos. Se contó con la colaboración del Biobanco del IMIB para el almacenamiento de las muestras obtenidas.

### **4.3. Población de estudio**

Todos los donantes en asistolia tipo III consecutivos fueron evaluados durante 24 meses, de junio de 2017 a junio de 2019. Los pacientes que cumplieron con todos los siguientes criterios de inclusión fueron incluidos en el estudio: edad de 18 a 75 años, sin cardiopatía estructural (evaluada por ecocardiografía en el momento de la donación), y consentimiento informado firmado (proporcionado a los representantes legales) (Anexo 8).

### **4.4. Aspectos éticos**

El objetivo fundamental de un programa DA es aumentar el número de órganos para trasplante, dado que la lista de espera de pacientes para ser trasplantados aumenta y no así el número de donaciones. El valor social de la donación de órganos justifica los esfuerzos del personal sanitario y el coste económico que conlleva, ya

que el éxito del programa puede beneficiar a aquellos pacientes que necesitan un trasplante.

La solicitud de donación de órganos, sustentada en los principios éticos, debe considerarse un aspecto más de la planificación de los cuidados al final de la vida. Desde la "Ética Consecuencialista" (que es la base de nuestra actividad rutinaria de donación- trasplante) debemos atender al principio de utilidad (Ética utilitarista): "una acción es éticamente mejor que otra si consigue mayor beneficio para el mayor número de personas". Desde la óptica de este principio se justifica que todos seamos donantes potenciales.

Los valores éticos en los que se basa el Proceso de Donación son:

- La obtención de órganos para trasplante es un imperativo ético, porque permite salvar vidas o, como mínimo, mejorar la calidad de vida de los receptores.

- Se basa en la solidaridad como valor social y se respalda en la ética consecuencialista o utilitarista, que busca el mayor beneficio para el mayor número de personas.

- La donación de órganos debe ser una rutina en los cuidados y tratamientos al final de la vida, incrementando la calidad de los mismos.

- El derecho a decidir, o el principio de autonomía del donante, debe ser respetado y se ve reforzado si se realizan todos los esfuerzos por conseguir la obtención de los órganos en las mejores condiciones posibles ("el mejor interés del donante"). Si no nos planteamos esta opción, este "derecho del paciente" quedaría vulnerado y entraría en conflicto con el beneficio del donante (justificado por la autonomía).

- Todo el proceso debe realizarse garantizando la dignidad en el proceso de morir. Ha de procurarse que la aplicación del protocolo no aumente la incomodidad del paciente o familiares, evitar en lo posible la instrumentalización del final de la vida, promover el acompañamiento de los familiares y administrar sedoanalgesia suficiente que garantice el confort del paciente.

Se han planteado inquietudes éticas sobre el uso de la PRN y las intervenciones *ante mortem* en el proceso de DA, incluida la posibilidad de restablecer la circulación cerebral, lo que invalidaría retroactivamente la muerte basada en criterios circulatorios.

Una reciente Declaración Internacional Colaborativa sobre DA controlada concluyó que reanudar la actividad del corazón en el cuerpo del donante no invalida la definición de muerte cuando se excluye la perfusión cerebral, y la PTAN puede considerarse permisible (78).

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica del hospital (Exp 2016-2-13-HCUVA) (Anexo 7). Se ofreció a los familiares de cada paciente incluido en el protocolo de DA tipo III de Maastricht la participación en el estudio y se les entregó los consentimientos informados de extracción de muestras de donante cadáver y del almacenamiento de muestras en el biobanco (Anexo 8).

El procedimiento de DA siguió el protocolo institucional y nacional según la legislación en España (Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y Garantía de los Derechos Digitales, BOE n.º 294). El protocolo de DA se inicia con el traslado del paciente a quirófano y la retirada allí de las medidas de soporte vital. La recogida de muestras para el estudio se realizó en quirófano por este motivo, en paralelo al proceso de retirada de medidas y posterior parada circulatoria.

La PCR se define como el cese circulatorio con asistolia mecánica (pérdida del pulso femoral). Legalmente es necesario un período mínimo de observación de 5 min para poder certificar la muerte. En todos los donantes, se realizaron biopsias endomiocárdicas inmediatamente antes de la RTSV, en el momento de la PCR, y cada 2 min a partir de entonces durante los próximos 30 min. La recolección de muestras no interfirió con el proceso normal de DA.

#### **4.5. Recogida y procesamiento de muestras cardíacas**

La recogida de biopsias humanas se realizó en quirófano usando un catéter con un introductor de 7-Fr con la ayuda de una guía de 43 cm insertados en la vena

yugular interna y colocado en el ápex del VD antes de la retirada de la ventilación mecánica invasiva. Para garantizar la colocación adecuada del catéter, se observaron las curvas de presión y se utilizó la visualización directa a través de ecocardiografía para guiar todo el procedimiento con éxito. Para obtener las muestras (preferiblemente del tabique del VD) se utilizaron unas pinzas para biopsia de 50 cm (Cardinal Health, Inc.). Se realizó la recogida de una primera muestra de tejido endomiocárdico basal y posteriormente fueron extraídas biopsias cardiacas en el periodo peri y postparada circulatoria por parte de un intensivista cualificado, entrenado, familiarizado con el procedimiento y siguiendo la técnica habitual, a intervalos de 2 min hasta llegar a los 30 min. De forma específica, en cada período de tiempo se extrajeron 2 muestras de tejido que se almacenaron de forma inmediata en nitrógeno líquido para su análisis posterior. Estas muestras fueron identificadas y almacenadas en nuestro Biobanco en red. Paralelamente, se anotó en la ficha del paciente, el tiempo y condición de extracción de cada una de las muestras. Se extrajeron también tres muestras de sangre en tres momentos diferentes del proceso y varias muestras para anatomía patológica que se introdujeron en botes de formol para su conservación y posterior procesamiento, pero finalmente ambas se desecharon como parte del estudio y fueron almacenados en el biobanco para análisis futuros.

Brevemente, en el protocolo de DA se recogieron todos los tiempos incluidos en el proceso, es decir, el momento de la RTSV, periodo hasta la parada circulatoria, los 5 min posteriores necesarios para certificar el exitus y en los tiempos de canulación e isquemia fría. Tal como se ha descrito anteriormente, las muestras de tejido fueron inmediatamente sumergidas en nitrógeno líquido y posteriormente almacenadas en nuestro biobanco en red en nitrógeno líquido hasta su análisis (Red de Biobancos de la Región de Murcia, BIOBANC-MUR, inscrito en el Registro Nacional de Biobancos con el número de registro B.0000859. BIOBANC-MUR cuenta con el apoyo del Instituto de Salud Carlos III, PT20/00109). En este contexto, y dado el tamaño de cada uno de los explantes recogidos a cada tiempo, el estudio se realizó agrupando los explantes aislados de forma progresiva en intervalos continuos de 5 min con el objetivo de poder valorar la capacidad contráctil del miocardio.

## 4.6. Procesamiento de los explantes cardíacos

Para su análisis, las muestras almacenadas en nuestro biobanco inicialmente fueron descongeladas en cámara fría a 4°C y agrupadas en intervalos continuos de 5 min, con el objetivo de asegurar una cantidad suficiente de muestra para poder realizar los ensayos que aquí se describen. En este contexto, los tejidos se homogeneizaron mecánicamente en nitrógeno líquido antes de su re-suspensión en un tampón compuesto por: Tris-HCl 20 mM pH 8,0, NaCl 150 mM, EDTA 2 mM, EGTA 2 mM, glicerol al 10 % [v/v], SDS al 0,1 % [p/v], NP-40 al 1 % [v/v], y 1% [p/v] deoxicolato de sodio; suplementado con un cóctel de inhibidores de proteasas y de fosfatasa. El homogeneizado se mantuvo en baño de hielo durante 20 min antes de ser centrifugado a 16100 ×g durante 20 min a 4°C. A continuación, el sobrenadante se recogió y la concentración de proteína total se calculó mediante la técnica colorimétrica del ácido bicinónico (BCA) (112) usando un espectrofotómetro Clariostar (Abs: 562 nm).

## 4.7. Estudio de la capacidad contráctil de los explantes y análisis de los datos obtenidos

### 4.7.1. Electroforesis en geles de acrilamida y transferencia Western

Dada la limitación del tamaño muestral obtenido, el estudio de la homeostasis del Ca<sup>2+</sup> se realizó estudiando por una parte el estado de fosforilación de la enzima PKA y por otro el estado de activación/fosforilación de la enzima reguladora de la bomba SERCA2a, PLN. Para ello, extractos de proteína total aislados y procesados tal como se ha descrito previamente (20 ug) fueron separados por electroforesis SDS-PAGE, transferidas a una membrana de fluoruro de polivinilideno (PVDF), y finalmente hibridadas durante toda la noche con anticuerpos primarios para GADPH (Merck, 8795,1:5000), Fosfo-Thr<sup>197</sup>/PKA (tecnología de señalización celular 4781, 1:1000), PKA (tecnología de señalización celular, 4782,1:1000), y fosfo-Ser<sup>16</sup>/PLN (Badrilla, A010-12AP, 1:3000). Las bandas específicas para cada proteína fueron visualizadas utilizando el reactivo ECL plus quimio-luminiscente (Amersham-Reactivo de detección de transferencia Western ECLTM Primer [GE Healthcare] [RPN2232]) en un sistema ChemiDoc XRS+ y utilizando el software *Image Lab* de Bio-Rad Laboratorios.

#### 4.7.2. Activación de la muerte celular por apoptosis

En este trabajo, la activación de la muerte celular por apoptosis de las células del miocardio se cuantificó con el kit comercial Caspase-Glo® 3/7 (Promega; G8093). Este ensayo permitió cuantificar células miocárdicas en los inicios de activación de apoptosis. El protocolo consistió en añadir a un total de 100 µg de proteína total de cada extracto aislado y procesado según se ha descrito anteriormente en placas de 96 pocillos con un sustrato luminogénico específico para las caspasas 3 y 7. Tras 90 min de incubación a temperatura ambiente, la rotura del sustrato por acción de las caspasas y, en consecuencia, la intensidad de la señal luminiscente se cuantificó en el luminómetro FLUOstar OPTIMA (MBG Labtech). De forma específica, la actividad se representó respecto al ensayo control (antes de la PCR).

#### 4.7.3. Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo describiendo las variables en las tablas mediante media  $\pm$  error estándar o frecuencia (%), según fuese apropiado.

La evolución de cada biomarcador a lo largo del tiempo se representa en diagramas de espagueti (cada línea muestra un paciente). Medias con error estándar se muestran como puntos con barras de error para cada período de tiempo. Un modelo mixto lineal se ajustó para cada variable, considerando el tiempo como covariable categórica (efectos fijos) así como la intercepción, que varía de un paciente a otro (efectos aleatorios). Se eligió este tipo de modelo estadístico porque se encontraron valores de medidas repetidos en los diferentes donantes. Los modelos lineales mixtos amplían el modelo lineal general de manera que los datos puedan presentar variabilidad correlacionada y no constante. El modelo lineal mixto proporciona, por tanto, la flexibilidad necesaria para modelar no sólo las medias sino también las varianzas y covarianzas de los datos. La variable dependiente debe ser cuantitativa. Los factores deben ser categóricos y pueden tener valores numéricos o valores de cadena. Las covariables y la variable de ponderación deben ser cuantitativas. Las variables de sujetos y repetidas pueden ser de cualquier tipo. Se supone que la variable dependiente está relacionada linealmente con los factores fijos, los factores aleatorios y las covariables. Los efectos fijos modelan la media de la variable dependiente. Los efectos aleatorios modelan la estructura de las covarianzas de la variable dependiente. Las medidas repetidas modelan la

estructura de las covarianzas de los residuos. Se asume además que la variable dependiente procede de una distribución normal. El mismo modelo se usó para el análisis de sensibilidad, donde el tiempo desde la RTSV hasta la parada circulatoria (por encima o por debajo de la mediana de tiempo, 9 min) se incluyó como covariable.

Las estimaciones se destacan (\*\*\*) a partir de la primera significativa en cada parcela. Los análisis de datos y los gráficos se realizaron utilizando el software estadístico R, versión 4.0.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Características de la población

De un total de 56 donantes en asistolia controlada tipo III de Maastricht que fueron atendidos durante el período de reclutamiento del estudio, 26 sujetos no cumplieron con los criterios de inclusión. De los 30 donantes que sí cumplieron los criterios, 14 fueron excluidos por las razones que a continuación se detallan: 1) negativa familiar (n = 2); 2) logística o problemas técnicos en el momento del aislamiento de las muestras y/o su procesamiento (n = 12). La población final de nuestro estudio estuvo compuesta por 16 donantes en asistolia controlada tipo III de Maastricht. Las características de la cohorte de donantes se muestran en la Tabla 9. Para la mayoría de los donantes, la causa de adecuación de la terapia de soporte vital fue la hemorragia intracraneal. La mediana de tiempo desde la RTSV hasta la PCR fue de 9 min (percentil 25-75: 7-13 min; rango: 4-19 min). En la Figura 18 se muestra el tiempo que tardó cada uno de los donantes incluidos en el estudio en alcanzar la PCR desde el momento en que se llevó a cabo la RTSV en relación con la mediana. Se produjo hipoperfusión (considerada como caída de la presión arterial sistólica <60 mmHg) en una mediana de 5,5 min antes de la PCR.

Variable	n = 16
<b>Mujeres</b>	4 (25,0)
<b>Edad, años</b>	63,3 ± 11,7
<b>Índice de Masa Corporal</b>	27,0 ± 4,2
<b>Superficie corporal</b>	19,0 ± 0,2
<b>Comorbilidades</b>	
Hipertensión arterial esencial crónica	10 (62,5)
Diabetes Mellitus	6 (37,5)
Dislipemia	4 (25,0)
Enfermedad Renal Crónica	0 (0,0)
Fracaso Renal Agudo	4 (25,0)
Tabaquismo	1 (6,2)
<b>Motivo de adecuación de la terapia de soporte vital</b>	
Hemorragia intracraneal	10 (61,4)
Ictus isquémico	2 (12,5)
Traumatismo craneoencefálico	1 (6,2)
Encefalopatía anóxica cerebral	3 (18,6)
<b>Duración de terapia de soporte vital, días</b>	9,0 (4,3 - 11,5)
Ventilación mecánica, n (%)	16 (100)
Catecolaminas, n (%)	8 (50)
<b>Duración de estancia en UCI, días (mediana [IQR])</b>	9,00 [4,25; 11,50]
<b>Duración ventilación mecánica, días (mediana [IQR])</b>	9,00 [4,25; 11,50]
<b>Tiempo entre la retirada de las medidas de soporte vital hasta la parada cardiocirculatoria, min</b>	9,0 (7,0 - 13,0)
<b>Tiempo entre Tensión Arterial Sistólica &lt; 60 mmHg hasta la parada cardiocirculatoria, min</b>	5,5 (3,8 - 7,0)
<b>Muestras endomiocárdicas por paciente, n</b>	30,5 (24,8 - 35,0)

\*Los datos están expresados como n = número (%), mediana (percentiles 25-75) y mediana ± desviación estándar.

Tabla 9. Características clínicas de los donantes en asistolia tipo III de Maastricht de la cohorte del estudio.

