

# Trasplantament

NÚMERO 44 JUNY 2009

**Activitat de donació  
i trasplantament de teixits  
a Catalunya 2008**

Pàg. 2

**Nou President  
de la SCT i la FCT**

Pàg. 14

**Convocatòria de premis  
i beques FCT-2010**

Pàg. 15

## EDITORIAL

### La problemàtica dels assaigs clínics elaborats amb teixits i cèl·lules

Des que la Comissió Europea va dictar una norma legislativa, l'any 2003, que va convertir en medicaments determinats teixits i cèl·lules d'origen humà, la cascada reguladora per incloure en la legislació del medicament aquestes activitats no es va aturar fins a l'any 2007, amb la publicació del Reglament de Teràpies Avançades. Els derivats d'origen humà considerats medicaments són nomenats *teràpies avançades* i inclouen: la teràpia cel·lular, l'enginyeria tissular i la teràpia gènica. Aquesta norma, que va ser promoguda per la indústria i que va destinada majorment al derivats que poden ser elaborats industrialment, també afecta els teixits i cèl·lules que poden ser desenvolupats i elaborats per professionals en un hospital per tractar un pacient o un grup de pacients, si compleixen unes condicions determinades. Si els derivats d'origen humà van destinats a exercir una funció diferent a la qual els hi és pròpia, si s'han de manipular d'una manera considerada complexa, o si la forma i lloc d'administració/aplicació no és la fisiològica, són tractats i considerats medicaments i, per tant, regits per la Llei del Medicament i totes les que se'n deriven. En la Llei del Medicament (Llei 29/2006, del 26 de juliol) es preveu un tractament diferenciat entre el medicament amb teixits/cèl·lules d'elaboració industrial i el medicament de producció no industrial (Art. 47.3). Aquest tractament diferenciat previst consisteix en el desenvolupament d'un Reglament que hauria de donar normes específiques per tractar aquests teixits/cèl·lules elaborats en un hospital. Aquest Reglament, anunciat en la Llei de 2006, encara no s'ha publicat. Actualment, el primer que s'ha de plantejar el professional hospitalari que vol posar en marxa un assaig clínic amb teixits/cèl·lules és en quin marc legislatiu quedarà emmarcat l'assaig clínic, ja que això determinarà a quina instància s'ha de presentar i els mitjans que necessitarà per a la seva aprovació. En ambdós casos, el projecte d'assaig clínic ha de ser aprovat pel comitè d'ètica d'investigació clínic de l'hospital. Si es considera que els teixits/cèl·lules no tenen criteris de medicament, seran regulats per la legislació de teixits, poden ser elaborats en un banc de teixits tradicional (RD 1301/2006), s'han de presentar a

a pàgina 16

## SUMARI

### TRASPLANTAMENT DE TEIXITS HUMANS

Activitat de donació i trasplantament de teixits a Catalunya 2008.....2

### TEMES A REVISIÓ

El trasplantament pulmonar a Catalunya.....5

Trasplantament de cèl·lules alveolars tipus II en el tractament de la fibrosi pulmonar idiopàtica: estudi clínic.....7

### RESULTATS BEQUES FCT

Estudi comparatiu de mutacions en l'eix de senyalització Pi3-K/PTEN/Akt en el càncer colorectal de pacients trasplantats renals tractats amb inhibidors de calcineurina respecte de la població general.....9

Aplicació de les cèl·lules progenitores mesenquimals del teixit adult en medicina regenerativa de la superfície ocular.....11

Estudi de la senyalització de CD40 en cèl·lules dendrítiques mitjançant interferència d'ARN.....12

Estudi de biomarcadors de dany a l'empelt renal en models *in vitro* de cèl·lula tubular renal humana.....13

### ACTUALITAT

XXIV Reunió de Coordinadors de Trasplantaments.....14

Dr. Daniel Serón, nou President de la SCT i la FCT.....14

CONVOCATÒRIA DE BEQUES I PREMIS FCT-2010.....15

### OCATT

Activitat de donació i trasplantament a Catalunya.....16

# Activitat de donació i trasplantament de teixits humans a Catalunya 2008

Com succeeix cada any des que es va iniciar el control i el seguiment de les activitats d'obtenció i trasplantament de teixits, segueixen incrementant-se tant el nombre d'unitats de teixit trasplantades i pacients tractats, com el ventall d'especialitats quirúrgiques que s'han adherit a la utilització d'aquesta alternativa terapèutica que actualment ofereixen els teixits. L'any 2008 s'ha utilitzat un total de 4.319 unitats (Figura 1) dels diferents tipus de teixits, per tractar 3.499 pacients en les diferents especialitats.

## TRASPLANTAMENT DE CÈL·LULES PROGENITORES DE L'HEMOPOESI

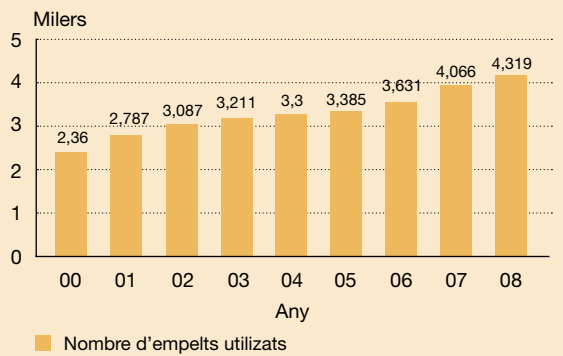
El nombre de trasplantaments de cèl·lules progenitores de l'hemopoiesi (TPH) realitzats durant l'any 2008 ha estat de 377. Aquest nombre suposa un 12% menys que el de l'any 2007. Dels 377 trasplantaments, 51 (13,5%) es van realitzar a nens, i 326 (86,5%) a adults. Del nombre total de trasplantaments, 190 (50,5%) van ser autogènics, 98 (25,9%) al·logènics familiars i 89 (23,6%) al·logènics no familiars. A la Taula 1 es pot observar la font de procedència dels progenitors hemopoètics agrupats pel tipus de trasplantament i per grups d'edats. Cal destacar que un 43,2% dels trasplantaments al·logènics no familiars s'ha realitzat fent servir la sang de cordó umbilical com a font dels progenitors. Les indicacions de trasplantaments d'adults més freqüents han estat les hemopaties malignes, i dins d'aquestes, la leucèmia aguda mieloblàstica (24,8%), les gammopaties monoclonals (21,5%) i els limfomes no Hodgkin (19,3%). En nens, les indicacions més freqüents han estat la leucèmia aguda limfoblàstica (35,3%) i la leucèmia aguda mieloblàstica (16,6%). A la Figura 2 es pot observar l'evolució del nombre i la taxa per milió de població (pmp) de trasplantaments de cèl·lules progenitores de l'hemopoiesi.

## TRASPLANTAMENT DE TEIXIT OSTEOTENDINÓS PRESERVAT EN FRED

Amb la nova legislació destinada a teixits i cèl·lules, s'han extingit els bancs de teixit ossi existents als hospitals, i amb ells ha desaparegut la donació de teixit ossi de donant viu a Catalunya. Malgrat la supressió de la donació de viu, el nombre de donants de teixit osteotendinós s'ha incrementat en un 38,3% (Figura 3), fet que ha propiciat un gran increment de la disponibilitat d'aquest tipus de teixit a Catalunya. Un aspecte a destacar és que, a mesura que ha disminuït la donació de viu, ha incrementat la viabilitat del teixit obtingut (Figura 4). Com es pot observar, la viabilitat del teixit ha anat millorant amb el pas dels anys: mentre que l'any 2008 ha estat del 94%, l'any anterior havia estat del 91%. El teixit osteotendinós segueix sent el tipus de teixit més utilitzat, tant el preservat en fred, com el liofilitzat (Figura 5). Pel que fa a la conservació en fred, aquest any s'han realitzat trasplantaments a 1.685 pacients, en el tractament dels quals s'ha utilitzat 2.505 fragments/peces de diferents tipus de teixit congelat (Taula 2). Com es pot observar, el tipus de teixit que

Evolució del nombre de trasplantament de teixits a Catalunya

Fig.1



Font de procedència dels progenitors hemopoètics

Taula 1

	Autogènic		
	MO	SP	MO + SP
Nens	2	10	0
Adults	0	177	1
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>187</b>	<b>1</b>

	Al·logènic familiar			
	MO	SP	MO + SP	SCU
Nens	11	4	0	1
Adults	3	78	1	0
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>82</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

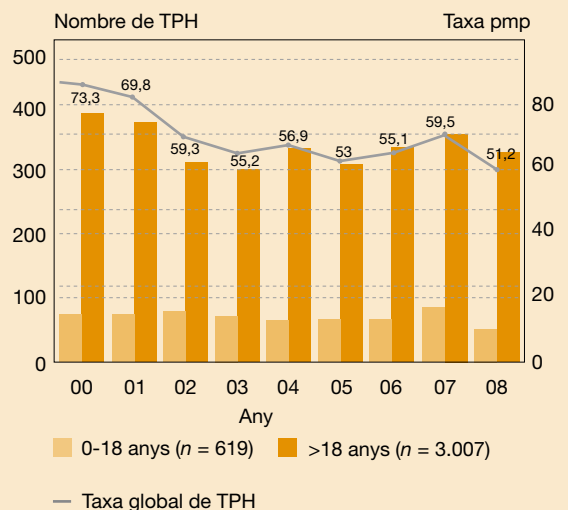
  

	Al·logènic no familiar			
	MO	SP	SCU	SP + SCU
Nens	8	1	14	0
Adults	3	37	25	1
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>38</b>	<b>39</b>	<b>1</b>

MO: medul·la òssia; SP: sang perifèrica; SCU: sang de cordó umbilical.

