

ÍNDICE

Donación y coordinación

| | |
|---|---|
| Papel del coordinador en el proceso de donación de vivo <i>C. Cabrer Barbosa, M. Manyalich y D. Paredes</i> | 1 |
| Negativas a la donación <i>M.A. Getino</i> | 3 |
| Optimización de donantes de corazón <i>C. Chamorro, J.A. Silva y M.A. Romera</i> | 4 |
| Valor de la biopsia renal en la selección del injerto <i>E. Vázquez Martul, E. Veiga Barreiro, J.A. Sacristán y F. Lista</i> | 8 |

Técnicas especiales en el trasplante hepático

| | |
|---|----|
| Sequential liver transplantation <i>A.J. Linhares Furtado</i> | 13 |
| Split liver transplantation: State of the art <i>R.W. Busuttil</i> (sólo disponible en CD) | |
| Split liver transplantation for two adults <i>X. Rogiers</i> (sólo disponible en CD) | |

Donantes y preservación de órganos

| | |
|---|----|
| Metabolic consequences of brain death <i>R.J. Ploeg</i> (sólo disponible en CD) | |
| Ischemic preconditioning: A new strategy for the prevention of ischemia-reperfusion injury <i>C. Peralta, A. Serafin, L. Fernández-Zabalegui, Z.Y. Wu and J. Roselló-Catafau</i> | 13 |

Inmunosupresión e infecciones en el trasplante pulmonar

| | |
|---|----|
| Experiencias con la utilización de micofenolato de mofetilo y tacrolímús en el trasplante pulmonar <i>R. Lama Martínez</i> | 18 |
| Monitorización C ₂ en el trasplante de pulmón <i>A. Román</i> | 20 |
| Infección por CMV: un problema no resuelto <i>J. Gavaldá</i> (sólo disponible en CD) | |
| Profilaxis y tratamiento de las infecciones fúngicas en el trasplante pulmonar <i>P. Morales</i> | 22 |

Inmunosupresión en el trasplante hepático

| | |
|--|----|
| Ventajas de la monitorización C ₂ de Neoral en el trasplante hepático <i>E.G. Villamil</i> | 25 |
| Immunosuppression with tacrolimus in liver transplantation <i>R.W. Busuttil</i> (sólo disponible en CD) | |
| Role of sirolimus in liver transplantation <i>P. Neuhaus</i> | 29 |

| | |
|---|----|
| Inmunosupresión sin esteroides en los pacientes con trasplante hepático <i>V. Cuervas-Mons Martínez</i> | 31 |
| Nefropatía crónica del injerto | |
| Approaching the problem of late renal allograft deterioration <i>P.F. Halloran</i> | 33 |
| Nefropatía crónica del trasplante: papel de las biopsias de protocolo <i>D. Rush</i> | 33 |
| Evaluación de la progresión de las lesiones histológicas en aloinjertos renales <i>F. Moreso</i> | 35 |
| Trasplante hepático de donante vivo | |
| Trasplante hepático de donante vivo en el niño <i>M. López Santamaría</i> | 37 |
| Indications for adult living donor liver transplantation <i>M. Malagó</i> (sólo disponible en CD) | |
| Trasplante hepático de donante vivo para adultos <i>J.C. García-Valdecasas</i> (sólo disponible en CD) | |
| Donor evaluation and complications in adult living donor liver transplantation <i>O. Farges</i> (sólo disponible en CD) | |
| Isquemia-reperfusión en el trasplante renal | |
| Impacto de la función retrasada del injerto en el paciente hipersensibilizado <i>M. Arias</i> | 41 |
| Precondicionamiento isquémico en el trasplante renal <i>J. Torras</i> | 44 |
| Posttransplantation acute inflammation in ischemia-reperfusion <i>J.M. Goujon, A. Vandewalle, M. Abdou, S. Milinkevitch, I. Petit, J.P. Faure and T. Hauet</i> | 46 |
| Farmacodinamia y monitorización de fármacos | |
| Pharmacodynamics of calcineurin inhibitors <i>P.F. Halloran</i> | 50 |
| Rapamicina <i>M. Brunet</i> | 51 |
| Mícofenolato de mofetilo <i>L. Pou</i> | 52 |
| Avances en inmunosupresión y tolerancia | |
| Immunosuppressive drug discovery <i>R.E. Morris</i> | 53 |
| Approaches to clinical allograft tolerance <i>N. Suciu-Foca</i> (sólo disponible en CD) | |
| Inmunosupresión en el trasplante cardiaco | |
| Utilidad de basiliximab en la terapia de inducción en el trasplante cardiaco. Resultados del estudio Simcos <i>L.A. Pulpón</i> (sólo disponible en CD) | |
| Utilidad de daclizumab en la terapia de inducción en el trasplante cardiaco. Resultados del estudio ZxHTX/00 <i>G. Rábago</i> | 54 |

| | |
|--|----|
| Rapamicina, indicaciones y experiencia inicial en el trasplante cardiaco <i>N. Manito</i> (sólo disponible en CD) | |
| Optimización del tratamiento clásico con monitorización de Neoral mediante C ₂ <i>B. Díaz Molina, J.L. Rodríguez Lambert, M.J. Bernardo Rodríguez, L. Tricas y M.E. Gutiérrez Arias</i> | 55 |
| Experiencia con tacrolimús en el trasplante cardiaco <i>M.G. Crespo-Leiro</i> | 57 |
| Inmunosupresión en el trasplante renal | |
| Prophylactic immunosuppressive regimens in renal transplantation <i>Y. Vanrenterghem</i> | 58 |
| Immunosuppression of hyperimmunized patients <i>D. Glotz</i> | 58 |
| Alternativas en la inmunosupresión de mantenimiento <i>J.M. Grinyó</i> (sólo disponible en CD) | |
| Tumores <i>de novo</i> en los diferentes regímenes inmunosupresores <i>F. Oppenheimer</i> (sólo disponible en CD) | |
| Neoral C ₂ monitoring in renal transplantation <i>E. Thervet</i> | 59 |
| Trasplante intestinal | |
| Intestinal transplantation in children <i>O. Goulet and Y. Révillon</i> | 61 |
| Intestinal transplantation: Advances in immunosuppression and surgical techniques <i>A.G. Tzakis, P. Tryphonopoulos, T. Kato, S. Nishida, D.M. Levi, J.R. Nery, J. Madariaga, W. de Faria, N. Mittal, J.F. Thompson and P. Ruiz</i> | 62 |
| Results and quality of life after intestinal transplantation <i>D. Sudan</i> | 63 |
| Infecciones en el trasplante | |
| Liver transplantation in HIV-infected patients <i>D. Samuel</i> | 65 |
| Avances en las infecciones por virus del grupo herpes <i>C. Payá</i> (sólo disponible en CD) | |
| Avances en el trasplante cardiaco y pulmonar | |
| Asistencia ventricular: estado actual <i>M. Castellá</i> | 67 |
| Cardiac stem cells: Their regenerative properties in the postischemic heart <i>B. Nadal-Ginard</i> | 68 |
| Heart-lung transplantation <i>J. Wallwork</i> | 70 |
| Trasplante de páncreas | |
| Vascularized pancreas transplantation <i>D.E.R. Sutherland</i> | 71 |
| Diagnóstico y tratamiento del rechazo en el trasplante de páncreas <i>M.J. Ricart</i> | 72 |
| Diagnóstico y tratamiento radiológico de las complicaciones vasculares en el trasplante de páncreas <i>R. Gilabert</i> | 74 |

Trasplante hepático y virus de la hepatitis C

| | |
|---|----|
| Hepatitis C virus after liver transplantation <i>M. Berenguer</i> | 78 |
| Respuesta inmune a la infección por el VHC <i>J.I. Esteban</i> (sólo disponible en CD) | |
| Profilaxis y tratamiento de la reinfección por el VHC <i>X. Forns</i> | 81 |
| Retransplantation in HCV recurrence <i>D. Samuel</i> (sólo disponible en CD) | |