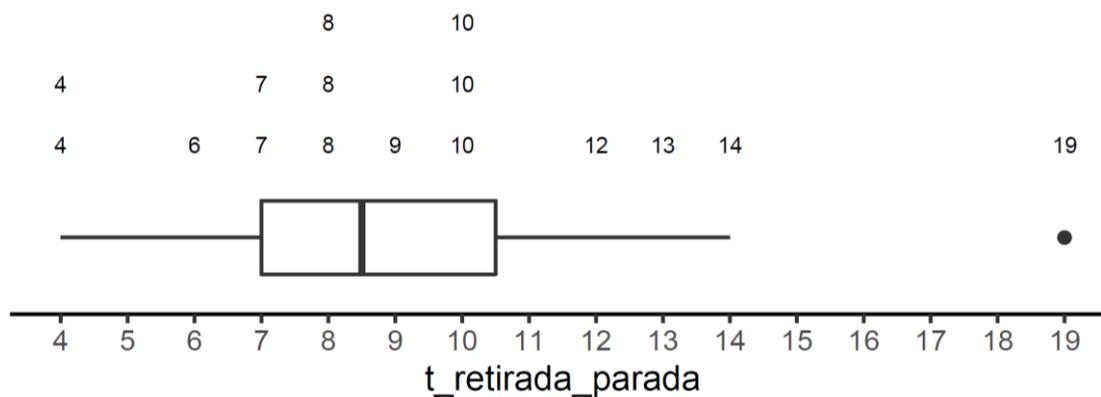
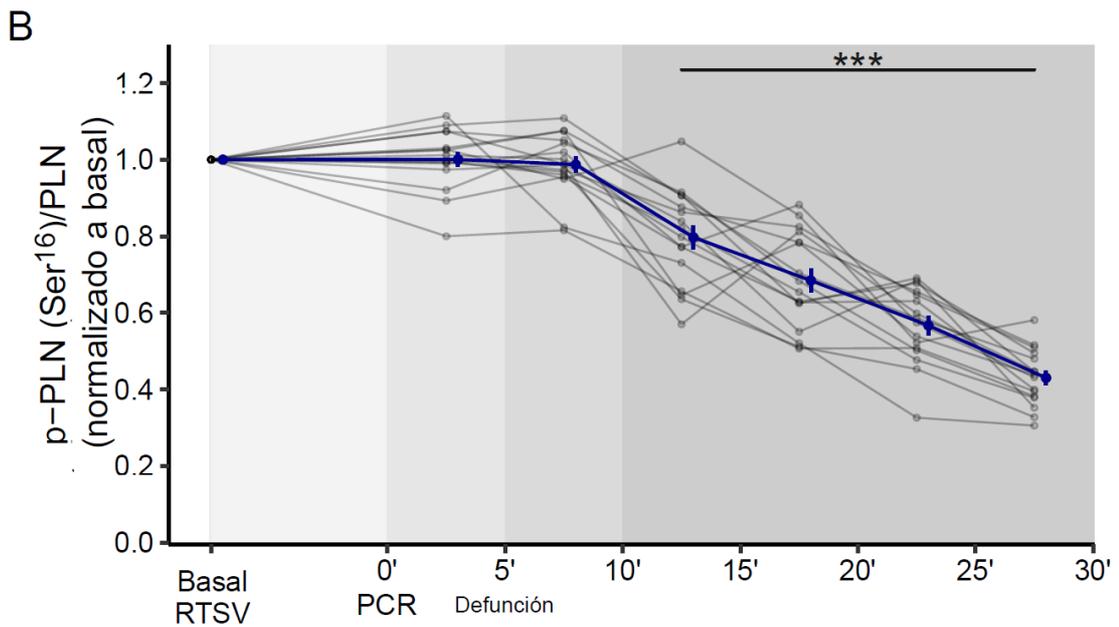
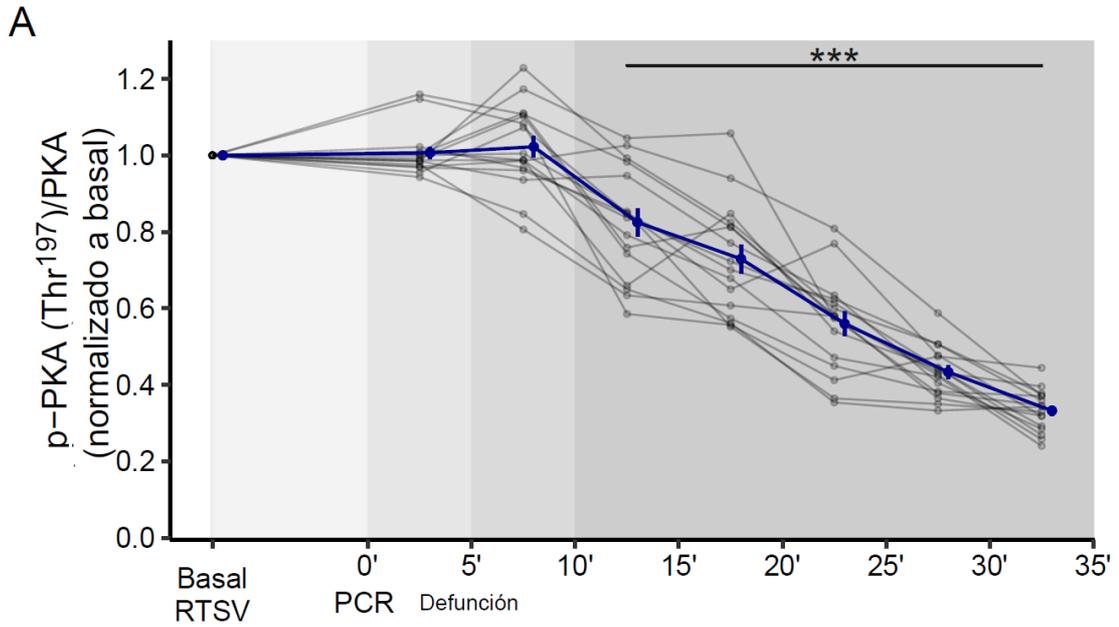


Figura 18. Tiempo de duración de cada donante en sufrir la PCR (parada cardiocirculatoria) desde la RTSV (retirada de tratamiento de soporte vital) en relación con la mediana.

## 5.2. Contractilidad cardíaca

En una primera aproximación, y con el objetivo de estudiar la viabilidad del miocardio en términos de contractilidad, evaluamos la activación funcional de la enzima PKA en las muestras de tejido aisladas y procesadas por Western blot (Figura 19 y Anexo 2). Tal como se observa, aunque la acumulación de la forma fosforilada de la enzima PKA sobre su residuo activo Thr<sup>197</sup> fue similar a la obtenida a nivel basal (antes de la RTSV) durante los primeros 10 min tras la PCR (panel A), sus niveles disminuyeron de forma significativa a partir de los 10 min de la PCR ( $p < 0,001$ ). A continuación, y con el objetivo global de evaluar el estado de activación de enzimas clave en el proceso de contractilidad del miocardio, procedimos a estudiar los niveles de acumulación de la forma fosforilada de la enzima PLN (una proteína reguladora de la enzima SERCA2a) en el miocardio aislado y procesado. En este contexto, y tal como se observa en la Figura 19 (panel B) el estado de fosforilación de PLN sobre el residuo de Ser<sup>16</sup>, disminuyó de forma significativa tras 10 min de la PCR en comparación con el estado de fosforilación evaluado a nivel basal. Cuando evaluamos el estado de PLN en su forma monomérica (forma no fosforilada total) el nivel de acumulación fue incrementando de forma significativa a partir de los 10 min de la parada (Anexo 2, panel B).

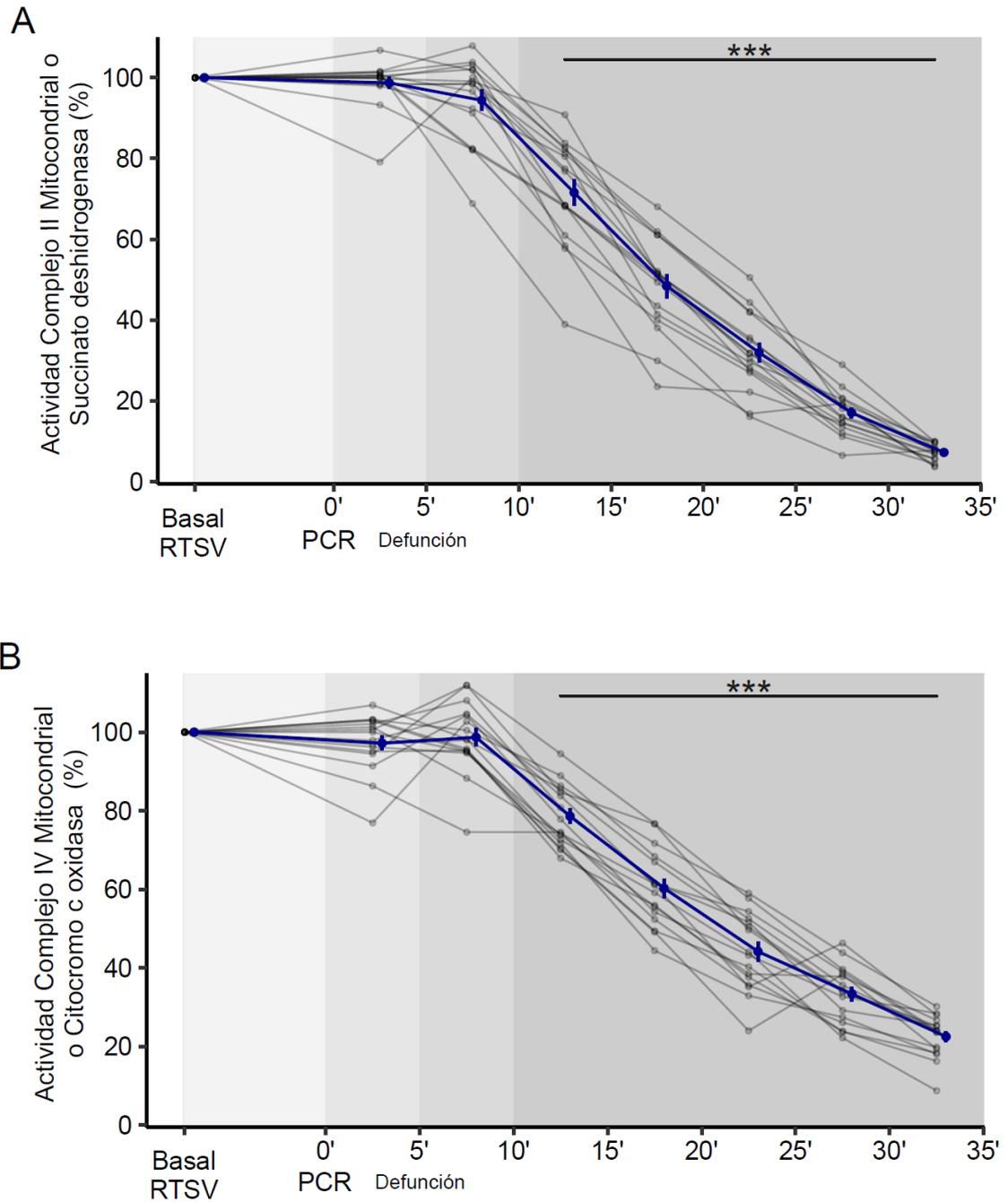


\* Los datos se muestran como media  $\pm$  DE. \*\*\* $p < 0,001$ , en comparación con el valor basal de ese paciente. PCR: parada cardiocirculatoria; PKA: proteína quinasa A; PLN: fosfolamban; Ser: Serina; Thr: treonina; RTSV: retirada del tratamiento/terapia de soporte vital.

Figura 19. **Cambios temporales del estado de la PKA y del PLN.** (A) Niveles de fosforilación de PKA en relación con el total de PKA expresada en el miocardio. (B) Niveles de fosforilación de PLN en relación con el total de PLN expresado en el miocardio.

### 5.3. Función mitocondrial

A continuación, y con el objetivo de valorar la capacidad de generación de energía del miocardio aislado, procedimos a estudiar las actividades de los complejos multienzimáticos II y IV, de la cadena de transporte de electrones mitocondrial (Figura 20). En comparación con el valor de actividad obtenido a nivel basal, las actividades de ambos complejos permanecieron inalteradas hasta los 10 min de la PCR. Como se muestra en el panel A de la Figura 20, la actividad del complejo II disminuyó de forma tiempo-dependiente a partir de los 10 min de la parada. De forma similar, la actividad del complejo IV inició un descenso que fue tiempo-dependiente desde los 10 min hasta al menos 30 min después de la parada (Figura 20, panel B). Un resultado similar se obtuvo cuando estudiamos las actividades conjuntas de ambos complejos, que disminuyeron de forma significativa a partir de los 10 min.

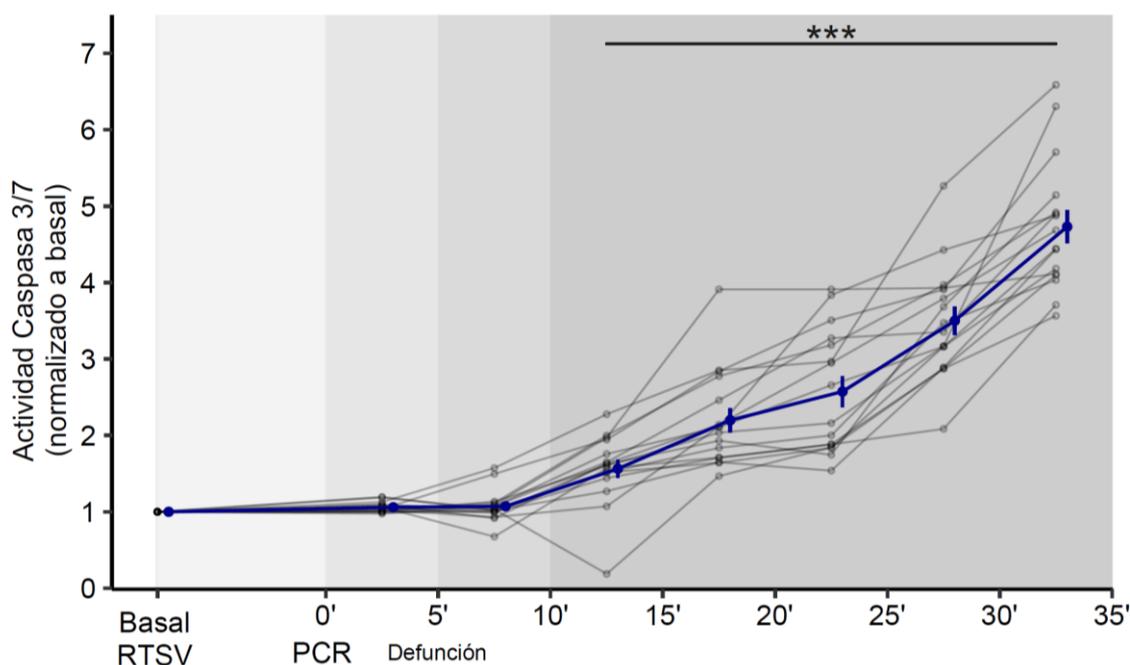


\* Los datos se muestran como media  $\pm$  DE. \*\*\* $p < 0,001$ , en comparación con el valor basal. PCR: parada cardiocirculatoria; RTSV: retirada del tratamiento/terapia de soporte vital.

Figura 20. **Cambios temporales en los complejos mitocondriales II y IV.** (A) Actividad del complejo II o Succinato deshidrogenasa. (B) Actividad del complejo IV o Citocromo c oxidasa.

## 5.4. Muerte celular apoptótica

La activación del proceso de muerte por apoptosis se evaluó midiendo la actividad caspasa 3/7 (Figura 21). Mientras que la actividad caspasa 3/7 permaneció inalterada hasta los 10 min de la PCR, aumentó de forma significativa y dependiente del tiempo desde los 11 min hasta al menos los 30 min de la parada.



\* Los datos se muestran como media  $\pm$  DE. \*\*\* $p < 0,001$ , en comparación con el valor basal. PCR: parada cardiocirculatoria; RTSV: retirada del tratamiento/terapia de soporte vital.

Figura 21. Cambios temporales en actividad de la caspasa 3/7 como marcador de muerte apoptótica.

## 5.5. Análisis de sensibilidad basado en diferencias en el período entre la retirada de medidas de soporte vital y la parada cardiocirculatoria

Finalmente, procedimos a realizar un análisis de sensibilidad analizando las muestras de donantes cuyos tiempos de RTSV hasta la PCR estaban por encima y por debajo del tiempo medio (9 min) por separado (Tabla 10). En este análisis, no encontramos diferencias entre los sujetos con tiempos menores (4-8 min) y más largos (9-19 min) en términos de contractilidad cardíaca, disfunción mitocondrial o muerte celular apoptótica (Figura 22).

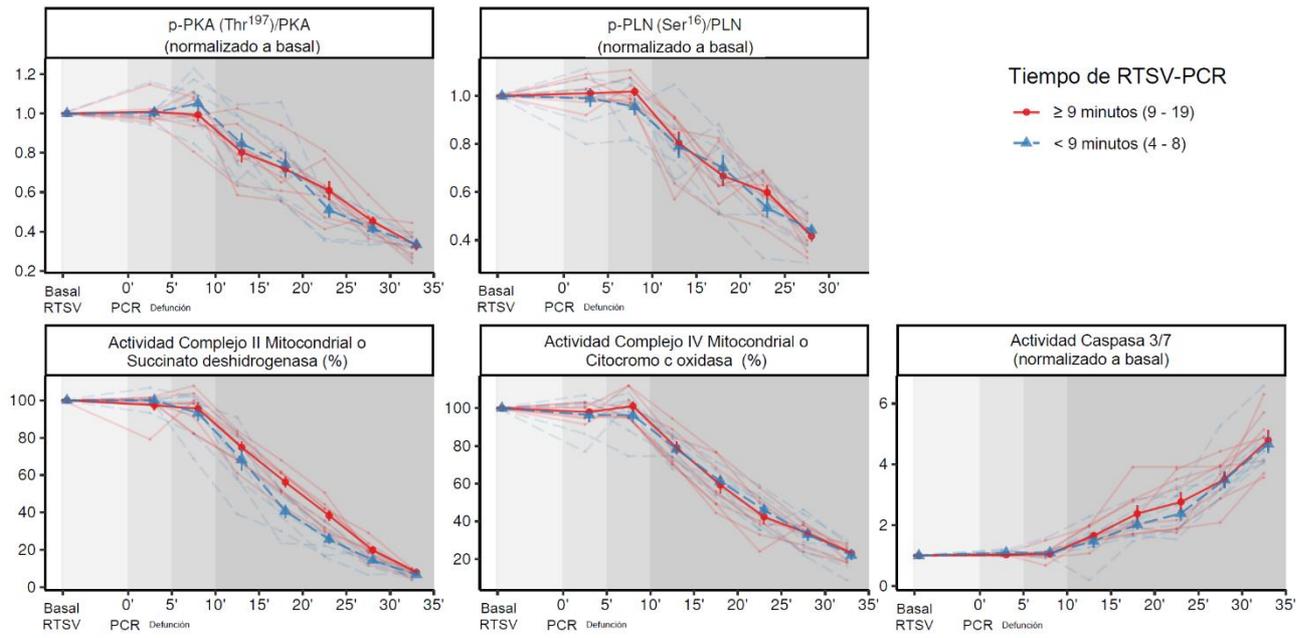


Figura 22. Análisis de sensibilidad utilizando los tiempos entre la RTSV (retirada de terapia de soporte vital) y la PCR (parada cardiocirculatoria) por debajo (círculo) y por encima (triángulo) del valor medio (9 min) para todos los parámetros estudiados.