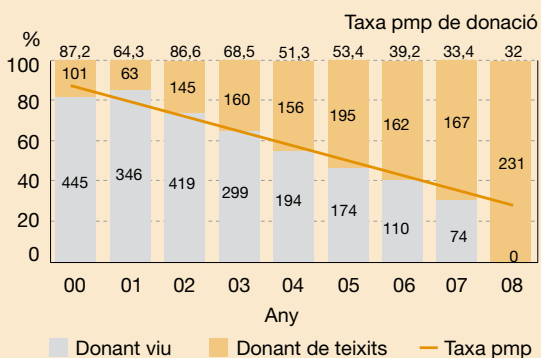
Evolució del nombre i la taxa pmp del trasplantament de cèl·lules progenitores de l'hemopoiesi

Fig.2



**Evolució del tipus de donant de teixit osteotendinós i de la taxa pmp**

Fig.3



**Tipus de teixit utilitzat. Fragments/peces**

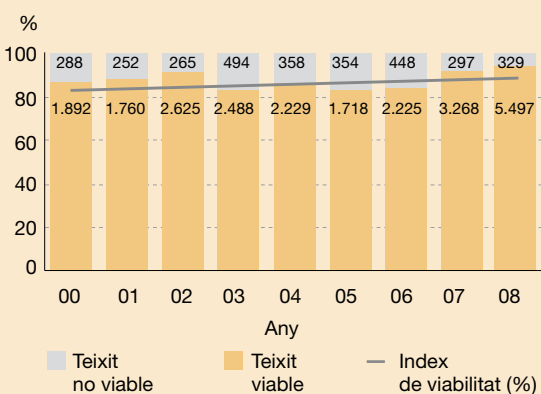
Taula 2

F./P. utilitzats	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
T. ossi	1.179	1.517	1.640	1.903	1.713	1.779	1.754	1.871	2.055
T. tendinós	110	123	160	139	144	192	222	274	341
Fascia L.	58	21	27	2	1	0	0	0	2*
Menisc	0	16	32	15	17	15	23*	33	29
C. condr.	0	3	7	0	2	3	0	2*	0
F. C. / PRP	0	0	0	0	28	17	34	164	80
<b>Total</b>	<b>1.347</b>	<b>1.680</b>	<b>1.866</b>	<b>2.059</b>	<b>1.905</b>	<b>2.006</b>	<b>2.010</b>	<b>2.342</b>	<b>2.505</b>

\* Inclosos en teixit tendinós

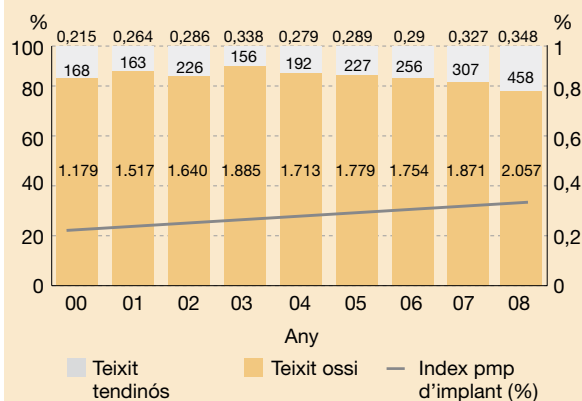
**Evolució de la viabilitat del teixit osteotendinós i índex de viabilitat**

Fig.4



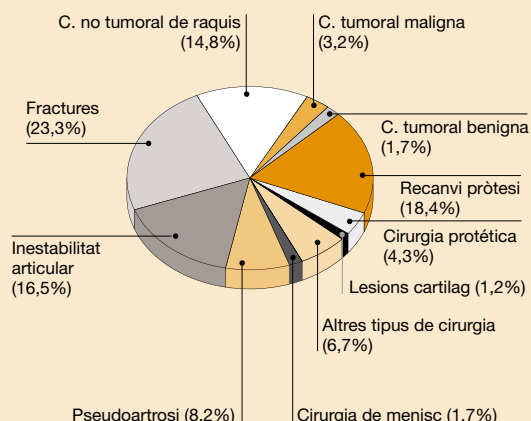
**Evolució del tipus de teixit implantat y taxa pmp**

Fig.5



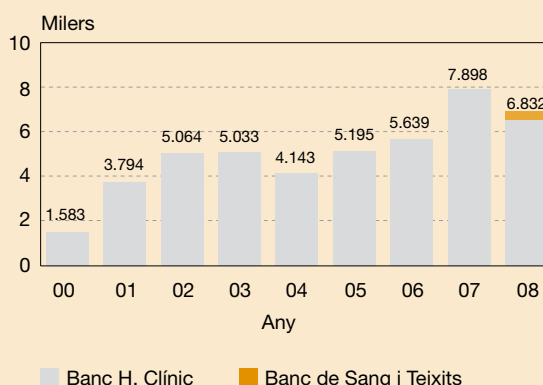
**Indicacions diagnòstiques del trasplantament de teixit osteotendinós**

Fig.6



**Evolució de la distribució de les unitats de teixit ossi liofilitzat distribuïdes des de Catalunya**

Fig.7



més s'ha incrementat és el teixit ossi esponjós (9,1%), seguit del teixit tendinós (2,4%). La taxa de pacients trasplantats per milió de població l'any 2008 va ser de 221 pmp, mentre que la de la resta de l'Estat va ser de 139,7 pmp. Pel que fa als diagnòstics dels pacients tractats amb teixit (Figura 6), segueixen mantenint-se les mateixes indicacions diagnòstiques i la seva distribució és molt similar a les dels altres anys.

**TEIXIT OSSI LIOFILITZAT**

Aquest any és el primer any en què ha disminuït (-14%) la distribució de teixit ossi liofilitzat des dels bancs de teixits de Catalunya, tot i que s'ha de considerar que també ha estat el primer any que l'han distribuït els dos grans bancs de teixits (Figura 7), i que des del Banc de l'Hospital Clínic s'ha distribuït el 95,2% del total de teixit.

**Evolució de la utilització de teixits humans en oftalmologia**

Taula 3

Tipus de trasplantament	2005	2006	2007	2008
Còrnia	929	910	1.006	981
Escleròtica	11	53	57	76
Cultiu cèl·lules limbars	6	2	1	0
Membrana amniòtica	320	199	280	288
Col·liris de sèrum autòleg	92	336	316	400

**Indicacions diagnòstiques de trasplantament de còrnia**

Taula 4

Diagnòstics	N. trasplant. 2007 (76% P. tractats)	N. trasplant. 2008 (91,6% P. tractats)
<b>Edema corneal</b>	<b>196</b>	<b>271</b>
<i>Postcirurgia cataractes</i>	127	192
<i>Altres tipus intervenció</i>	53	61
<i>Edema no postcirurgia</i>	16	18
<b>Distrofies corneals</b>	<b>177</b>	<b>202</b>
<i>Endotelials</i>	61	74
<i>Estromals</i>	24	15
<i>Ectàsiques</i>	92	113
<b>Opacificacions congènites</b>	<b>13</b>	<b>14</b>
<b>Infeccions víriques</b>	<b>73</b>	<b>84</b>
<b>Infeccions microbianes</b>	<b>29</b>	<b>42</b>
<b>Queratitis ulcerativa no infecciosa</b>	<b>39</b>	<b>39</b>
<b>Degeneració corneal</b>	<b>27</b>	<b>29</b>
<b>Trauma/corrosió càustica</b>	<b>40</b>	<b>49</b>
<b>Retx rebuig immunol.</b>	<b>81</b>	<b>83</b>
<b>Retx. altres</b>	<b>42</b>	<b>33</b>
<b>Opacificació secundària a cirurgia refractiva</b>	<b>13</b>	<b>7</b>
<b>Altres causes</b>	<b>36</b>	<b>50</b>

**Evolució del trasplantament de teixit vascular**

Taula 5

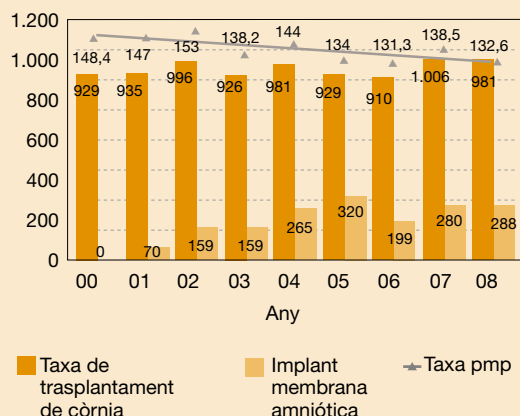
Vàlvula	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Aòrtica	16	15	11	7	11	10	10	8	4
Pulmonar	6	11	10	9	24	43	43	20	15
Mitral	0	1	2	1	1	1	1	0	1
Segments arterials	46	49	33	31	22	48	51	25	38
<b>Total</b>	<b>68</b>	<b>76</b>	<b>56</b>	<b>48</b>	<b>58</b>	<b>102</b>	<b>105</b>	<b>53</b>	<b>58</b>

**TRASPLANTAMENT DE CÒRNIA I TEIXIT OCULAR**

Aquest any, a Catalunya s'ha tractat 981 pacients amb un trasplantament de còrnia, fet que suposa una taxa pmp de 132,61, mentre que la mitjana de l'Estat espanyol ha estat de 60,6 pmp (Figura 8). També s'ha tractat 76 pacients amb implant d'escleròtica i 288 amb membrana amniòtica, i a 400 pacients se'ls ha aplicat col·liris de sèrum autòleg elaborats pels bancs. Mentre que el trasplantament de còrnia se segueix mantenint de manera estable, s'observa un clar increment en la utilització dels altres teixits, a excepció del cultiu de cèl·

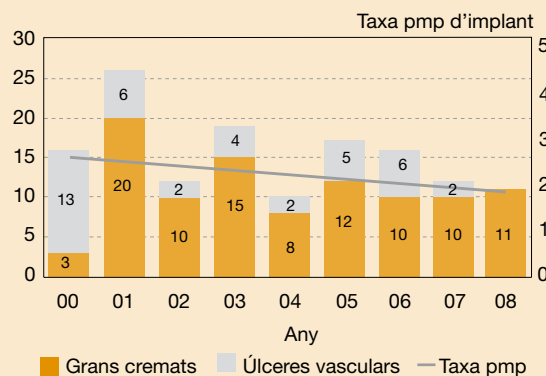
**Evolució del nombre de trasplantaments de còrnia**

Fig.8



**Evolució de la implantació de pell. Diagnòstics i taxa pmp**

Fig.9



lules limbars que aquest any ha estat nul, atesa l'adequació de les instal·lacions dels bancs a la nova legislació (Taula 3). Pel que fa a les indicacions diagnòstiques de trasplantament de còrnia, es mantenen de manera molt similar (Taula 4).

