

Trasplantament

NÚMERO 28 DESEMBRE 2004

III Congrés Internacional d'Immunosupressió

Novetats

Pàg. 14

Adjudicació Beques i Premis de l'FCT

Pàg. 15

Legislació europea per a les cèl·lules i teixits d'origen humà

Pàg. 16

EDITORIAL

La lesió isquèmica en el trasplantament d'òrgans

El trasplantament d'un òrgan d'un donant a un receptor implica sempre un període més o menys llarg d'isquèmia, que és el temps que transcorre des del pinçament dels vasos sanguinis de l'òrgan en el donant fins a la revascularització del dit òrgan un cop implantat en el receptor. La privació de sang, és a dir, d'oxigen i metabòlits a un òrgan té sempre unes conseqüències negatives en el funcionalisme posterior del mateix: és el que es coneix com a lesió d'isquèmia-reperfusió (LIR). La preservació dels òrgans intenta pal·liar i tractar aquesta LIR. El principi bàsic és la hipotèrmia de l'òrgan, que reduirà les demandes energètiques cel·lulars al mínim, allargant la seva viabilitat. El repte de millorar la preservació dels òrgans per a trasplantament és transcendental perquè la funció immediata d'aquests sigui excel·lent i s'evitin la pèrdua d'empelts, pacients i recursos. En el present número es publiquen dos articles de revisió sobre aquest tema. El primer incideix en els progressos pel que fa al coneixement dels mecanismes implicats en la LIR, que ens permetrà bloquejar aquesta reacció inflamatòria de manera similar a com tractem actualment el rebuig immunològic dels òrgans trasplantats. El segon aborda la preservació hepàtica mitjançant una perfusió normotèrmica sanguínia *ex situ*, que pot ser un mètode revolucionari si hom aconsegueix vèncer les dificultats tècniques i logístiques que suposa mantenir un òrgan en les condicions més fisiològiques possibles, és a dir, en situació de perfusió amb sang oxigenada i amb nutrients a una temperatura normal. Amb aquest mètode s'eviten totes les conseqüències negatives induïdes per la hipotèrmia i el cessament del metabolisme aerobi cel·lular. Els resultats preliminars obtinguts amb aquest mètode són molt encoratjadors. Aquests avanços són imprescindibles per poder pal·liar el problema més greu del trasplantament d'òrgans actualment, la manca d'òrgans, doncs permetran ampliar les fonts de donants tot aprofitant òrgans subòptims o de donants a cor aturat.

SUMARI

TEMA A REVISIÓ

Progressos en el coneixement
dels mecanismes
inflamatoris implicats
en la isquèmia/reperfusió
en trasplantament d'òrgans2

Perfusió normotèrmica
hepàtica *ex situ*.....5

PREMI DE L'FCT 2003

Efecte del preconditionament
isquèmic sobre la lesió
hepàtica i pulmonar associada
al trasplantament hepàtic: paper
de la xantina/xantina oxidasa.....10

ACTIVITAT CIENTÍFICA

III Congrés Internacional
d'Immunosupressió 14

ACTUALITAT

Adjudicació de beques
i premis de l'FCT.....15

OCATT

La nova legislació europea
per a cèl·lules i teixits
d'origen humà16

Activitat de donació
i trasplantament16

Progressos en el coneixement dels mecanismes inflamatoris implicats en la isquèmia-reperfusió en el trasplantament d'òrgans

És cada cop més evident que en l'etiopatogènia del fracàs renal agut es produeix una complexa profusió de mecanismes inflamatoris amb conseqüències tan agudes com cròniques. L'interès en els mediadors no tradicionals del fracàs renal agut, com les vies inflamatòries i els episodis microvasculars, ha generat nous paradigmes i línies d'investigació.

En les fases inicials de la isquèmia-reperfusió renal, es produeixen canvis hemodinàmics microvasculars que es caracteritzen per la congestió i l'alentiment de les cèl·lules vermelles, juntament amb les plaquetes i leucòcits. El bloqueig de les interaccions leucòcit-endoteli ha mostrat una protecció significativa contra les lesions per isquèmia renal en models experimentals. Tanmateix, tot i les expectatives, els experiments centrats en el paper dels neutròfils en el fracàs

renal agut només han donat resultats moderats. Estudis recents han demostrat que les cèl·lules T són mediadors directes dels danys isquèmics, si més no experimentalment. Les cèl·lules T CD4+, tant a través de la via del IFN- γ com de les molècules coestimuladores, sembla que són moduladors importants en el fracàs renal agut, en el mecanisme del qual també s'han implicat recentment les cèl·lules B. Tot i que està ben definida la presència de macròfags en el teixit isquèmic, se'n sap poc de la seva participació real en la lesió. Finalment, les cèl·lules residents del ronyó també contribueixen en la patogènesi d'aquesta inflamació, com també en la reparació posterior, però no està totalment definit com i fins a quin punt hi participen. Les noves eines per modular les cèl·lules inflamatòries, sobretot els leucòcits mononuclears, constitueixen una esperança per als futurs assaigs clínics en el fracàs renal agut.

La isquèmia d'un òrgan, després de la interrupció del flux sanguini i la posterior reperfusió, és un procés perjudicial que és present en múltiples aspectes de la medicina (infart de miocardi, processos vasculocerebrals aguts, xocs de qualsevol etiologia, etc.) o de la cirurgia (resecció hepàtica,

cirurgia extracorpòria, trasplantament d'òrgans sòlids, etc.). En el ronyó, les conseqüències dels danys de la isquèmia-reperfusió es manifesten principalment com un fracàs renal agut o una mala funció del ronyó després de l'episodi isquèmic.

En el seu llibre *The works of John Hunter*, publicat a Londres el 1835, Hunter realitzava els seus comentaris sobre els principis de la cirurgia i afirmava: "*Blood... appears to carry life to every part of the body, for whenever the whole or a part is deprived of fresh blood it very soon dies*" (la sang... sembla que porta la vida a cada part del cos perquè, quan el total o una part es troba privada de sang fresca, ben aviat mor). Aquesta frase confirma que el fenomen de la

isquèmia ja era conegut antigament en medicina. Tanmateix, tot i els avenços en estratègies preventives i les mesures de suport, aquesta malaltia continua estant associada a una alta prevalença de morbiditat i mortalitat.

Els leucòcits mononuclears constitueixen una esperança per als futurs assaigs clínics en el fracàs renal agut.

REPERCUSIONS

La isquèmia és un fet absolutament inevitable i inherent a la logística del procediment en la clínica de trasplantament d'òrgans sòlids de donant cadàver. Tanmateix,

l'enfocament i la importància donada a cadascun dels òrgans és lleugerament diferent.

En el cas del cor o del fetge, s'intenta escurçar els temps de preservació al màxim. Tot i l'impuls que va suposar la introducció de la solució de Belzer en el programa de trasplantament hepàtic en la dècada de 1980, el suggeriment que aquestes solucions permetien afrontar preservacions de fins a 24 hores mai va ser totalment acceptat. Contràriament, els equips quirúrgics segueixen programant l'empeltament amb temps curts de preservació per por al fracàs primari de l'òrgan o a l'augment de la morbimortalitat.

En el trasplantament renal, en canvi, no hi ha hagut cap modificació sensible al llarg de la seva història quant a la duració dels temps de preservació. El sentiment comú és que la diàlisi permet el suport vital del pacient durant la no funció de l'òrgan i que la histocompatibilitat segueix essent decisiva. Alguns avenços en el coneixement de la història natural del trasplantament, tanmateix, aporten arguments en contra. La negativa evolució a llarg termini dels empelts que han sofert danys isquèmics greus en el peritrasplantament ens indica que la isquèmia no és un procés gratuït.

D'altra banda, el trasplantament renal de viu, que actualment està novament en auge perquè permet escurçar les llistes d'espera, aporta alguns arguments interessants. Així, se sap que els resultats a llarg termini del trasplantament renal de viu són millors i que depenen sobre manera de la selecció d'un donant òptim, però també de l'escurçament del temps de preservació. També, en el trasplantament en viu, ens hem dirigit al donant no emparentat, la histocompatibilitat del qual pot ser menor que en els clàssics donants familiars, als quals s'exigia una alta compatibilitat. Els resultats amb aquests donants no emparentats són clarament encoratjadors. Això ens indica novament que la selecció del donant, la programabilitat del procés i l'escurçament del temps de preservació són elements de vital importància en l'evolució d'un al·loempelt renal.

LA ISQUÈMIA-REPERFUSIÓ EN UN ESTAT INFLAMATORI

En els darrers anys, cada cop es disposa de més informació que evidencia que els mecanismes patogenètics cel·lulars i moleculars de la isquèmia-reperfusió s'assemblen a una malaltia inflamatòria aguda. Així, en els danys isquèmics renals, la resposta que es produeix mostra activació i danys de l'endoteli, augment de l'adhesió entre la cèl·lula endotelial i el leucòcit, atrapament de polimorfonuclears i compromís en el flux sanguini microvascular. Aquestes interaccions entre l'endoteli i el leucòcit s'evidencien majorment en la medul·la externa, no en el còrtex, per la major congestió vascular que típicament s'aprecia en l'esmentada regió del ronyó.

A principis de la dècada de 1970, quan es va descobrir l'edema endotelial i l'estretiment de la llum del vas sanguini com a signes inequívocs dels danys postisquèmics, va sorgir el coneixement que les cèl·lules endotelials eren el centre dels danys postisquèmics. Recentment, s'han descrit evidències de disfunció endotelial en el còrtex en estudis que demostren flux retrògrad a través dels capil·lars peritubulars durant la reperfusió i també un compromís transitori de la permeabilitat d'aquests capil·lars. Si s'injecten per via endovenosa cèl·lules endotelials del cordó umbilical o cèl·lules embrioniques que expressen òxid nítric sintetasa, les cèl·lules s'implanten en el ronyó i es produeix una protecció funcional parcial. A més, amb isquèmies molt mantingudes, els capil·lars peritubulars pateixen danys permanents, amb una clara reducció del nombre de microvasos a la banda interna de la medul·la externa, que s'associa a fibrosi tubulointerstitial i alteracions de la capacitat de concentració.