<i>Variable</i>	<i>Contraste</i>	<i>Media ± error estándar</i>	<i>Valor de p</i>
<i>p</i> -PKA ( <i>Thr</i> <sup>197</sup> )/PKA	(0-5) - Basal	0.01±0.03	0.998
	(6-10) - Basal	0.02±0.03	0.929
	(11-15) - Basal	-0.18±0.03	<0.001 ***
	(16-20) - Basal	-0.27±0.03	<0.001 ***
	(21-25) - Basal	-0.44±0.03	<0.001 ***
	(26-30) - Basal	-0.57±0.03	<0.001 ***
	(31-35) - Basal	-0.67±0.03	<0.001 ***
<i>p</i> -PLN ( <i>Ser</i> <sup>16</sup> )/PLN	(0-5) - Basal	0±0.03	1.000
	(6-10) - Basal	-0.01±0.03	0.979
	(11-15) - Basal	-0.2±0.03	<0.001 ***
	(16-20) - Basal	-0.32±0.03	<0.001 ***
	(21-25) - Basal	-0.43±0.03	<0.001 ***
	(26-30) - Basal	-0.57±0.03	<0.001 ***
	(31-35) - Basal	-0.63±0.03	<0.001 ***
<i>Actividad del Complejo Mitocondrial II (%)</i>	(0-5) - Basal	-1.29±2.59	0.974
	(6-10) - Basal	-5.6±2.59	0.166
	(11-15) - Basal	-28.45±2.59	<0.001 ***
	(16-20) - Basal	-51.56±2.59	<0.001 ***
	(21-25) - Basal	-68.07±2.59	<0.001 ***
	(26-30) - Basal	-82.93±2.59	<0.001 ***
	(31-35) - Basal	-92.76±2.59	<0.001 ***
<i>Actividad del Complejo Mitocondrial IV (%)</i>	(0-5) - Basal	-2.79±2.3	0.685
	(6-10) - Basal	-1.31±2.3	0.962
	(11-15) - Basal	-21.39±2.3	<0.001 ***
	(16-20) - Basal	-39.71±2.3	<0.001 ***
	(21-25) - Basal	-55.83±2.3	<0.001 ***
	(26-30) - Basal	-66.64±2.3	<0.001 ***
	(31-35) - Basal	-77.51±2.3	<0.001 ***
<i>Actividad Caspasa 3/7</i>	(0-5) - Basal	0.06±0.17	0.991
	(6-10) - Basal	0.07±0.17	0.983
	(11-15) - Basal	0.56±0.17	0.006 **
	(16-20) - Basal	1.2±0.17	<0.001 ***
	(21-25) - Basal	1.57±0.17	<0.001 ***
	(26-30) - Basal	2.5±0.17	<0.001 ***
	(31-35) - Basal	3.73±0.17	<0.001 ***

\* PKA: proteína quinasa A; PLN: fosfolamban; Thr: treonina; Ser: Serina.

Tabla 10. Modelo lineal mixto para medidas seriadas en cada parámetro estudiado referido a los datos mostrados en las figuras 19-22.

## 6. DISCUSIÓN

La IC presenta una incidencia y una prevalencia elevadas en los países desarrollados, suponiendo una disminución de la calidad de vida y una de las principales causas de muerte. El número de pacientes que padece esta patología es cada vez mayor debido al creciente aumento de la esperanza de vida y, por lo tanto, al envejecimiento de la población. Los diversos tratamientos utilizados para la IC, como determinados fármacos, dispositivos implantables y asistencias mecánicas circulatorias temporales y definitivas, han demostrado mejorar la supervivencia de estos pacientes y se emplean de forma frecuente. No obstante, existen opciones limitadas para el tratamiento de la IC terminal. La asistencia circulatoria mecánica y el trasplante se plantean cuando no puede obtenerse una mayor optimización con el tratamiento médico. El TC se considera superior a los dispositivos de asistencia mecánica debido a la menor incidencia de disfunción multiorgánica. El TC es el único tratamiento eficaz cuando no hay alternativas médicas ni quirúrgicas. Este procedimiento mejora visiblemente la calidad de vida y prolonga la supervivencia de manera significativa. Esta técnica es capaz de salvar aproximadamente a 3 de cada 4 pacientes con alta probabilidad de fallecimiento al año (113). Sin embargo, los trasplantes están limitados por la disponibilidad de órganos procedentes de donantes. Hoy en día, la constatación de la necesidad de aumentar el número de corazones de donantes ha reavivado el interés por el TC con órganos procedentes de DA y desde 2014 (114) los TC con órganos procedentes de DA han florecido en todo el mundo. El TC de donantes en DAC es una realidad clínica en nuestros días (80)(13)(82)(79)(87)(78)(12)(115) que ha demostrado aumentar significativamente la disponibilidad de corazones para trasplante.

El Dr. Christiaan Barnard realizó el primer TC en el Hospital Groote Schuur de Ciudad del Cabo en 1967 (65). La donante era lo que hoy denominamos un donante en DA. A pesar de los malos resultados de los TC realizados en esta época, esta temprana experiencia estableció una importante prueba de concepto, demostrando que el corazón de un donante fallecido podía trasplantarse a un receptor incluso después de que el donante hubiera entrado en PCR.

Tras el reconocimiento del concepto de ME y la legislación subsiguiente, se prefirió recuperar órganos procedentes de donantes a corazón latente (donación

tras ME), que ofrecía dos ventajas: 1) se podía minimizar la hipoxia del órgano, ya que, durante la extracción del órgano, éste seguía perfundiéndose mientras se mantenía el gasto cardíaco; y 2) se podía evaluar la función del corazón del donante antes de la implantación. La obtención de órganos en la DA se produce en pacientes que no cumplen todos los criterios de ME, pero que no tienen esperanzas de recuperación. Así pues, la obtención de órganos se produce tras la PCR y la principal diferencia entre los órganos procedentes de DA y de ME es la duración de la isquemia caliente. La isquemia caliente comienza cuando la oxigenación o perfusión del órgano es inadecuada durante la RTSV o la PCR. Por definición, durante el procedimiento de DA el injerto sufrirá cierto grado de isquemia caliente, ya que habrá un intervalo tras la asistolia en el que los órganos no se perfundirán durante la obtención. En consecuencia, los órganos de donantes de DA pueden sufrir daños irreversibles debido a la acumulación de metabolitos isquémicos.

El persistente desequilibrio entre la oferta y la demanda de órganos para trasplante llevó a la comunidad científica a reconsiderar la DAC como estrategia para aumentar el número de donantes. A principios de la década de 2000, la mayor utilización de la vía de la DA para trasplantes abdominales y pulmonares y el aumento sustancial del número total de trasplantes de estos órganos gracias a la DA, condujo a un renovado interés por la posibilidad de realizar TC procedentes de estos donantes. En 2008, Boucek et al. publicaron una serie de tres casos exitosos de TC en niños procedentes de donantes en DA realizados entre 2004 y 2007 (116). Para minimizar el tiempo de isquemia caliente, los donantes y los receptores se ubicaron en quirófanos adyacentes y se procedió a la colocación *ante-mortem* de cánulas de perfusión y a la administración *ante-mortem* de heparina y sedación intensa para confort. Por último, y lo más controvertido, el período de “no tocar” se redujo de 3 minutos en el primer caso a 75 segundos en los siguientes dos casos. Aunque estos casos tuvieron éxito, el protocolo no era generalizable por los problemas éticos y logísticos que planteaba.

Sin embargo, las consecuencias impredecibles de la isquemia caliente que caracteriza a la DAC, junto con la mala perfusión de los órganos durante la fase agónica, han sido algunas de las razones que han ralentizado la expansión de este procedimiento y cuyo estudio es clave para mejorar la calidad de los injertos y la

fiabilidad de la técnica. Un periodo de retirada prolongado es perjudicial para la viabilidad de los injertos y un tiempo de isquemia caliente prolongado es un fuerte indicador de pobre supervivencia del injerto. No obstante, pese a conocerse su importancia, no existe un consenso sobre la magnitud del efecto del tiempo de isquemia caliente en la viabilidad del injerto. Además, se sabe que en la DAC, los efectos de la isquemia caliente durante la fase hipotensiva tras la RTSV y, tras la PCR, se agravan aún más durante el periodo posterior de isquemia fría (117). Los estudios preclínicos sugieren que, con las técnicas de conservación actuales, el corazón DAC se recuperará por completo siempre que el tiempo de isquemia caliente funcional sea inferior a 30 minutos y no se someta al corazón a otras agresiones, como el almacenamiento prolongado en frío (118)(119)(120).

Aunque todos protocolos están diseñados para minimizar la duración del tiempo de isquemia caliente funcional, las restricciones sobre los procedimientos permitidos por las autoridades reguladoras locales han determinado en gran medida el diseño final de cada protocolo de recuperación desarrollado por los distintos programas. Para el TC de DA en adultos se han desarrollado tres protocolos de recuperación principales: 1) obtención directa seguida de perfusión mecánica normotérmica *ex situ*, 2) PTAN seguida de perfusión mecánica normotérmica *ex situ* y 3) PTAN seguida de almacenamiento estático en frío. Aunque el protocolo de recuperación o reanimación de corazones de donantes de DA dependerá de la normativa local, los resultados de los receptores de TC de DA comunicados hasta la fecha son excelentes independientemente del protocolo de extracción y comparables a los resultados de los receptores de TC de ME (121).

El uso de la PTAN es factible y permite evaluar la función cardiaca *in situ* antes de la extracción del órgano sin ningún impacto negativo sobre los órganos abdominales. La PTAN se ha convertido en una forma de hacer factible el TC procedente de donantes en asistolia controlada, reduciendo los costes inasequibles de los dispositivos mecánicos *ex situ* y haciendo que este procedimiento sea económicamente posible en muchos países. Esta estrategia de conservación *in situ* además puede restaurar sustratos energéticos celulares y mejorar la calidad de los órganos dañados por la isquemia (117). Además, la capacidad de evaluar la función del órgano antes del trasplante permite una mejor selección de injertos y puede dar

lugar a resultados comparables en comparación con otras técnicas de reanimación y obtención de órganos (12).

Una limitación para la aceptación generalizada del uso de PTAN en el TC en DAC es el marco legal existente en los distintos países. De acuerdo con la normativa española, debe obtenerse el consentimiento de los representantes legales del donante potencial para cualquier intervención *premortem* inmediatamente después de haber obtenido el consentimiento para la donación de órganos. Existen múltiples consideraciones éticas con respecto a uso de la PTAN y las intervenciones *premortem*, tales como la posibilidad de restablecer la circulación cerebral una vez declarada la muerte. De hecho, España es uno de los pocos países a nivel mundial que permite en su legislación realizar este tipo de intervenciones, considerando que el uso de PRN abdominal y torácica con intervenciones *premortem* puede representar un avance significativo para aumentar el número y la calidad de los injertos recuperados en DAC (117).

Otra limitación logística para la expansión de la PTAN es el uso de un dispositivo ECMO. Sin embargo, existen dispositivos ECMO portátiles que podrían utilizarse para recuperar órganos en centros más pequeños que no dispongan de este procedimiento. El dispositivo ECMO debe ser utilizado por personal experimentado. En nuestro caso, el sistema es manejado por perfusionistas formados en el manejo de la técnica, bajo la supervisión del coordinador de trasplantes.

Con el desarrollo de múltiples programas de TC de DA alrededor del mundo hemos asistido a un aumento de entre el 25-48% en la actividad de TC en algunas series (13)(115), con una supervivencia de los receptores comparable a la de los TC procedentes de donantes en ME (12)(115). Aunque existen múltiples factores que influyen en el triunfo de un programa de trasplante de DA, la clave fundamental es el respeto de la isquemia y el eventual daño por reperfusión. Es vital identificar un tiempo de isquemia óptimo para que el programa tenga éxito. Si se exige un tiempo de isquemia demasiado corto, la traducción de la asistencia de donantes a la tasa de trasplantes será inaceptablemente baja, ya que muchos corazones no podrán ser utilizados, se incurrirá en elevados costes de mano de obra, material desechable y transporte, y se desmotivará al equipo. En última instancia, este programa resultaría

insostenible. Si se acepta un tiempo de isquemia demasiado largo, aumenta el riesgo de DPI y el uso de ECMO es elevado, con la consiguiente posibilidad de muerte del receptor, también inaceptable para cualquier programa.

El uso de corazones de DA es razonable en centros con: experiencia en el uso de corazones de donantes marginales, familiaridad con el uso de dispositivos de perfusión de órganos *in situ* y *ex situ* para la preservación y el transporte, y experiencia en la instauración de soporte mecánico perioperatorio y su postratamiento para una posible disfunción primaria del injerto (41).

La experiencia del St. Vincent's Hospital de Sídney describe los resultados de 23 TC de DA llevados a cabo entre 2014 y 2018 con donantes  $\leq 40$  años utilizando la técnica de obtención directa del órgano con administración de cardioplejía y perfusión del corazón *ex situ* posterior, con una supervivencia al año del 96%. Aunque se trata de unos resultados excelentes, hubo un 35% de dependencia de uso de ECMO postoperatorio e informaron de que los corazones de DA supusieron un aumento del 15% en su actividad de trasplantes (80). Comparando estos resultados con los del grupo del Royal Papworth Hospital en Reino Unido (13), con donantes de más edad, se observa una supervivencia durante el primer año similar, un menor uso de ECMO en el postoperatorio y un mayor aumento de la actividad de trasplante de corazones de DA. Un elemento clave que puede explicar estas diferencias podrían ser los distintos tiempos de isquemia en los que se enfocaba cada centro. En la experiencia del centro británico hicieron especial hincapié en volver a perfundir el corazón del donante con sangre oxigenada normotérmica lo más rápidamente posible, ya que es la única forma de poner fin a la isquemia. La duración media del grupo de Papworth desde la asistolia hasta la reperfusión sanguínea del corazón del donante fue de 14 min para la PTAN y de 22 min para la técnica de obtención directa (13). En contraposición, el grupo del St. Vincent's informó de una duración media de 40 min desde la asistolia hasta la reperfusión sanguínea y de 28 min desde la administración de cardioplejía hasta la reperfusión (80).

En un estudio posterior, el grupo del St. Vincent's Hospital de Sídney analiza el resultado del total de 74 trasplantes de corazón de DAC que se han producido en Australia en 8 años desde 2014 (año de inicio del programa de TC de DAC) hasta el

20 de marzo de 2022 (115). Compara su experiencia inicial comunicada anteriormente en los 23 primeros trasplantes con sus últimos resultados y observan una reducción significativa de la incidencia de DPI grave con requerimiento de ECMO postoperatorio del 35% (8/23 pacientes) al 8% (4/51). Designan el tiempo desde la PCR hasta la administración de cardioplejía como tiempo de isquemia caliente asistólico, englobado dentro del tiempo de isquemia caliente funcional. De los 74 corazones trasplantados, 62 donantes eran varones y 12 mujeres; la edad media de los donantes fue de  $32 \pm 11$  años; el tiempo de isquemia caliente funcional medio fue de  $20 \pm 6$  min y la mediana del tiempo de isquemia caliente asistólico fue de 13 (11-14) min. La necesidad de ECMO postoperatorio por DPI grave se produjo en 12 de 74 casos (16%) en general. Como ya hemos comentado, la necesidad de ECMO postoperatorio fue significativamente menor en la cohorte contemporánea (4/51, 8%) en comparación con la cohorte inicial (8/23, 35%). En consonancia con nuestros resultados, se observó que el tiempo de isquemia caliente asistólico era significativamente mayor en el grupo de receptores que requirieron ECMO postoperatorio para el grupo DPI en comparación con los que no; mediana de tiempo de isquemia caliente asistólico 15 (12-17) frente a 13 (11-14) min, respectivamente (115). Examinando más a fondo el tiempo de isquemia caliente asistólico, se observó que el 56% (5/9) de los receptores de corazones de donantes de DAC con un tiempo de isquemia caliente asistólico  $>15$  min necesitaron asistencia mecánica para la DPI, en comparación con el 11% (7/65) de los receptores de corazones de DAC con un tiempo de isquemia caliente asistólico  $<15$  min; esto fue estadísticamente significativo ( $p = 0,0043$ , test exacto de Fisher). Además se vio que no hubo diferencias significativas en el tiempo total de isquemia caliente ni en el tiempo de isquemia caliente funcional con respecto a la necesidad de ECMO (115).