**TRASPLANTAMENT DE TEIXIT VASCULAR**

En l'activitat d'obtenció i trasplantament de teixit vascular de 2008, destaca l'increment de la donació tant de vàlvules cardíaques com dels segments vasculars, i també l'increment de la viabilitat d'ambdós teixits respecte de l'any anterior. La viabilitat dels segments ha estat del 84% (81% el 2007) i la del teixit valvular del 76,5% (70,7% el 2008). En el nombre de trasplantaments de teixit vascular s'observa un increment global del 9%, a expenses dels segments arterials (Taula 5).

**OBTENCIÓ I IMPLANTACIÓ DE PELL**

Aquest any, el nombre de donants de pell s'ha incrementat en un 111%, observant-se una millora de la viabilitat en ambdós bancs de teixits, fet que comporta una gran disponibilitat de l'estoc de pell criopreservada (80.410,18 cm<sup>2</sup>). El nombre de trasplantaments és molt similar als anys anteriors; s'han realitzat trasplantaments a 11 pacients, tots amb la diagnosi de grans cremats, amb una superfície de pell implantada de 47.450 cm<sup>2</sup> (Figura 9).

.....  
**M<sup>a</sup> Jesús Félix, Ruth Barrio i Roser Deulofeu OCATT**

# El trasplantament pulmonar a Catalunya

El trasplantament pulmonar (TP) va néixer a Califòrnia i Toronto a inicis de la dècada dels vuitanta, i poc a poc s'ha anat implantant a la major part dels països desenvolupats. Globalment, al voltant de 2.200-2.400 persones reben cada any un TP, un tipus de tractament que es realitza en més del 95% de les ocasions al «món occidental», ja que avui dia són molt pocs els països en desenvolupament que han estat capaços de posar en marxa programes de TP.

## HISTÒRIA DEL TRASPLANTAMENT PULMONAR A CATALUNYA

La història del TP a Catalunya comença l'any 1986, concretament a l'Hospital Vall d'Hebron. Diversos hospitals a tot l'Estat espanyol van començar a treballar en el trasplantament de pulmó l'any 1986, quan es van publicar els dos primers casos de TP amb èxit. A Europa s'havia començat a fer el trasplantament de pulmó al Regne Unit i a França. En aquells temps, a Catalunya hi havia molt d'interès, especialment a l'Hospital Vall d'Hebron, on es va tirar endavant el programa de preparació per al TP. No va ser fàcil, igual que no ho era a la resta del món, ja que, no obstant els grans avenços obtinguts, el progrés del TP es veia amenaçat per la presència de complicacions greus, i només els avenços de l'última dècada han permès que aquest tipus de tractament s'hagi convertit avui en una opció consolidada, associada a un augment de la funció pulmonar i de la supervivència.

## ELS PRIMERS TRASPLANTAMENTS A L'HOSPITAL VALL D'HEBRON

L'any 1989 va ingressar a l'hospital la Raquel, una noia de 18 anys vinguda des de O'Grove, Pontevedra, que havia desenvolupat una fibrosi pulmonar causant d'una insuficiència respiratòria crònica greu. Malgrat la seva joventut, la seva expectativa de vida era minsa. L'1 d'agost del mateix any es va realitzar el trasplantament a la Raquel a l'Hospital Vall d'Hebron. La Raquel, després d'un postoperatori llarg i dur, va sobreviure amb bona qualitat de vida durant tres anys i mig. El rebuig crònic, però, va posar fi a l'aventura d'una dona valenta que va saber apreciar l'oportunitat que se li havia donat, i que, en posar-se en mans d'aquells professionals il·lusionats, però novells en trasplantament, va permetre obrir un camí que per a altres malalts ha estat molt més satisfactori.

L'any 1991 es va fer el segon trasplantament. El receptor va ser un noi jove, l'Ovidio, que va morir uns cinc anys després, havent aconseguit portar una vida completament normal. Molts dels primers malalts ja no són amb nosaltres, però van ser els autèntics impulsors del Programa Català de Trasplantament. També, alguns d'aquests pacients històrics són avui els trasplantats vius més antics a l'Estat espanyol.

## LA CONSOLIDACIÓ DEL LIDERATGE

El Programa de Trasplantament Pulmonar de l'Hospital Vall d'Hebron ha anat creixent lentament i ra-

cionalment. Després dels dos primers pacients trasplantats, a partir de 1992 va augmentar el nombre de trasplantaments, i des del 1993 van començar a crear-se d'altres programes de TP en centres espanyols. L'any 1998 es va iniciar el Programa Infantil de Trasplantament Pulmonar a la Vall d'Hebron.

A mitjan dels anys noranta, el Programa de Trasplantament Pulmonar es consolida com a líder a Espanya, tant en els aspectes assistencials i organitzatius, com per la seva incipient producció científica. Aquest lideratge en l'àmbit de l'Estat espanyol ha continuat al llarg del temps i ha permès desenvolupar activitats docents i d'investigació multicèntriques que estan donant els seus fruits en forma d'aportacions científiques. Per altra banda, el model organitzatiu i de funcionament del Programa de Trasplantament de l'Hospital Vall d'Hebron ha estat una referència a la resta del Estat.

## ACTIVITAT I ORGANITZACIÓ ACTUALS

Segons les dades de l'any 2008, el nombre de TP que s'han fet a Espanya representa al voltant del 9% del total mundial, i l'activitat catalana representa als voltants del 3%. Respecte de l'activitat calculada de TP per milió de població (pmp), Catalunya, l'any 2008, amb 6,9 TP pmp, estava entre els països amb major activitat al món.

Cal preguntar-se quines són les raons per haver arribat a aquesta activitat al nostre país. En aquest sentit hem d'analitzar alguns aspectes que ens poden apropar la realitat. En primer lloc, Espanya en general, i Catalunya en particular, és el país amb la major taxa de donació d'òrgans del món i, per tant, el lloc del món on són possibles les millors condicions per al desenvolupament del TP. Malgrat això, la demanda de TP al nostre país continua sent més gran que la disponibilitat de pulmons donats. Aquesta qüestió és present a tot el món i està propiciant una evolució en la qual Catalunya no és una excepció. En aquest sentit, estem observant una progressiva utilització dels donants amb criteris expandits per implants pulmonars amb bons resultats. De fet, els estudis publicats mostren que és possible l'implant de pulmons provinents d'aquests donants sense un increment prohibitiu dels riscos per al receptor. Estratègies alternatives, com la donació pulmonar provinent de donant viu o de donants amb cor aturat, semblen tenir una tendència més aviat anecdòtica, ja que, numèricament, no representen un canvi substancial de l'activitat de TP present i, probablement, futura.

En segon lloc, hem de destacar que els pneumòlegs que diagnostiquen i tracten els pacients en situació d'insuficiència respiratòria crònica greu al nostre país tenen molt present el TP com a tractament. Així, amb



l'excepció del càncer de pulmó, qualsevol malaltia respiratòria que porti el pacient cap a la insuficiència respiratòria crònica irreversible es considera susceptible pel que fa a la utilització del TP com a tractament. Aquest fet ha estat fonamental per tal que el flux de receptors potencials de TP sigui constant des de Catalunya i les comunitats autònomes veïnes cap al Programa de TP de l'Hospital Vall d'Hebron. Hem de fer notar que aquest flux de pacients és possible gràcies als bons resultats del Programa de TP, tal como anem a detallar.

### RESULTATS DEL PROGRAMA DE TRASPLANTAMENT PULMONAR DE L'HOSPITAL VALL D'HEBRON

Segons dades del Registre Internacional de Trasplantament Pulmonar, que aplega l'activitat de més del 80% de centres amb programa de TP al món, la mortalitat perioperatòria està als voltants del 15% i la supervivència actuarial a l'any del TP està situada als voltants del 70-75%. Comparativament, la mortalitat perioperatòria en el Programa de TP de l'Hospital Vall d'Hebron va ser del 7,3% i l'11% el 2007 i 2008, respectivament. A més a més, la supervivència actuarial a l'any va ser del 79% i el 84% al mateix període, la qual cosa ens indica clarament que els resultats obtinguts estan igual o per damunt dels resultats qualitatiu acceptats internacionalment.

És ben conegut que existeix una relació clara entre els resultats i el volum d'activitat; aquest és un factor positiu a Catalunya, on hem aconseguit concentrar l'activitat i l'experiència en un sol hospital, amb el consegüent benefici dels resultats. Efectivament, l'activitat de TP dels últims cinc anys a l'Hospital Vall d'Hebron està situada a un nivell que solament mitja dotzena d'hospitals al món aconsegueixen, i això es reflecteix en els excel·lents resultats obtinguts.

### ASPECTES ORGANITZATIUS CLAU

Aquests resultats no han estat fruit de la improvisació, ja que reflecteixen el treball de més de vint anys d'un equip de persones que ha dedicat gran part de la seva vida professional al TP a Catalunya. Aquesta dedicació, en el si d'una organització sanitària pública, amb els inconvenients i avantatges propis del sistema, ha fet que en l'actualitat el procés del TP sigui un procés habitual i no excepcional en l'activitat diària rutinària de l'Hospital Vall d'Hebron, amb tot allò que aquesta normalitat implica.

Per tant, és possible preguntar-se com ha estat aconseguit aquest alt nivell d'activitat i qualitat del TP a Catalunya i quines són les claus, des de el punt de vista organitzatiu, per aconseguir-ho. Al meu parer, han existit dos fets fonamentals. En primer lloc, que l'activitat del TP ha anat creixent d'una forma lenta i sostinguda, sense grans alts i baixos, la qual cosa ha permès l'adaptació de tota l'organització, una consolidació de l'experiència i una maduració del procés del TP que ha estat molt positiva.