A part dels danys cel·lulars endotelials, després de la isquèmia-reperfusió es regulen les molècules d'adhesió per a promoure les interaccions endoteli-leucòcit. Entre aquestes molècules s'inclouen integrines, selectines i molècules de la superfamília de les immunoglobulines, com ICAM-1, VCAM i P-selectina. Així, s'ha demostrat el paper de l'ICAM-1 en els danys renals en experiments amb anticossos específics que van protegir dels danys isquèmics. També els ronyons de ratolins *knockout* per a ICAM-1 estan protegits contra la isquèmia. La sobreexpressió d'aquestes molècules i l'edema de les cèl·lules endotelials associat potencien les interaccions amb els leucòcits i les plaquetes i condueixen a una obstrucció mecànica dels vasos petits.

Existeixen diversos mecanismes pels quals els leucòcits potencien els danys isquèmics. Així, els leucòcits s'activen per diversos mediadors inflamatoris, com citocines, radicals lliures d'oxigen i eicosanoides, que indueixen la sobreexpressió de molècules d'adhesió en la superfície dels leucòcits que s'uneixen als contrareceptors en l'endoteli activat. Igualment, algunes d'aquestes quimiocines, activades pels radicals lliures i per citoquines

proinflamatòries com IL-1 i TNF- α , recluten d'altres leucòcits del torrent circulatori. Els leucòcits segregats en el ronyó potencien danys locals, generant més radicals lliures d'oxigen i eicosanoides i ampliant la inflamació i el to vascular.

L'activació de les vies de la coagulació, incloent-hi el complement, pot incrementar el dany.

CÈL·LULES INFLAMATÒRIES EN EL DANY ISQUÈMIC

Molt recentment, s'han anat perfilant diversos subgrups de leucòcits que participen en aquest complex procés inflamatori. Se sap que, precoçment, després de la isquèmia, hi ha un increment local de mieloperoxidasa, que s'origina dels macròfags, però també dels polimorfonuclears. Tot i sabent que si es preveu l'acumulació de neutròfils es millora el dany tissular, no està clar que aquests models de depleció siguin capaços de discernir la participació dels neutròfils enfront dels limfòcits T i dels macròfags. Hi ha, tanmateix, un consens general que admet que en les fases inicials existeix un predomini dels polimorfonuclears, però en etapes posteriors predominen els macròfags i especialment les cèl·lules T. Així, si s'utilitzen ratolins *knockout* CD4/CD8, s'ha demostrat un efecte protector contra la isquèmia, la qual cosa evidencia l'important paper del limfòcit T.

Igualment, el bloqueig de la estimulació CD28-B7 protegeix contra la isquèmia renal en rates i inhibeix significativament la infiltració de cèl·lules T i

Els mecanismes patogenètics cel·lulars i moleculars de la isquèmia-reperfusió s'assemblen a una malaltia inflamatòria aguda.

PERSPECTIVES DE FUTUR

Encara no està del tot clar fins a quin punt les alteracions cel·lulars agudes poden persistir i afectar la funció de l'òrgan a llarg termini. Actualment, aquests efectes a llarg termini en el trasplantament renal clínic tenen un gran interès. Després d'extreure els ronyons del donant, ràpidament presenten signes d'isquèmia, encara que s'efectuï un refredament adient o que s'utilitzin solucions de preservació cada cop més sofisticades. El problema més gran d'aquest dany isquèmic és que la reacció oxidativa i inflamatòria que es produeix desencadena la resposta al·loimmune i afavoreix l'aparició d'episodis de rebuig agut. S'han provat diverses estratègies per prevenir el dany d'isquèmia-reperfusió i millorar la funció renal immediata. La majoria dels actuals estudis es basen en el principi que aquesta resposta inflamatòria postisquèmica existeix. D'aquesta manera, s'han demostrat efectes beneficiosos, o com a mínim prometedors, mitjançant la inhibició de l'expressió de les molècules d'adhesió, la reducció de l'activació de les cèl·lules endotelials o la prevenció de l'adhesió de leucòcits. Tanmateix, no està clar si aquests efectes aguts poden alterar la funció renal de l'empelt a llarg termini o si el dany per isquèmia-reperfusió té realment un paper clar en el desenvolupament de nefropatia crònica de l'al·loempelt.

macròfags, tant com la seva activació *in situ*. Se sap que B7-1 té un paper central en la interacció leucòcit-endoteli en els *vasa recta* ascendents i condueix a les alteracions funcionals després de la isquèmia. Utilitzant anticossos anti-B7-1 es bloqueja l'adherència de cèl·lules que expressen CD-28 a les cèl·lules endotelials, que expressen B7-1 en aquestes vènules postcapil·lars, cosa que s'associa amb una menor congestió vascular postisquèmica. Finalment, els estudis més actuals en models *knock-out* de CD4 i de CD8 ens indiquen que la cèl·lula T CD4+, i no la CD8+, és la principal efectora del dany per isquèmia-reperfusió. El progressiu coneixement de la participació d'aquesta cèl·lula, que es creu que organitza la resposta cel·lular inflammatòria postisquèmica, ens descobrirà els mecanismes inicials de la interacció entre el fenomen inflamatori i la resposta immune en el camp de l'al·logenicitat.

Tanmateix, alguns autors han qüestionat el rol de la cèl·lula T en aquests processos. Així, se sap que ratolins deficientes en RAG-1 (*recombination-activating gene*), mancats de cèl·lules B i T i que no produeixen immunoglobulines o proteïnes del receptor de la cèl·lula T, no estan protegits del fracàs renal agut causat per isquèmia. Tampoc s'observa cap millora del dany de necrosi tubular o de la infiltració de neutròfils quan es compara amb ratolins de soques salvatges. Aquests ratolins tenen, tanmateix, un augment en la població de cèl·lules T *natural killer*, que expressen CD28. Per tant, és possible que encara es pugui produir inte-

racció CD28/B7-1 a nivell de *vasa recta*, amb la qual cosa es perdria la protecció funcional.

PREVENCIÓ DEL DANY INFLAMATORI AGUT I CANVIS A LLARG TERMINI

Els danys per isquèmia-reperfusió es resolen habitualment amb la restauració de la funció de l'òrgan. Tanmateix, després d'aquesta recuperació inicial i d'un període de relativa quiescència, apareix ocasionalment proteïnúria i danys morfològics com glomeruloesclerosi, obliteració arterial i fibrosi intersticial. Aquests fenòmens vénen acompanyats d'una reexpressió de molècules d'adhesió, d'infiltració progressiva de macròfags i dels mediadors que es segreguen, especialment IL-1, TNF- α , TGF- β i iNOS. Igualment, l'alliberació de MCP-1 atrau noves onades de cèl·lules infiltrants. La presència de macròfags en el teixit renal s'ha relacionat clàssicament amb la patogènia del dany morfològic crònic. Tanmateix, algunes evidències recents qüestionen aquest efecte i, contràriament, relacionen els macròfags amb un efecte beneficiós en aquest procés inflamatori crònic.

Es creu que la cèl·lula T CD4+ és la que organitza la resposta cel·lular inflamatòria postisquèmica.

.....
Joan Torras
 Servei de Nefrologia
 Hospital Universitari de Bellvitge, Barcelona

ANÀLISI DE LA PROBLEMÀTICA ACTUAL

El trasplantament de fetge s'ha convertit en l'elecció més adient per al tractament de pacients que pateixen fallida hepàtica o que necessiten la substitució d'aquest òrgan per altres raons, essent l'única resposta terapèutica que la medicina pot oferir actualment, amb garanties de supervivència, per aquests malalts.

La restauració dels teixits del cos humà ha estat un dels anhels més persistents en la història de la humanitat. Com en d'altres àrees de la ciència, els coneixements mèdics de cada període han condicionat les diferents estratègies utilitzades per assolir aquest objectiu. Per això, no ha estat fins ben entrat el segle XX que han convergit els diferents aspectes científics i tècnics que han proporcionat un substrat que afavorís el desenvolupament del trasplantament de teixits i òrgans, tal i com es practica actualment. D'aquesta manera, sotascrivim les paraules de William P. Longmire, Jr. quan va afirmar, durant la seva presentació a la UCLA, en març de 1999: "El trasplantament d'òrgans ha de considerar-se, certament, un dels avenços més importants esdevinguts en medicina durant el segle XX".

A Espanya, segons dades facilitades per l'ONT el 2003, en els darrers set anys (1996-2003), la llista d'espera de pacients pendents d'accedir a un trasplantament de fetge ha augmentat un 42%, passant de 1.164 a uns 2.000 pacients. Tanmateix, la taxa de donació s'ha estabilitzat en els darrers quatre anys al voltant de 34 pmp (n= 1.250), permetent cobrir només de manera parcial les necessitats dels pacients en llista d'espera. Així, tot i els 1.037 trasplantaments que es van realitzar aquell mateix any, només un 52% dels pacients en llista d'espera va accedir al trasplantament, 196 (quasi un 20%) van restar exclosos per una o altra raó i 172 (quasi un 10%) van morir. Paral·lelament, en el mateix període de 1996 a 2003, s'ha incrementat l'edat mitjana dels donants, que va passar, aproximadament, de 40 a 50 anys.