En el estudio del Royal Papworth, la diferencia en el tiempo de isquemia entre los corazones sometidos a PTAN y la técnica de obtención directa también puede explicar los distintos resultados comunicados, cuando se excluyen del análisis los pacientes con asistencia circulatoria mecánica preoperatoria. A pesar de la mayor edad de los donantes del grupo de PTAN, los receptores de corazones procedentes de PTAN requirieron menos tiempo de soporte respiratorio, tuvieron menores tasas de utilización de terapia de reemplazo renal continua y su estancia en la UCI fue más

corta en comparación con los receptores de la técnica de obtención directa. Estas diferencias se explicarían probablemente por la mayor necesidad de soporte con ECMO en el grupo de obtención directa (11%) frente al grupo PTAN (6%). Aunque no hay diferencias estadísticas, sería posible que la necesidad de asistencia con ECMO tras el TC de DA fuese significativamente mayor para los receptores de obtención directa si la muestra de pacientes fuera mayor (13), lo que iría a favor de lo que ya se ha demostrado en otros estudios, que la PTAN ofrece protección al corazón de DA minimizando los tiempos de isquemia (12). La PTAN es un método de preservación *in situ* del corazón de DA y, por tanto, tiene el potencial de aumentar aún más el número de corazones aptos para trasplante y reducir los tiempos de las listas de espera y la mortalidad. Un valor añadido es que permite preservar simultáneamente varios órganos, sin necesidad de varios dispositivos de perfusión *ex situ* específicos para cada órgano. Esto disminuye la complejidad y los costes. De hecho, en los trasplantes abdominales se ha demostrado que la preservación *in situ* que proporciona la PRN facilita una mejor utilización de los órganos (94)(122). Además, otra principal ventaja del método PTAN es la posibilidad de la evaluación funcional cardíaca, que ha permitido ampliar los criterios de aceptación utilizando corazones de donantes de DA de más de 50 años y corazones que, de otro modo, habrían sido rechazados por sus perfiles de lactato (13).

El período de tiempo después de la PCR cuando la obtención del injerto aún puede considerarse segura es clave para el éxito de los TC provenientes de DA. En nuestro estudio, el principal impulsor de la pérdida de función y viabilidad de los cardiomiocitos fue el período posterior a la PCR. Los resultados sugieren que la contractilidad miocárdica y la viabilidad celular se ven significativamente comprometidas 10 min después de la PCR. El período de RTSV antes de la PCR no afectó a los procesos examinados aquí. Estos hallazgos son consistentes para la homeostasis del calcio, integridad mitocondrial y muerte celular apoptótica. Por lo tanto, estos resultados sugieren que, en los cardiomiocitos humanos, el período desde la RTSV a la PCR y los primeros 10 min después de la parada no están asociados con un compromiso significativo en la función o viabilidad celular. Más allá de esta ventana temporal, el riesgo de disfunción del injerto podría aumentar significativamente.

Un aspecto de interés es la cardioprotección en la isquemia global inducida del corazón donante. Los corazones provenientes de donantes en ME no están expuestos a isquemia caliente por el proceso de recuperación controlada de órganos. La lesión isquémica caliente después de la PCR parece ser el principal determinante del riesgo de fracaso del injerto después del trasplante. La principal preocupación asociada con el uso de corazones de DAC, o incluso de donantes subóptimos que sufren una PCR súbita o no controlada, seguida de resucitación cardiaca y recuperación de la circulación espontánea, es la exposición a la isquemia caliente y el consiguiente riesgo de fallo del injerto. Después de la RTSV, la contractilidad miocárdica y la viabilidad celular parecen conservarse durante los primeros 10 min después de la PCR. Más allá de este punto temporal de isquemia caliente, la función del injerto puede verse significativamente comprometida.

Durante la DAC, los injertos cardíacos sufren dos agresiones inevitables. La primera se produce tras la RTSV debido a la progresión a hipoxia grave e hipoperfusión, y la segunda se produce después de la PCR e incluye el tiempo de espera obligatorio de 5 min de “no tocar”, para confirmar el cese permanente de la circulación y certificar la muerte. Por lo tanto, el período de tiempo tras la PCR en el que la obtención del injerto puede ser considerado seguro, es la clave del éxito de la donación cardiaca en asistolia controlada.

Los resultados del presente estudio sugieren que, desde una perspectiva bioquímica, el período de isquemia caliente asociado con la RTSV antes de que se produzca la PCR no se relaciona directamente con cambios perjudiciales en la función miocárdica. En un modelo porcino, Iyer et al. (123) describieron cambios hemodinámicos acompañados de una rápida caída del pH sistémico, aumento del lactato sanguíneo y de la troponina T, además de distensión auricular y ventricular derechas. Estos hallazgos sugieren que el periodo de isquemia debida a la RTSV puede provocar lesiones miocárdicas irreversibles.

Nuestro estudio es el primero en evaluar esta cuestión en un modelo humano de DAC tipo III de Maastricht. A pesar del progresivo deterioro hemodinámico, respiratorio y metabólico, nuestros resultados sugieren que el período

comprendido entre la RTSV y la PCR no se asocia a un impacto negativo significativo en la funcionalidad o viabilidad de los cardiomiocitos.

Nuestros resultados coinciden de forma indirecta con la reversibilidad de la función cardíaca en pacientes que son reanimados tras un periodo limitado de PCR. De hecho, se han publicado varias series retrospectivas que han mostrado excelentes resultados tras un período de parada cardíaca en el donante del órgano (media: 15 min) (124) (125). En nuestra población, la mediana de tiempo desde la RTSV hasta la PCR fue de 9 min (intervalo: 4-19 min), lo que coincide con Chew et al. ( $10 \pm 4$  min) (80) y Messer et al. (mediana: 7 min) (13) y es más corto que el de otras series pequeñas (intervalo: 8-22 min) (114)(82)(83). Sin embargo, reconocemos que los tiempos en nuestra cohorte fueron notablemente uniformes y más cortos que los registrados en poblaciones de DAC no seleccionadas. Es posible que, al tratarse de un hospital terciario, centro de referencia regional en cuidados neurocríticos, los pacientes de nuestra serie presentasen daño cerebral de mayor gravedad, dosis de sedación más altas o fármacos diferentes que pudiesen justificar esta uniformidad y diferencia en los tiempos con respecto a otras series más heterogéneas.

De hecho, las series del Reino Unido y los Países Bajos (126)(127), que incluían donantes en DAC en general, comunicaron tiempos medios desde la RTSV hasta la PCR de 36 min y 20 min respectivamente, oscilando entre unos pocos min y horas. Debido a la variabilidad de estos tiempos, realizamos un análisis de sensibilidad analizando por separado las muestras de donantes con tiempos de RTSV a PCR mayores y menores; los resultados fueron similares a los obtenidos cuando se consideraron todos los sujetos juntos. Por lo tanto, estos resultados sugieren que la isquemia caliente comienza en la PCR, y que la idea de que la isquemia funcional comienza cuando la presión arterial sistólica cae por debajo de 50 mmHg puede ser falsa. Sin embargo, es posible que estos resultados no se apliquen a los donantes de DAC con tiempos más prolongados desde la RTSV hasta la PCR (>20 min).

En nuestro estudio, el principal impulsor de la pérdida de función y viabilidad de los cardiomiocitos fue el período posterior a la PCR. En el estudio previo realizado en Australia en el que se realizó una serie de 23 trasplantes de DAC con método de

obtención directa y perfusión *ex situ* posterior, el 35% de los casos requirieron asistencia inmediata con ECMO debido a un FPI (80). En ese estudio, sólo un mayor tiempo desde la PCR hasta la administración de la cardioplejía se asoció significativamente con una mayor necesidad de soporte con ECMO ( $15 \pm 3$  min frente a  $12 \pm 2$  min,  $p = 0,002$ ). Por lo tanto, la lesión isquémica caliente tras la PCR parece ser el principal determinante del riesgo de fracaso del injerto tras el trasplante.

Se han propuesto varias estrategias para recuperar la función cardíaca y minimizar el riesgo de fallo del injerto. Se requiere un período de observación de 5 min sin circulación después de la PCR para confirmar la muerte en la mayoría de los países. Inmediatamente después de que se certifique la muerte, se utiliza una de las dos técnicas posibles para obtener el corazón del donante: 1) el método de obtención directa del órgano, que conlleva la administración de cardioplejía y la perfusión del corazón *ex situ* posteriormente; 2) el método con PTAN, que implica la canulación para garantizar la circulación vascular extracorpórea y la recuperación *in situ* del corazón. El grupo de Papworth compara estas dos estrategias y encuentra un intervalo medio de 22 min (rango: 21-25) desde la PCR hasta la perfusión sanguínea con el sistema de obtención directa y un intervalo medio de 14 min (11-15 min) para PTAN ( $p < 0.001$ ) (13). Sin embargo, las características basales de los dos grupos presentaban diferencias importantes, por lo que no se pudo llegar a ninguna conclusión sobre la repercusión de los distintos tiempos en el resultado clínico. También se ha descrito el uso satisfactorio de PTAN en Bélgica (82) y España (78). En estos protocolos, el tiempo desde la PCR hasta la reperfusión sanguínea es de unos 10 min (5 min de tiempo de espera y 5 min para canulación y reperfusión), que es más corto que el tiempo desde la PCR hasta la perfusión extracorpórea. Nuestro estudio concuerda con hallazgos previos de 14 centros y más de 150 trasplantes que sugieren que el tiempo tras la PCR es el componente clave en la isquemia caliente (77). Nuestros hallazgos implican que, idealmente, la suma del tiempo de espera de 5 min y el tiempo de restablecimiento de la circulación no deben superar los 10 min en total. El uso de la PTAN, así como las futuras mejoras de esta técnica, pueden ayudar a reducir este tiempo desde la PCR hasta el restablecimiento de la circulación. Sin embargo, no todas las jurisdicciones permiten

el uso de la PTAN; en tales casos, la técnica de obtención directa y perfusión *ex situ* es la única alternativa. En estos contextos, el post-acondicionamiento farmacológico con soluciones de preservación modificadas puede aumentar la tolerancia a la isquemia (119).

Este estudio, aunque presenta algunas limitaciones referidas fundamentalmente al uso de medidas bioquímicas indirectas de contractilidad y viabilidad celular por el tamaño de los explantes recogidos, analiza la funcionalidad contráctil del miocardio durante los primeros 10 min posteriores a la PCR. Tal como se ha descrito anteriormente, la interacción entre PLN y SERCA2a bloquea la actividad de SERCA2a disminuyendo su afinidad por  $\text{Ca}^{2+}$ . Este efecto inhibitor se reduce tras la fosforilación del PLN (128)(129). El PLN está presente en forma monomérica y pentamérica, con preferencia por esta última en condiciones basales (130). Existen pruebas fehacientes de que los monómeros representan la fracción activa del PLN al atenuar la actividad de SERCA2a (131)(132)(133)(134) (135)(136). Además, el PLN contiene dos sitios de fosforilación fisiológicamente relevantes: el residuo de serina 16 ( $\text{Ser}^{16}$ ) sensible a la PKA y el residuo de treonina 17 ( $\text{Thr}^{17}$ ) sensible a la CaMKII. Ambos sitios responden a la estimulación  $\beta$ -adrenérgica, el mecanismo más potente del organismo para potenciar la función contráctil del corazón, atenuando el efecto inhibitor del PLN sobre la enzima SERCA2a con la consecuencia de un mayor llenado de  $\text{Ca}^{2+}$  del RS y una relajación miocárdica acelerada. Se ha demostrado que la fosforilación del residuo  $\text{Ser}^{16}$  desempeña un papel dominante en este escenario porque, a diferencia de la  $\text{Thr}^{17}$ , resulta ser suficiente para mediar la respuesta completa a la estimulación  $\beta$ -adrenérgica (137). Además, diversos estudios determinan que la fosforilación del residuo de  $\text{Ser}^{16}$  se produce de forma independiente a la fosforilación del residuo de  $\text{Thr}^{17}$  que es dependiente de CaMKII, mientras que la fosforilación del residuo de  $\text{Ser}^{16}$  es por PKA (138)(139). En este contexto, otros estudios determinaron que el residuo de  $\text{Thr}^{17}$  no contribuía al estado de fosforilación total de PLN en condiciones de una concentración baja de isoproterenol, lo que sugiere que no desempeña un papel significativo en la fosforilación basal del PLN en un organismo en reposo (140)(141)(142). Además, la fosforilación del residuo de  $\text{Thr}^{17}$  no se observó en condiciones de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular bajo, incluso si la estimulación con isoproterenol era elevada (143)(144). Debido a

su papel preeminente en la determinación del estado de fosforilación basal del PLN y en la respuesta del corazón a la estimulación adrenérgica, nuestro estudio se centró en la fosforilación dependiente de PKA del PLN en Ser<sup>16</sup>.

Varios estudios detallan como un PLN no fosforilado es capaz de unirse a SERCA2a, reducir la captación de Ca<sup>2+</sup> y generar además contracción muscular. Sin embargo, una vez que la PKA fosforila el PLN sobre el residuo de Ser<sup>16</sup> en la hélice citoplasmática, el PLN fosforilado deja de inhibir a SERCA2a e inicia la relajación muscular con el consiguiente aumento de la captación de Ca<sup>2+</sup> por el RS (145). El aumento del Ca<sup>2+</sup> citosólico inicia la contracción por la unión del Ca<sup>2+</sup> a la troponina C cardíaca, que a su vez se une y desplaza a la troponina I cardíaca de su sitio de unión a la actina, permitiendo así que las cabezas de miosina interactúen con la actina para formar puentes cruzados. El aumento sostenido de los niveles intracelulares de Ca<sup>2+</sup> induce hipertrofia y disfunción ventricular izquierda (146)(147), lo que en última instancia conduce a una disminución de la contractilidad cardíaca. Basándonos en estos datos y dado que tanto la PKA como la PLN participan en la regulación de la contractilidad cardíaca, planteamos la hipótesis de que estas dos proteínas pueden actuar de forma coordinada tras una PCR. Los datos de varios estudios muestran que un estado de fosforilación reducido del residuo Ser<sup>16</sup> se correlaciona con una sensibilidad reducida de SERCA2a a niveles elevados de Ca<sup>2+</sup> y conduce a una contractilidad miocárdica disminuida y a anomalías en la relajación (148)(149). Aquí, encontramos una disminución dependiente del tiempo en el estado de fosforilación tanto de PKA (Thr<sup>195</sup>) como de PLN en su sitio activador Ser<sup>16</sup>, que fueron significativos después de 10 min de PCR (Figura 19); una disminución que fue significativa al menos hasta 35 min después de la PCR. Bajo esta condición patológica, hipotetizamos que los niveles diastólicos de Ca<sup>2+</sup> pueden llegar a ser persistentemente más altos, lo que al final podría comprometer la función de la enzima SERCA2a a través de una relajación insuficiente y una fuerza de contracción reducida debido a la menor disponibilidad de Ca<sup>2+</sup> durante la sístole (150). Es importante destacar que las vías de transducción de señales inducidas bajo niveles de Ca<sup>2+</sup> persistentemente elevados desencadenan aún más el remodelado cardíaco y las modificaciones eléctricas y contráctiles (151).

Basándonos en estos resultados y dado que PLN y PKA participan en la regulación de la contractilidad cardíaca a través de la modulación de la actividad de SERCA2a, hipotetizamos que las alteraciones de los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  conducen a una disfunción mitocondrial (Figura 20). De hecho, la alteración del acoplamiento de la cadena de transporte de electrones, la disminución de los niveles de ATP y la sobrecarga intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  tras la reducción de la capacidad de retención de  $\text{Ca}^{2+}$  tanto por el RS como por las mitocondrias, determinan la pérdida de contractilidad cardíaca (152). Específicamente, varios estudios han encontrado una relación entre la pérdida de las actividades de los complejos mitocondriales II y IV con una actividad reducida en el corazón (153)(154)(155). Aquí, evaluamos una alteración de la actividad mitocondrial caracterizada por una disminución significativa de ambos complejos mitocondriales II y IV (Figura 20), de forma similar a los hallazgos de un estudio publicado por Venditti et al., donde se describen los efectos de la duración de la isquemia en la respuesta funcional de las mitocondrias (156). En el mismo estudio, los autores evaluaron una disminución de la actividad de ambos complejos mitocondriales tras 15 min de isquemia. Es importante destacar que nuestros datos han evaluado una pérdida de actividad en ambos complejos de forma similar a este estudio y justo en la ventana de tiempo donde cuantificamos una disminución en el estado de fosforilación de las enzimas PKA y PLN.

Tomados en conjunto nuestros datos sugieren que, tras 10 min de PCR, la enzima PKA se inactiva, lo que induce una disminución de la fosforilación de la enzima PLN. Este nivel de fosforilación deprimido induce la inactivación de la enzima SERCA2a con el consiguiente aumento de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico y la consiguiente pérdida de la funcionalidad mitocondrial. Además, nuestros datos determinan una activación del programa de muerte celular por apoptosis, a partir de 15 min después de la PCR. Un resultado que podría estar relacionado con la alteración de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$ .

En nuestro estudio también se analizó la capacidad de generación de energía del miocardio aislado mediante el estudio de las actividades de los complejos multienzimáticos II y IV, de la cadena de transporte de electrones mitocondrial, dado que diversos estudios señalan que la mitocondria tendría un papel esencial en

el proceso de limitar la isquemia en términos de cardioprotección, al controlar el metabolismo del cardiomiocito durante los fenómenos de isquemia y reperfusión cardiaca. Las mitocondrias se han convertido en objetivos críticos, pero también en reguladores clave de la lesión miocárdica por isquemia-reperfusión, y el grado de daño mitocondrial es un determinante importante de la lesión miocárdica por isquemia-reperfusión. Aunque los mecanismos cardioprotectores son diversos, muchos confluyen e implican pasos en la mitocondria (152).