En segon lloc, ha estat fonamental que des de l'organització del Programa de TP a l'Hospital Vall d'Hebron s'han pres mesures que, de forma progressiva, han fet que el TP fos una activitat cada vegada menys excepcional. Aquest procés, que hem anomenat de «normalització», ha consistit en l'eliminació de tots els personalismes possibles per tal d'aconseguir que la implicació dels serveis i dels professionals fos la més adient. Aquesta normalitat en la distribució de feines i responsabilitats ha comportat una millora notable de tot el procés assistencial, amb importants implicacions positives en la docència i la recerca. De fet, hem de considerar el TP com una activitat transversal que corresponsabilitza molts serveis, encara que els de cirurgia toràcica, cures intensives, anestèsia i pneumologia són clau en aquest procés. Per això, una dedicació més gran i organitzada d'aquests serveis al TP ha estat la clau de l'alt nivell d'activitat i dels bons resultats assolits.

Finalment, penso que aquesta reflexió es pot generalitzar bastant al nostre país. De fet, l'activitat del trasplantament s'ha beneficiat de la passió i de l'entusiasme de molts professionals que han fet possible un gran impuls en aquest camp. Crec que es fa necessari entendre que aquests fets pertanyen a la història i que el futur proper necessàriament ha de passar per un procés de normalització de l'activitat trasplantadora als nostres hospitals.

### FUTUR DEL TRASPLANTAMENT PULMONAR

Després dels importants avenços que ens han permès uns bons resultats, en particular al postoperatori immediat, en un futur proper les tècniques de preservació ens permetran que la cirurgia del TP sigui una cirurgia «quasi» programada amb les consegüents facilitats. Malgrat tot, són dos els avenços científics més importants i urgents que són necessaris en un proper futur. Un d'ells és el coneixement de la biopatologia de la bronquiòlitis obliterant. L'altre és el millor coneixement de l'estat d'immunosupressió de cada pacient en cada moment. Aquestes millores faran possible uns millors resultats a llarg termini del TP, ja que un nombre important de pacients desenvolupa un rebuig crònic a llarg termini que segueix un curs clínic que no es modifica pel tractament que disposem. En un futur proper, els nous coneixements sobre la bronquiòlitis obliterant ens permetran establir estratègies de tractament i prevenció efectives. També és necessari conèixer millor el nivell d'immunosupressió en temps real al qual els pacients estan sotmesos en cada moment per tal de prendre les millors decisions terapèutiques. Per últim, és possible que siguem capaços de reparar els pulmons malalts sense la necessitat de fer un TP, encara que sembla que queda molt camí per fer. Per tant, el millor futur que podem imaginar per al trasplantament d'òrgans en general, i per al TP en particular, és la manca de necessitat de fer trasplantaments.

.....  
Antonio Román

Hospital Vall d'Hebron, Barcelona

**MALALTIES PULMONARS INTERSTICIALS DIFUSES**

Les malalties pulmonars intersticials difuses són un grup heterogeni de malalties que presenten manifestacions clíniques, anatomopatològiques, radiològiques i funcionals similars que afecten a les estructures alveolointersticials. La fibrosi pulmonar idiopàtica (FPI) és la més freqüent

d'aquestes malalties i només engloba patologies que presenten una forma de pneumopatia amb fibrosi intersticial crònica, limitada al pulmó i associada a un patró histopatològic de pneumònia intersticial usual (patró clàssic associat a la biòpsia de la FPI) en el qual s'observen àrees de fibrosi pulmonar que coexisteixen amb focus de proliferació fibroblàstica.

La prevalença estimada de la FPI és de 20/100.000 habitants en homes i de 13/100.000 en dones. Aquesta malaltia pot presentar-se a qualsevol edat, encara que és més comuna entre els 40 i 70 anys. De totes les malalties pulmonars intersticials difuses, la FPI és la que té pitjor pronòstic, amb una mortalitat associada del 50% i una supervivència mitjana de tres anys des de la diagnòsi.

Actualment, es considera que la FPI és el resultat final d'una agressió desconeguda que provoca la desestructuració del teixit pulmonar i la formació de fibrosi com a resultat d'una reparació anormal de la lesió, cosa que comporta una acumulació progressiva de matriu extracel·lular, la mort de les cèl·lules epitelials, l'alteració de l'equilibri de fibroblast-miofibroblast i, finalment, una reepitelització anòmala de l'espai alveolar.

**TERÀPIA ACTUAL DE LA FPI**

El tractament recomanat per les normatives actuals és l'associació de glucocorticoides a dosis baixes i azatioprina o ciclofosfamida. Aquests fàrmacs solament tenen efecte antiinflamatori i, encara que en alguns casos poden augmentar la supervivència, no modifiquen el pronòstic de la malaltia. En un estudi clínic que es va realitzar l'any 2005, en el qual es comparava l'eficàcia de glucocorticoides, azatioprina i N-acetilcisteïna en dosis de 1.800 mg/dia (75 pacients) enfront de glucocorticoides, azatioprina i placebo (80 pacients) durant 12 mesos, es va demostrar que els pacients tractats amb N-acetilcisteïna presentaven un deteriorament menor de la capacitat vital forçada (FVC) i de la capacitat de transferència per al monòxid de carboni ( $DL_{CO}$ ). Tanmateix, es desconeix encara si el tractament amb N-acetilcisteïna té influència en la supervivència. Actualment, i en funció dels resultats obtinguts en aquest estudi, la combinació de glucocorticoides, azatioprina i N-acetilcisteïna s'administra per al tractament inicial de la FPI en alguns centres hospitalaris.

# Trasplantament de cèl·lules alveolars tipus II en el tractament de la fibrosi pulmonar idiopàtica: estudi clínic

Encara que s'han realitzat diversos assajos clínics, no existeix actualment cap fàrmac antifibròtic amb eficàcia demostrada en el tractament de la FPI. En dos assajos clínics consecutius realitzats amb interferó alfa-1b o placebo no es van observar diferències ni en la supervivència ni en els canvis funcionals respiratoris entre els dos grups, demostrant que interferó alfa-1b no posseeix cap eficàcia. L'assaig clínic que es va realitzar amb pirfenidona o placebo a pacients amb FPI moderada durant nou mesos, va mostrar que els pacients tractats amb pirfenidona tenien menys deteriorament funcional respiratori i menys aguditzacions de la malaltia respecte del grup tractat amb placebo. No obstant això, la poca duració del seguiment dels pacients va impedir obtenir conclusions sobre la seva eficàcia, per la qual cosa actualment s'està realitzant un nou assaig clínic amb pirfenidona per comprovar els resultats inicials.

En aquest moment s'estan desenvolupant diferents assajos clínics, dels quals encara no es coneixen els resultats, amb d'altres molècules que han mostrat una activitat antifibròtica *in vitro* i en models animals de fibrosi pulmonar, com són mesilat d'imatinib, antagonistes del factor de necrosi tumoral alfa, antagonistes d'endotelina 1 (bosentan), antileucotriens, antagonistes del factor de creixement del teixit conjuntiu i anticossos monoclonals antifactor transformador del creixement beta.

El trasplantament pulmonar és l'única alternativa terapèutica, però té les seves limitacions. Està indicat en pacients d'edat inferior a 65 anys, amb malaltia pulmonar avançada i amb una esperança de vida menor d'1,5-2 anys. Desgraciadament, la majoria dels pacients no compleix aquests requisits atesa la seva avançada edat o la presència d'altres malalties.

**PATOGÈNIA DE LA FPI**

A la FPI, la lesió té lloc principalment en l'interstici pulmonar que inclou l'espai entre les membranes basals de l'epiteli alveolar i l'endoteli vascular. Els canvis que es produeixen durant el desenvolupament de la fibrosi pulmonar no afecten només a

**De totes les malalties pulmonars intersticials difuses, la FPI és la que té pitjor pronòstic, amb una mortalitat associada del 50% i una supervivència mitjana de tres anys des de la diagnòsi.**

l'interstici, sinó també als espais alveolars i a les vies aèries perifèriques que es troben entre l'epiteli alveolar i l'endoteli vascular.

L'epiteli alveolar cobreix el 99% de la superfície interna del pulmó i està compost bàsicament per dos tipus cel·lulars, les cèl·lules alveolars tipus I i les cèl·lules alveolars tipus II. Les cèl·lules alveolars tipus I són cèl·lules allargades i primes que tenen un paper primordial en l'intercanvi gasós que es produeix a la superfície alveolar. Cobreixen el 95% de la superfície alveolar i representen el 40% del total de les cèl·lules epitelials.

**Encara que s'han realitzat diversos assajos clínics, no existeix actualment cap farmac antifibròtic amb eficàcia demostrada en el tractament de la FPI.**

D'altra banda, les cèl·lules alveolars tipus II són petites i tenen una forma cuboïdal, cobreixen el 5% de la superfície alveolar, però representen el 60% del total de les cèl·lules epitelials. Es caracteritzen principalment per: 1) sintetitzar, emmagatzemar i secretar el surfactant pulmonar, encarregat de reduir la tensió superficial, evitant així el col·lapse alveolar; 2) transportar ions des del fluid alveolar a l'interstici pulmonar, minimitzant el fluid alveolar i afavorint l'intercanvi de gasos; 3) presentar funcions immunològiques, ja que sintetitzen i secreten proteïnes del complement (C3 i C5), així com nombroses citocines i interleucines que modulen les funcions dels limfòcits, els macròfags i els neutròfils, i 4) realitzar una funció reparadora, en proliferar i diferenciar-se a cèl·lules alveolars tipus I de manera ràpida després d'una lesió a l'epiteli pulmonar.