Existeix, doncs, una clara desproporció entre l'oferta de fetges viables per al trasplantament i les necessitats reals que el trasplantament hepàtic demana actualment i és això el que ha provocat que les defuncions de pacients en espera de rebre un trasplantament de fetge s'incrementessin fins arribar a quasi un 10% (n= 163) el 2003. De la mateixa manera, la indicació de trasplantament

Perfusió normotèrmica hepàtica *ex situ*

En aquest article, l'autor introdueix el concepte de l'innovador mètode de preservació normotèrmica hepàtica *ex situ* i explica els seus avantatges respecte a d'altres mètodes de preservació d'òrgans, uns avantatges que podrien convertir-lo, en uns anys, en una tècnica de primera línia per a la conservació d'òrgans destinats al trasplantament.

hepàtic s'ha situat en 46,9 pmp, mentre que la taxa de trasplantament hepàtic s'ha estabilitzat en 24,3 pmp.

Els fetges desestimats per a ser utilitzats en trasplantament clínic han passat, en l'esmentat període, de 147 a 264. El 2003, prop del 90% d'aquests 264 òrgans rebutjats, és a dir, 237 òrgans, es trobaven en la categoria de fetge patològic i 166 d'aquests fetges (60%) presentaven danys hepàtics previs a l'extracció reversibles per esteatosi hepàtica; això significa que aquests òrgans podrien haver estat recuperats si s'hagués utilitzat un mètode de preservació hepàtica eficaç, com és el cas de la perfusió normotèrmica o normotèrmia dinàmica. A aquest òrgan, hi hem d'afegir els fetges desestimats procedents de donants marginals, com donants de cor aturat, que van ser 49 el 2003, que podrien haver-se utilitzat si s'haguessin recuperat mitjançant una tècnica d'aquest tipus.

Recentment, la United Network for Organ Sharing (UNOS) ha manifestat un cop més la seva preocupació quant a la necessitat d'incrementar el pool d'òrgans donats, que s'ha estabilitzat en 5.000 a

Els mètodes clàssics de conservació han demostrat ser incapaços de mantenir la viabilitat dels òrgans procedents dels denominats "donants marginals".

l'any en els darrers cinc anys, mentre que, contràriament, la llista d'espera de trasplantament hepàtic segueix creixent i ja ha superat actualment els 18.000 pacients.

Considerant tot això, el nostre equip s'ha qüestionat la idoneïtat d'altres possibles vies de conservació d'òrgans que permetin reduir el gran percentatge d'empelts que es malmeten durant el període de preservació. L'equip ha descartat la preservació freda com a mètode ideal per a cobrir les necessitats actuals de trasplantament hepàtic perquè aquest procediment comporta inherentment danys per isquèmia tissular; danys que, certament, es poden minorar reduint la temperatura i, per tant, l'activitat. Però també ha rebutjat aquest procediment perquè no és suficientment eficaç per a poder recuperar un gran nombre d'òrgans, a

diferència d'altres mètodes de preservació, com és precisament el cas de la perfusió normotèrmica. Pot afirmar-se que, en general, els mètodes clàssics de conservació porten a danys per isquèmia i han demostrat ser incapaçs de mantenir la viabilitat dels òrgans procedents dels denominats "donants marginals".

ESCASSETAT D'ÒRGANS I DONANTS MARGINALS

El trasplantament d'òrgans ha significat un gran avenç en diferents camps de la medicina, però el mateix èxit ha redundat en una gran ampliació de les seves indicacions i, conseqüentment, en una major demanda, desequilibrant cada cop més la proporció entre l'oferta i la demanda d'òrgans, sempre a favor de la primera.

Aquesta situació ha facilitat que en els darrers anys sorgís un interès renovat, verificable en diferents camps d'investigació, per aconseguir un increment del nombre d'òrgans viables per a l'aplicació clínica en el trasplantament. El resultat d'aquest esforç investigador ha estat el desenvolupament de diversos tipus de tècniques o de trasplantament, la utilització dels quals, en conjunt, ha permès compensar parcialment la desproporció esmentada abans. Entre aquestes tècniques o tipus de trasplantament es pot incloure la utilització d'empelts parcials (per exemple, hemifetges) procedents de donants vius, genèticament relacionats o no; l'*split* o empelt de porcions d'un mateix òrgan, que es trasplanta de manera independent en diversos receptors, i el denominat *trasplantament en domini*, tècnica en la qual el mateix òrgan és successivament trasplantat en dos o més pacients, un procediment que s'ha utilitzat amb èxit en el trasplantament hepàtic i cardíac.

Posteriorment, amb la finalitat d'incrementar aquest *pool* d'òrgans, els criteris per considerar un donant apte com a font d'òrgans viables per al trasplantament clínic es van anar ampliant, a mesura que les millores experimentades en la tècnica i la farmacologia ho van anar permetent. És així com pren forma el concepte de donant marginal, que es defineix com un donant no òptim al qual es pot recórrer en casos de màxima necessitat i amb el qual s'estan obtenint bons resultats. És important recordar que no tots els fetges procedents de cadàver, com passa amb els òrgans extrets a un donant marginal, són capaços de mantenir la seva funcionalitat després de superar el període de preservació freda, un contratemps que característicament es presenta en el fetge gras i en el donant de cor aturat. A més, molts dels òrgans que podrien trasplantar-se perden la seva disponibilitat a causa del límit temporal que imposa el mètode

de preservació freda. Com a resultat de tot això, existeix un gran nombre d'òrgans donats, prop del 15% de les donacions, que podrien ser potencialment utilitzats en el trasplantament clínic i que desgraciadament es malmeten per l'ús d'un mètode de preservació inadequat, com és la perfusió hipotèrmica, però que podrien ser aprofitats si s'utilitzés la perfusió normotèrmica, un nou mètode que evita els danys per isquèmia-reperfusió i hipotèrmia.

EL LÍMIT DE LA ISQUÈMIA FREDA

Durant l'interval comprès entre l'extracció del donant i el trasplantament, quan l'òrgan extret es troba fora de l'organisme, es poden utilitzar diversos mètodes de preservació, tot i que el més habitual és la preservació hipotèrmica, amb fred estàtic (0–4 °C), en la qual s'utilitza la solució de Wisconsin (UW) com a fluid de preservació a baixa temperatura. Es calcula que el refredament redueix l'activitat metabòlica de tal manera que per cada deu graus centígrads menys s'aconsegueix reduir l'activitat metabòlica en una proporció d'entre 1,5 a 2 vegades, considerant-se una reducció estàndard la de 12 vegades (Belzer *et al.*, 1988).

Existeixen evidències que aquest refredament no es produeix de manera instantània ni tan ràpidament com es pensava. D'aquesta manera, l'activitat cel·lular, tot i que reduïda, no queda totalment anul·lada i es produeix, inevitablement, el dany hepàtic que resulta de la isquèmia tissular. Aquest ineludible dany és directament proporcional al temps utilitzat en la preservació, observant-se que els períodes superiors a 18 hores s'associen amb una elevada incidència de fallida funcional hepàtica després del trasplantament.

L'augment de l'interès per la recerca de noves vies de preservació ha afavorit el desenvolupament d'importants treballs sobre el coneixement fisiopatològic de la isquèmia freda i calenta, com també del dany que s'origina durant la reperfusió. El 1990, Howard *et al.* van realitzar una sèrie de treballs en els quals van demostrar la limitació temporal de la preservació hipotèrmica hepàtica amb solució UW. Posteriorment, Adam *et al.* van demostrar clarament la correlació que existeix entre el temps d'isquèmia freda i la supervivència postoperatoria del pacient. Per la seva part, Clavien *et al.* van considerar que la disfunció primària, present en el 2-23% dels trasplantaments hepàtics, és la causa major de mort en el trasplantament. Finalment, Howard *et al.* van destacar la relació entre el dany greu del fetge que es dona durant la preservació de l'òrgan i l'increment dels episodis de rebuig hepàtic.

Actualment, se sap que, a nivell cel·lular, durant el període de preservació amb hipotèrmia estàtica

La perfusió normotèrmica evita la lesió per isquèmia-reperfusió i hipotèrmia.

s'activa un metabolisme anaerobi que utilitza com a font d'energia la glicòlisi làctica, un mètode eficaç per a mantenir la càrrega cel·lular. Això produeix un descens del pH intracel·lular i una acumulació d'àcid làctic que té tendència a produir l'activació d'enzims proteolítics intracel·lulars i porta a la destrucció de la cèl·lula. D'altra banda, l'absència d'O₂ a nivell mitocondrial impossibilita la recàrrega de les unitats d'alta energia mitjançant la fosforilació oxidativa i el funcionament de distintes estructures cel·lulars, com les bombes de membrana dependents d'ATP. Això provoca successivament una inundació de molècules de Na·H₂O i Ca⁺⁺ intracel·lulars, un edema cel·lular i novament l'activació d'enzims proteolítics que acabaran amb la destrucció cel·lular. Un altre problema associat és l'acumulació de productes metabòlics d'ADP i AMP que seran reduïts a hipoxantina, una molècula que en iniciar-se la reperfusió constituirà el substrat per a la formació de radicals lliures,

dadors d'electrons que resulten letals durant el període de reperfusió. A més, aquest fenomen, que abans d'iniciar-se la reperfusió quedava limitada a l'òrgan, a partir de l'inici d'aquest període s'estendrà a la resta de l'organisme a mesura que tots els mediadors de la inflamació acumulats en la cèl·lula ingressin en la circulació sanguínia. Tots aquests mecanismes, conjuntament, acabaran provocant, de manera més o menys intensa, la destrucció de l'òrgan, compromentent la seva viabilitat. Així doncs, aquest compromís cel·lular plantejarà en la majoria dels casos la necrosi de l'òrgan trasplantat i la necessitat peremptòria que el pacient es sotmeti a un nou trasplantament; però en d'altres casos també pot resultar fatal per al mateix pacient.