Por otro lado, el estudio de anomalías sistémicas, metabólicas y/o inflamatorias, podría aportar información complementaria a los hallazgos miocárdicos aquí presentados. Lamentablemente, el diseño del estudio no incluía el análisis de muestras de sangre.

Otra posible limitación de este estudio es que las características no modificables del donante y las intervenciones que no se pueden controlar durante el proceso de donación, como la edad o la administración de fármacos, podrían influir en el curso del tiempo observado. De hecho, la población estudiada estaba formada por donantes no cardíacos en DAC, que suelen ser de mayor edad que los donantes de DAC cardiaca convencional. Sin embargo, no fue posible estudiar muestras de donantes cardíacos de DAC, y el impacto esperado de la edad más avanzada, en su caso, sería una disfunción miocárdica más temprana que la esperada en donantes más jóvenes. Este estudio tampoco evaluó el efecto de recuperación de la reperfusión ni el impacto de la reperfusión hipotérmica u otras medidas de protección. Por lo tanto, nuestro estudio puede sugerir puntos temporales en los que el riesgo de DPI es significativamente mayor, pero no puede identificar específicamente momentos temporales exactos donde la reversibilidad es probable o en que ya no es posible el retorno a la normalidad. Además, aunque no encontramos diferencias entre sujetos con periodos más largos y más cortos entre la RTSV y la PCR, no podemos excluir la posibilidad de que un período más largo entre la RTSV y la PCR pudiera influir en estos resultados. Sin embargo, los consistentes resultados hallados en todos los parámetros estudiados apoyan las tendencias temporales identificadas aquí.

La definición de este intervalo de tiempo crítico puede permitir el uso de la DAC como fuente de injertos cardíacos. Esto podría mejorar la logística de la donación de DAC y aumentar la reserva de donantes de corazón. Además, estos resultados podrían aplicarse a la DA no controlada. Nuestros resultados sugieren que la reanimación cardiaca en los primeros 10 min tras la PCR puede garantizar la viabilidad del órgano. Esto también es relevante para ampliar el grupo de donantes reanimados subóptimos en el contexto de la donación en ME.

En conclusión, la contractilidad miocárdica y la viabilidad celular parecen preservarse durante los primeros 10 min tras la PCR. Más allá de este tiempo de isquemia caliente, la función del injerto puede verse significativamente comprometida. Por este motivo, es importante buscar formas de mitigar esta situación, facilitando la comunicación entre todo el personal implicado en el proceso de donación, para que todos los equipos sean conscientes de la necesidad crucial de reducir el tiempo de isquemia caliente tras la asistolia. Estos hallazgos pueden ayudar a los equipos de trasplante, promoviendo la expansión de los trasplantes provenientes de DAC.

La supervivencia después de un TC ha mejorado en los últimos años debido a un mayor conocimiento en todos los ámbitos del proceso. No obstante, quedan muchas incógnitas por resolver y el estudio para optimizar los tiempos de isquemia en el TC en DAC resulta fundamental para garantizar una mayor extensión de este procedimiento que ha permitido aumentar el pool de donantes actual, creciendo en 2022 un 38% en España con respecto al año anterior, suponiendo ya el 42% del total de donantes en nuestro país (27). Con vistas a aumentar aún más el número total de corazones de DA, la atención debería centrarse en los tiempos de isquemia. Investigar formas de optimizar la reanimación, la conservación, la evaluación y los resultados a largo plazo es vital para garantizar una aplicación más amplia del TC proveniente de DAC en el futuro.

## 7. CONCLUSIONES

1. Los resultados de este estudio muestran que los parámetros bioquímicos de lesión celular del miocardio se ven significativamente comprometidos a partir de los diez minutos de la parada circulatoria.

2. El período comprendido entre la retirada de las medidas de soporte vital y la parada circulatoria no tuvo influencia sobre los parámetros bioquímicos de lesión celular analizados en este estudio.

3. Nuestros hallazgos indican que, en los cardiomiocitos humanos, el período comprendido entre la retirada de las medidas de soporte vital a la parada circulatoria, así como los primeros diez minutos después de la parada, no están asociados con un compromiso significativo y/o irreversible de la función contráctil o viabilidad celulares.

4. Actualmente el trasplante cardíaco proveniente de donantes en asistolia controlada se ha convertido en una realidad clínica aceptable y segura que ha venido a corroborar los hallazgos de nuestro estudio experimental.

5. Los resultados de nuestro estudio sugieren que se dispone de cinco minutos para realizar las maniobras quirúrgicas necesarias previas a la reanimación del órgano sin que se produzca deterioro del cardiomiocito.

## BIBLIOGRAFÍA

1. WHO-ONT. Observatorio Global de Donación y Trasplante (GODT por sus siglas en inglés).
2. González-Vílchez F, Almenar-Bonet L, Crespo-Leiro MG, Gómez-Bueno M, González-Costello J. Registro Español de Trasplante Cardíaco. XXXII Informe Oficial de la Asociación de Insuficiencia Cardíaca de la Sociedad Española de Cardiología. *Rev Esp Cardiol*. 2021;74(11):962–70.
3. Organización Nacional de Trasplantes. Actividad de donación y trasplante España 2020. Mem Act donación y Traspl [Internet]. 2020;62. Available from: [http://www.ont.es/infesp/Memorias/ACTIVIDAD DE DONACIÓN Y TRASPLANTE ESPAÑA 2019.pdf](http://www.ont.es/infesp/Memorias/ACTIVIDAD_DE_DONACION_Y_TRASPLANTE_ESPAÑA_2019.pdf)
4. Organización Nacional de Trasplantes. Actividad De Donación y Trasplante Cardíaco España 2022. Mem Act donación y Traspl Card en España 2022 [Internet]. 2023; Available from: [http://www.ont.es/infesp/Memorias/ACTIVIDAD DE DONACIÓN Y TRASPLANTE CARDIACO ESPAÑA 2022.pdf](http://www.ont.es/infesp/Memorias/ACTIVIDAD_DE_DONACION_Y_TRASPLANTE_CARDIACO_ESPAÑA_2022.pdf)
5. González-Vílchez F, Gómez-Bueno M, Almenar-Bonet L, Crespo-Leiro MG, Arizón del Prado JM, Blázquez-Bermejo Z. Registro español de trasplante cardíaco. XXXIII informe oficial de la Asociación de Insuficiencia Cardíaca de la Sociedad Española de Cardiología. *Rev Esp Cardiol*. 2022;75(11):926–35.
6. White CW, Messer SJ, Large SR, Conway J, Kim DH, Kutsogiannis DJ, et al. Transplantation of Hearts Donated after Circulatory Death. *Front Cardiovasc Med*. 2018;5(February).
7. NHS Blood and Transplant. Annual report on cardiothoracic transplantation report for 2018/2019. 2020;131. Available from: [http://www.odt.nhs.uk/pdf/organ\\_specific\\_report\\_cardiothoracic\\_2015.pdf](http://www.odt.nhs.uk/pdf/organ_specific_report_cardiothoracic_2015.pdf)
8. Khush KK, Hsich E, Potena L, Cherikh WS, Chambers DC, Harhay MO, et al. The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-eighth adult heart transplantation report — 2021; Focus on recipient characteristics. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2021;40(10):1035–49. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.healun.2021.07.015>
9. Matesanz R, Dominguez-Gil B. Strategies to optimize deceased organ donation. *Transplant Rev*. 2007;21(4):177–88.
10. Matesanz R, Marazuela R, Domínguez-Gil B, Coll E, Mahillo B, de la Rosa G. The 40 Donors Per Million Population Plan: An Action Plan for Improvement of Organ Donation and Transplantation in Spain. *Transplant Proc* [Internet]. 2009;41(8):3453–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2009.09.011>
11. Khush KK, Potena L, Cherikh WS, Chambers DC, Harhay MO, Hayes D, et al. The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: 37th adult heart transplantation report—2020; focus on deceased donor characteristics. *J Hear Lung*

- Transplant. 2020;39(10):1003–15.
12. Louca J, Öchsner M, Shah A, Hoffman J, Vilchez FG, Garrido I, et al. The international experience of in-situ recovery of the DCD heart: a multicentre retrospective observational study. *eClinicalMedicine*. 2023;58:1–12.
  13. Messer S, Cernic S, Page A, Berman M, Kaul P, Colah S, et al. A 5-year single-center early experience of heart transplantation from donation after circulatory-determined death donors. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2020;39(12):1463–75. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.healun.2020.10.001>
  14. Chew H, Lo P, Cao J, Sugianto N, Dhital K, Granger E, et al. Retrospective Single Centre Comparison of Outcomes between Standard Criteria and Marginal Criteria Brain Dead Heart Transplantation. *J Hear Lung Transplant*. 2016;35(4):S296.
  15. Rajagopalan N, Dennis DR, Ross HL, Tessmann P, Shafii A, Sekela ME. Utilizing Expanded Donor Selection Criteria for Heart Transplantation: A Single Center Experience. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2017;36(4):S42–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2017.01.098>
  16. Roig E, Almenar L, Crespo-Leiro M, Segovia J, Mirabet S, Delgado J, et al. Heart transplantation using allografts from older donors: Multicenter study results. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2015;34(6):790–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2014.10.006>
  17. Alonso-Pulpón L, Segovia J. Aspectos organizativos contemporáneos del trasplante cardiaco: visión del clínico. *Rev Esp Cardiol Supl* [Internet]. 2015;15(B):21–6. Available from: <https://www.revespcardiol.org/es-aspectos-organizativos-contemporaneos-del-trasplante-articulo-S1131358715300042>
  18. Informe Anual Registro RECALCAR (Recursos y Calidad en Cardiología) 2022 [Internet]. 2022. Available from: [https://secardiologia.es/images/institucional/sec-calidad/sec-recalcar/Informe\\_RECALCAR\\_2022\\_FINAL.pdf](https://secardiologia.es/images/institucional/sec-calidad/sec-recalcar/Informe_RECALCAR_2022_FINAL.pdf)
  19. Zaroff JG, Rosengard BR, Armstrong WF, Babcock WD, D'Alessandro A, Dec GW, et al. Maximizing use of organs recovered from the cadaver donor: Cardiac recommendations March 28-29, 2001, Crystal City, Va. *Circulation*. 2002;106(7):836–41.
  20. De Feo TM, Poli F, Mozzi F, Moretti MP, Scalamogna M. Risk of transmission of hepatitis B virus from anti-HBc positive cadaveric organ donors: A collaborative study. *Transplant Proc*. 2005;37(2):1238–9.
  21. Pinney SP, Cheema FH, Hammond K, Chen JM, Edwards NM, Mancini D. Acceptable recipient outcomes with the use of hearts from donors with hepatitis-B core antibodies. *J Hear Lung Transplant*. 2005;24(1):34–7.
  22. Ko WJ, Chou NK, Hsu R Bin, Chen YS, Wang SS, Chu SH, et al. Hepatitis B virus infection in heart transplant recipients in a hepatitis B endemic area. *J Hear Lung Transplant*. 2001;20(8):865–75.

23. Phillips KG, Ranganath NK, Malas J, Lonze BE, Gidea CG, Smith DE, et al. Impact of the Opioid Epidemic on Heart Transplantation: Donor Characteristics and Organ Discard. *Ann Thorac Surg* [Internet]. 2019;108(4):1133–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2019.03.076>
24. Pfau PR, Rho R, Denofrio D, Loh E, Blumberg EA, Acker MA, et al. Hepatitis C transmission and infection by orthotopic heart transplantation. *J Hear Lung Transplant*. 2000;19(4):350–4.
25. File E, Mehra M, Nair S, Dumas-Hicks D, Perrillo R. Allograft transmission of hepatitis C virus infection from infected donors in cardiac transplantation. *Transplantation*. 2003;76(7):1096–100.
26. Gasink LB, Blumberg EA, Localio AR, Desai SS, Israni AK, Lautenbach E. Hepatitis C virus seropositivity in organ donors and survival in heart transplant recipients. *Jama*. 2006;296(15):1843–50.
27. Organización Nacional de Trasplantes. Actividad de donación y trasplante España 2022. Mem Act donación y Traspl [Internet]. 2022;62. Available from: [http://www.ont.es/infesp/Memorias/ACTIVIDAD DE DONACIÓN Y TRASPLANTE ESPAÑA 2022.pdf](http://www.ont.es/infesp/Memorias/ACTIVIDAD_DE_DONACIÓN_Y_TRASPLANTE_ESPAÑA_2022.pdf)
28. Stepanova M, Locklear T, Rafiq N, Mishra A, Venkatesan C, Younossi ZM. Long-term outcomes of heart transplant recipients with hepatitis C positivity: the data from the U.S. transplant registry. *Clin Transplant*. 2016;30(12):1570–7.
29. Tong CKW, Khush KK. New Approaches to Donor Selection and Preparation in Heart Transplantation. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* [Internet]. 2021;23(5). Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11936-021-00906-5>
30. Afdhal N, Zeuzem S, Kwo P, Chojkier M, Gitlin N, Puoti M, et al. Ledipasvir and Sofosbuvir for Untreated HCV Genotype 1 Infection. *N Engl J Med*. 2014;370(20):1889–98.
31. Fontana RJ, Brown RS, Moreno-Zamora A, Prieto M, Joshi S, Londoño MC, et al. Daclatasvir combined with sofosbuvir or simeprevir in liver transplant recipients with severe recurrent hepatitis C infection. *Liver Transplant*. 2016;22(4):446–58.
32. Elfeki MA, Abou Mrad R, Esfeh JM, Zein NN, Eghtesad B, Zervos X, et al. Sofosbuvir/ledipasvir without ribavirin achieved high sustained virologic response for hepatitis C recurrence after liver transplantation: Two-center experience. *Transplantation*. 2017;101(5):996–1000.
33. Madan S, Patel SR, Rahgozar K, Saeed O, Murthy S, Vukelic S, et al. Utilization rates and clinical outcomes of hepatitis C positive donor hearts in the contemporary era. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2019;38(9):907–17. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.healun.2019.06.023>
34. Schlendorf KH, Zalawadiya S, Shah AS, Perri R, Wigger M, Brinkley DM, et al. Expanding Heart Transplant in the Era of Direct-Acting Antiviral Therapy for Hepatitis C. *JAMA Cardiol*. 2020;5(2):167–74.

35. Lin S-N, Tsai M-K, Luo C-Y, Lee C-Y, Hu R-H, Lee J-M, et al. Outcomes of solid organ transplantation from an HIV positive donor to negative recipients. *Am J Transplant* [Internet]. 2016;16:694. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L611699713%0Ahttp://dx.doi.org/10.1111/ajt.13898>
36. Muller E, Barday Z, Mendelson M, Kahn D. HIV-Positive-to-HIV-Positive Kidney Transplantation — Results at 3 to 5 Years. *Physiol Behav* [Internet]. 2015;176(3):139–48. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4633687/pdf/nihms730957.pdf>
37. Marelli, D. Laks, H. Fazio, D. Moore, S. Moriguchi, J. Kobashigawa J. The use of donor hearts with left ventricular hypertrophy. *J Hear Lung Transplant*. 2000;19(5):496–503.
38. Kuppahally SS, Valantine HA, Weisshaar D, Parekh H, Hung YY, Haddad F, et al. Outcome in cardiac recipients of donor hearts with increased left ventricular wall thickness. *Am J Transplant*. 2007;7(10):2388–95.
39. Pinzon OW, Stoddard G, Drakos SG, Gilbert EM, Nativi JN, Budge D, et al. Impact of donor left ventricular hypertrophy on survival after heart transplant. *Am J Transplant*. 2011;11(12):2755–61.
40. Kobashigawa J, Khush K, Colvin M, Acker M, Van Bakel A, Eisen H, et al. Report From the American Society of Transplantation Conference on Donor Heart Selection in Adult Cardiac Transplantation in the United States. *Am J Transplant* [Internet]. 2017;17(10):2559–66. Available from: <https://doi.org/10.1111/ajt.14354>
41. Velleca A, Shullo MA, Dhital K, Azeka E, Colvin M, DePasquale E, et al. The International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) Guidelines for the Care of Heart Transplant Recipients. *J Hear Lung Transplant*. 2022;
42. Hicks M, Hing A, Gao L, Ryan J, Macdonald PS. Organ preservation. *Methods Mol Biol*. 2006;333:331–74.
43. Chew HC, Macdonald PS, Dhital KK. The donor heart and organ perfusion technology. *J Thorac Dis*. 2019;11(Suppl 6):938–45.
44. Burgos Lázaro RJ, Ramis Pocovi S, Martínez Cabeza P, López Fernández J, Castedo Mejuto EC, Serrano-fiz García S, et al. Trasplante cardíaco. *Cir Cardiovasc*. 2011;18(2):91–102.
45. Jahania MS, Mullett TW, Sanchez JA, Narayan P, Lasley RD, Mentzer RM. Acute allograft failure in thoracic organ transplantation. *J Card Surg* [Internet]. 15(2):122–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11221970>
46. Fearon WF, Okada K, Kobashigawa JA, Kobayashi Y, Luikart H, Sana S, et al. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition Early After Heart Transplantation. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2017;69(23). Available from: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S073510971737002X?token=3D465EBD54B5AED1A1FC8765E26772080409C1869FC692ACE404F9A28A>

FDBB8C875BC4347F818480607D7C0221B3084C&originRegion=eu-west-1&originCreation=20230409091537