Avances en el trasplante de tejidos

| | |
|---|----|
| Ingeniería tisular <i>A. Meana y S. Llames</i> | 86 |
| Directiva europea de tejidos: grupo internacional <i>E. Fernández-Zincke</i> (sólo disponible en CD) | |

Nuevas fronteras en el trasplante

| | |
|---|----|
| Trasplante de <i>stem cells</i> embrionarias y adultas <i>B. Soria</i> | 88 |
| Islet cell transplantation <i>D.E.R. Sutherland</i> | 91 |



PRÓLOGO

El 7º Congreso de la Societat Catalana de Trasplantament tuvo lugar en Barcelona del 2 al 5 de febrero de 2003. Desde 1985, año en que se celebró el primer congreso de nuestra sociedad, uno de los objetivos primordiales ha sido atraer a todos los profesionales implicados en los programas de trasplante de España, y progresivamente extender esta invitación a los colegas portugueses y latinoamericanos. La asistencia de 560 delegados, un centenar más que en el último congreso, significa que se ha alcanzado el propósito de que ésta sea la reunión de trasplante de órganos y tejidos más importante que se celebra en nuestro país.

Durante estos tres días de intensa actividad científica también pudimos asistir a la presentación de 400 comunicaciones orales y pósteres por parte de casi todas las unidades de trasplante de España. Creo que la reunión fue un reflejo de la intensa actividad de trasplante de nuestro país. En efecto, en los últimos 20 años España se ha convertido en líder en el trasplante de órganos gracias a las altas tasas de donación de cadáver. También durante este tiempo se ha desarrollado espectacularmente la investigación clínica y básica, de manera que los trabajos de las unidades de trasplante españolas aparecen cada vez con más frecuencia en las reuniones y revistas internacionales de prestigio. Nuestro congreso contribuye además con la publicación de un número especial de *Transplantation Proceedings* que recogerá más de 200 trabajos de los expuestos.

El programa científico del congreso se completó con cuatro sesiones plenarias y 15 sesiones de actualización, que cubrieron los aspectos más novedosos e importantes del trasplante y cuyas ponencias fueron presentadas por más de 60 profesores invitados, tanto nacionales como extranjeros. En este libro y el CD adjunto están incluidas prácticamente todas las ponencias de dichas sesiones plenarias y de actualización. Quiero agradecer profundamente a todos los profesores invitados, en primer lugar su participación en nuestro congreso, contribuyendo con ello de manera decisiva al éxito de éste, y en segundo lugar la autorización para disponer de su presentación con la grabación de la voz y el resumen del texto. Este material nos ha permitido ofrecer un libro que, sin duda, constituye una puesta al día de extraordinario valor en el campo del trasplante de órganos y tejidos.

Finalmente, me gustaría señalar que sin la contribución extraordinaria de la industria farmacéutica, y en especial de Fujisawa, Novartis, Roche y Wyeth, no hubiese sido posible lograr un congreso de este nivel. Prous Science ha colaborado extraordinariamente con su experiencia editorial y en el campo de las nuevas tecnologías para poder ofrecer el presente libro, el CD y el *webcast*. A todos ellos, así como a AOPC y a todos los miembros del comité organizador, quiero agradecer una vez más su esfuerzo y dedicación tanto en la organización como en el desarrollo del congreso.

DR. CARLOS MARGARIT

President de la Societat Catalana de Trasplantament
Presidente del 7º Congreso

PAPEL DEL COORDINADOR EN EL PROCESO DE DONACIÓN DE VIVO

C. Cabrer Barbosa, M. Manyalich y D. Paredes

Coordinación de Trasplantes, Hospital Clínic, Barcelona

Objetivo

El coordinador de trasplante intrahospitalario es un miembro más integrado en el grupo de trasplantes de órganos sólidos. El aumento progresivo del número de pacientes en lista de espera es una realidad en algunos hospitales, y esto implica no sólo una demora para llegar a ser trasplantado, sino un aumento de la mortalidad durante la permanencia en la lista de espera. Entre otras medidas para paliar este problema, algunos hospitales han optado por ofrecer a los pacientes la alternativa terapéutica de ser trasplantados con órganos procedentes de la donación de vivo.

Los procesos de la donación de vivo y de cadáver tienen fases comunes (identificación del posible donante, evaluación clínica, entrevista, autorización de la extracción, extracción y trasplante), que requieren la coordinación y participación de diferentes profesionales para obtener los resultados deseados. El papel del coordinador de trasplantes ha demostrado sobradamente su eficacia en la donación de cadáver y debe hacerlo en la de vivo, porque es la persona responsable de velar por la protección del donante antes y después del proceso. Además de los procedimientos tanto médicos como quirúrgicos y los informes asistenciales que de ellos derivan, el proceso de donación de vivo exige conocer la opinión del donante a partir de su propia experiencia, así como los factores emocionales, sociales y económicos, para garantizar la calidad de vida después de la donación.

Material y métodos

Desde marzo de 2000 hasta diciembre de 2002 se estudiaron 22 donantes vivos de riñón y otros 22 donantes vivos de lóbulo hepático derecho. La edad media de los donantes de riñón era de 52,72 años (rango 28-66 años), y la de los donantes de lóbulo hepático derecho 32,7 años (rango 19-57 años). El grupo de donantes de riñón incluía a 16 mujeres y 6 hombres, y el de lóbulo hepático derecho lo formaban 7 mujeres y 15 hombres. Los donantes fueron evaluados e informados según el protocolo de las respectivas unidades de trasplante y coordinación de trasplantes del Hospital Clínic de Barcelona. Todos los casos siguieron los requisitos del Real Decreto 2070/1999, normativa que regula la donación de órganos de donante vivo en España. A los seis meses de la donación se les envió un cuestionario con 40 preguntas de respuesta anónima, clasificadas para evaluar la información y comprensión del proceso, los factores sociales y económicos, la decisión de donar, la recuperación de la intervención y un campo abierto para que los donantes expresaran lo que, según su experiencia, había representado la donación. Se adjuntó una carta informativa sobre el interés del cuestionario y sus objetivos, explicando que los resultados de la encuesta podían ser muy beneficiosos para futuros donantes, puesto que la experiencia personal podía implicar acciones correctoras de mejora de la calidad del proceso de donación, teniendo en cuenta que las respuestas eran consideradas totalmente anónimas.

Resultados

Las encuestas que se enviaron al grupo de donantes de riñón fueron contestadas en su totalidad, mientras que, de las que se mandaron al grupo de donantes de hígado, hasta el momento han respondido 15, y en ambos grupos se contestaron el 100% de las preguntas. La inmensa mayoría de los donantes de los dos grupos desconocían la alternativa de la donación de vivo, no tenían información ni se lo habían planteado. La voluntad de donar espontáneamente fue expresada por el 86% de los donantes de riñón y por el 71,5% de los donantes de hígado, mientras que por petición familiar lo hicieron el 14% de los casos en el grupo de donantes de riñón y el 28,5% del grupo de donantes de hígado. Las molestias ocasionadas por el proceso de evaluación clínica (analíticas, angiografía, reso-

nancia nuclear magnética y demás pruebas complementarias) se consideraron bien explicadas, y por tanto comprendidas, en el 88% de los casos en el grupo de donantes de riñón y en el 93% de los donantes de hígado. Sin embargo, en ambos grupos el 14%, a pesar de haberlo entendido, experimentó más molestias de lo que les habían indicado. El 100% de los donantes de hígado y el 90,5% de los donantes de riñón entendían que existía un riesgo vital, aunque fuera mínimo, y que el resultado del trasplante no podía asegurarse con éxito en la totalidad de los casos. La mitad de los donantes de ambos grupos consultaron la decisión de donar con familiares y amigos; sin embargo, el que la opinión fuera contraria no les hizo modificar su decisión. El trámite ético-legal pareció adecuado al 95% de los casos en los dos grupos.