SOLUCIONS PARCIAIS A LA ISQUÈMIA FREDA AMB HIPOTÈRMIA ESTÀTICA

S'han desenvolupat diferents estratègies per a contrarestar les limitacions de la isquèmia freda i, tot i que els avenços han estat parcials, s'han aconseguit algunes millores. Així, la perfusió hipotèrmica ha pogut ser utilitzada amb èxit, per exemple, en la preservació de ronyons procedents de donants de cor aturat. Això sí, sempre és aconsellable poder determinar la funcionalitat de l'òrgan mitjançant marcadors de viabilitat, com la glutatió S-transferasa, com també els paràmetres de resistència i cabdal que s'aprecien en el circuit durant la perfusió de l'òrgan.

D'altres estratègies desenvolupades per a millorar aquest mètode involucren els additius que s'afegeixen a les solucions de preservació amb la finalitat d'evitar el fenomen nociu d'isquèmia-reperfusió: aquest és el cas de la superoxidodismutasa i de

l'al·lopurinol, que actuen disminuint el *pool* de radicals lliures durant la reperfusió. D'altres productes, com els denominats lazaroïdes, que inhibeixen la lipoperoxidació, com també els antagonistes del calci i els inhibidors de l'apoptosi, també han estat de relativa utilitat. Així mateix, recentment, s'ha demostrat la gran eficàcia que tenen alguns potents inhibidors de la inflamació, com els inhibidors calcineurínics, quan són sotmesos a perfusió conjuntament amb la solució de preservació.

S'ha de fer notar que en treballs experimentals realitzats darrerament amb porcíns s'ha demostrat que els fetges preservats durant 72 hores mitjançant perfusió normotèrmica també mantenen una funció hepàtica estable, amb nivells enzimàtics normals i conservant de manera autònoma l'homeòstasi àcid-bàsic del mitjà. Aquest avenç ha estat possible gràcies al desenvolupament de circuits de *by-pass* que no necessiten anticoagulant,

la qual cosa permet mantenir l'òrgan a temperatures normals i evitar així la necessitat de refredar-lo abans de l'extracció. Aquest fet podria representar un avantatge en la pràctica del trasplantament perquè evitaria el dany per hipotèrmia inherent a aquest mètode de preservació d'òrgans. Malauradament, tot i els esforços realitzats i els avenços obtinguts, la preservació hipotèrmica segueix associant-se a la pèrdua d'un gran nombre d'òrgans, d'altra banda tan necessitats.

UNA NOVA RESPOSTA:

LA PERFUSIÓ NORMOTÈRMICA

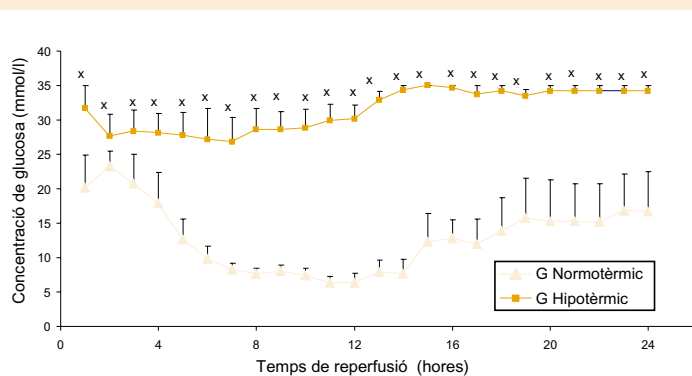
La preservació *ex vivo* d'un òrgan a temperatura corporal mitjançant una màquina de perfusió no és un concepte nou. El 1812, Jean César Le Gallois, fisiòleg francès, ja va deixar clarament establerta la base racional d'aquest mètode: "...si es pogués substituir el cor per un sistema d'injecció ... de sang arterial, de procedència natural o constituïda artificialment, ...podria aconseguir-se mantenir viva, fàcilment i per un temps indefinit, qualsevol part del cos, sense cap mena de dubte". Des de llavors han anat apareixent diferents problemes tècnics que, d'una o altra manera, han dificultat i endarrerit la seva aplicació clínica, però a mesura que s'han introduït millores en les tècniques i materials usats i s'ha avançat en el coneixement fisiològic de la isquèmia-reperfusió, s'han anat superant aquests obstacles.

La perfusió normotèrmica ja ha estat utilitzada, amb diferents graus d'èxit, com a suport auxiliar, en pacients amb fallida hepàtica ("perfusió aïllada del fetge") i ha estat descrita en els recents estudis d'aplicació clínica de D.C. Borie *et al.*; s'utilitza, a més, en la preservació de l'òrgan a trasplantar,

La perfusió normotèrmica fa possible avaluar la viabilitat de l'òrgan abans del trasplantament.

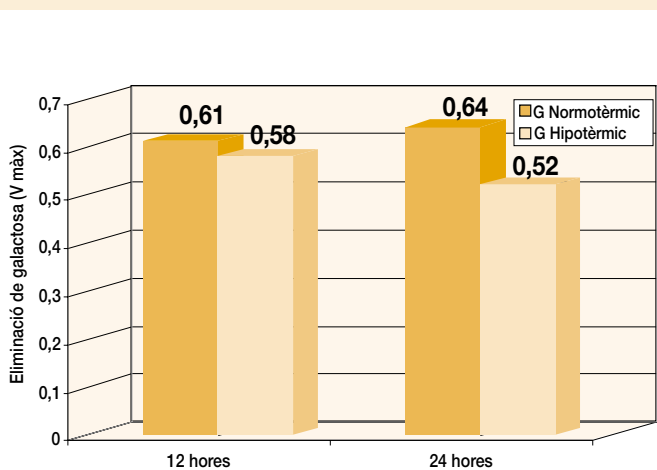
Metabolisme de la glucosa

Fig.1



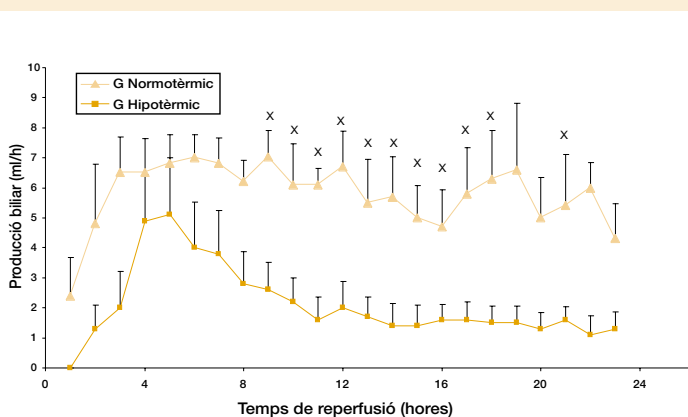
Eliminació de galactosa

Fig.2



Producció biliar

Fig.3



millorant la seva qualitat i permetent la seva implantació després d'un període de manteniment artificial. També, en la dècada de 1970, Belzer ja havia treballat, obtenint un èxit moderat, en la perfusió d'òrgans *ex vivo* en un model renal caní com a mètode de preservació. Un dels problemes amb els quals van topar aquestes experiències va ser el fet que requerissin l'ús d'un perfusor no sanguini (solució CPP-plasma crioprecipitat i Belzer-MPS). Però, probablement, l'obstacle major era la manca d'utilització d'un oxigenador, la qual cosa alterava el ritme fisiològic de l'òrgan, obligant a reduir el seu metabolisme i conduint-lo a una situació d'hipotèrmia.

En d'altres treballs en preservació d'òrgans mitjançant perfusió sanguínia es van utilitzar oxigenadors, com en les experiències de Brettschneider junt amb Starzl, a Denver. S'ha de fer notar que les deficiències dels oxigenadors d'aquesta època requerien que la perfusió es realitzés de manera hiperbàrica, doncs només amb pressions altes es podia garantir una correcta oxigenació sanguínia; per això, els oxigenadors d'aquella època, que ja eren per ells mateixos molt voluminosos, havien d'acoblar-se a una càmera hiperbàrica, cosa que convertia aquest conjunt d'aparells en una maquinària exageradament gran, pesada i de poca maniobrabilitat.

En realitat, només recentment han convergit els avenços en els coneixements sobre isquèmia-reperfusió i en el desenvolupament tècnic, que han proporcionat en conjunt el marc precís per a poder mantenir un òrgan funcionant en condicions fisiològiques *ex vivo*.

Sense cap mena de dubte, el gran avantatge que ofereix la perfusió normotèrmica és que, a diferència de preservació hipotèrmica, permet mantenir el metabolisme aerobi fisiològic proporcionant, mitjançant la perfusió mateixa, el substrat alimentari i el O₂ necessaris per a la cèl·lula. Lògicament, en mantenir el metabolisme fisiològic cel·lular, s'aconsegueix prolongar el lapse de temps màxim que pot mantenir-se viable un òrgan fora de l'organisme, que pot superar les 72 hores amb aquest mètode. A més, la conservació de l'activitat durant el període de preservació redueix al mínim la formació de productes substrat de la formació de radicals lliures que succeeix durant la reperfusió.

Val la pena fer notar que, si la perfusió normotèrmica es fa immediatament després de l'extracció de l'òrgan, llavors també es pot aconseguir la restauració del metabolisme fisiològic cel·lular. Aquest fenomen, que és possible fins i tot quan l'òrgan ha patit un greuge isquèmic, com passa en els òrgans procedents de donants de cor aturat, es constata per la ràpida normalització dels nivells energètics cel·lulars d'ATP i l'aclariment dels metabòlits nocius generats durant el període d'isquèmia-reperfusió.

CONCLUSIONS

La preservació normotèrmica constitueix un mètode innovador per conservar temporalment els òrgans *ex situ*, que pot tenir moltes aplicacions clíniques. Lògicament, encara es requereix un gran esforç i molta experiència per establir les seves indicacions. En el camp del trasplantament, s'ha mostrat eficaç i superior als mètodes més tradicionals, com la preservació hipotèrmica.