47. Starling RC, Armstrong B, Bridges ND, Eisen H, Givertz MM, Kfoury AG, et al. Accelerated Allograft Vasculopathy With Rituximab After Cardiac Transplantation. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74(1):36–51.
48. Smith NF, Salehi Omran S, Genuardi M V., Horn ET, Kilic A, Sciortino CM, et al. Primary Graft Dysfunction in Heart Transplant Recipients - Risk Factors and Longitudinal Outcomes. *ASAIO J*. 2022;68(3):394–401.
49. Weiss ES, Allen JG, Patel ND, Russell SD, Baumgartner WA, Shah AS, et al. The impact of donor-recipient sex matching on survival after orthotopic heart transplantation: Analysis of 18 000 transplants in the modern era. *Circ Hear Fail*. 2009;2(5):401–8.
50. Shivalkar B, Van Loon J, Wieland W, Tjandra-Maga TB, Borgers M, Plets C, et al. Variable effects of explosive or gradual increase of intracranial pressure on myocardial structure and function. *Circulation*. 1993;87(1):230–9.
51. Yen WL, Klionsky DJ. How to live long and prosper: Autophagy, mitochondria, and aging. *Physiology*. 2008;23(5):248–62.
52. Ryan JB, Hicks M, Cropper JR, Garlick SR, Kesteven SH, Wilson MK, et al. Functional evidence of reversible ischemic injury immediately after the sympathetic storm associated with experimental brain death. *J Hear Lung Transplant*. 2003;22(8):922–8.
53. Novitzky D, Rose AG, Cooper DK. Injury of myocardial conduction tissue and coronary artery smooth muscle following brain death in the baboon. Vol. 45, *Transplantation*. 1988. p. 964–6.
54. D’Amico TA, Meyers CH, Koutlas TC, Peterseim DS, Sabiston DC, Van Trigt P, et al. Desensitization of myocardial  $\beta$ -adrenergic receptors and deterioration of left ventricular function after brain death. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1995;110(3):746–51.
55. Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Hancock WW, Tilney NL. Activation of proinflammatory genes in somatic organs as a consequence of brain death. *Transplant Proc*. 1999;31(1-2 SUPPL.):1003–5.
56. Atkinson C, Floerchinger B, Qiao F, Casey S, Williamson T, Moseley E, et al. Donor brain death exacerbates complement-dependent ischemia/reperfusion injury in transplanted hearts. *Circulation*. 2013;127(12):1290–9.
57. Novitzky D, Cooper DKC, Rosendale JD, Kauffman HM. Hormonal therapy of the brain-dead organ donor: Experimental and clinical studies. *Transplantation*. 2006;82(11):1396–401.
58. Russo MJ, Chen JM, Sorabella RA, Martens TP, Garrido M, Davies RR, et al. The effect of ischemic time on survival after heart transplantation varies by donor age: An analysis of the United Network for Organ Sharing database. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2007;133(2):554–9.

59. Boengler K, Schulz R, Heusch G. Loss of cardioprotection with ageing. *Cardiovasc Res.* 2009;83(2):247–61.
60. Hicks, M., Hing, A., Gao, L., Ryan, J., MacDonald PS. Organ Preservation. *Transplant Immunol Methods Mol Biol.* 2006;333.
61. Karmazyn M. NHE-1: Still a viable therapeutic target. *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 2013;61(2013):77–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2013.02.006>
62. Ambrosio G, Tritto I. Myocardial reperfusion injury. *Eur Hear Journal, Suppl.* 2002;4(B):1121–35.
63. Halestrap AP. The mitochondrial permeability transition: its molecular mechanism and role in reperfusion injury. *Biochem Soc Symp.* 1999;66:181–203.
64. Piot C, Croisille P, Staat P, Thibault H, Rioufol G, Mewton N, et al. Effect of Cyclosporine on Reperfusion Injury in Acute Myocardial Infarction. *N Engl J Med.* 2008;359(5):473–81.
65. Barnard CN. The operation. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. *S Afr Med J.* 1967;41(48):1271–4.
66. Garcia-Rinaldi R, Lefrak EA, Defore WW, Feldman L, Noon GP, Jachimczyk JA, et al. In situ preservation of cadaver kidneys for transplantation: laboratory observations and clinical application. *Ann Surg.* 1975;182(5):576–84.
67. Kootstra, G. Daemen, J. H. Oomen AP. Categories of non-heart-beating donors. *Transpl Proc.* 1995;27(5):2893–4.
68. Bernat JL, D'Alessandro AM, Port FK, Bleck TP, Heard SO, Medina J, et al. Report of a national conference on donation after cardiac death. *Am J Transplant.* 2006;6(2):281–91.
69. Shemie SD, Baker AJ, Knoll G, Wall W, Rocker G, Howes D, et al. Donation after cardiocirculatory death in Canada. *C Can Med Assoc J.* 2006;175(8 SUPPL.).
70. Newstead C, Bell D, Jamieson N. Guidelines relating to solid organ transplants from non-heart beating donors [Internet]. British Transplantation Society Guidelines. 2004. Available from: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:relating+to+solid+organ+transplants+from+non-heart+beating+donors#0>
71. Australian Government O and TA. Best Practice Guideline for Donation after Circulatory Determination of Death (DCDD) in Australia. 2021;(October):1–18.
72. Abradelo de Usera M, Alba Muela M, Aldabó Pallá T, Alonso Gil M. Donación en asistolia en España: Situación actual y recomendaciones. *Organ Nac Traspl* [Internet]. 2012;10–20. Available from: [http://www.ont.es/infesp/DocumentosDeConsenso/DONACIÓN EN ASISTOLIA EN ESPAÑA. SITUACIÓN ACTUAL Y RECOMENDACIONES.pdf](http://www.ont.es/infesp/DocumentosDeConsenso/DONACIÓN%20EN%20ASISTOLIA%20EN%20ESPAÑA.%20SITUACIÓN%20ACTUAL%20Y%20RECOMENDACIONES.pdf)

73. Ortega-Deballon I, Hornby L, Shemie SD. Protocols for uncontrolled donation after circulatory death: A systematic review of international guidelines, practices and transplant outcomes. *Crit Care* [Internet]. 2015;19(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13054-015-0985-7>
74. Dhanani S, Hornby L, van Beinum A, Scales NB, Hogue M, Baker A, et al. Resumption of Cardiac Activity after Withdrawal of Life-Sustaining Measures. *N Engl J Med*. 2021;384(4):345–52.
75. Bernat JL, Capron AM, Bleck TP, Blosser S, Bratton SL, Childress JF, et al. The circulatory-respiratory determination of death in organ donation. *Crit Care Med*. 2010;38(3):963–70.
76. Iyer, A. Gao, L. Doyle, A. Kumarasinghe, G. Jabbour, A. Hicks, M. Jansz, P. Dhital, K. Macdonald P. Cardiac Transplantation Using Hearts from Donation after Circulatory Death (Dcd) Donors – A Viable Source of Organs? *J Hear Lung Transplant*. 2013;32:3–4.
77. Domínguez-Gil B, Ascher N, Capron AM, Gardiner D, Manara AR, Bernat JL, et al. Expanding controlled donation after the circulatory determination of death: statement from an international collaborative. *Intensive Care Med* [Internet]. 2021;47(3):265–81. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06341-7>
78. Miñambres E, Royo-Villanova M, Pérez-Redondo M, Coll E, Villar-García S, Canovas SJ, et al. Spanish experience with heart transplants from controlled donation after the circulatory determination of death using thoraco-abdominal normothermic regional perfusion and cold storage. *Am J Transplant*. 2021;21(4):1597–602.
79. Pérez Redondo M, Alcántara Carmona S, Villar García S, Forteza Gil A, Villanueva Fernández H, Hernández-Pérez FJ, et al. Transplantation of a heart donated after circulatory death via thoraco-abdominal normothermic regional perfusion and results from the first Spanish case. *J Cardiothorac Surg*. 2020;15(1):1–6.
80. Chew HC, Iyer A, Connellan M, Scheuer S, Villanueva J, Gao L, et al. Outcomes of Donation After Circulatory Death Heart Transplantation in Australia. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73(12):1447–59.
81. Dhital K, Ludhani P, Scheuer S, Connellan M, Macdonald P. DCD donations and outcomes of heart transplantation: the Australian experience. *Indian J Thorac Cardiovasc Surg*. 2020;36(Dcd):224–32.
82. Tchana-Sato V, Ledoux D, Detry O, Hans G, Ancion A, D’Orío V, et al. Successful clinical transplantation of hearts donated after circulatory death using normothermic regional perfusion. *J Hear Lung Transplant*. 2019;38(6):593–8.
83. Vandendriessche K, Tchana-Sato V, Ledoux D, Degezelle K, Rex S, Neyrinck A, et al. Transplantation of donor hearts after circulatory death using normothermic regional perfusion and cold storage preservation. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2021;60(4):813–9.

84. Toldo S, Quader M, Salloum FN, Mezzaroma E, Abbate A. Targeting the innate immune response to improve cardiac graft recovery after heart transplantation: Implications for the donation after cardiac death. *Int J Mol Sci.* 2016;17(6).
85. White CW, Lillico R, Sandha J, Hasanally D, Wang F, Ambrose E, et al. Physiologic Changes in the Heart Following Cessation of Mechanical Ventilation in a Porcine Model of Donation after Circulatory Death: Implications for Cardiac Transplantation. *Am J Transplant.* 2016;16(3):783–93.
86. Todd, G. L. Baroldi, G. Pieper, G. M. Clayton, F. C. Eliot RS. Experimental catecholamine-induced myocardial necrosis. II. Temporal development of isoproterenol-induced contraction band lesions correlated with ECG, hemodynamic and biochemical changes. *J Mol Cell Cardiol.* 1985;17(7):647–56.
87. Anguela-Calvet L, Moreno-Gonzalez G, Sbraga F, Gonzalez-Costello J, Tsui S, Oliver-Juan E. Heart Donation From Donors After Controlled Circulatory Death. *Transplantation.* 2021;105(7):1482–91.
88. Messer S, Page A, Colah S, Axell R, Parizkova B, Tsui S, et al. Human heart transplantation from donation after circulatory-determined death donors using normothermic regional perfusion and cold storage. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2018;37(7):865–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2018.03.017>
89. Hessheimer, A. J. De la Rosa, G. Gastaca, M. Ruíz, P. Otero, A. Gómez, M. Alconchel, F. Ramírez, P. Bosca, A. López-Andújar, R. Atutxa, L. Royo-Villanova, M. Sánchez, B. Santoyo, J. Marín, L. M. Gómez-Bravo, M. A. Mosteiro, F. Villegas Herrera, M. T. Vill G et al. Abdominal normothermic regional perfusion in controlled donation after circulatory determination of death liver transplantation: Outcomes and risk factors for graft loss. *Am J Transpl.* 2022;22(4):1169–81.
90. Vela MM, Sáez DG, Simon AR. Current approaches in retrieval and heart preservation. *Ann Cardiothorac Surg.* 2018;7(1):67–74.
91. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: A delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986;74(5):1124–36.
92. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: Comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol.* 2003;285(2 54-2):579–88.
93. Minñambres E, Royo-Villanova M, Domínguez-Gil B. Normothermic Regional Perfusion Provides a Great Opportunity to Maximize Organ Procurement in Donation After the Circulatory Determination of Death. *Crit Care Med.* 2022;50(11):1649–53.
94. Padilla M, Coll E, Fernández-Pérez C, Pont T, Ruiz Á, Pérez-Redondo M, et al. Improved short-term outcomes of kidney transplants in controlled donation after the circulatory determination of death with the use of normothermic

- regional perfusion. *Am J Transplant* [Internet]. 2021;21(11):3618–28. Available from: <https://doi.org/10.1111/ajt.16622>
95. Organización Nacional de Trasplantes. Memoria de Resultados de la Autoevaluación del Año 2019 del Programa de Garantía de Calidad del Proceso de Donación. 2020.
  96. Jawitz, O. K. Raman, V. DeVore, A. D. Mentz, R. J. Patel, C.B. Rogers, J. Milano C. Increasing the United States heart transplant donor pool with donation after circulatory death. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2020;159(5):e307–9.
  97. Messer S, Lannon J, Wong E, Hopkinson C, Fielding S, Axell R, et al. The Potential of Transplanting Hearts From Donation After Circulatory Determined Death (DCD) Donors Within the United Kingdom. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 34(4):S275. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2015.01.772>
  98. Iyer A, Wan B, Kumarasinghe G, Harkess M, Levvey B, Snell G. What is the potential source of heart allografts from Donation after Circulatory Death (DCD) donors? *Transplantation*. 2013;96:S217.
  99. Osaki S, Anderson JE, Johnson MR, Edwards NM, Kohmoto T. The potential of cardiac allografts from donors after cardiac death at the University of Wisconsin Organ Procurement Organization §. *Eur J Cardio-thoracic Surg* [Internet]. 2010;37:74–9. Available from: [https://watermark.silverchair.com/37-1-74.pdf?token=AQECAHi208BE490oan9kkhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485y sgAAAsgwgLEBgkqhkiG9w0BBwagggK1MIICsQIBADCCAqoGCSqGS1b3DQE HATAeBglghkgBZQMEAS4wEQQM91jPKBcl2IleLFujAgEQgIICey5KNXwGoLu NJVQFGPpyTh2Gea2AbCs5DsSeaZRPsoRuMOn](https://watermark.silverchair.com/37-1-74.pdf?token=AQECAHi208BE490oan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485y sgAAAsgwgLEBgkqhkiG9w0BBwagggK1MIICsQIBADCCAqoGCSqGS1b3DQE HATAeBglghkgBZQMEAS4wEQQM91jPKBcl2IleLFujAgEQgIICey5KNXwGoLu NJVQFGPpyTh2Gea2AbCs5DsSeaZRPsoRuMOn)
  100. Noterdaeme T, Detry O, Hans MF, Nellessen E, Ledoux D, Joris J, et al. What is the potential increase in the heart graft pool by cardiac donation after circulatory death? *Transpl Int*. 2013;26(1):61–6.
  101. Messer S, Page A, Axell R, Berman M, Hernández-Sánchez J, Colah S, et al. Outcome after heart transplantation from donation after circulatory-determined death donors. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2017;36(12):1311–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2017.10.021>
  102. Haghghi K, Bidwell P, Kranias EG. Phospholamban interactome in cardiac contractility and survival: A new vision of an old friend. *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 2014;77:160–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.10.005>
  103. Kranias EG, Hajjar RJ. Modulation of Cardiac Contractility by the Phospholamban/ SERCA2a Regulatome. *Circ Res*. 2013;110(12):1646–60.
  104. Ricci JE, Waterhouse N, Green DR. Mitochondrial functions during cell death, a complex (I-V) dilemma. *Cell Death Differ*. 2003;10(5):488–92.
  105. Singh R, Letai A, Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet].

- 2019;20(3):175–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41580-018-0089-8>
106. Flores-Romero H, Ros U, Garcia-Saez AJ. Pore formation in regulated cell death. *EMBO J*. 2020;39(23):1–18.
  107. Lakhani SA, Masud A, Kuida K, Porter GA, Booth CJ, Mehal WZ, et al. Caspases 3 and 7: Key mediators of mitochondrial events of apoptosis. *Science (80- )*. 2006;311(5762):847–51.
  108. Pflieger J, He M, Abdellatif M. Mitochondrial complex II is a source of the reserve respiratory capacity that is regulated by metabolic sensors and promotes cell survival. *Cell Death Dis*. 2015;6(7):1–14.
  109. Grimm S. Respiratory chain complex II as general sensor for apoptosis. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg* [Internet]. 2013;1827(5):565–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2012.09.009>
  110. Wyss RK, Méndez-Carmona N, Sanz MN, Arnold M, Segiser A, Fiedler GM, et al. Mitochondrial integrity during early reperfusion in an isolated rat heart model of donation after circulatory death—consequences of ischemic duration. *J Hear Lung Transplant*. 2019;38(6):647–57.
  111. Wyss, R. K. Méndez Carmona, N. Sanz, M. N.; Arnold, M. Carrel, T. P. Djafarzadeh, S. Tevaeearai Stahel, H. T. Longnus SL. Resistance of Cardiac Mitochondria to Ischemia and Reperfusion in an Isolated Working Rat Heart Model of Donation After Circulatory Death. *Transplantation*. 2017;13(August):2017.
  112. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem*. 1985;150(1):76–85.
  113. Almenar L, Delgado J, Crespo M, Segovia J. Situación actual del trasplante cardiaco en España. *Rev Esp Cardiol*. 2010;63(Supl 1):132–49.
  114. Dhital KK, Iyer A, Connellan M, Chew HC, Gao L, Doyle A, et al. Adult heart transplantation with distant procurement and ex-vivo preservation of donor hearts after circulatory death: A case series. *Lancet* [Internet]. 2015;385(9987):2585–91. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60038-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60038-1)
  115. Joshi Y, Scheuer S, Chew H, Qiu MR, Soto C, Al. E. Heart Transplantation From DCD Donors in Australia: Lessons Learned From the First 74 Cases. *Transplantation*. 2023;107(2):361–71.
  116. Boucek M, Mashburn C, Dunn S, Al. E. Pediatric Heart Transplantation After Declaration of Cardiocirculatory Death. *N Engl J Med*. 2008;359:709–14.
  117. Miñambres E, Suberviola B, Dominguez-Gil B, Rodrigo E, Ruiz-San Millan JC, Rodríguez-San Juan JC, et al. Improving the Outcomes of Organs Obtained From Controlled Donation After Circulatory Death Donors Using Abdominal Normothermic Regional Perfusion. *Am J Transplant*. 2017;17(8):2165–72.
  118. Iyer A, Gao L, Doyle A, Rao P, Cropper JR, Soto C, et al. Normothermic Ex vivo