Concretamente en cuanto a la decisión de donar, en ningún caso los donantes se sintieron presionados social o económicamente. No se arrepintieron de donar en ningún momento del proceso, y volverían a repetirlo todos en el grupo de donantes de hígado; tan sólo un donante de riñón no volvería a pasar por todo el proceso. La información facilitada por el equipo de trasplante y por coordinación de trasplantes en todos los casos proporcionó mucha tranquilidad y seguridad, y según el 95% de los donantes de riñón y el 93% de los donantes de hígado dicha información se correspondió con la realidad experimentada tras la donación.

La relación del donante con el receptor en el grupo de donantes de hígado era genética (padres e hijos o hermanos) en catorce casos, emocional (matrimonio) en siete casos, y en un caso no existía ninguna relación. En el grupo de donantes de riñón la relación entre donante y receptor era mayoritariamente genética, excepto cuatro casos en que el vínculo era emocional.

En cuanto a la recuperación del donante, en el grupo de donantes de riñón y en el de donantes de hígado se determinaron varios aspectos: la estancia media hospitalaria fue de 6 días (rango 3-9 días) para el primer grupo frente a 12,6 días (rango 6-33 días) para el segundo; asimismo, el tiempo medio necesario para llevar una vida normal fue de 52,8 días (rango 15-180 días) y 50,6 días (rango 15-18 días), y la baja laboral temporal fue de 57,8 días (rango 18 días-6 meses) frente a 96,4 días (rango 21-150 días), respectivamente. Todo ello supuso en el 25% de los donantes de riñón y en el 36% de los donantes de hígado un déficit económico sin ningún tipo de compensación, incluyendo en el grupo de los donantes de hígado un caso en que la donación comportó el despido laboral. Excepto un caso dentro de los donantes de riñón que presentó una hernia a consecuencia de la intervención quirúrgica, el resto de los donantes de ambos grupos se restablecieron completamente (los donantes de hígado después de seis meses), llevando la misma vida que antes de la donación.

Finalmente, resumimos las respuestas expresadas en el campo libre del cuestionario: la donación es lo más importante que habían hecho en su vida, no hay nada equiparable a dar vida a otras personas; la sociedad necesita más información sobre la donación de vivo, porque de haberlo sabido lo hubieran hecho antes; se ofrecían como colaboradores para el programa de donantes vivos; sentían la necesidad de conocer a otros donantes, y les gustaría transmitir ánimo a las personas que pueden ser donantes vivos.

Conclusiones

Resulta evidente que la donación de vivo de riñón y la de lóbulo hepático derecho para adulto son totalmente diferentes, y más teniendo en cuenta que en el año 2001 todas las nefrectomías en el donante se hicieron por vía laparoscópica. Sin embargo, de los resultados obtenidos son indudables muchos aspectos comunes a todos los donantes:

- 1) La donación de vivo de riñón y la de lóbulo hepático derecho son alternativas terapéuticas muy bien aceptadas por las personas implicadas. Sin embargo, requieren una mayor y más adecuada información, tanto en el ámbito sanitario como social.
- 2) Además de la información completa facilitada a los donantes sobre exploraciones complementarias, intervención quirúrgica, etc., es imprescindible que los donantes sean informados acerca de los factores económicos, sociales y emocionales que actualmente conlleva la donación de vivo.
- 3) Es recomendable que el donante vivo tenga la oportunidad de recibir información sobre la experiencia real de otro donante vivo.

- 4) La penalización económica de los donantes vivos durante la baja laboral temporal nos obliga a establecer mecanismos para que éstos sean considerados como en una situación protegida o especial (reglamentación ya existente en España), para que durante la baja laboral temporal la retribución económica sea la misma, independientemente del convenio laboral.
- 5) El donante es una persona sana, no un paciente, y además el proceso de donación garantiza su calidad de salud, lo cual debería ser así considerado por los seguros de vida y de enfermedad privados.
- 6) Para el proceso de donación, los donantes vivos de órganos deberán gozar de los mismos privilegios que actualmente tiene los donantes de médula ósea, de tal manera que ante cualquier incidencia estén totalmente protegidos.
- 7) Los donantes vivos necesitan un foro social de referencia que vele por sus intereses, que obligue a respetar su derecho de autonomía, que colabore en la información y divulgación de las diferentes alternativas de trasplante, que transmita las opiniones y experiencias reales a partir de los propios donantes, y muchas más cuestiones que seguirán planteándose en el futuro a corto y medio plazo.

Finalmente, la estructura organizativa de los coordinadores de trasplante en España en todos sus grados es la única que, por sus conocimientos y actividades, debe responsabilizarse de la protección del donante, con el fin de garantizar su calidad de vida después de la donación.

NEGATIVAS A LA DONACIÓN

M.A. Getino

Coordinación Autónoma de Trasplantes, Servicio Canario de Salud, Consejería de Sanidad y Consumo, Las Palmas de Gran Canaria

La eficacia del sistema español de donación y trasplante está avalada por la incuestionable progresión en el número de intervenciones y por la calidad asistencial de este tratamiento médico. Su evolución a lo largo de la última década ha permitido un desarrollo espectacular de todo tipo de trasplante. Aun así, el Programa de Garantía de Calidad del Proceso de Donación, implantado en 101 hospitales autorizados en nuestro país, muestra como mayor pérdida para los donantes potenciales las contraindicaciones médicas, en un 30% de los casos, y las negativas familiares, en un 23,7%, que limitan dicha práctica. La preocupación por disminuir las barreras a la donación que demuestran todos los equipos de coordinación de trasplantes hospitalarios, autonómicos, además de la Organización Nacional de Trasplantes de España (ONT), nos obliga a la puesta en marcha de acciones encaminadas a la corrección de los posibles factores negativos, que consideramos en la actualidad como resultado de una serie de circunstancias multifactoriales. Creemos necesario un estudio exhaustivo de la situación y una revisión de todos los aspectos que influyen en la percepción global de las actitudes hacia la donación.

Una de las actividades de la ONT es la “promoción de estudios e investigaciones que puedan hacer progresar los conocimientos y las tecnologías relacionadas con la obtención de órganos y tejidos y su implante” (Real Decreto 2070/1999).

Hemos diseñado el Plan Estratégico Nacional para la Reducción de las Negativas a la Donación de Órganos, cuyos fines son mejorar las tasas de donación en España, llevar a cabo un tratamiento sistemático integral del problema, promover entre todas las organizaciones y profesionales sanitarios más y mejores elementos de cohesión, y obtener un beneficio compartido para todos.

Fases del proceso metodológico

- 1) Elaboración del diagnóstico de la situación nacional, para lo cual hemos recurrido a las siguientes fuentes:
 - Resultados de estudios cualitativos y cuantitativos realizados en España, basados tanto en la población general como en entrevistas específicas de donación.

- Impacto en los medios de comunicación.
 - Aspectos legales, religiosos y éticos que puedan ser relevantes.
 - Registros de donantes.
 - Publicidad.
 - Datos específicos del entorno sanitario y de la población general.
- 2) Definición de los diferentes grupos de trabajo, y establecimiento de las líneas estratégicas y sus acciones correspondientes.
 - 3) Implantación, control, evaluación y seguimiento.

Áreas de trabajo

El Plan Estratégico se basa en la población general, en grupos específicos generadores de opinión, en el ámbito hospitalario o sanitario y en entrevistas específicas de donación.