L'avantatge que ofereix la preservació normotèrmica és que l'òrgan es conserva metabòlicament actiu, per la qual cosa es pot mantenir viable durant més temps i avaluar-se millor abans de ser trasplantat. Això generarà menys nombre d'incidències greus en la reperfusió a llarg termini.

Un altre avantatge remarcable és que permet la restauració d'un nombre major d'òrgans que han sofert danys abans d'ésser extrets (fetge gras o adipós, òrgans procedents de donant de cor aturat) i això podria redundar, teòricament, en un millor aprofitament dels òrgans procedents de donants marginals i subòptims i col·laborar en una reducció de la llista d'espera.

Com a contrapartida, aquest mètode de preservació d'òrgans requereix la participació d'un equip d'experts per a la posta en marxa i una monitorització contínua realitzada per personal entrenat, cosa que suposa uns límits en la seva aplicació clínica.

Es pot afirmar que, gràcies al recent desenvolupament tècnic i racional, actualment es donen les circumstàncies que permeten considerar la "normotèrmia dinàmica", quant a mètode de preservació d'òrgans, com una realitat que respon a les necessitats del trasplantament del segle XXI. Tanmateix, perquè això es tradueixi en una realitat en la pràctica clínica, serà necessari que prèviament es validi la viabilitat dels òrgans preservats així després del trasplantament i que es trobi la solució a diverses qüestions, com ara el desenvolupament d'un sistema de perfusió *ex situ* senzill, eficaç i polivalent.

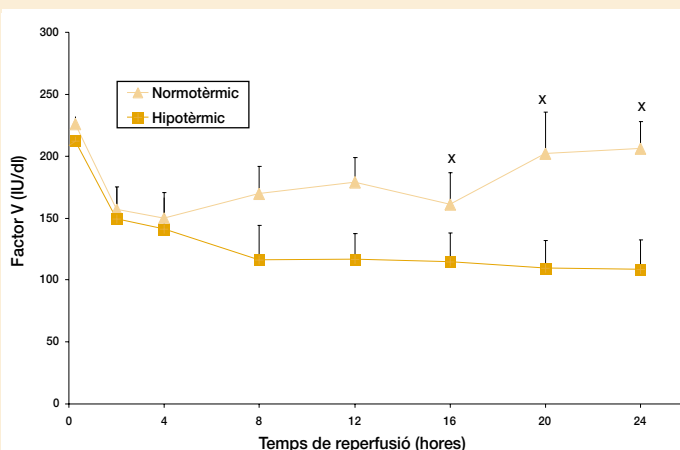
LA NOSTRA EXPERIÈNCIA EN PERFUSIÓ NORMOTÈRMICA

S'han aconseguit grans avenços en el camp del trasplantament experimental amb preservació normotèrmica. Per part nostra, hem pogut demostrar recentment que fetges d'origen porcí preservats *ex vivo* mitjançant perfusió normotèrmica sanguínia durant 24 hores mostren unes funcions metabòlica, sintètica i excretora estables avaluades per paràmetres bioquímics, hematològics, físics i histiològics. Hem de fer notar la superioritat en la viabilitat d'aquests òrgans en compararlos amb els preservats mitjançant preservació hipotèrmica amb solució UW, una superioritat que se expressa tant en els valors normals en el metabolisme de la glucosa (figura 1) com en l'aclarament de la galactosa (figura 2) i en la producció biliar (figura 3) i de factor V (figura 4).

Els resultats d'aquest treball permeten concloure que la perfusió normotèrmica sanguínia constitueix un mètode de preservació superior a la preservació hipotèrmica amb solució UW, perquè fa possible avaluar la viabilitat de l'òrgan abans d'efectuar el trasplantament, recuperar fetges extrets de donants amb aturada cardíaca després d'haver estat sotmesos una hora a isquèmia calenta i mantenir l'homeòstasi àcid-bàsic, una funció que està absent en els fetges malmesos.

Producció de factor V

Fig.4



.....
Iñigo López de Cenarruzabeitia

Unitat de Cirurgia Hepato-Bilio-Pancreàtica i Trasplantament Hepàtic
 Hospital Vall d'Hebron, Barcelona

Efecte del preconditionament isquèmic sobre la lesió hepàtica i pulmonar associada al trasplantament hepàtic: paper de la xantina/xantina oxidasa

El premi 2003 al millor article publicat sobre trasplantament, convocat per la Fundació Catalana de Trasplantament i la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya, fou atorgat a la Dra. Leticia Fernández pel seu treball (amb la col·laboració dels doctors N. Heredia, L. Grande, G. Gómez, A. Rimola, A. Marco, E. Gelpí, J. Roselló-Catafau i C. Peralta), *Preconditioning protects liver and lung damage in rat liver transplantation: role of xanthine/xanthine oxidase*, publicat a *Hepatology* 2002; 36: 562-572, que hom resumeix tot seguit.

ANTECEDENTS HISTÒRICS

El trasplantament hepàtic és actualment la única solució eficaç per a un gran nombre de patologies hepàtiques, tant agudes com cròniques, moltes de les quals no tenien solució fins que es va estandaritzar la cirurgia del trasplantament. Espanya és un dels països amb una taxa de donacions més gran a escala mundial; tot i això, la demanda d'òrgans per a trasplantar supera de bon tros l'oferta d'empelts hepàtics. Per tant, és molt important optimitzar el màxim possible els recursos en aquest sentit; d'una banda, augmentant el nombre d'empelts vàlids per ser trasplantats (aprofitant òrgans que en l'actualitat es rebutgen per a trasplantament, com poden ser els fetges grassos o els procedents de donants d'edat avançada); i, d'altra, evitant tant com sigui possible recórrer al retrasplantament. El fet de realitzar un retrasplantament implica, d'una banda, una disminució significativa de l'èxit del trasplantament i, d'altra, desapropitar un òrgan, la qual cosa agreuja el problema de la manca d'empelts per trasplantar.

Una de les causes principals de retrasplantament és la fallida primària de l'empelt, que la majoria de vegades és deguda a la síndrome d'isquèmia-reperfusió (I/R). Durant l'operació quirúrgica de trasplantament, tot l'empelt hepàtic està sotmès a la síndrome d'I/R: la isquèmia comença amb la perfusió de l'òrgan amb solució de preservació per al seu magatzematge i la reperfusió, quan es restableix el flux sanguini en el receptor. Per tant, tots els empelts hepàtics es veuen afectats per la síndrome d'I/R, amb la qual cosa tota estratègia encaminada a disminuir aquest dany seria *a priori* una estratègia vàlida per reduir el nombre de trasplantaments. A

més de la lesió hepàtica deguda a la I/R, aquesta síndrome associada al trasplantament hepàtic pot produir també dany extrahepàtic, causant, entre d'altres conseqüències, lesió pulmonar.

Degut a la I/R es posen en marxa diferents mecanismes que produiran lesió. Entre aquests mecanismes, a nivell hepàtic, es troben l'empitjorament de la microcirculació, l'activació de les cèl·lules de Kupffer, la producció de citocines (com TNF), la infiltració de neutròfils i la producció de radicals lliures d'oxigen (RLO), aquests darrers objecte d'estudi d'aquest treball. Una de les principals fonts d'RLO en un procés d'I/R és el sistema xantina/xantina oxidasa. Durant el període d'isquèmia, es produeix en el fetge una degradació de l'ATP que dona lloc a xantina. Paral·lelament, durant aquest procés es produeix una modificació de l'enzim xantina deshidrogenasa (XDH) en la seva

isoforma xantina oxidasa (XOD). Ambdues isoformes catalitzen la conversió de xantina i hipoxantina en àcid úric; la diferència entre ambdues és que la forma oxidasa utilitza l'oxigen com a ceptor d'electrons, propiciant la producció d'RLO, que són responsables de part de la lesió per I/R.

En començar la reperfusió, la sang arriba novament a l'òrgan isquèmic i, amb ella, l'oxigen. Durant el període d'isquèmia s'ha acumulat xantina i XOD; quan apareix de nou l'oxigen, la XOD ja disposa del cofactor per poder catalitzar el pas de xantina a àcid úric, produint RLO com a subproductes. Aquests RLO provocaran directament una lesió hepàtica. A més, un cop començada la reperfusió, la xantina i la XOD poden ser alliberades a la circulació general i arribar a d'altres òrgans, com per exemple el pulmó.

El 1986, Murry *et al.* van descriure per primera vegada l'anomenat "preconditionament isquèmic" (PCI). Amb el cor com a òrgan d'estudi, descobriren que breus períodes d'isquèmia-reperfusió previs a una isquèmia prolongada disminuïen de manera efectiva la lesió per I/R. Després de la publicació d'aquests resultats, l'eficàcia d'aquesta estratègia quirúrgica s'ha provat amb èxit a la pell, músculs i fetge. En el cas del fetge, s'ha demostrat que l'aplicació de PCI és eficaç enfront de la I/R calenta (en el cas de les reseccions hepàtiques) i freda (aplicat a l'àmbit del trasplantament hepàtic). En començar aquest estudi se sabia que el PCI protegia enfront de la I/R associada al trasplantament hepàtic en un model de trasplantament en rata utilitzant uns temps d'isquèmia molt llargs, molt més grans que els utilitzats en la pràctica clínica; no

obstant, es desconeixia si aquest mecanisme era capaç de protegir de la lesió hepàtica en temps d'isquèmia freda més curts (com els utilitzats normalment en la pràctica clínica), i tampoc se'n sabia res dels mecanismes implicats en aquesta protecció, ni l'efecte del PCI sobre la lesió pulmonar associada al trasplantament hepàtic.

Considerant tots aquests precedents, la hipòtesi general d'aquest treball fou investigar si el PCI podia modular l'acumulació de xantina i la conversió d'XDH en XOD durant el període d'isquèmia i, d'aquesta manera, protegir de la lesió hepàtica i pulmonar associada al trasplantament hepàtic.