**El trasplantament pulmonar és l'única alternativa terapèutica, però té les seves limitacions.**

**Està indicat en pacients d'edat inferior a 65 anys, amb malaltia pulmonar avançada i amb una esperança de vida menor d'1,5-2 anys.**

En els pacients amb FPI s'observa una disminució de les cèl·lules alveolars, tant de les de tipus I, com de les de tipus II. Si bé la reparació normal de l'epiteli alveolar es produeix mitjançant mecanismes de proliferació i diferenciació, a la FPI aquests mecanismes estan alterats, ja que la presència de cèl·lules alveolars tipus II està molt disminuïda. D'altra banda, als pulmons de pacients amb FPI existeixen els anomenats focus de fibrosi, on hi ha una gran activitat de proliferació de fibroblasts. Aquests constitueixen zones de lesió epitelial associades a la mort de cèl·lules alveolars, la qual cosa comporta la migració de més fibroblasts a aquestes zones de lesió, dins de l'espai alveolar aeri, donant lloc a la fibrosi intraalveolar. Per tant, la FPI representa una patologia caracteritzada per l'absència d'una adequada reepitelització i una proliferació anormal dels fibroblasts. Per això, el principal objectiu en el disseny de teràpies per al tractament de la FPI ha d'anar encaminat a la inhibició de la proliferació de fibroblasts i la reepitelització correcta dels espais alveolars.

## TERÀPIES CEL·LULARS

En un estudi previ, el nostre grup d'investigació ha demostrat que el trasplantament intratraqueal de cèl·lules alveolars tipus II en rates en les quals es va induir fibrosi pulmonar amb bleomicina (model experimental de FPI) deté la progressió de la malaltia i reverteix el procés de fibrogènesi. Els nostres resultats indiquen que el tractament de cèl·lules alveolars tipus II pot reestructurar l'epiteli i reduir la fibrosi, per la qual cosa proposem el trasplantament de cèl·lules alveolars tipus II com una nova estratègia per al tractament de la FPI.

## ESTUDI CLÍNIC

La hipòtesi que plantejgem és que el trasplantament de cèl·lules alveolars tipus II a pulmons de pacients amb FPI regeneraran la superfície alveolar i revertiran el procés fibròtic quan aquest ja està establert. Per corroborar la nostra hipòtesi, el nostre grup de recerca, en col·laboració amb el Servei de Pneumologia de l'Hospital Clínic de Barcelona, està desenvolupant un estudi clínic basat en el trasplantament heteròleg de cèl·lules alveolars tipus II. En aquest estudi clínic està prevista la inclusió de sis pacients afectats de FPI en fase moderada. La diagnosi de FPI s'establirà d'acord amb els criteris establerts pel consens American Thoracic Society (ATS)/European Respiratory Society (ERS) i per la Normativa de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR). Un cop seleccionats els pacients, es realitzaran tres o sis implantacions de cèl·lules alveolars tipus II via intratraqueal, amb una separació temporal de 15 dies entre les diferents implantacions. Les cèl·lules s'aïllaran de pulmons no viables per al trasplantament d'òrgans, però sí per a l'extracció cel·lular, complint els següents requisits: no presentar cap malaltia pulmonar difusa, no presentar infeccions i no haver rebut quimioteràpia o radiació. La caracterització de les cèl·lules alveolars tipus II es realitzarà mitjançant l'expressió per RT-PCR de proteïnes del surfactant pulmonar (característiques de les cèl·lules alveolars tipus II), per microscòpia electrònica i per tinció amb fosfatasa alcalina. La implantació cel·lular es realitzarà mitjançant fibrobroncoscòpia sota sedació conscient i anestèsia local amb lidocaïna. La premedicació consistirà en midazolam a la dosi inicial de 3-4 mg e.v. (dosis addicionals, 1 mg/min) i fentanil e.v. a la dosi d'1-2 mg. Les cèl·lules s'implantaràn a les zones pulmonars amb més afectació d'acord amb les troballes de la TACAR, en un o dos lòbuls, sempre del mateix hemitòrax. El nombre de cèl·lules a implantar es determinarà segons la superfície de lesió i les diferents zones a implantar.

Prèviament a la primera implantació cel·lular, s'administraran diferents vacunes als pacients depenent dels resultats obtinguts a les determinacions serològiques d'anticossos contra hepatitis A i B, xarampió, rubèola, parotiditis, varicel·la i pneumococ. Un cop realitzat el primer trasplantament cel·lular, els



pacients rebran tractament immunosupressor que constarà de l'administració de micofenolat mofetil (500 mg/12 hores, via oral); tacrolimús (0,15 mg/kg, via oral, repartits en una dosi cada 12 hores), modificant les dosis segons els nivells en sang perifèrica, que han de mantenir-se entre 5 i 8 mg/ml, i prednisona (20 mg/dia, via oral). Així mateix, també rebran tractament antibiòtic seguint la següent pauta: trimetoprim 160 mg + sulfametoxazol 800 mg, dos comprimits/dia, via oral, tres cops per setmana durant 48 setmanes; valganciclovir, 450 mg, un comprimit/dia, via oral, durant 14 setmanes, independentment de la presència d'anticossos anticitomegalovirus; nistatina, glopeigs bucals tres cops al dia en el cas que el pacient presenti lesions bucals ocasionades per la immunodepressió, i àcid pol·línic, 15 mg, un comprimit/dia per reduir el dèficit d'àcid fòlic que podria ocasionar el trimetoprim-sulfametoxazol. El pacient romandrà ingressat a l'hospital durant 48 hores. Durant l'estudi, el pacient no rebrà cap altre tractament per a la FPI.

L'objectiu principal de l'estudi és avaluar l'efectivitat de la implantació que es realitzarà mitjançant la

valoració de símptomes (grau de dispnea), gasometria arterial, proves funcionals respiratòries, radiografia de tòrax i TACAR. Els pacients inclosos seran seguits durant un període d'un any i s'avaluarà la progressió o remissió de la malaltia.

**La hipòtesi que plantejarem és que el trasplantament de cèl·lules alveolars tipus II a pulmons de pacients amb FPI regeneraran la superfície alveolar i revertiran el procés fibròtic quan aquest ja està establert.**

.....  
**Antoni Xaubet<sup>1,3</sup>, Anna Serrano-Mollar<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>Servei de Pneumologia, Institut Clínic del Tòrax, Hospital Clínic, Barcelona

<sup>2</sup>Departament de Patologia Experimental, Institut d'Investigacions Biomèdiques de Barcelona, Consell Superior d'Investigacions Científiques, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Barcelona

<sup>3</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER) de Enfermedades Respiratorias, Barcelona

## Estudi comparatiu de mutacions en l'eix de senyalització Pi3-K/PTEN/Akt en el càncer colorectal de pacients trasplantats renals tractats amb inhibidors de calcineurina respecte de la població general

### INTRODUCCIÓ

En els darrers anys s'ha vist una millora de la supervivència tant de l'empelt com del pacient, sobretot a expenses de l'ús de nous fàrmacs immunosupressors que han disminuït significativament la taxa de rebuig agut, encara que a llarg termini no han millorat amb la mateixa proporció, essent la patologia oncològica una de les principals causes.

Amb els fàrmacs inhibidors de calcineurina, s'ha vist un augment de la incidència de tot tipus de neoplàsies, i encara que no es coneixen amb certesa els possibles factors patogènics, tant un efecte oncogènic directe, a través de la inducció del TGFβ, com una activació de diverses vies de proliferació, podrien afavorir el desenvolupament del càncer i de la metastasi. Fet contrari a l'ús dels inhibidors de mTOR que, gràcies a la seva acció sobre la via de senyalització

PI3K/PTEN/Akt/mTOR, adquireix un paper essencial en el desenvolupament, progressió, agressivitat i potencial metastàtic del càncer, amb propietats anti-oncogèniques pels seus efectes antiproliferatius i pel bloqueig de l'angiogènesi.

Encara que les mutacions han estat àmpliament estudiades i que és ben conegut el seu paper a l'oncogènesi, en el comportament tumoral, així com en la refractarietat al tractament i el potencial metastatitzant de les neoplàsies, fins ara no s'ha estudiat el seu paper en les neoplàsies de la població trasplantada d'òrgan sòlid. Atesa la capacitat d'induir mutacions i el bloqueig de la seva reparació de determinats fàrmacs immunosupressors, és de suposar la presència d'un elevat nombre de mutacions com un dels factors patogènics implicats en l'alta incidència de càncer en la població trasplantada.

## HIPÒTESI

La hipòtesi del nostre treball radica en el paper mutagènic dels fàrmacs immunosupressors, especialment dels inhibidors de calcineurina, l'elevada incidència de mutacions dels quals explicaria l'alta incidència de tumors i la seva agressivitat més elevada en el desenvolupament de metàstasis amb relació a la població general.

## OBJECTIU

El nostre objectiu ha consistit a analitzar la presència de mutacions puntuals més prevalents del gen PI3K (subunitat catalítica), pertanyent a la via de senyalització PI3K/PTEN/Akt/mTOR, descrites en la població general, en el càncer colorectal de població trasplantada renal en tractament immunosupressor.

## MÈTODE

De 1.819 pacients trasplantats renals en el nostre centre entre el gener de 1992 i el desembre de 2007, hem documentat 23 casos de neoplàsies de colon del Banc de Tumors del Servei d'Anatomia Patològica de l'Hospital Universitari Clínic de Barcelona, dels quals hem obtingut qualitat i quantitat d'ADN en 11 dels casos. Els controls (pacients amb neoplàsies de colon en cap estat d'immunosupressió) s'han aleatoritzat segons similars variables epidemiològiques, a excepció de les concernents a la immunosupressió i al trasplantament, per tal d'evitar factors de confusió i per no ser grups comparables estadísticament.

Les mostres en ambdós grups s'han obtingut amb el previ consentiment informat i un cop la mostra obtinguda de teixit tumoral ha estat fixada i inclosa en parafina i conservada a temperatura ambient.