Cronograma del Plan Estratégico

Los pasos a seguir serán la presentación del borrador del proceso metodológico a la Comisión Permanente de Trasplantes de Órganos y Tejidos del Consejo Interterritorial; definición de grupos, áreas de trabajo y líneas estratégicas; revisión de los datos y la metodología de trabajo desarrollado durante el pasado año 2002, para establecer el diagnóstico de la situación nacional actual; definición y puesta en marcha de estudios complementarios; definición y puesta en marcha de los planes de acción (2003-2005); y por último, evaluación del proceso y de los resultados (2002-2005).

OPTIMIZACIÓN DE DONANTES DE CORAZÓN

C. Chamorro, J.A. Silva y M.A. Romera

Servicio de Medicina Intensiva, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid

La escasez de donantes adecuados es un importante factor que limita el trasplante cardiaco. El tratamiento adecuado del donante y su relación con la calidad del injerto continúa siendo un tema de debate. En este sentido, el uso de las catecolaminas en el mantenimiento hemodinámico del donante es uno de los aspectos más controvertidos. Recientemente ha tenido lugar una conferencia de consenso internacional de la que han surgido diferentes recomendaciones para el mantenimiento del donante, encaminadas a maximizar la donación cardiaca (1). A pesar del tiempo transcurrido, algunas de estas recomendaciones no difieren de las indicadas hace más de 30 años por el Grupo de Trasplante Cardiaco de la Universidad de Stanford, que cifró en 10 µg/kg/min la máxima dosis tolerable de dopamina para el mantenimiento del donante cardiaco (2). Sin embargo, una lectura crítica de los estudios realizados desde entonces, tanto de los trastornos hemodinámicos y cardiacos producidos durante la muerte cerebral como de los factores relacionados con la disfunción precoz del injerto cardiaco, no apoya dichas recomendaciones. La trascendencia de esta controversia viene condicionada por el importante número de donantes rechazados por los equipos de trasplante cardiaco, argumentando exclusivamente el uso de catecolaminas a dosis “altas”. Una encuesta reciente realizada entre cirujanos cardiovasculares demostró que dos terceras partes rechazarían la donación cardiaca si, durante el mantenimiento del donante, se superaran las dosis recomendadas de dopamina (3).

En nuestra opinión, el uso racional de las catecolaminas, ya sea noradrenalina o dopamina a dosis superiores a 10 µg/kg/min durante el mantenimiento del donante, no es perjudicial; frecuentemente es necesario, e incluso puede ser beneficioso para maximizar el empleo de todos los órganos de un donante.

La administración de catecolaminas durante el mantenimiento del donante cardiaco no es perjudicial

Son escasos los estudios publicados implicando el uso de catecolaminas en el donante como responsable de la mortalidad precoz en el trasplante cardiaco. En estos trabajos la conclusión es discutible. Wahlers y cols. (4) sólo analizan 39 de los 174 trasplantes cardiacos realizados en su centro. Con relación a los supervivientes, los nueve fallecidos habían recibido un injerto de donantes de mayor edad (29 ± 7 frente a 22 ± 7 años), con mayor tiempo de isquemia (166 ± 44 frente a 132 ± 41 minutos) y fueron tratados con mayores dosis de dopamina (9 ± 7 frente a $4,2 \pm 2,6$ µg/kg/min). Young y cols. (5) encuentran en el estudio univariable que el uso de altas dosis de catecolaminas es un factor relacionado con la disfunción precoz del injerto. Sin embargo, los autores concluyen que el uso de catecolaminas a dosis altas no debe ser una variable categórica para rechazar el donante, sino un factor más que debe ser valorado junto con los hallazgos del ecocardiograma, el tiempo de isquemia previsto y las características del probable receptor. Es importante resaltar que en este análisis, en la variable uso de catecolaminas se incluyó la administración de altas dosis tanto de dobutamina como de dopamina y noradrenalina, a pesar de que sus efectos hemodinámicos son muy diferentes. La reciente publicación de Schnuelle y cols. (6) analiza los datos del registro de la *Eurotransplant International Foundation* respecto a los trasplantes cardiacos realizados en 1993, y hace referencia a que el uso de noradrenalina incrementa el riesgo de fallo precoz del injerto (HR 1,66; IC95%: 1,14-2,43), lo cual no se demuestra con el uso de dopamina. En este estudio sólo se analiza el empleo o no de catecolaminas durante el mantenimiento del donante, sin poder recoger datos acerca de las dosis y el tiempo de utilización. Es sorprendente que en otro trabajo de esta misma institución (7), sobre los trasplantes cardiacos realizados entre 1997 y junio de 1998, el uso de catecolaminas en el donante no se enumere como factor de riesgo en el fallo del injerto.

Otros autores argumentan que el uso de altas dosis de catecolaminas produce alteraciones anatomopatológicas en el corazón que pueden comprometer su posterior viabilidad. Hacen referencia a estudios experimentales sobre los efectos de las catecolaminas en cultivos de células miocárdicas (8), o a su influencia en la disfunción miocárdica de pacientes con feocromocitoma o con insuficiencia cardiaca crónica; es decir, situaciones muy diferentes a las de la muerte cerebral. Lo que nadie discute es que en el momento del enclavamiento cerebral, donde se da una liberación masiva de catecolaminas y de otras sustancias vasoactivas, se pueden producir alteraciones histológicas características en las fibras miocárdicas (9). Las lesiones son más acusadas si la muerte cerebral ocurre de forma explosiva (10) y, aunque normalmente son difusas, el ventrículo derecho suele ser el más afectado. Esto causa una disfunción miocárdica neurógena, que es la responsable del rechazo para la donación cardiaca que presentan hasta el 10% al 20% de los potenciales donantes sin enfermedad cardiaca previa. Aunque la disfunción suele ser reversible, también se puede agravar tras el periodo de preservación necesario antes de su implante definitivo (11). Sin embargo, no existen estudios que demuestren que el uso de catecolaminas tras la inicial "tormenta catecolamínica" agrave las lesiones. Fyfe B y cols. (12) constataron que las alteraciones miocárdicas producidas en la muerte cerebral y durante el tiempo de isquemia no se relacionaban con el uso de vasopresores. En el estudio de Novitzky y cols. (13), frecuentemente referenciado por los autores que defienden esta potencial cardiotoxicidad de las catecolaminas, en ningún momento se hace manifiesto que el uso posterior de catecolaminas agrave las lesiones iniciales, y en cambio sí se demuestra que, a pesar de haber usado altas dosis de dopamina en los donantes, el funcionamiento posterior del injerto fue normal.

Por otro lado, también se han planteado razones bioquímicas en contra del uso de catecolaminas en el donante cardiaco, como la probable producción de depleción miocárdica de sustratos energéticos, de depleción de noradrenalina intramiocárdica o de la *down-regulation* de los receptores adrenérgicos beta (14, 15). Estos argumentos, una vez más derivados de otras situaciones clínicas, son más teóricos que reales. Sakagoshi y cols. (16) demostraron experimentalmente que el uso de adrenalina, a dosis 1,3 µg/kg/min, disminuye los receptores adrenérgicos beta en

el miocardio. Sin embargo, tales hallazgos no han sido confirmados por otros autores. Además, las elevadas dosis de adrenalina utilizadas por Sakagoshi y cols. no suelen administrarse en la clínica. Otros estudios (17) demuestran la pérdida de sustratos energéticos miocárdicos en el seno de la muerte cerebral, pero probablemente esta pérdida es secundaria a alteraciones hormonales concurrentes y no al uso de catecolaminas. Bruinsma y cols. (18) mostraron la nula influencia de diferentes dosis de dopamina en las reservas energéticas intramiocárdicas.