MATERIAL I MÈTODES

Per investigar aquesta hipòtesi, ens plantejàrem diversos objectius. El primer fou investigar si el PCI isquèmic era capaç de protegir de la lesió hepàtica i pulmonar associada al trasplantament hepàtic. Per dur a terme aquest objectiu, s'establiren els següents grups experimentals, utilitzant un model experimental de trasplantament hepàtic ortotòpic (els animals d'experimentació utilitzats foren rates mascle Sprague Dawley):

1. Grup Sham: els animals foren sotmesos a laparotomia.
2. Grup trasplantament: els animals es sotmeteren a un trasplantament ortotòpic de fetge; el fetge fou preservat durant 8 hores a 4 °C en solució de preservació, i a les 24 hores de la intervenció quirúrgica es recolliren mostres de sang i de teixit hepàtic i pulmonar.
3. Grup PCI: igual que el grup anterior però amb prèvia inducció de PCI isquèmic consistent en 10 minuts d'isquèmia i 10 minuts de reperfusió hepàtica previs a la isquèmia freda.

Al final de la reperfusió es prengueren mostres de plasma i teixit pulmonar. La lesió hepàtica s'avaluà mitjançant la determinació de transaminasas en plasma.

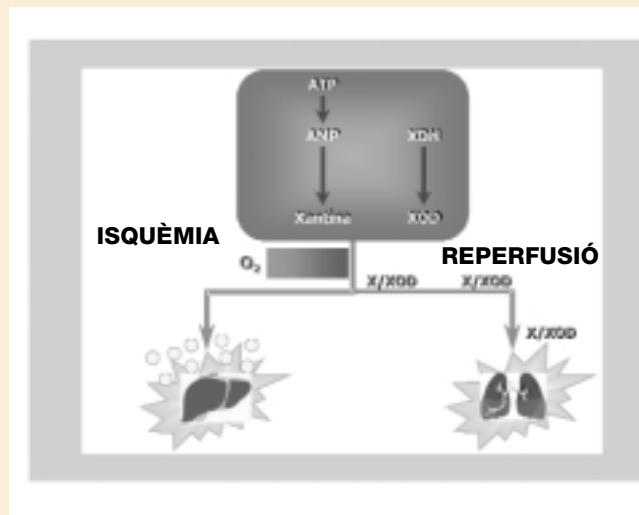
El dany pulmonar es valorà mitjançant la determinació de l'acumulació de neutròfils (activitat MPO), l'estrès oxidatiu (nivell d'MDA) i l'edema en teixit hepàtic. Així mateix, es realitzaren anàlisis histològiques de fetge i pulmó.

El segon objectiu fou avaluar si el PCI podria modular l'acumulació de xantina i la conversió d'XDH en XOD durant un període d'isquèmia freda. Per dur a terme aquest objectiu s'establiren tres grups experimentals, duts a terme en un model d'isquèmia freda hepàtica en rata:

4. Grup control: es va procedir a la perfusió del fetge amb solució de preservació a 4 °C i immediatament es prengueren mostres de teixit hepàtic.
5. Grup d'isquèmia: es va dur a terme la perfusió del fetge amb solució de preservació a 4 °C i es mantingué submergit en aquesta a 4 °C durant 8 hores; al final d'aquest temps, es recolliren mostres de teixit hepàtic.

Lesió d'I/R associada al trasplantament hepàtic

Fig.1



6. Grup de PCI i isquèmia: igual que l'anterior, però sotmetent al fetge a un PCI consistent en 10 minuts d'isquèmia i 10 minuts de reperfusió, previs a la perfusió de l'òrgan.

Per comprovar si aquest fenomen era dependent o no del temps d'isquèmia utilitzat, es repetiren aquests grups tot sotmetent els fetges a un període d'isquèmia freda de 16 hores. Al final del període d'isquèmia freda es recolliren mostres de teixit hepàtic en les què es determinà l'acumulació de xantina i l'activitat XDH/XOD.

El següent pas fou avaluar el paper del sistema xantina/XOD en la generació de lesió hepàtica i pulmonar associada al trasplantament hepàtic. Per dur a terme aquest objectiu s'establiren els següents grups experimentals:

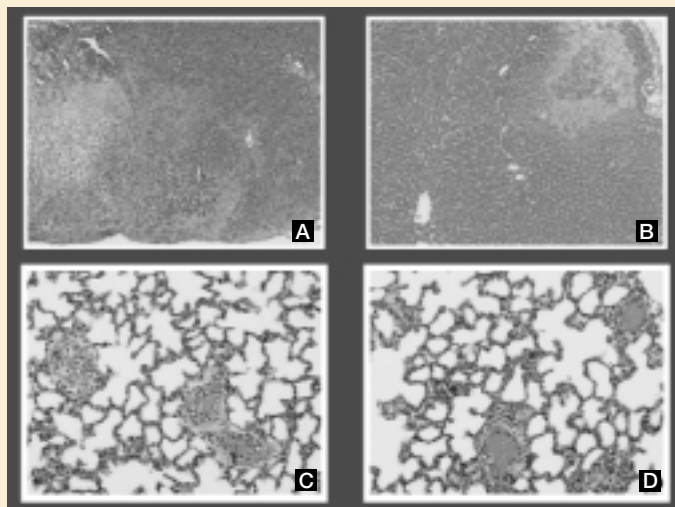
7. Grup alopurinol: igual que el grup 2, però amb l'administració d'alopurinol (inhibidor d'XOD) al començar la perfusió
8. Grup PCI + xantina/XOD: igual que el grup 3 més administració de xantina/XOD al començament de la reperfusió.

Aquests grups experimentals es realitzaren també en condicions de 16 hores d'isquèmia freda i 6 hores de reperfusió, per comprovar si l'efecte del sistema xantina/XOD és dependent o no del temps d'isquèmia freda.

Una altra part del treball va consistir en avaluar l'efecte del PCI sobre la lesió hepàtica i pulmonar associada al trasplantament hepàtic utilitzant com a solució de preservació la de la Universitat de Wisconsin (UW), que en la seva composició conté substàncies que milloren la preservació, com ara antioxidants (entre ells, alopurinol). En tots els experiments exposats fins aquest moment s'havia utilitzat solució d'Euro Collins (EC) com a solució de preservació.

Anàlisi histològica

Fig.2



Anàlisi histològica (A i B) i pulmonar (C i D) dels grups de trasplantament (esquerra de l'imatge) i PCI (dreta de l'imatge). S'observa una major lesió en els grups de trasplantament (necrosi d'hepatòcits en fetge i infiltració neutrofílica en pulmó) respecte als grups de PCI.

RESULTATS I CONCLUSIONS

El PCI redueix la lesió hepàtica i pulmonar associada al trasplantament hepàtic. Els nivells de transaminases i la lesió histològica es reduïren significativament en el grup de PCI respecte al grup de trasplantament; aquests resultats indicaren que el PCI protegia de la lesió hepàtica en temps d'isquèmia freda com els utilitzats a la pràctica clínica. Pel que fa a la lesió pulmonar, tant els paràmetres bioquímics de lesió (infiltració de neutròfils, estrès oxidatiu i edema) com l'anàlisi histològica mostraren una disminució significativa de la lesió pulmonar en el grup de PCI respecte al grup de trasplantament, mostrant també la protecció d'aquesta estratègia enfront de la lesió pulmonar associada al trasplantament hepàtic (figura 1).

El PCI modula l'acumulació de xantina i la conversió d'XDH en XOD durant un període d'isquèmia freda. Tal com s'esperava, en avaluar l'acumulació de xantina en els grups sotmesos a isquèmia freda, aquests mostraren una acumulació de xantina respecte al grup control; en canvi, en sotmetre al fetge a un PCI previ, aquesta acumulació va disminuir significativament. Quant a la XDH/XOD, l'activitat total de l'enzim no va variar en els tres grups realitzats. En canvi, la proporció d'XOD (forma productora d'RLO) fou significativament major en el grup d'isquèmia en comparació amb el grup control. Quan s'aplicà un PCI previ, la proporció d'XOD fou similar a la del grup control. Aquests resultats foren similars en sotmetre al fetge tant a 8 com a 16 hores d'isquèmia freda. Aquest experiment va demostrar que el

PCI isquèmic era capaç de disminuir l'acumulació de xantina i la conversió d'XDH en XOD durant el període d'isquèmia.

Paper de la xantina i d'XOD sobre la lesió hepàtica i pulmonar associada al trasplantament hepàtic.

El grup al que s'havia administrat alopurinol (inhibidor d'XOD) va obtenir com a resultat una disminució significativa de la lesió hepàtica i de l'estrès oxidatiu hepàtic al trasplantament hepàtic; per tant, l'alogurinol va emular l'efecte del PCI. En canvi, en administrar xantina/XOD en el grup en que prèviament s'havia induït un PCI es revertiren els efectes beneficiosos d'aquest mecanisme quirúrgic sobre la lesió hepàtica i l'estrès oxidatiu hepàtic associats al trasplantament hepàtic, de manera que aquests paràmetres de lesió foren similars als trobats en el grup de trasplantament. Aquests resultats s'observaren en ambdues condicions d'isquèmia i reperfusió, cosa que demostra que aquest fenomen és independent del temps d'isquèmia freda utilitzat. Els resultats obtinguts en l'anàlisi histològica corroboren aquests resultats bioquímics (figura 2, A i B).