La tècnica escollida ha estat la RT-PCR (reacció en cadena de polimerasa en temps real), a través del sistema Lightcycler (versió 1.5, Roche®). Les mutacions més prevalents del gen PI3KCA trobades en la revisió de la literatura han estat mutacions *hotspot*, E542K i E545K a l'exó 9 al domini funcional helical, i H1047R a l'exó 20 al domini quinasa. Els parells de primers han estat obtinguts de les diferents bases de dades genòmiques extremes del Celera ([www.celera.com](http://www.celera.com)) o de les seqüències de l'avantprojecte del genoma humà (<http://genome.uscs.edu/>) Genbank. Amb la utilització d'una polimerasa d'alta fidelitat i en purificar el fragment d'ADN en gels d'agarosa, assegurem que no hi hagi més mutacions de les ja existents, objectiu del nostre treball, i la seva adequació, comprovant la PCR anterior a la seqüenciació, respectivament.

Tots els anàlisis estadístics es duran a terme usant l'SPSS Data Analysis Program (versió 11.0) (SPSS, Inc, Chicago, IL), validant els test estadístics amb un nivell de significació < 0,005.

## RESULTATS

La mitjana d'edat dels casos ha estat de  $67,15 \pm 10,4$  anys (amb un rang d'edat de 47,3 a 84,03) enfront de  $69,92 \pm 12,05$  anys (rang 48-88) dels controls; quant al sexe, en ambdós grups hi havia una majoria masculina, (61,9 i 63,76, respectivament). Els pacients trasplantats tenien una edat mitjana en el trasplantament de  $48,81 \pm 14,2$  anys (rang 20,1-70,21), i una edat en la diagnosi de la neoplàsia de  $61,54 \pm 10,5$  anys (rang 41,1-81,69), essent més joves que els pacients que no havien rebut immunosupressió ( $63,76 \pm 11,8$  [rang 46-85]). El temps mitjà des del trasplantament al desenvolupament de la neoplàsia va ser  $11,48 \pm 7,74$  anys (rang 1,02-31,35).

Totes les neoplàsies eren adenocarcinomes i l'estadi B3 de DUKE, el més freqüentment trobat, encara que existeixen més tumors amb estadis més agressius al grup de casos de trasplantats que al grup de controls. El percentatge de recidives va ser superior al grup de controls (7,7 *versus* 4,8%), mentre que el percentatge de tumors metastàsics va ser més elevat en els pacients que havien rebut immunosupressió en el trasplantament (19 *versus* 15,4%).

No s'ha trobat cap mutació puntual *hotspot* H1047R del gen PI3KCA al grup de pacients trasplantats que rebien immunosupressió, així com tampoc al grup de pacients amb neoplàsia i que no havien rebut medicació immunosupressora. No s'han aconseguit resultats interpretables en l'avaluació de les mutacions *hotspot*, E542K i E545K del gen PI3KCA, a causa de l'existència d'un pseudogen al cromosoma 22, l'homologia del qual amb el gen estudi interfereix en la diferenciació dels amplicons obtinguts.

## CONCLUSIONS

- La patologia oncològica en el trasplantat d'òrgan sòlid té un comportament més agressiu que en la població general i apareix en edats més primerenques, amb estadis histopatològics més avançats i amb més incidència de metàstasi.
- No hem trobat més incidència de mutacions potencialment induïdes per la medicació immunosupressora, encara que considerem que es tracta d'una mostra de grandària insuficient per descartar la implicació de les mutacions en l'oncogènesi de les neoplàsies posttrasplantament.

.....  
**Ignacio Revuelta Vicente**

Unitat de Trasplantament Renal,  
 Servei de Nefrologia i Trasplantament Renal  
 Hospital Universitari Clínic de Barcelona, Barcelona

**INTRODUCCIÓ**

L'epiteli corneal posseeix un paper clau en el manteniment de la transparència corneal i en la seva avascularitat. Se sap que existeixen unes cèl·lules progenitores pluripotents localitzades a la zona de transició entre la còrnia i la conjuntiva, concretament en una regió coneguda com a limbe esclerocorneal. Aquestes cèl·lules són les responsables de donar lloc a unes cèl·lules amplificadores de trànsit que migren centrípetament cap a la superfície de la còrnia diferenciant-se, finalment, en cèl·lules epitelials. La desaparició o la insuficiència d'aquestes cèl·lules progenitores limbiques (LEC) comporta importants alteracions a la superfície ocular, com l'aparició de defectes corneals persistents, la queratinització de l'epiteli, fenòmens de conjuntivalització en el teixit corneal amb desenvolupament de vasos de neoformació, a més de la formació de cicatrius. Tot això, compromentent la fisiologia corneal i induint la pèrdua de la transparència amb disminució de la visió.

**OBJECTIUS I MÈTODES**

Estudiar el potencial i la plasticitat de les cèl·lules progenitores mesenquimals del teixit adult (MSC) derivades del teixit adipós blanc (ADS) cap a fenotips epitelials i el seu possible ús en teràpia cel·lular de la superfície ocular.

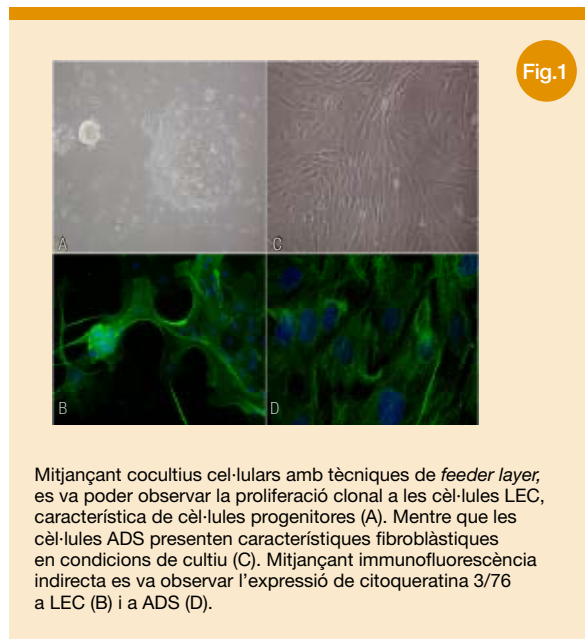
Les ADS van ser caracteritzades mitjançant assaigs d'adhesió i proliferació cel·lular sobre diferents matrius. També es va analitzar l'expressió de marcadors característics d'MSC i de LEC, així com marcadors específics de diferenciació mitjançant tècniques de citometria de flux, immunofluorescència, *Western Blot* i PCR a temps real. Les cèl·lules humanes de l'epiteli corneal immortalitzades amb SV-40 i les cèl·lules humanes d'epiteli pigmentari de la retina van ser utilitzades com a controls.

**RESULTATS**

Atenent les propietats adhesives, es va poder identificar dues subpoblacions d'ADS (cèl·lules d'adhesió ràpida o cèl·lules PLA i cèl·lules d'adhesió lenta o cèl·lules SN) en les quals es va observar diferents característiques d'adhesió i proliferació cel·lular. Les cèl·lules SN van augmentar la seva adhesió en presència de col·lagen de tipus I i fibronectina. Mentre que l'associació entre matrius de col·lagen tipus IV i laminina van millorar la seva capacitat proliferativa. Els marcadors d'origen mesenquimàtic CD34, CD90 i vimentina van ser positius en ambdues poblacions d'ADS. Sorprenentment, l'expressió de la citoqueratina 3/76, citoqueratina proposta com a marcador de diferenciació corneal, també va ser dèbilment positiva en aquestes subpoblacions. Tanmateix, ABCG2, p63, citoqueratina 1/5/10/14 i citoqueratina 19 van ser negatius. L'expressió de marcadors analitzats per citometria de flux i immunocitoquímica van ser corroborats mitjançant anàlisis de

# Aplicació de les cèl·lules progenitores mesenquimals del teixit adult en medicina regenerativa de la superfície ocular

proteïnes (tècnica de *Western Blot*) i mitjançant l'expressió d'ARN missatger (tècnica de PCR a temps real). Actualment, mitjançant condicions de cultiu i entorns apropiats, s'intenta la transdiferenciació d'aquestes subpoblacions derivades d'ADS cap a fenotips i característiques moleculars epitelials.



Mitjançant cocultius cel·lulars amb tècniques de *feeder layer*, es va poder observar la proliferació clonal a les cèl·lules LEC, característica de cèl·lules progenitores (A). Mentre que les cèl·lules ADS presenten característiques fibroblàstiques en condicions de cultiu (C). Mitjançant immunofluorescència indirecta es va observar l'expressió de citoqueratina 3/76 a LEC (B) i a ADS (D).

**CONCLUSIONS**

- Les ADS presenten un gran potencial per ser utilitzades en medicina regenerativa mitjançant teràpia cel·lular de la superfície ocular.
- L'expressió de marcadors comuns entre les subpoblacions cel·lulars d'ADS i les cèl·lules LEC dona suport a la hipòtesi d'una possible diferenciació cap a fenotips epitelials similars als de l'epiteli corneal.

.....  
**Eva M. Martinez-Conesa**  
 Departament de Biologia Cel·lular de la Universitat de Barcelona  
*Transplant Services Foundation*, Corporació Sanitària Clínica, Barcelona

# Estudi de la senyalització de CD40 en cèl·lules dendrítiques mitjançant interferència d'ARN

Un dels principals objectius en el trasplantament d'òrgans és disposar de tractaments condicionants curts, en el peritransplantament o en les primeres fases després del trasplantament, que conduixin a una acceptació de l'empelt sense necessitat d'immunosupressió a llarg termini. Les cèl·lules dendrítiques (CD) juguen un paper clau tant a l'inici de la resposta immunoinflamatòria com en la inducció de la tolerància. Les propietats funcionals de les CD depenen del seu grau d'activació i maduració. S'ha demostrat que CD immadures són capaces d'induir tolerància immune i de prolongar la supervivència de l'al·loempelt. El senyal coestimulador CD40-CD40L és clau per a la completa activació de les cèl·lules T durant la resposta al·loimmune. S'ha confirmat l'eficàcia del bloqueig d'aquest senyal mitjançant anticossos anti-CD40L en models animals de trasplantament renal, encara que la generació de fenòmens tromboembòlics amb aquesta estratègia ha impedit la seva utilització en assaigs clínics. Per altra banda, el sistema de complement és un component clau de la immunitat innata. S'ha suggerit recentment que la senyalització via CD40 pot alterar-se per canvis en les respostes immunes innates. La proteïna C4BP ( $\alpha7\beta1$ ), una proteïna plasmàtica d'elevat pes molecular (570 kDa) que inhibeix de manera eficient la via clàssica d'activació del complement, sembla que influeix en la senyalització via CD40 unint-se directament a aquest receptor i activant les cèl·lules B. Com a conseqüència, s'indueix la seva proliferació, la sobreexpressió de CD54 (ICAM-1) i CD86, així com el canvi d'isotip IgE dependent d'IL-4.