Paralelamente a los estudios citados, se han publicado excelentes resultados en trasplantes cardiacos realizados con donantes teóricamente subóptimos por el uso de dosis altas de dopamina (19-21). Recientemente, nuestro grupo ha mostrado los resultados de 27 trasplantes cardiacos de donantes tratados con altas dosis de dopamina o noradrenalina, siendo la incidencia de fallo primario del injerto de sólo un 4% (22). Este estudio es el primero que analiza el uso de catecolaminas en donantes incluso antes de su evolución a la muerte cerebral, factor que habitualmente no se ha investigado. Es ilógico pensar que el empleo de catecolaminas durante unas pocas horas en el mantenimiento del donante de órganos es perjudicial, y olvidar el uso de estos fármacos a veces durante días en los pacientes antes de su evolución a la muerte cerebral.

La administración de catecolaminas durante el mantenimiento del donante cardiaco es necesaria

Estudios experimentales y observaciones clínicas demuestran que tras la tormenta catecolamínica inicial se produce una disminución de las concentraciones plasmáticas de las catecolaminas circulantes, incluso a niveles inferiores a los previos a la muerte cerebral, existiendo una gran variabilidad individual en las concentraciones plasmáticas finales (23). La pérdida del influjo simpático causa un descenso de las resistencias vasculares sistémicas, y probablemente una reducción del inotropismo (24). En los modelos animales de muerte cerebral se demuestra que el aporte exclusivo de líquidos sin catecolaminas sólo es capaz de mantener la hemodinámica durante un periodo de una a cuatro horas (25). Bittner y cols. pusieron de manifiesto que el empleo excesivo de líquidos puede agravar la disfunción del ventrículo derecho, el más susceptible al deterioro en la muerte cerebral (26). Asimismo, éstos y otros autores (27) demuestran que en ausencia de catecolaminas existe un fracaso en el control del tono vascular, y que el aporte de líquidos produce un aumento de la presión hidrostática pulmonar, un incremento del edema tisular y la probable pérdida del pulmón como órgano válido para la donación. Por tanto, desde el punto de vista fisiopatológico, esta disminución de las catecolaminas circulantes debe ser corregida con la administración exógena de fármacos que tengan un efecto vasoconstrictor para contrarrestar el descenso de las resistencias vasculares sistémicas, además de un efecto adrenérgico β_1 para compensar la pérdida del tono simpático en el corazón. La dopamina y la noradrenalina cumplen estos requisitos. Más del 60% de los efectos hemodinámicos de la dopamina dependen de la liberación periférica de noradrenalina, por lo cual el uso de noradrenalina parece más razonable.

Diferentes estudios demuestran que hay una gran variabilidad individual en la dosis necesaria de catecolaminas para conseguir los mismos efectos hemodinámicos. En pacientes sanos, MacGregor y cols. (28) muestran variaciones de entre 10 y 75 veces de las concentraciones plasmáticas de dopamina, tras su infusión a una dosis ajustada al peso. Incluso los pacientes a los que se administraba una infusión de dopamina a 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ podían tener concentraciones plasmáticas superiores a las de otros pacientes que recibían 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$. En consecuencia, las catecolaminas deben administrarse a las dosis necesarias para conseguir sus efectos hemodinámicos. El umbral de respuesta está sujeto a una amplia oscilación, dependiente de las concentraciones endógenas de las catecolaminas circulantes, de las variaciones en la reactividad vascular y de la amplia variabilidad farmacocinética individual.

La administración de catecolaminas durante el mantenimiento del donante cardiaco es beneficiosa

Diferentes estudios, como el de Szabo y cols. (29), demuestran que en la situación de muerte cerebral el mantenimiento de la presión de perfusión coronaria es fundamental para evitar el deterioro cardiaco, e incluso para revertir

el daño ya producido. El objetivo terapéutico para el donante cardiaco debería ser el mantenimiento de esta presión en cifras superiores a 60-70 mmHg. El excesivo aporte de líquidos y, por tanto, el mantenimiento de una presión venosa central elevada pueden disminuir la presión de perfusión coronaria. Al elevar las resistencias vasculares sistémicas, y consecuentemente la presión diastólica aórtica, las catecolaminas harán subir la presión de perfusión coronaria. El estudio de Di Giantomasso y cols. (30) demuestra que la noradrenalina es un fármaco que aumenta muy eficazmente el flujo coronario.

Por otro lado, en el momento de la muerte cerebral se produce una liberación masiva de citocinas inflamatorias, que conducen a un incremento de la expresión de moléculas de adhesión VCAM-1 e ICAM-1 (31). Esta activación inmunológica puede ser la responsable de acelerar los procesos de rechazo agudo, y podría explicar el conocido peor resultado de los trasplantes de órganos procedentes de fallecidos en muerte cerebral con respecto a los realizados de donantes vivos (32). Las catecolaminas poseen efectos inmunomoduladores y pueden disminuir la expresión de estas moléculas de adhesión. El trabajo de Schuenelle y cols. (33) en pacientes trasplantados de riñón demuestra que el uso de catecolaminas en el donante disminuye la incidencia posterior de rechazos, aumentando la supervivencia del injerto. Dicho estudio abre un interesante campo de investigación clínica sobre la repercusión de estos fármacos en la viabilidad de otros órganos trasplantados.

Bibliografía

1. Zaroff, J.G., Rosengard, B.R., Armstrong, W.F. y cols. *Maximizing use of organs recovered from the cadaver donor: Cardiac recommendations*. J Heart Lung Transplant 2002; 21: 1153-1160.
2. Griep, R.B., Stinson, E.G., Clark, D.A. y cols. *The cardiac donor*. Surg Gynecol Obstet 1971; 133: 792-798.
3. El Oakley, R.M., Yonan, N.A., Simpson, B.M. y cols. *Extended criteria for cardiac allograft donors: A consensus study*. J Heart Lung Transpl 1996; 15: 255-259.
4. Wahlers, T., Cremer, J., Fieguth, H.G. y cols. *Donor heart related variables and early mortality after heart transplantation*. J Heart Lung Transplant 1991; 10: 22-27.
5. Young, J.A., Naftel, D.C., Bourge, R.C. y cols. *Matching the heart donor and heart transplant recipient. Clues for successful expansion of the donor pool: A multivariable, multiinstitutional report*. J Heart Lung Transplant 1994; 13: 353-356.
6. Schnuelle, P., Berger, S., De Boer, J. y cols. *Effects of catecholamine application to brain-dead donors on graft survival in solid organ transplantation*. Transplantation 2001; 72: 455-463.
7. De Meester, J.M.J., Smits, J.M., Rutgerink, E. y cols. *Iso-risk curves as a tool for clinical decision-making: Donor factors and medical urgency in cardiac transplantation*. J Heart Lung Transpl 2001; 20: 1099-1105.
8. Tood, G.L., Baroldi, G., Pieper, G.M. y cols. *Experimental catecholamine-induced myocardial necrosis. I. Morphology, quantification and regional distribution of acute contraction band lesions*. J Mol Cell Cardiol 1985; 17: 317-338.
9. Novitzky, D., Wicomb, W.N., Cooper, D.K.C. y cols. *Electrocardiographic, hemodynamic and endocrine changes occurring during experimental brain death in the Chacma baboon*. J Heart Transplant 1984; 4: 63-69.
10. Shivalkar, B., Van Loon, J., Wieland, W. y cols. *Variable effects of explosive or gradual increase of intracranial pressure on myocardial structure and function*. Circulation 1993; 87: 230-239.
11. Bittner, H.B., Kendall, S.W.H., Chen, E.P. y cols. *Myocardial performance after graft preservation and subsequent cardiac transplantation from brain-dead donors*. Ann Thorac Surg 1995; 60: 47-54.
12. Fyfe, B., Loh, E., Winters, G.L. y cols. *Heart transplantation-associated perioperative ischemic myocardial injury. Morphological features and clinical significance*. Circulation 1996; 93: 1133-1140.
13. Novitzky, D., Rhodin, J., Cooper, D.K.C. y cols. *Ultrastructure changes associated with brain death in the human donor heart*. Transpl Int 1997; 10: 24-32.
14. Soifer, B.E., Gelb, A.W. *The multiple organ donor: Identification and management*. Ann Inter Med 1989; 110: 814-823.
15. Robertson, K.M., Ryan, C.D. *Perioperative management of the multiorgan donor*. Anesth Analg 1990; 70: 546-556.