- perfusion provides superior organ preservation and enables viability assessment of hearts from DCD donors. *Am J Transplant* [Internet]. 2015;15(2):371–80. Available from: <https://doi.org/10.1111/ajt.12994>
119. Iyer A, Gao L, Doyle A, Rao P, Jayewardene D, Wan B, et al. Increasing the tolerance of DCD hearts to warm ischemia by pharmacological postconditioning. *Am J Transplant*. 2014;14(8):1744–52.
  120. White CW, Ambrose E, Müller A, Li Y, Le H, Hiebert B, et al. Assessment of donor heart viability during ex vivo heart perfusion. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015;93(10):893–901.
  121. Scheuer SE, Jansz PC, Macdonald PS. Heart transplantation following donation after circulatory death: Expanding the donor pool. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2021;40(9):882–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.healun.2021.03.011>
  122. Hessheimer AJ, Coll E, Torres F, Ruíz P, Gastaca M, Rivas JI, et al. Normothermic regional perfusion vs. super-rapid recovery in controlled donation after circulatory death liver transplantation. *J Hepatol* [Internet]. 2019;70(4):658–65. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.12.013>
  123. Iyer A, Chew HC, Gao L, Villanueva J, Hicks M, Doyle A, et al. Pathophysiological Trends during Withdrawal of Life Support: Implications for Organ Donation after Circulatory Death. *Transplantation*. 2016;100(12):2621–9.
  124. Ali AA, Lim E, Thanikachalam M, Sudarshan C, White P, Parameshwar J, et al. Cardiac arrest in the organ donor does not negatively influence recipient survival after heart transplantation. *Eur J Cardio-thoracic Surg*. 2007;31(5):930–4.
  125. Galeone A, Varnous S, Lebreton G, Barreda E, Hariri S, Pavie A, et al. Impact of cardiac arrest resuscitated donors on heart transplant recipients' outcome. *J Thorac Cardiovasc Surg* [Internet]. 2017;153(3):622–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcvs.2016.10.079>
  126. Wind J, Snoeijs MGJ, Brugman CA, Vervelde J, Zwaveling J, Van Mook WN, et al. Prediction of time of death after withdrawal of life-sustaining treatment in potential donors after cardiac death\*. *Crit Care Med*. 2012;40(3):766–9.
  127. Suntharalingam C, Sharples L, Dudley C, Bradley JA, Watson CJE. Time to cardiac death after withdrawal of life-sustaining treatment in potential organ donors. *Am J Transplant* [Internet]. 2009;9(9):2157–65. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2009.02758.x>
  128. Frank KF, Bölck B, Erdmann E, Schwinger RHG. Sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase modulates cardiac contraction and relaxation. *Cardiovasc Res*. 2003;57(1):20–7.
  129. Kranias EG. Regulation of Ca<sup>2+</sup> transport by cyclic 3',5'-AMP-dependent and calcium-calmodulin-dependent phosphorylation of cardiac sarcoplasmic reticulum. *BBA - Mol Cell Res*. 1985;844(2):193–9.

130. Wegener AD, Jones LR. Phosphorylation-induced mobility shift in phospholamban in sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels. Evidence for a protein structure consisting of multiple identical phosphorylatable subunits. *J Biol Chem*. 1984;259(3):1834–41.
131. Zvaritch E, Backx PH, Jirik F, Kimura Y, De Leon S, Schmidt AG, et al. The transgenic expression of highly inhibitory monomeric forms of phospholamban in mouse heart impairs cardiac contractility. *J Biol Chem* [Internet]. 2000;275(20):14985–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.275.20.14985>
132. Kimura Y, Kurzydowski K, Tada M, MacLennan DH. Phospholamban inhibitory function is activated by depolymerization. *J Biol Chem* [Internet]. 1997;272(24):15061–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.272.24.15061>
133. Fernández-De Gortari E, Espinoza-Fonseca LM. Structural basis for relief of phospholamban-mediated inhibition of the sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase at saturating Ca<sup>2+</sup> conditions. *J Biol Chem*. 2018;293(32):12405–14.
134. Akin BL, Hurley TD, Chen Z, Jones LR. The structural basis for phospholamban inhibition of the calcium pump in sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem*. 2013;288(42):30181–91.
135. Toyoshima C, Asahi M, Sugita Y, Khanna R, Tsuda T, MacLennan DH. Modeling of the inhibitory interaction of phospholamban with the Ca<sup>2+</sup> ATPase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(2):467–72.
136. Jones LR, Cornea RL, Chen Z. Close proximity between residue 30 of phospholamban and cysteine 318 of the cardiac Ca<sup>2+</sup> pump revealed by intermolecular thiol cross-linking. *J Biol Chem* [Internet]. 2002;277(31):28319–29. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M204085200>
137. Chu G, Lester JW, Young KB, Luo W, Zhai J, Kranias EG. A single site (Ser16) phosphorylation in phospholamban is sufficient in mediating its maximal cardiac responses to  $\beta$ -agonists. *J Biol Chem* [Internet]. 2000;275(49):38938–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M004079200>
138. Luo W, Chu G, Sato Y, Zhou Z, Kadambi VJ, Kranias EG. Transgenic approaches to define the functional role of dual site phospholamban phosphorylation. *J Biol Chem* [Internet]. 1998;273(8):4734–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.273.8.4734>
139. Bilezikjian LM, Kranias EG, Potter JD, Schwartz A. Studies on phosphorylation of canine cardiac sarcoplasmic reticulum by calmodulin-dependent protein kinase. *Circ Res* [Internet]. 1981;49(6):1356–62. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/epdf/10.1161/01.RES.49.6.1356>
140. Vittone L, Mundina C, Chiappe de Cingolani G, Mattiazzi A. cAMP and calcium-dependent mechanisms of phospholamban phosphorylation in intact hearts. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol*. 1990;258(2 27-2):318–25.
141. Said M, Mundiña-Weilenmann C, Vittone L, Mattiazzi A. The relative relevance

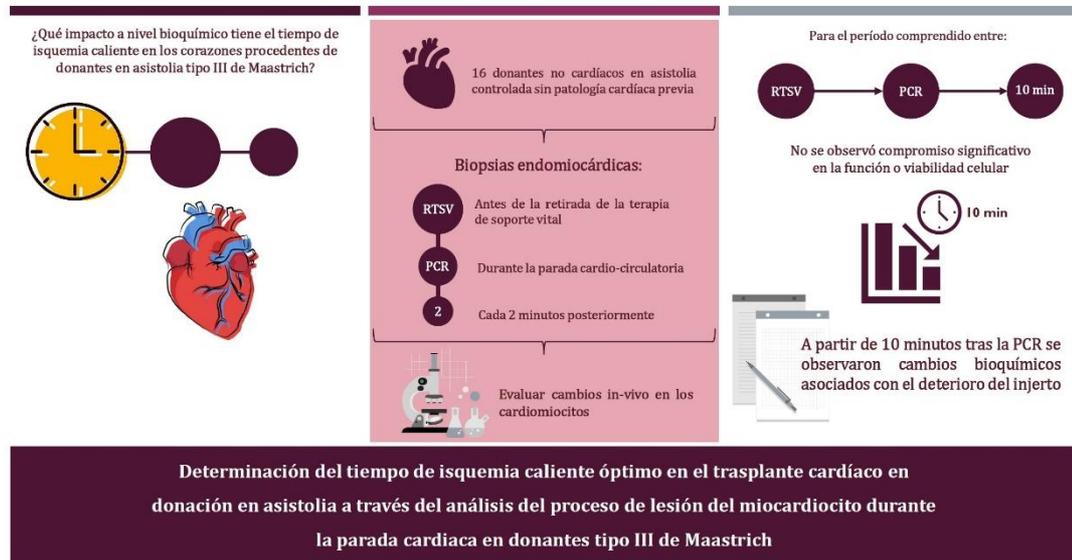
of phosphorylation of the Thr17 residue of phospholamban is different at different levels of  $\beta$ -adrenergic stimulation. *Pflugers Arch Eur J Physiol*. 2002;444(6):801–9.

142. Kuschel M, Karczewski P, Hempel P, Schlegel W, Krause E, Bartel S, et al. Ser 16 prevails over Thr 17 phospholamban phosphorylation in the beta -adrenergic regulation of cardiac relaxation Ser 16 prevails over Thr 17 phospholamban phosphorylation in the  $\beta$ -adrenergic regulation of cardiac relaxation. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol* [Internet]. 1999;276(5):1625–33. Available from: <https://journals.physiology.org/doi/epdf/10.1152/ajpheart.1999.276.5.H1625>
143. Mundiña-Weilenmann C, Vittone L, Ortale M, De Cingolani GC, Mattiazzi A. Immunodetection of phosphorylation sites gives new insights into the mechanisms underlying phospholamban phosphorylation in the intact heart. *J Biol Chem*. 1996;271(52):33561–7.
144. Bartel S, Vetter D, Schlegel WP, Wallukat G, Krause EG, Karczewski P. Phosphorylation of phospholamban at threonine-17 in the absence and presence of  $\beta$ -adrenergic stimulation in neonatal rat cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol*. 2000;32(12):2173–85.
145. Simmerman HKB, Jones LR. Phospholamban: Protein Structure, Mechanism of Action, and Role in Cardiac Function. *Physiol Rev* [Internet]. 1998;78(4):921–47. Available from: <https://journals.physiology.org/doi/epdf/10.1152/physrev.1998.78.4.921>
146. Irie T, Sips PY, Kai S, Kida K, Ikeda K, Hirai S, et al. S-Nitrosylation of Calcium-Handling Proteins in Cardiac. *Circ Res* [Internet]. 2015;117(9):793–803. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/epub/10.1161/CIRCRESAHA.115.307157>
147. Hioya TS. A Simple Technique for Isolating Healthy Heart Cells from Mouse Models. *J Physiol Sci* [Internet]. 2013;57(6):327–35. Available from: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/physiolsci/57/6/57\\_6\\_327/\\_pdf/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/physiolsci/57/6/57_6_327/_pdf/-char/en)
148. Schwinger RHG, Münch G, Bölck B, Karczewski P, Krause E-G, Erdmann E. Reduced Ca<sup>2+</sup>-Sensitivity of SERCA 2a in Failing Human Myocardium due to Reduced Serin-16 Phospholamban Phosphorylation. *J Mol Cell Cardiol*. 1999;31(3):479–91.
149. Sande JB, Sjaastad I, Hoen IB, Bøkenes J, Tønnessen T. Reduced level of serine 16 phosphorylated phospholamban in the failing rat myocardium: a major contributor to reduced SERCA2 activity. *Cardiovasc Res* [Internet]. 2002;53:382–91. Available from: [https://watermark.silverchair.com/53-2-382.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485ysgAAAvEwggLtBgkqhkiG9w0BBwagggLeMIIC2gIBADCCAtMGCSqGSib3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQM9uwGK8PrC-Y-SBXbAgEQgIICpMub7\\_QboOSIfsKb1pc4QMb4F2Cl-p8aUITr9WZZjqkllR](https://watermark.silverchair.com/53-2-382.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAvEwggLtBgkqhkiG9w0BBwagggLeMIIC2gIBADCCAtMGCSqGSib3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQM9uwGK8PrC-Y-SBXbAgEQgIICpMub7_QboOSIfsKb1pc4QMb4F2Cl-p8aUITr9WZZjqkllR)

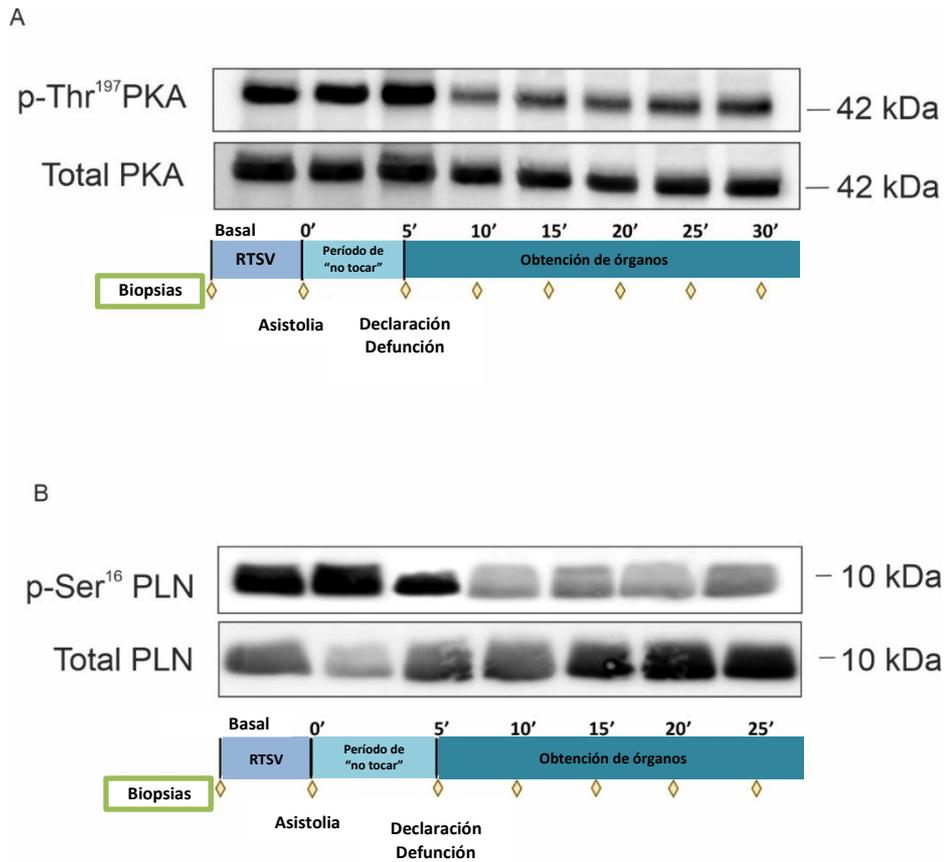
150. Luo M, Anderson ME. Mechanisms of Altered Ca<sup>2+</sup> Handling in Heart Failure. *Circ Res* [Internet]. 2013;113(6):690–708. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/epub/10.1161/CIRCRESAHA.113.301651>
151. Luo A, Cao Z, Xiang Y, Zhang S, Qian C, Fu C, et al. Ketamine attenuates the Na<sup>+</sup>-dependent Ca<sup>2+</sup> overload in rabbit ventricular myocytes in vitro by inhibiting late Na<sup>+</sup> and L-type Ca<sup>2+</sup> currents. *Acta Pharmacol Sin* [Internet]. 2015;36(11):1327–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/aps.2015.75>
152. Niemann B, Schwarzer M, Rohrbach S. Heart and Mitochondria: Pathophysiology and Implications for Cardiac Surgeons. *Thorac Cardiovasc Surg* [Internet]. 2017;66(1):11–9. Available from: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0037-1615263>
153. Parodi-rullán RM, Chapa-dubocq XR, Javadov S. Acetylation of Mitochondrial Proteins in the Heart: The Role of SIRT3. *Front Physiol* [Internet]. 2018;9:1–20. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2018.01094/full>
154. Parodi-rullán RM, Chapa-dubocq X, Rullán PJ, Jang S. High Sensitivity of SIRT3 Deficient Hearts to Ischemia-Reperfusion Is Associated with Mitochondrial Abnormalities. *Front Pharmacol* [Internet]. 2017;8:1–12. Available from: <file:///C:/Users/dolor/Downloads/fphar-08-00275.pdf>
155. Horton JL, Martin OJ, Lai L, Riley NM, Richards AL, Vega RB, et al. Mitochondrial protein hyperacetylation in the failing heart. *JCI Insight* [Internet]. 2016;1(2):1–14. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4795836/pdf/jciinsight-1-84897.pdf>
156. Venditti P, Masullo P, Meo S Di. Effects of myocardial ischemia and reperfusion on mitochondrial function and susceptibility to oxidative stress. *Cell Mol Life Sci* [Internet]. 2001;58:1528–37. Available from: <file:///C:/Users/dolor/Downloads/CMLS2001.pdf>

## ANEXOS

### Anexo 1. Infografía sobre el diseño del estudio y sus resultados.

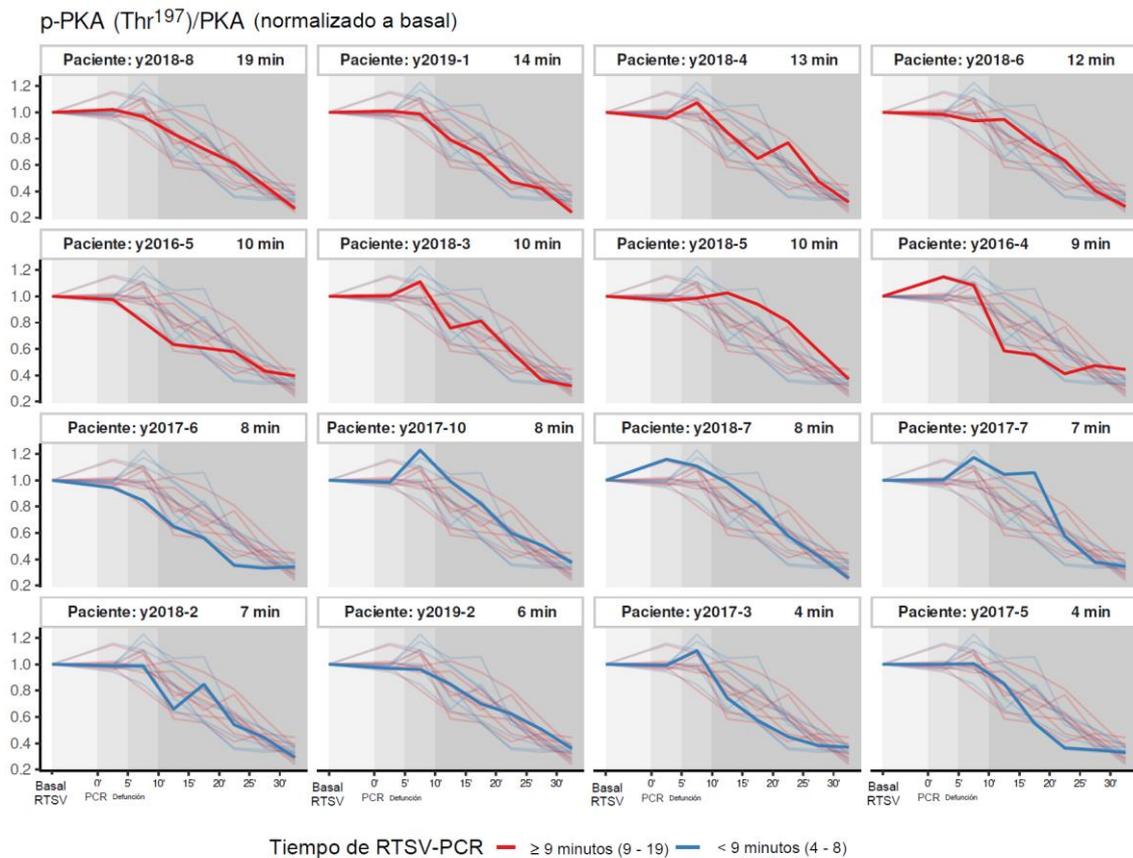


Anexo 2. **La parada cardiaca impide la fosforilación de la PKA, lo que lleva a modificar el estado de fosforilación del PLN.** (A) Western blot representativo que muestra los niveles de PKA fosforilada en su sitio activador Thr<sup>197</sup> y los niveles totales de PKA. (B) Los paneles muestran western blot representativos para p-PLN(Ser<sup>16</sup>) y PLN total.