## HIPÒTESI

El bloqueig del senyal coestimulador CD40-CD40L en CD pot resultar una estratègia terapèutica eficaç per disminuir l'activació de la resposta immune i induir tolerància. La proteïna reguladora del complement C4BP sembla que influeix en la senyalització via CD40 induint la maduració de limfòcits B. Així, és plausible que la interacció de C4BP amb les CD, que expressen nivells elevats de CD40, pugui també afectar als processos de diferenciació i/o maduració d'aquestes cèl·lules.

## OBJECTIUS

1) Avaluar l'eficàcia del bloqueig del senyal coestimulador CD40-CD40L, utilitzant la interferència d'ARN (ARNi) contra CD40, en CD. 2) Analitzar la capacitat de la proteïna C4BP ( $\alpha7\beta1$ ), un lligand alternatiu de CD40 recentment caracteritzat, d'in-

fluir en el procés de diferenciació i maduració de les CD.

## MATERIAL I MÈTODES

Es van aïllar monòcits a partir de sang perifèrica i es van transfectar mitjançant electroporació amb un ARNsi anti-CD40 a les 48 hores de l'inici de la seva diferenciació enmig de cultiu suplementat amb GM-CSF (800 U/ml) i IL-4 (500 U/ml). A les 48 hores posttransfecció es va realitzar l'extracció d'ARN i es van quantificar els nivells de CD40 mitjançant RT-PCR a temps real, utilitzant com a control el gen de referència de la ciclofilina. Es va analitzar la influència de la proteïna C4BP ( $\alpha7\beta1$ ) plasmàtica sobre la diferenciació i la maduració de les CD afegint-la a concentracions d'1-50  $\mu\text{g/ml}$  des del moment de l'obtenció de monòcits, o a dia 5 (estadi de CD immadura), i posteriorment estimulants la seva maduració mitjançant lipopolisacàrid (LPS) o CD40L. Mitjançant citometria de flux, es va realitzar un immunofenotipat de les corresponents CD immadures i madures analitzant l'expressió dels marcadors superficials HLA-DR, CD40, CD80, CD83, CD86, CD1a i CD14, i determinant la seva viabilitat mitjançant tinció amb iodur de propidi.

## RESULTATS

En CD es va arribar a una inhibició de l'expressió de CD40 a nivell d'ARN del  $65 \pm 12\%$  ( $n = 4$ ) mitjançant electroporació d'un ARNsi anti-CD40, comparat amb un ARNsi control. L'expressió dels marcadors superficials d'identificació i caracterització de CD avaluats no va resultar significativament alterada en incubar aquestes cèl·lules amb diferents concentracions de proteïna C4BP ( $\alpha7\beta1$ ) purificada a partir de plasma humà. Els nivells d'aquests marcadors tampoc es van alterar en induir la maduració de les CD en presència dels estímuls LPS i CD40L. Així mateix, no es va veure afectada la viabilitat de les CD per efecte de C4BP ( $\alpha7\beta1$ ).

## CONCLUSIONS

- La metodologia d'ARNi permet silenciar de manera eficient l'expressió del receptor CD40 en CD. La generació de CD «tolerogèniques» o reguladores mitjançant aquesta estratègia podria resultar molt útil per a la seva aplicació en el trasplantament al·logènic.
- La proteïna reguladora del complement C4BP( $\alpha7\beta1$ ) no influeix ni en la diferenciació ni en la maduració de les CD aïllades a partir de monòcits de sang perifèrica.

.....  
Rut Olivar Miró

Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge, Barcelona



## INTRODUCCIÓ

El trasplantament renal representa actualment el tractament d'elecció en la insuficiència renal crònica terminal respecte de la diàlisi. La supervivència de l'empelt i del pacient supera el 95% a l'any del trasplantament i la incidència del rebuig agut s'ha reduït al 10% en la majoria de les unitats del nostre país. Les dues principals causes de la pèrdua de l'aloempelt renal després del primer any de seguiment són la mort amb l'empelt actiu i l'anteriorment denominada nefropatia crònica de trasplantament (NCT) caracteritzada per atrofia tubular i fibrosi intersticial (FI/AT). Aquesta entitat és un conglomerat de factors etiopatogènics que convergeixen en una expressivitat clínica inespecífica i que condueix a la pèrdua de l'empelt renal. La diagnosi de la FI/AT es realitza tardanament quan les lesions renals estan avançades i en la majoria dels casos el grau de fibrosi renal és important, atès que el paràmetre utilitzat en el seguiment de la funció renal és la creatinina plasmàtica, que presenta escassa sensibilitat. Així, un augment dels seus nivells sovint està acompanyat d'una biòpsia renal amb extenses lesions histològiques i freqüentment irreversibles. Per tant, és de gran interès trobar un mètode que ens permeti actuar ràpidament en la prevenció del desenvolupament d'aquesta entitat. El nostre grup de recerca porta anys estudiant el proteoma urinari com a font de biomarcadors de rebuig renal i ha trobat un llistat de candidats a biomarcadors. La recerca d'aquests biomarcadors en models experimentals *in vitro*, com és el cas de cultius primaris de cèl·lules tubulars proximals (CTP) sotmesos a diferents tractaments, ens pot permetre estudiar els diferents factors etiopatogènics de la FI/AT.

## HIPÒTESI I OBJECTIUS

La nostra hipòtesi es basa en el fet que els cultius primaris de CTP procedents d'un teixit renal sa ens permetran reproduir les condicions que pateix l'empelt renal posttrasplantament, com són la toxicitat a anticalcineurínics, inflamació, senescència replicativa i isquèmia, a més de ser bons models per detectar la presència dels possibles biomarcadors de dany renal. El nostre objectiu ha consistit en l'optimització del cultiu primari de CTP renals humans i l'establiment dels anteriors models *in vitro* per determinar la presència dels biomarcadors proteics urinaris anteriorment identificats pel nostre grup.

## MÈTODES

**Pacients i aïllament de CTP renals humans.** Es van utilitzar segments de còrtex de ronyons rebutjats per al trasplantament i de nefrectomies radicals de pacients portadors de tumor renal de l'Hospital Clínic de Barcelona. El mètode d'aïllament de CTP renals humans és una modificació del descrit a la literatura i es va caracteritzar la puresa dels cultius mitjançant la detecció per immunocitoquímica de marcadors específics de cèl·lules epitelials. Els aïllaments obtinguts es van dividir en dos grups: cultius

# Estudi de biomarcadors de dany a l'empelt renal en models *in vitro* de cèl·lula tubular renal humana

joves i senescents, usant com a paràmetre de tall l'edat de 70 anys. Amb el grup senescent es va dur a terme únicament el model de senescència replicativa i, amb el jove, la resta de models.

**Models *in vitro*.** Els diferents models *in vitro* es van dur a terme a partir de cultius amb una confluència del 70% que es van privar de sèrum durant 24 h. Els controls dels models *in vitro* van ser els cultius de CTP joves sense tractament. 1) Model de senescència replicativa: els cultius de CTP senescents no es van sotmetre a cap tractament i es va corroborar el model mitjançant la detecció per *Western Blot* de la presència de p16INK4 (inhibidor del cicle cel·lular associat a la senescència cel·lular i a la disfunció renal). 2) Model de toxicitat per ciclosporina (CSA): es van incubar les CTP amb 0,5  $\mu\text{M}$  i 10  $\mu\text{M}$  durant 48 i 72 h a 37 °C en condicions de normòxia. 3) Model d'inflamació: es van incubar les CTP amb 50 ng/ml d'albumina durant 48 h a 37 °C en condicions de normòxia. 4) Model d'isquèmia: es van incubar les CTP a una atmosfera d'hipòxia (5%  $\text{O}_2$ ) durant 48 h a 37 °C. Es va determinar la presència de p16INK4 i de biomarcador 1 a partir de l'extracte proteic obtingut dels models *in vitro* mitjançant la tècnica de *Western Blot*.

## RESULTATS I CONCLUSIONS

- S'ha optimitzat l'aïllament de CTP renals humans, obtenint 13 cultius primaris humans amb un elevat grau de puresa que hem diferenciat en dos grups (senescents i joves) amb una edat de tall de 70 anys, per dur a terme els models *in vitro* proposats.
- Hem confirmat el model de senescència replicativa mitjançant la detecció del marcador p16INK4 en els aïllaments senescents, a més de detectar l'expressió del biomarcador 1 als models de senescència, isquèmia i inflamació.

.....  
**Maria José Ramírez Bajo**

Unitat de Trasplantament Renal  
 Servei de Nefrologia i Trasplantament Renal  
 Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona



## XXIV Reunió Nacional de Coordinadors de Trasplantaments

Durant els dies 6 i 8 de maig va tenir lloc a Barcelona la XXIV Reunió Nacional de Coordinadors de Trasplantaments, organitzada per l'Organització Catalana de Trasplantaments (OCATT) i l'Organización Nacional de Trasplantes (ONT). A la trobada es va realitzar un acte especial per la celebració del 25 aniversari de l'existència de la figura del coordinador de trasplantaments a Espanya, amb la presidència de la consellera de Salut de la Generalitat de Catalunya, Marina Geli, i la presen-

cia de Celia Wight, primera coordinadora de trasplantaments del Regne Unit, qui va facilitar el seu assessorament a Catalunya l'any 1984. La reunió va comptar amb la participació de 150 assistents i durant el seu decurs es van dur a terme diversos tallers i taules rodones, així com conferències, comunicacions orals i presentacions de pòsters en què es van abordar temes del màxim interès i actualitat relacionats amb el procés de donació d'òrgans per a trasplantament.