16. Sakagoshi, N., Shirakura, R., Nakano, S. y cols. *Serial changes in myocardial beta-adrenergic receptor after experimental brain death in dogs*. J Heart Lung Transplant 1992; 11: 1054-1058.
17. Pinelli, G., Mertes, P.M., Carreaux, J.P. y cols. *Myocardial effects of experimental acute brain death: Evaluation by hemodynamic and biological studies*. Ann Thorac Surg 1995; 60: 1729-1734.
18. Bruinsma, G.J., Nederhoff, M.G.J., Van de Kolk, C.W.A. y cols. *Bio-energetic response of the heart to dopamine following brain death-related reduced myocardial workload: A phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy study in the cat*. J Heart Lung Transplant 1999; 18: 1189-1197.
19. Ballester, M., Obrador, D., Abadal, L. y cols. *Dopamine treatment of locally procured donor hearts: Relevance on postoperative cardiac histology and function*. Int J Cardiol 1989; 22: 37-42.
20. Sweeney, M.S., Lammermeier, D.E., Frazier, O.H. y cols. *Extension of donor criteria in cardiac transplantation: Surgical risk versus supply-side economics*. Ann Thorac Surg 1990; 50: 7-11.
21. Menkis, A.H., Novick, R.J., Kostuk, W.J. y cols. *Successful use of the unacceptable heart donor*. J Heart Lung Transplant 1992; 11: 867-874.
22. Silva, J.A., Chamorro, C., Romera, M.A. y cols. *High doses of catecholamines in heart donor is not associated with early graft failure in recipient*. Intensive Care Med 2002; 28: S66.
23. Powner, D.J., Hendrich, A., Nyhuis, A. y cols. *Changes in serum catecholamine levels in patients who are brain dead*. J Heart Lung Transplant 1992; 11: 1046-1053.
24. Herijgers, P., Flameng, W. *The effect of brain death on cardiovascular function in rats. Part II. The cause of the in vivo haemodynamic changes*. Cardiovasc Res 1998; 38: 107-115.
25. Chen, E.P., Bittner, H.B., Kendall, S.W.H. y cols. *Hormonal and hemodynamic changes in a validated animal model of brain death*. Crit Care Med 1996; 24: 1352-1359.
26. Bittner, H.B., Kendall, S.W.H., Chen, E.P. y cols. *The effects of brain death on cardiopulmonary hemodynamics and pulmonary blood flow characteristics*. Chest 1995; 108: 1358-1363.
27. Huber, T.S., Groh, M.A., Gallagher, K.P., D'Alecy, L.G. *Myocardial contractility in a canine model of the brain-dead organ donor*. Crit Care Med 1993; 21: 1731-1739.
28. MacGregor, D.A., Smith, T.E., Prielipp, R.C. y cols. *Pharmacokinetics of dopamine in healthy male subjects*. Anesthesiology 2000; 92: 303-305.
29. Szabo, G., Sebening, C., Hackert, T. y cols. *The role of coronary perfusion changes in cardiac dysfunction associated with brain death*. J Thorac Cardiovasc Surg 1998; 46: 339-343.
30. Di Giantomaso, D., May, C.N., Bellomo, R. *Norepinephrine and vital organ blood flow*. Intensive Care Med 2002; 28: 1804-1809.
31. Pratschke, J., Wilhelm, M.J., Kusaka, M. y cols. *Activation of proinflammatory genes in somatic organs as a consequence of brain death*. Transplant Proc 1999; 3: 1003-1005.
32. Terasaki, P.I., Cecka, J.M., Gjertson, D.W. y cols. *High survival rates of kidney transplants from spousal and living unrelated donors*. N Engl J Med 1995; 333: 333-336.
33. Schnuelle, P., Lorenz, D., Mueller, A. y cols. *Donor catecholamine use reduces acute allograft rejection and improves graft survival after cadaveric renal transplantation*. Kidney Int 1999; 56: 738-746.

VALOR DE LA BIOPSIA RENAL EN LA SELECCIÓN DEL INJERTO

E. Vázquez Martul, E. Veiga Barreiro, J.A. Sacristán y F. Lista

Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Hospitalario Juan Canalejo-Marítimo de Oza, La Coruña

Introducción

El incremento de pacientes en lista de espera para un trasplante renal ha sido la razón principal para recurrir a donantes no ideales o subóptimos y limitar al máximo la tasa de órganos desechados con criterios objetivos. En nuestro

país, se desecha casi el 50% de los riñones de donantes con una edad superior a 60 años (1). Esta finalidad obliga a hacer una selección de órganos de los donantes no “ideales”, es decir, con más de 65 años de edad, hipertensos, diabéticos, fallecidos por asistolia e incluso con neoplasia (2-7). La indicación de la biopsia renal tendrá como objetivo fundamental la selección de un determinado donante subóptimo, basándose en criterios histopatológicos científicamente contrastados. Sin embargo, y previamente a cualquier discusión, debemos tener presente que en patología médica, y más concretamente en nefrología, no siempre existe una relación entre disfunción renal y sustrato histopatológico. No podemos olvidar la débil expresión morfológica existente sobre importantes síndromes renales tales como la insuficiencia renal aguda isquémica y el síndrome nefrótico asociado a cambios mínimos, e incluso la escasa repercusión vascular de la hipertensión arterial.

A estos comentarios previos debemos añadir los factores que distorsionan la valoración de la biopsia del injerto renal, como son las alteraciones secundarias a la isquemia, perfusión, edad avanzada y asistolia (7).

Si a todos estos supuestos añadimos la utilización de diferentes técnicas de procesamiento de la biopsia, con variaciones en la calidad (7) y los diversos parámetros histopatológicos utilizados (8, 12), no será difícil comprender la diversidad de opiniones, entre los que defienden la importancia de la biopsia del injerto preimplante (7-11) y los que, contrariamente, no consideran que el estudio histopatológico pueda ser relevante en la selección previa del injerto subóptimo (13-14). Por lo tanto, para que la biopsia renal cumpla su objetivo y para llevar a cabo una selección del injerto basada en criterios científicamente contrastados es muy importante llegar a un acuerdo en tres aspectos fundamentales:

- 1) Definición de lo que consideramos muestra adecuada.
- 2) Selección del procesamiento técnico que garantice su valoración.
- 3) Discusión sobre los parámetros histológicos que repercuten en la función posimplante.

Definición de la muestra-biopsia adecuada

El tamaño de la muestra y su procesamiento son dos factores íntimamente relacionados en cualquier biopsia renal. Es un hecho aceptado que se necesitan unos requisitos mínimos para la valoración de una determinada patología, tanto en el diagnóstico de las enfermedades glomerulares (15) como en la patología del trasplante (16). Cualquier lesión de carácter focal o segmentario exigirá más cantidad de muestra a estudiar que las lesiones que están difusamente representadas en todo el parénquima renal. Esta aclaración es importante, dado que en la biopsia del injerto de un donante de edad avanzada existen lesiones de carácter focal, como son la esclerosis glomerular y la lesión vascular. Es lógico pensar que, dependiendo del tamaño de la biopsia, podrá variar el porcentaje de glomerulosclerosis y la visualización de alteraciones vasculares.