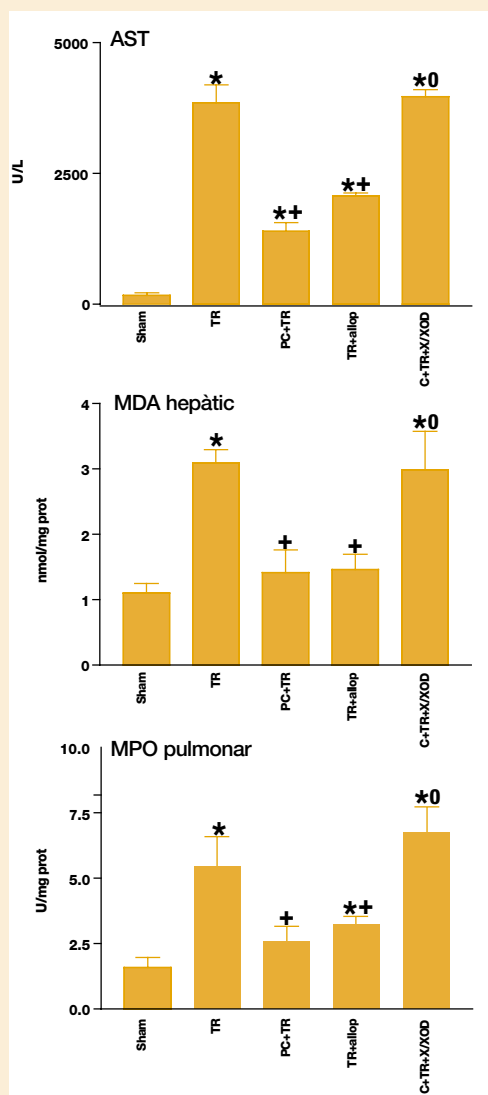
Paral·lelament als resultats obtinguts respecte a la lesió i estrès oxidatiu hepàtic, la lesió pulmonar va mostrar un comportament similar en aquests grups d'estudi. D'aquesta manera, el grup al que s'havia administrat l'inhibidor d'XOD mostrà una reducció de la lesió pulmonar, avaluada mitjançant la infiltració de neutròfils, l'estrès oxidatiu i l'edema pulmonar; mentre que en el grup de PCI, al qui se li administrà xantina/XOD, s'observà una reversió de la protecció exercida pel PCI. Aquests resultats es trobaren en ambdues condicions d'isquèmia i reperfusió, cosa que demostra que aquest fenomen és independent del temps d'isquèmia freda utilitzat. Els resultats obtinguts en l'anàlisi histològica corroboren aquests resultats bioquímics de lesió pulmonar, que foren similars als del grup de trasplantament (figura 2, C i D).

Els resultats exposats fins ara confirmaven la hipòtesi inicial: el PCI isquèmic disminueix l'acumulació de xantina i la conversió d'XDH en XOD. Aquest fet provoca la protecció enfront de la lesió hepàtica i pulmonar associada al trasplantament hepàtic.

La protecció del PCI sobre la lesió hepàtica i pulmonar associada al trasplantament hepàtic és independent de la solució de preservació utilitzada.

Tots els experiments exposats fins ara van ser duts a terme utilitzant com a solució de preservació la d'Euro Collins (EC). Aquesta solució no s'utilitza com a solució de preservació hepàtica actualment, ja que hom disposa d'altres solucions que han demostrat resultats molt millors en la preservació hepàtica. Normalment, en trasplantament hepàtic s'utilitza com a solució de preservació la solució de la Universitat de Wisconsin. Aquesta solució inclou en la

Fig.3



AST: lesió hepàtica a 8 hores d'isquèmia i 24 hores de reperfusió en els grups de trasplantament, PCI, administració d'alopurinol i PCI més xantina/XOD; aquesta gràfica és representativa d'AST i ALT i d'ambdues condicions experimentals (8 h d'isquèmia-24 h de reperfusió i 16 h d'isquèmia-6 hores de reperfusió).

MDA hepàtic: estrès oxidatiu hepàtic en els grups de trasplantament, PCI, administració d'alopurinol i PCI més xantina/XOD; aquesta gràfica és representativa d'ambdues condicions experimentals.

MPO pulmonar: lesió pulmonar en els grups de trasplantament, PCI, administració d'alopurinol i PCI més xantina/XOD; aquesta gràfica és representativa d'infiltració de neutròfils, estrès oxidatiu i edema pulmonar en ambdues condicions experimentals.

treball perquè la intenció era demostrar si el PCI protegia enfront de la lesió hepàtica i pulmonar associada al trasplantament hepàtic, si el sistema xantina/XOD estava implicat en aquesta protecció, i si la composició d'aquesta solució no inclou substàncies que poden esbiaixar aquests efectes, com podria ser l'alopurinol o d'altres antioxidants presents en la solució de la UW.

En realitzar aquest experiment, amb solució de la UW com a solució de preservació, els resultats obtinguts mostraren, tal i com s'esperava, una disminució del dany hepàtic associat al trasplantament en el grup en què s'utilitzà solució de la UW enfront del grup en què s'utilitzà solució d'EC. En canvi, els grups de PCI no mostraren diferències en utilitzar una i altra solució de preservació. Aquests resultats indiquen que la protecció oferta pel PCI enfront de la lesió hepàtica és independent de la solució de preservació utilitzada. Pel que fa a la protecció enfront de la lesió pulmonar associada al trasplantament hepàtic, la utilització de solució de la UW no mostrà millora respecte a la utilització de la solució d'EC. El PCI va protegir de la mateixa manera utilitzant ambdues solucions, fet que corrobora la independència d'aquesta estratègia quirúrgica respecte a la solució de preservació utilitzada.

COMENTARI

El PCI s'anuncia com una estratègia molt eficaç a l'hora de protegir al fetge enfront de la lesió per isquèmia-reperfusió. Aquest treball s'enmarca dins d'una investigació activa en aquest camp, tant en isquèmia freda com en isquèmia calenta. Des de la publicació d'aquest estudi, ja fa més de dos anys, s'han publicat més treballs en revistes internacionals tot seguint aquestes investigacions. D'aquesta manera, s'ha demostrat que el PCI també és capaç de protegir i millorar la síndrome d'I/R, tant en isquèmia calenta com en isquèmia freda, en fetges esteatòtics, que són molt més sensibles a aquesta patologia. Aquest fet apunta a l'extensió del nombre d'empelts hepàtics susceptibles de ser trasplantats, ja que donants que fins ara es rebutjaven podrien, gràcies al PCI, considerar-se aptes per ser trasplantats. També s'ha demostrat que el PCI millora la regeneració hepàtica, fet que podria ser aplicat a la millora de les reseccions hepàtiques i al trasplantament hepàtic de donant viu. A l'àmbit clínic ja existeixen també resultats publicats en isquèmia calenta que demostren l'eficàcia del PCI enfront de la I/R en reseccions hepàtiques. No obstant, encara són necessàries moltes investigacions per comprendre els mecanismes d'actuació d'aquesta estratègia quirúrgica.

seva composició substàncies que milloren la preservació, com per exemple alopurinol. En un primer moment es va escollir la solució d'EC per fer aquest

.....
Leticia Fernández

Departament de Patologia Experimental

Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer. Barcelona

III Congrés Internacional d'Immunosupressió

Del 8 a l'11 de desembre es va celebrar a San Diego (Califòrnia) el III Congrés Internacional d'Immunosupressió. La reunió, presidida pel Prof. R. Busuttil, de la Universitat d'UCLA (Los Angeles), i el Prof. P. Neuhaus, de la Universitat Clinic Charité de Berlín, va comptar amb un ampli comitè organitzador.

En aquest article, l'autor resumeix les novetats més interessants que es van presentar en aquest Congrés.

Aquest congrés, dedicat íntegrament a immunosupressió, abraçant tots els òrgans sòlids, va comptar amb sessions plenàries dedicades fonamentalment a l'àrea de recerca i sessions generals, dividides per òrgans, on es presentaren les comunicacions seleccionades en les àrees d'investigació, assaigs clínics, ciència bàsica o aplicació clínica. També es presentaren un nombre important de pòsters que foren discutits en diverses sessions; cal destacar les sessions d'actualització i les de controvèrsies.

Una de les conferències més interessants, a càrrec del Dr. S. Knechtle, fou la titulada: "Estratègies de preconditionament". El Dr. Knechtle va destacar el paper dels limfòcits a la resposta immunitària i la importància dels fàrmacs que produeixen la depleció dels mateixos. Un d'ells, Campah-1H, s'ha emprat en trasplantament renal i ha reduït la taxa de rebuig agut, fonamentalment en pacients amb un risc alt, com ara els pacients amb necrosi tubular aguda inicial que requereixen diàlisi postrasplantament. A més, aquesta depleció de limfòcits permet minimitzar la utilització d'anticalcineurítics en el manteniment.

Un altre dels temes atractius fou el de la immunosupressió en els receptors de trasplantament hepàtic amb infecció crònica pel virus de l'hepatitis C (VHC). Una de les sessions va estar dedicada íntegrament a tractar aquest tema. Tradicionalment, les pautes immunosupressores sense esteroides, o en les quals els esteroides s'utilitzaven en dosis baixes o es retiraven ràpidament, semblaven tenir un efecte beneficiós sobre la recurrència vírica. Recentment, en treballs presentats en aquest congrés, pautes immunosupressores amb dosis baixes de prednisona administrades durant un llarg període de temps tenen un efecte protector enfront de la recurrència vírica. Els esteroides disminueixen la fibrosi, la qual cosa pot actuar de manera favorable en aquests pacients.

Un altre estudi interessant fou el presentat per la Universitat d'UCLA sobre els factors operatoris i perioperatoris que influeixen sobre la recidiva del VHC, dut a terme en

un grup de 307 trasplantaments VHC+. L'examen multivariat mostrà que l'augment en l'edat dels donants, donants amb més de cinc dies d'estada hospitalària, temps d'isquèmia calenta superior a 45 minuts i receptors urgents eren factors pronòstics independents de recidiva precoç.