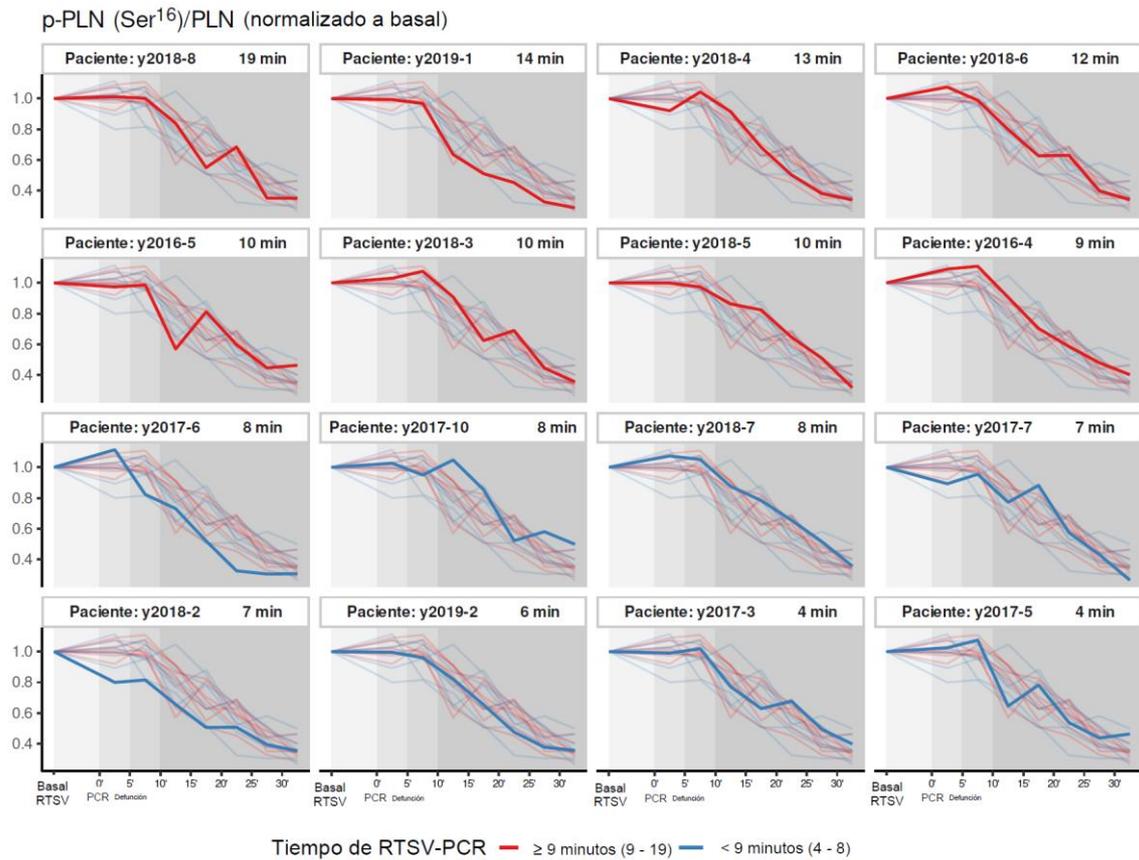


\*RTSV: retirada del tratamiento de soporte vital; PKA: proteína quinasa A; PLN: fosfolamban; kDa: kilodaltons.

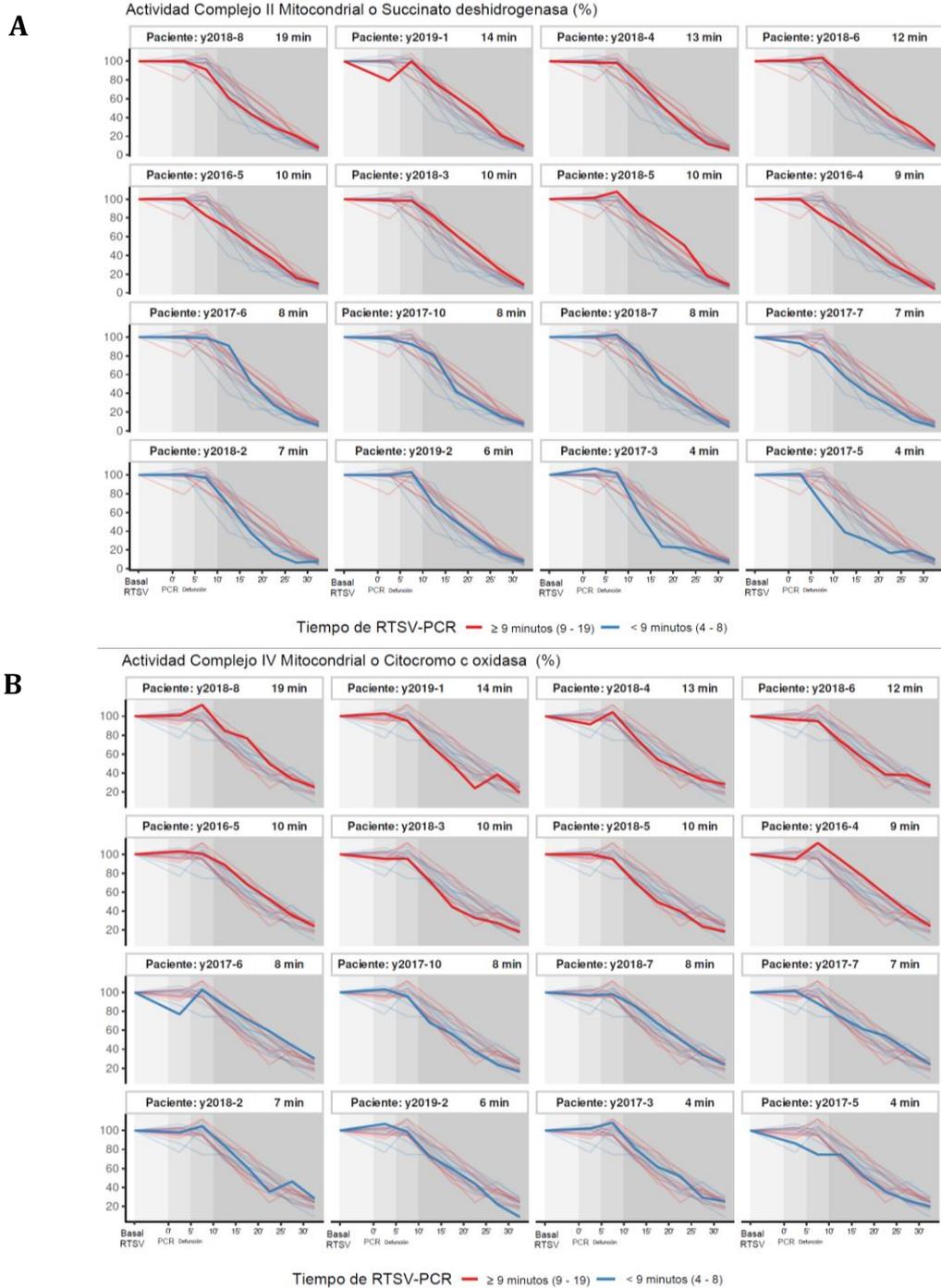
**Anexo 3. Cambios temporales del estado de la proteína quinasa A de forma individualizada.** Niveles de fosforilación de PKA en relación con el total de PKA expresada en el miocardio de cada uno de los pacientes de la muestra del estudio. Se realiza una diferenciación en rojo de aquellos pacientes que tardaron más de 9 minutos en presentar la parada cardiocirculatoria (PCR) desde la retirada de la terapia de soporte vital (RTSV) con respecto a aquellos que tardaron menos de 9 minutos, que se representan en azul.



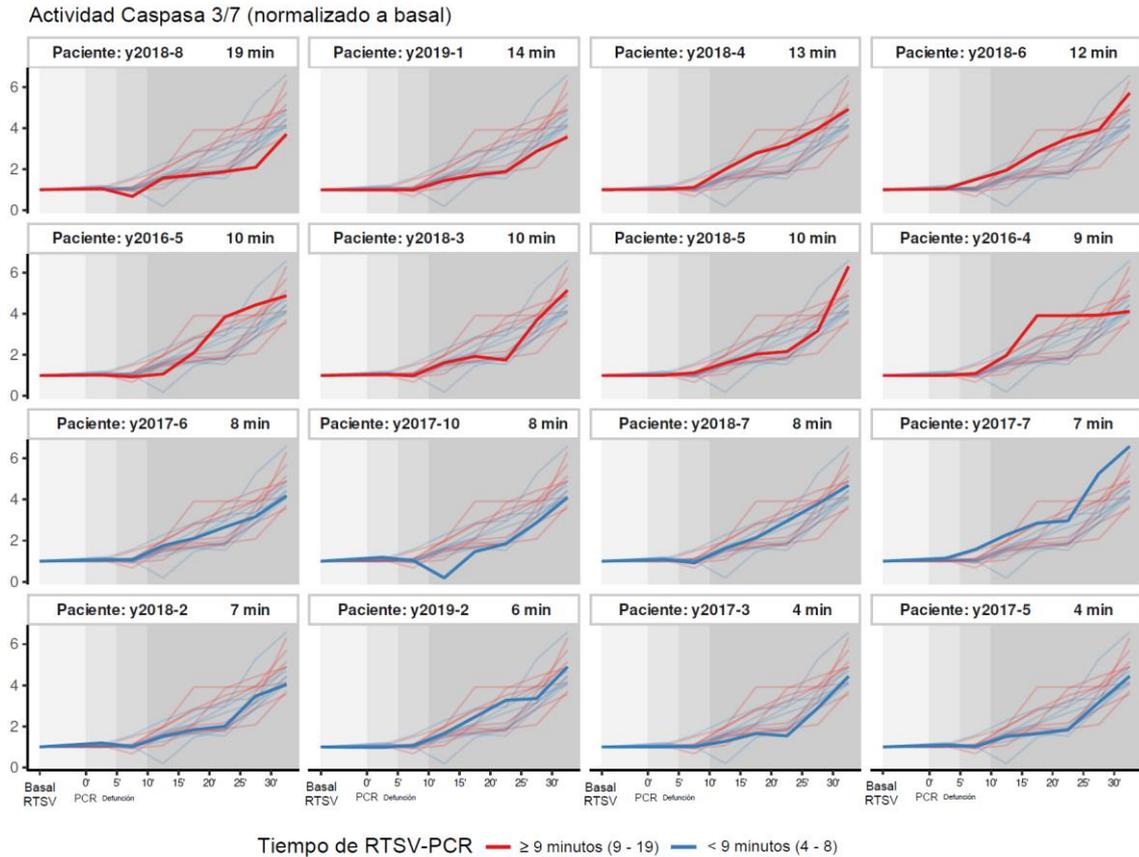
Anexo 4. **Cambios temporales del estado del fosfolamban de forma individualizada.** Niveles de fosforilación de PLN en relación con el total de PLN expresado en el miocardio de cada uno de los pacientes de la muestra del estudio. En rojo se señalan los pacientes que tardaron más de 9 minutos en presentar la parada cardiocirculatoria (PCR) desde la retirada de la terapia de soporte vital (RTSV) y en azul aquellos que tardaron menos de 9 minutos.



Anexo 5. **Cambios temporales en los complejos mitocondriales II y IV de forma individualizada.** En rojo se representan los pacientes que tardaron más de 9 minutos en sufrir la parada cardiocirculatoria (PCR) desde la retirada de la terapia de soporte vital (RTSV) y en azul aquellos que tardaron menos de 9 minutos. (A) Actividad del complejo II o Succinato deshidrogenasa. (B) Actividad del complejo IV o Citocromo c oxidasa.



**Anexo 6. Cambios temporales en actividad de la caspasa 3/7 como marcador de muerte apoptótica de forma individualizada.** En rojo se representan los pacientes que tardaron más de 9 minutos en sufrir la parada cardiocirculatoria (PCR) desde la retirada de la terapia de soporte vital (RTSV) y en azul aquellos que tardaron menos de 9 minutos.



## Anexo 7. Dictamen favorable del Comité Ético del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.



**Arrixaca**  
Hospital Universitario  
"Virgen de la Arrixaca"  
Ctra. Madrid - Cartagena • Telf. 968 36 95 00  
30120 El Palmar (Murcia)

Dr. D. Antonio Piñero Madrona  
Presidente del CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca

### CERTIFICA

Que el CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca en su reunión del día 29/02/2016, acta 02/16 ha evaluado la propuesta del promotor referida al estudio:

**Título:** Estudio de la evolución de la lesión celular miocárdica durante el proceso de parada cardíaca en los pacientes donantes en asistolia tipo III de Maastricht

**Código Interno:** 2016-2-13-HCUVA

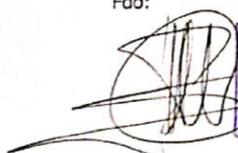
#### 1º. Considera que

- El ensayo se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

2º. Por lo que este CEIC emite un **DICTAMEN FAVORABLE** y acepta que dicho estudio sea realizado por el **Dr. Mario Royo-Villanova** como investigador principal en el *Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca*.

Lo que firmo en Murcia, a 29 de febrero de 2016

Fdo:

  
**Servicio Murciano de Salud**  
**Hospital "Virgen de la Arrixaca"**  
**Comité Ético de Investigación Clínica**  
**MURCIA**

Dr. D. Antonio Piñero Madrona  
Presidente del CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca

*Dado que el Comité Ético del Hospital obliga a que el investigador principal del proyecto sea un facultativo adjunto especialista de área, el Dr. Mario Royo-Villanova, director de la tesis, figura como investigador principal del proyecto.*

Anexo 8. Modelo de Consentimiento Informado de participación en el estudio.



**BIOBANC-MUR**  
**Biobanco en Red de la Región de Murcia**



**CONSENTIMIENTO INFORMADO ANTE TESTIGOS**

**UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.**

Nombre y Apellidos (donante)..... Etiqueta Identificativa Paciente Edad:      Sexo:      DNI:.....	Persona del centro que informa ..... DNI:.....
--	--

Nombre y apellidos del testigo que firma..... DNI.....  
 Relación con el donante:.....

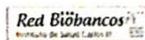
Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con *Biobanc-Mur Nodo 1* en los términos antes explicados, por favor, lea complete y firme a continuación esta hoja

El abajo firmante confirma que el donante:

- Autoriza al *Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca* a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el *Biobanc-Mur Nodo 1*, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.  
 SI       NO
- Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia       SI       NO      Teléfono o E-mail de contacto:.....
- Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales  
 SI       NO      Teléfono o E-mail de contacto: .....
- He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:  
 .....  
 .....
- Me autoriza a firmar en su nombre.

DONANTE	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma

En....., a..... de..... de.....



*Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia*  
 Plataforma Red Nacional de Biobancos - ISCIH. Versión 3 02/06/2014