Una vez revisadas las metodologías empleadas, se concluye que no existe uniformidad en cuanto al tamaño de la biopsia. Algunos autores establecen un mínimo de 10 glomérulos (8), otros lo limitan a 20 glomérulos (11, 17), 25 glomérulos (7), e incluso nunca menos de 70 en otros estudios (18). Al existir diferentes criterios, es lógico asumir una divergencia en los resultados a la hora de clarificar el impacto de una determinada lesión sobre la función ulterior del injerto posimplante. Wang y cols. (19) consideran que el tamaño de la biopsia tiene influencia en cuanto a la reproducibilidad y sensibilidad para determinar el pronóstico de la función del injerto. Las biopsias con menos de 25 glomérulos, el porcentaje de glomerulosclerosis y el grado de fibrosis intersticial no se relacionaban con el grado de función posterior del injerto. En relación con la representatividad, se acepta que es preferible una biopsia en cuña de 0,5 cm de profundidad, que incluya áreas profundas además de arterias, ya que el parénquima renal subcapsular puede mostrar un mayor grado de esclerosis que distorsiona el porcentaje de glomerulosclerosis (7, 20).

Características técnicas del procesamiento

Es otro factor que puede modificar los resultados histológicos (7, 12). La urgencia de la biopsia exige la aplicación de técnicas de procesamiento rápido, como la congelación. Sin embargo, tanto en nuestra experiencia como en la

de otros autores (7), esta técnica produce importantes artefactos con dificultad para valorar la lesión arteriolar y el grado de fibrosis intersticial, no existiendo reproducibilidad entre el examen mediante congelación y el posterior estudio con secciones de parafina (aportación personal). La posibilidad de errores en la interpretación con esta metodología puede tener graves consecuencias, no sólo para la valoración de la lesión glomerular o vascular, sino también para la interpretación de neoplasias potencialmente malignas (21). La biopsia renal siempre exige un procedimiento adecuado para la tipificación de una determinada lesión; es prudente que, dada la importancia que tiene una correcta valoración del posible injerto, no regateemos a la hora de seleccionar una técnica que, por rápida, resulte inadecuada, como ocurre con la técnica de congelación.

Parámetros histológicos

Existe diferencia de opiniones a la hora de priorizar un parámetro histológico que sea útil como marcador de una determinada reserva funcional renal, sobre todo en riñones de donantes con edad superior a 60 años.

Para una valoración objetiva de estas biopsias es aconsejable conocer las repercusiones morfológicas renales producidas por la edad. Con los años disminuye paulatinamente el índice de filtrado glomerular, lo cual repercute directamente en la reducción del aclaramiento de la creatinina sérica (22). Estas modificaciones funcionales están en relación con múltiples mecanismos interrelacionados, entre los que destacan la alteración hemodinámica del flujo sanguíneo intrarrenal y el aumento de la permeabilidad capilar glomerular. Las principales alteraciones morfológicas son el acortamiento de la nefrona, la reducción de la cantidad de glomérulos, con un incremento de la glomerulosclerosis de aproximadamente el 10%, además del aumento del componente elástico e hialino de las arterias y las arteriolas (23).

Para familiarizarnos con estas alteraciones producidas por la edad, hemos revisado riñones de 50 autopsias procedentes de pacientes con edad superior a 50 años. En cada riñón hemos examinado un mínimo de tres campos microscópicos (objetivo de 10 aumentos), que contenían un promedio de entre 25 y 35 glomérulos por área. En cada campo o área hemos contabilizado la cantidad de glomérulos, el grado de patología arterial y arteriolar, así como el daño tubulointersticial. Nuestra conclusión es que el promedio máximo de glomerulosclerosis era del 14,8% en los riñones de pacientes con edad comprendida entre 73 y 76 años, mientras que en los que tenían de 69 a 72 años era del 8,67%, y de un 7,1% en aquellos cuya edad estaba entre 55 y 68 años. El daño vascular arteriolar y arterial, consistente en esclerosis de la íntima e hialinosis, era proporcional al grado de glomerulosclerosis. La valoración de la lesión arteriolar resultó dificultosa, dado el carácter segmentario de las lesiones de arteriolo-hialinosis y debido al hecho de que sólo se identificaban un promedio de dos o tres arteriolas por cada 30 a 40 glomérulos. Este hecho es importante a la hora de considerar una biopsia adecuada, que en nuestra experiencia no deberá tener nunca menos de 25 glomérulos si queremos valorar un mínimo de tres o cuatro arteriolas.

Uno de los parámetros más utilizados es el porcentaje de glomerulosclerosis. Sin embargo, existe en la literatura una cierta diversidad entre el porcentaje de glomerulosclerosis, la edad y la relación con la función del injerto. Para Gaber y cols. (8), más de un 20% de glomerulosclerosis se relaciona con un 87% de injertos inicialmente no funcionantes y una mala función a los seis meses después del implante. Sin embargo, estas conclusiones se basan en un grupo de estudio de sólo ocho pacientes, en los que el porcentaje de glomerulosclerosis era superior al 35% ($39\% \pm 6\%$) (8). Hay estudios que han constatado una relación entre la edad del donante, el porcentaje de glomerulosclerosis, la fibrosis intersticial y la relación con la función del injerto (9). Los riñones con mayor grado de fibrosis intersticial tenían más del doble de probabilidades de mala función al año del trasplante renal (9). Contrariamente, otros trabajos no encuentran una relación directa entre la glomerulosclerosis y la función ulterior. Pokorna y cols. (17) incluyeron 35 casos en que el grado de glomerulosclerosis era superior al 25%, sin observar relación entre este parámetro y la función del injerto si la edad del donante se incluía en un análisis multivariable. Parece ser que el parámetro histológico que más repercusión tiene sobre la viabilidad de un injerto es el daño vascular, y concretamente la hialinosis arteriolar (7, 11, 19). Karpinski y cols. (11) describen que el 100% de los riñones de donantes con una importante hialinosis arteriolar desarrollaban mala función renal desde el inicio y al año del trasplante. Bosman (14), tras un análisis multivariable de diferentes lesiones histológicas, concluye que la lesión arterial consistente en esclerosis de la íntima era el principal determinante de la función al año y medio del trasplante.

En cuanto a la fibrosis intersticial también hay discrepancia. Seron y cols. (24), así como Randhaw y cols. (9), encuentran relación entre la fibrosis intersticial y la función ulterior del injerto. Sin embargo, es necesario constatar la dificultad que comporta hacer una valoración objetiva del grado de fibrosis, sobre todo si la biopsia es pequeña y si no se utilizan métodos de cuantimetría automatizados (comunicación personal).

Alternativas

Para incrementar al máximo la utilidad de la biopsia renal y a fin de optimizar los riñones subóptimos consideramos de utilidad una serie de alternativas.

En primer lugar, hay que familiarizarse con las alteraciones histológicas de los riñones en edades seniles, por encima de los 65 años. Un porcentaje de glomerulosclerosis superior al 20% no se debe exclusivamente a la edad, y en nuestra opinión siempre sugiere la existencia de una enfermedad renal previa, con significado en la función y, por tanto, con muy pocas probabilidades de función posimplante. Una importante hialinosis arteriolar, sobre todo si es concéntrica, es un signo histopatológico que debe contraindicar la selección de dicho injerto.