Un treball que també va suscitar interès fou el del Dr. O'Grady, que presentà els resultats a 3 anys de l'estudi multicèntric prospectiu aleatoritzat on es comparava l'eficàcia i seguretat de tacrolimus enfront de ciclosporina neoral en un grup de receptors de trasplantament hepàtic. Els resultats a 3 anys ratifiquen els resultats obtinguts a 6 mesos-1 any ja publicats, segons els quals tacrolimus presenta un major benefici com a immunosupressor principal en els receptors de trasplantament hepàtic. No obstant, els resultats no varen mostrar diferències en relació amb la pèrdua d'empelts per recidiva del VHC.

Un altre interessant estudi fou el presentat pel Dr. Evaristo Varo, en què hi han participat dotze centres de trasplantament hepàtic espanyols. L'objectiu fou avaluar l'eficàcia en la prevenció del rebuig agut en receptors d'un primer trasplantament hepàtic d'un règim lliure d'esteroides en comparació amb un tractament estàndard. Es varen incloure 154 pacients: el grup A va rebre daclizumab, tacrolimus i MMF (2 g/dia), mentre que el grup B rebia tacrolimus i esteroides en pauta clàssica descendent. Els esteroides havien de ser retirats entre els 3 i 6 mesos postrasplantament. El més rellevant dels resultats és que la incidència de rebuig agut va ser menor en el primer grup enfront del segon (grup A: 8,6%; grup B: 28,1%, p= 0,003). Finalment, cal destacar la conferència impartida per la Dra. Kelly, del Children's Hospital HHS Trust (Birmingham), que va comentar la bona tolerància dels nens pel que fa a la immunosupressió a llarg termini. Històricament, la majoria d'ells eren sotmesos a immunosupressió amb ciclosporina com a immunosupressor basal. També presentà dades en què es mostrava que els nens amb trasplantament de ronyó o cor rebien una immunosupressió més alta que aquells amb un trasplantament hepàtic. Actualment, els règims lliures d'esteroides cada vegada són més comuns a la pràctica diària.

.....
Ramón Charco

Consultor Cirurgia Hepàtica i Trasplantament
IMDiM. Hospital Clínic i Provincial, Barcelona

8è Congrés de la Societat Catalana de Trasplantament



Dates

Del 6 al 9 de febrer de 2005

Seu

Hotel Rey Juan Carlos I
Av. Diagonal, 661-671
08028 Barcelona

Idioma

Els idiomes del Congrés seran el castellà i l'anglès

Secretaria

AOPC - 8º Congreso de la SCT
Edif. Colon

Av. Drassanes, 6-8, 19º

08001 Barcelona

Tel: 933 027 541 - Fax: 933 011 255

E-mail: congress@aopc.es

Web del Congrés

Recomanem la utilització de la web de la Fundació Catalana de Trasplantaments (www.fctrasplant.org) per registrar-se i per obtenir una informació actualitzada del Congrés

Adjudicació Beques de l'FCT per a la recerca-2005

- “Detecció i estudi de nous marcadors moleculars de rebuig: la proteïncinasa Par1/Emk1, un regulador de la polarització limfocitària”

Violeta Beltrán Sánchez

- “Interacció de calcineurina amb el seu inhibidor endogen calcipresina 1: anàlisi estructural per al disseny de nous fàrmacs”

Anna Aubareda Rodríguez

- “Caracterització immunològica de receptors d'un trasplantament hepàtic tolerants al seu empelt”

Isabel Puig-Pey Comas

- “Anàlisi de la variabilitat genètica del VHC i la seva resposta al tractament antiviral abans i després del trasplantament hepàtic”

José Antonio Carrión Rodríguez

Adjudicació Premis a la millor ponència sobre trasplantament-2004

Títol de la ponència: “Ischemic preconditioning during donor procurement in orthotopic liver transplantation. Preliminary results of a prospective and randomised trial”

Premiat: A. Amador Marchante

Cirurgia Hepàtica i Trasplantament, Institut Clínic de Malalties Digestives i Metabòliques, Hospital Clínic i Provincial, Barcelona

Adjudicació Premi de l'FCT al millor article publicat sobre trasplantament-2004

Títol de l'article: “Tim-3 inhibits T helper type 1-mediated auto and alloimmune responses and promotes immunological tolerance”

Premiat: Alberto Sánchez Fueyo

Division of Immunology, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School, Boston, EUA

Publicació: *Nature Immunology*, novembre, 2003

Nova legislació europea per a cèl·lules i teixits d'origen humà

A mitjans de l'any 2003 es varen començar a produir a la legislació europea uns canvis molt importants que s'han mantingut durant l'any 2004, tots ells relacionats amb l'obtenció i utilització de teixits i cèl·lules d'origen humà. Els primers canvis legislatius es van iniciar el juny de 2003 en ser publicats els annexes de la Directiva sobre medicaments d'ús humà (DC 2003/63), en els quals es va incloure la teràpia cel·lular somàtica, és a dir, els cultius cel·lulars, a l'apartat de "Teràpies avanzadas". Amb aquesta inclusió en la Directiva del Medicament, qualsevol tipus de cultiu cel·lular d'origen humà per ser aplicat en humans passa a ser considerat i tenir el mateix tracte d'un medicament. Aquesta directiva es va transposar de manera molt ràpida a la legislació espanyola i el dia 12 de desembre de 2003 va ser publicada al BOE núm. 297 (Orden SCO 3461/2003). Posteriorment, el 7 de febrer de 2004 es va publicar l'RD

223/2004, pel qual es regulen els assaigs clínics amb medicaments i per tant els assaigs clínics amb cèl·lules d'origen humà. Amb aquest RD, qualsevol assaig clínic que es vulgui endegar amb cèl·lules d'origen humà ha de ser autoritzat per l'Agència d'Avaluació del Medicament (AEM) de Madrid. Quan hagi finalitzat la fase d'assaig clínic, el cultiu cel·lular assajat haurà de ser aprovat per l'AEM per a la seva distribució com a medicament. Finalment, el 31 de març de 2004 es va publicar la Directiva Comunitària 2004/23, destinada a establir normes de qualitat i seguretat per a la donació, obtenció, avaluació, preservació, processament, emmagatzematge i distribució de cèl·lules i teixits humans, que encara no ha estat transposada i que quan ho estigui substituirà l'RD 411/96. Ara, amb l'actual legislació, ens trobem que tot el que fa referència als cultius cel·lulars destinats a ser distribuïts i

utilitzats en humans tindrà una doble vessant de control. D'una banda, l'AEM ha d'autoritzar els assaigs clínics a realitzar i, quan aquests hagin finalitzat, haurà d'autoritzar el propi cultiu cel·lular/medicament per a la seva distribució i aplicació en humans. D'altra banda, tot el que fa referència a les normes de qualitat i seguretat en la donació, obtenció i avaluació del teixit extret per obtenir cèl·lules o les pròpies cèl·lules obtingudes, haurà d'estar controlat pels organismes sanitaris competents de les comunitats autònomes (CCAA). Si la transposició de la Directiva 2004/23 segueix les normes de l'actual RD 411/96, la implantació, aplicació o infusió del cultiu i el seguiment del pacient també seran responsabilitat de les CCAA. Pel que fa referència als teixits tradicionals, no es preveuen grans canvis legislatius, ja que actualment es d'aplicació l'RD 411/96 i la DC 2004/23 ho serà quan es transposi.

Comparació de l'activitat de donació i trasplantament 2002-2004 Dades acumulades interanualment fins a novembre

	Període 12/02-11/03 n % ⁽¹⁾	Període 12/03-11/04 n %	Variació (%)
Negatives familiars ⁽¹⁾	73 21,2	65 18,1	-7,5
Negatives judicials ⁽²⁾	1 1,4	1 2,1	-1
Donants vàlids	237	253	6,8
Trasplantaments			
Renals	418	436	4,3
Hepàtics	231	205	-11,3
Cardíacs	45	52	15,6
Pulmonars	23	32	39,1
Pancreàtics	24	13	-45,8

⁽¹⁾ El percentatge està calculat sobre el total d'entrevistes familiars realitzades en el període.

⁽²⁾ El percentatge està calculat sobre el total de donants judicials del període.

⁽³⁾ A causa del canvi en el sistema d'informació, el nombre d'entrevistes i de donants judicials corresponents a l'any 2002 s'ha calculat en base a estimacions.

Publicació periòdica de l'Organització Catalana de Trasplantaments i de la Societat Catalana de Trasplantament

DIRECCIÓ: Carles Margarit i Rosa Deulofeu

COMITÈ DE REDACCIÓ: Ramón Charco, Maria Jesús Félix, Carles Margarit i Rosa Deulofeu

SECRETÀRIA DE REDACCIÓ: Marga Sanromà

CONSELL EDITORIAL: Jeroni Alsina, Antonio Caralps, Juan Carlos García-Valdecasas, Josep Lloveras, Vicens Martínez-Ibáñez, Jaume Martorell, Eulàlia Roig, Ricard Solà, Josep M. Grinyó, Maria Antonia Viedma i Jordi Vilardell

EDITOR: Adolfo Cassan

COORDINACIÓ: Pablo Stajnsznajder

ASSESSORAMENT LINGÜÍSTIC: Mònica Noguero

DISSENY I MAQUETACIÓ: Duodisseny

PRODUCCIÓ: Letramédica scp.

E-MAIL: 19515psh@comb.es

REDACCIÓ, SUSCRIPCIONS I CORRESPONDÈNCIA:

Fundació Catalana de Trasplantament

Carrer Muntaner, 292, 3er, 2a

08021 Barcelona

Tel.: 93 200 33 71 Fax: 93 200 48 45

web: www.fcctransplant.org

Patrocinat per la Fundació Catalana de Trasplantament amb el suport econòmic de Fujisawa. S'autoritza la reproducció citant la procedència. Butlletí de Trasplantament no comparteix necessàriament les opinions que s'hi publiquen.

Fujisawa
New Medicines for New Times