Sala de sessions



Inauguració al Palau de Pedralbes

## Daniel Serón i Micas, nou President de la SCT i de la FCT



**Daniel Serón i Micas** és des de maig el nou President de la Societat i de la Fundació Catalana de Trasplantament. Nascut a Barcelona l'any 1956, va estudiar medicina a la Universitat de Barcelona i va obtenir la llicenciatura l'any 1980. Va fer la residència de nefrologia a l'Hospital Universitari de Bellvitge fins a l'any 1985.

L'any 1986 es va incorporar com adjunt de nefrologia a l'Hospital Trueta de Girona, quan s'acabava de crear el Servei de Nefrologia. Aquest mateix any, va aconseguir una beca British Council-La Caixa per fer un *fellowship* al Guys Hospital de Londres amb el professor James S. Cameron, on va treballar des de 1987 fins a mitjan 1988 al laboratori d'anatomia patològica, en un projecte que tenia la finalitat de caracteritzar la inflamació renal, mitjançant tècniques immunohistoquímiques, i la fibrosi renal.

En tornar a Barcelona, va presentar la tesi doctoral i es va incorporar a la Unitat de Trasplantament Renal del Servei de Nefrologia de l'Hospital de Bellvitge. L'any 1995 va obtenir el títol de Màster en Bioenginyeria per la Universitat Politècnica de Catalunya, i des de l'any 1997 és professor associat a la Universitat de Barcelona.

Des de maig de 2009 és el cap del Servei de Nefrologia de l'Hospital Vall d'Hebron. El seu interès clínic s'ha centrat en el trasplantament renal i la seva tasca investigadora s'ha focalitzat en l'estudi de la nefropatia crònica des del punt de vista histològic i epidemiològic.

## Convocatòria de beques per a la recerca de la Fundació Catalana de Trasplantament-2010

L'objectiu és fomentar la investigació científica en el trasplantament d'òrgans incorporant diferents persones en les àrees de recerca que avui estan en funcionament en els serveis amb unitat de trasplantament de Catalunya.

El nombre de beques que oferta i finança la FCT en l'actual convocatòria és de TRES, amb el suport econòmic directe, per a dues d'elles, de la companyia ROCHE FARMA, S.A., i per a una altra, de NOVARTIS FARMACÉUTICA, S.A.

El període de gaudi de les beques s'iniciarà el gener de 2010 i finalitzarà el desembre del mateix any.

La dotació de cada beca és de 18.000 € bruts, que es lliuraran directament als beneficiaris en quotes trimestrals de 4.500 €, a les que es farà les corresponents retencions fiscals d'acord amb la normativa vigent.

Les sol·licituds han de presentar-se a la Secretaria de la Fundació Catalana de Trasplantament (Av. Diagonal, 407, 2n, 2a, 08008 Barcelona; tel. 932 003 371), abans del 30 d'octubre de 2009.

## Bases del premi al millor article publicat sobre trasplantament, convocat per la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya i la Fundació Catalana de Trasplantament-2010

L'objectiu és premiar el millor article publicat sobre trasplantament, segons el criteri del Jurat, publicat a qualsevol revista científica espanyola o estrangera, en el període comprès entre l'1 de maig de 2008 i el 30 d'abril de 2009. Si l'article premiat ha estat redactat per diverses persones, el premi s'atorgarà al primer signant.

El premi consisteix en una dotació de 1.500 € i la concessió, en sessió acadèmica solemne, del títol d'Acadèmic Corresponsal de la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya.

Els qui desitgin optar a aquest premi han de presentar l'original del número de la revista en la qual s'ha publicat l'article abans del 30 d'octubre de 2009 a la seu de la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya (c/ del Carme, 47, 08001 Barcelona; tel. 934 120 598), indicant al sobre que el remitent desitja participar en aquesta convocatòria.

## Convocatòria del premi a la millor ponència sobre trasplantament, atorgat per la Fundació Catalana de Trasplantament i l'Acadèmia de Ciències Mèdiques de Catalunya i de Balears-2010

L'objectiu és premiar la millor ponència sobre trasplantament, segons criteri del Jurat, presentada a qualsevol congrés realitzat a Espanya o a l'estranger, en el període comprès entre l'1 d'octubre de 2008 i el 30 de setembre de 2009. Si la ponència premiada ha estat elaborada per diverses persones, el premi s'atorgarà al seu primer signant.

El premi comporta una dotació de 1.500 €. El premi s'atorgarà en l'acte solemne anual de lliurament dels premis de l'Acadèmia de Ciències Mèdiques de Catalunya i de Balears corresponent al 2010.

Els qui desitgin optar a aquest premi hauran de presentar l'original del resum acceptat pel congrés, juntament amb l'escrit de la ponència, abans del 30 d'octubre de 2009 a la seu de la Secretaria de la Fundació Catalana de Trasplantament (Av. Diagonal, 407, 2n, 2a, 08008 Barcelona; tel. 932 003 371).

### Més informació sobre aquestes bases de premis i convocatòries

Fundació Catalana de Trasplantament

Secretaria: Av. Diagonal, 407, 2n 2a, 08008 Barcelona. Tel.: 93 200 33 71

Seu web: [www.fctransplant.org](http://www.fctransplant.org)

## La problemàtica dels assaigs clínics elaborats amb teixits i cèl·lules

de pàgina 1

l'OCATT i han de disposar de les autoritzacions necessàries del Departament de Salut. I l'OCATT l'ha de presentar a la Comisión Nacional de Trasplantes y Medicina Regenerativa del Ministerio de Sanidad y Política Social, que és qui l'ha d'aprovar. En el cas que l'assaig clínic compleixi criteris de medicament, estarà sotmès a les mateixes normes que els de producció industrial, i s'ha de preparar en un laboratori farmacèutic autoritzat per l'Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS). A més de precisar l'autorització del Departament de Salut per a la donació, obtenció i avaluació dels teixits/cèl·lules, l'assaig clínic s'ha de presentar, ha de ser aprovat i serà controlat per l'AEMPS. El projecte a presentar ha de comptar amb un promotor, una assegurança i una certificació/autorització com a laboratori farmacèutic del banc de teixits on s'elaborarà, expedida i atorgada per la pròpia AEMPS. Actualment, i en absència de l'esmentat Reglament, s'exigeix el mateix a un projecte de recerca hospitalari que el que s'exigeix a un projecte presentat per la indústria farmacèutica. Si tenim en compte que la

diferència de magnitud dels propis assaigs clínics i els mitjans econòmics dels dos estaments per tirar-los endavant no són comparables, la situació actual esdevé anòmala i confusa per als professionals. Que aquesta situació és anòmala ens ho demostra la paràlisi que s'està produint en l'aprovació dels assaigs clínics considerats medicaments (1, l'any 2008 a Catalunya). També ho demostra el nul nombre de laboratoris farmacèutics no industrials autoritzats per l'AEMPS. El buit legislatiu existent per als assaigs clínics amb teixits i cèl·lules considerats medicaments presentats pels professionals hospitalaris, conjuntament amb la manca de criteris per pal·liar aquest buit i agilitzar els tràmits, crea una dificultat afegida i innecessària que limita i dificulta les iniciatives de recerca dels professionals. Cal cercar una solució a aquest problema suposadament temporal, encara que ja té tres anys d'antiguitat, que permeti que les iniciatives de recerca iniciades pels professionals hospitalaris puguin anar endavant en funció del seu contingut i finalitat, i que no quedin paralizades pel desconcert legislatiu i les traves burocràtiques existents.

### Comparació de l'activitat de donació i trasplantament en Catalunya 2007-2009 Dades acumulades interanualment fins al mes de maig

	Període 6/08-5/09	Període 6/07-5/08	Variació
	<i>n</i>	<i>n</i>	
Casos detectats (ME+MA)	418	380	10
Percentatge de negatives familiars	16,5%*	22,6%*	-
Donants de cadàver vàlids (ME+MA)	263	217	21,2%
Donants vius renals	106	67	58,2%
Donants vius hepàtics	12	3	300,0%
<b>Trasplantaments</b>			
Trasplantaments renals	537	419	28,2%
Trasplantaments hepàtics	234	191	22,5%
Trasplantaments cardíacs	52	47	10,6%
Trasplantaments pulmonars	54	48	12,5%
Trasplantaments pancreàtics	39	23	69,6%
Trasplantaments intestinals	0	1	-

ME: mort encefàlica; MA: mort en asistòlia.

\*Percentatge de negatives expressades per la família (*n* de negatives familiars / *n* de entrevistes).

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

**DIRECCIÓ:** Daniel Serón i Roser Deulofeu

**COMITÈ DE REDACCIÓ:** María Jesús Félix, Daniel Serón i Roser Deulofeu

**SECRETÀRIA DE REDACCIÓ:** Marga Sanromà

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

**EDITOR:** Adolfo Cassan

**COORDINACIÓ:** Pablo Stajnsznajder

**REVISIÓ LINGÜÍSTICA I TRADUCCIÓ:** Àngels Gayetano

**PRODUCCIÓ:** Letramédica scp.  
Correu electrònic: 19515psh@comb.es

**MAQUETACIÓ:** Carme Pont

**REDACCIÓ, SUSCRIPCIONS I CORRESPONDÈNCIA:**  
Fundació Catalana de Trasplantament  
Av. Diagonal, 407, 2n, 2a  
08008 Barcelona  
Tel.: 93 200 33 71 Fax: 93 200 48 45

**web:** [www.fctransplant.org](http://www.fctransplant.org)



Patrocinat per la **Fundació Catalana de Trasplantament** amb el suport econòmic d'**Astellas**. S'autoritza la reproducció citant la procedència.

*Bulletí de Trasplantament* no comparteix necessàriament les opinions que s'hi publiquen.