En definitiva, es difícil aceptar que los riñones con más de un 20% de glomerulosclerosis o con una importante lesión arteriolar sean debidos exclusivamente a cambios de la edad y que no exista deterioro importante en la función renal del donante. Las biopsias con más de un 20% de glomérulos esclerosados deben tener siempre un significado en la función renal. En una revisión propia de 75 biopsias renales médicas de pacientes con enfermedad renal, insuficiencia renal o proteinuria-hematuria, el porcentaje de glomerulosclerosis era inferior a un 20% (término medio 18%). Por lo tanto, consideramos que los porcentajes de hasta un 50% de glomerulosclerosis que algunos autores defienden como límite máximo para aceptar un riñón (25) nos parecen excesivos, además de resultar muy dudosos en relación con la viabilidad posterior de dichos injertos. Estos autores recomiendan en casos límite la implantación doble renal.

En segundo lugar, es importante que la biopsia tenga un tamaño adecuado para que el resultado de su estudio histológico sea reproducible. En biopsias por debajo de 25 glomérulos y sin arterias disminuye el valor de sus parámetros histológicos. La alternativa es realizar biopsias en cuña de 0,5 cm de profundidad, que permitan una valoración correcta no sólo del porcentaje de glomérulos esclerosados sino también de la observación de arterias y arteriolas.

En tercer lugar, se debe emplear una metodología de procesamiento que garantice la visualización de todos los parámetros previamente citados. Actualmente existen métodos que facilitan un resultado rápido, en menos de tres horas.

En cuarto lugar, se deben utilizar protocolos que categoricen todo tipo de alteración, destacando el grado del daño arterial o arteriolar.

Por último, los patólogos, como integrantes de los equipos multidisciplinares de trasplante, tenemos la obligación de mejorar todo nuestro arsenal técnico y de conocimiento, aportando nuevas técnicas que posibiliten el máximo grado de selección objetiva. Sólo así la anatomía patológica, por medio de la biopsia, puede ser la piedra angular que permita aumentar la oferta de injertos subóptimos susceptibles de trasplante, reduciendo al máximo la tasa de riñones desechados.

Bibliografía

1. Aranzábal, J., Zárraga, S. Gómez, P. *Riñones no ideales. Una perspectiva global*. Revista Española de Trasplantes 2002; 11: 203-212.
2. Morales, J.M., Andrés, A., Pallardó, L. *Documento de consenso. Parte 1. Trasplante renal en pacientes de edad avanzada con riñones de donantes añosos. Utilización racional de donantes renales de cadáver de edad avanzada (>60 años)*. Nefrología 1998; 18 (Suppl. 5): 32-37.

3. Alexander, J.W., Vaughn, W.K. *The use of "marginal" donors for organ transplantation. The influence of donor age on outcome.* Transplantation 1991; 51: 135-141.
4. Álvarez, J., del Barrio, M.R., Arias, J. y cols. *Kidney transplantation from non-heart-beating donors: Short- and long-term results.* Transplant Proc 2002; 34: 2591.
5. Morales, J.M. *Renal transplantation in patients positive for hepatitis B or C (pro).* Transplant Proc 1998; 30: 2064-2069.
6. Kauffman, H.M., McBride, M.A., Delmonico, F.L. *First report of the United Network for Organ Sharing Transplant Tumor Registry: Donors with a history of cancer.* Transplantation 2000; 70: 1747-1751.
7. Randhawa, P. *Role of donor kidney biopsies in renal transplantation.* Transplantation 2001; 71: 1361-1365.
8. Gaber, L.W., Moore, L.W., Alloway, R.R., Amiri, M.H., Vera, S.R., Gaber, A.O. *Glomerulosclerosis as a determinant of posttransplant function of older donor renal allografts.* Transplantation 1995; 60: 334-339.
9. Randhawa, P.S., Minervini, M.I., Lombardero, M. y cols. *Biopsy of marginal donor kidneys: Correlation of histologic findings with graft dysfunction.* Transplantation 2000; 69: 1352-1357.
10. Isoniemi, H. *The case for protocol kidney biopsies.* Transplant Proc 2002; 34: 1713-1715.
11. Karpinski, J., Lajoie, G., Cattran, D. y cols. *Outcome of kidney transplantation from high-risk donors is determined by both structure and function.* Transplantation 1999; 67: 1162-1167.
12. Carrera, M., González, C., Condom, E., Bernat, R. *Biopsia del donante en el trasplante renal.* Revista Española de Patología 2002; 5: 295-300.
13. Curschellas, E., Landmann, J., Durig, M. y cols. *Morphologic findings in "zero-hour" biopsies of renal transplants.* Clin Nephrol 1991; 36: 215-222.
14. Bosman, J.L., Woestenburg, A., Ysebaert, D.K. y cols. *Fibrous intimal thickening at implantation as a risk factor for the outcome of cadaveric renal allografts.* Transplantation 2000; 69: 2388-2394.
15. Pirani, C.L. *Evaluation of kidney biopsy specimens.* En: Tisher, C.C., Brenner, B.M. (Eds.). JB Lippincott Co., Philadelphia 1994; 4: 85-86.
16. Racusen, L.C., Solez, K., Colvin, R.B. y cols. *The Banff 97 working classification of renal allograft pathology.* Kidney Int 1999; 55: 713-723.
17. Pokorna, E., Vitko, S., Chadimova, M., Schuck, O., Ekberg, H. *Proportion of glomerulosclerosis in procurement wege renal biopsy cannot alone discriminate for acceptance of marginal donors.* Transplantation 2000; 69: 36-43.
18. Ramos, E., Aoun, S., Harmon, W.E. *Expanding the donor pool: Effect on graft outcome.* J Am Soc Nephrol 2002; 13: 2590-2599. No abstract available.
19. Wang, H.J., Kjellstrand, C.M., Cockfield, S.M., Solez, K. *On the influence of sample size on the prognostic accuracy and reproducibility of renal transplant biopsy.* Nephrol Dial Transplant 1998; 13: 165-172.
20. Muruve, N.A., Steinbecker, K.M., Luger, A.M. *Are wedge biopsies of cadaveric kidneys obtained at procurement reliable?* Transplantation 2000; 69: 2384-2388.
21. Frutos, M., Ruiz, P., Requena, M.V. *El patólogo en el proceso de donación y trasplante de órganos.* Revista Española de Trasplantes 2002; 11: 33-36.
22. Lindeman, R.D. *Renal physiology and pathophysiology.* En: Sessa, A., Meroni, M., Battini, G. (Eds.). Glomerulosclerosis in the elderly of aging. Contribution Nephrology, Karger, Basel 1993; 105: 1-12.
23. Brown, W.W., Davis, B.B., Spry, L.A., Wongsurawat, N., Malone, J.D., Domoto, D.T. *Aging and the kidney.* Arch Intern Med 1986; 146: 1790-1796.
24. Seron, D., Carrera, M., Grino, J.M. y cols. *Relationship between donor renal interstitial surface and post-transplant function.* Nephrol Dial Transplant 1993; 8: 539-543.
25. Andrés, A., Morales, J.M., Herrero, J.C. y cols. *Double versus single renal allografts from aged donors.* Transplantation 2000; 69: 2060-2066.

SEQUENTIAL LIVER TRANSPLANTATION

A.J. Linhares Furtado

Transplant Unit, Coimbra University Hospital, Coimbra, Portugal

An overall view of sequential or domino liver transplantation using livers from donors transplanted for familial amyloidotic polyneuropathy (FAP) is presented. The anatomical and functional normality of these organs (except for the production of TTR Met 30) and the average time (30 years) for that genetic defect to express clinically provide the main rational basis for the procedure.

Portugal has the highest incidence of FAP. The disease has been the indication for nearly 30% of all liver transplants in the country. FAP domino liver transplantation is responsible for 15.3% of all grafts used at Coimbra University Hospital, where the strategy was initiated in 1995. These grafts have all the advantages of living donor grafts and may be used as whole, reduced or split organs. The most important ethical points raised by this procedure are the safety of the FAP donors, expected development of FAP in the recipients and indications in younger patients. The informed consent must include information on the chances of FAP development.

Some technical details of the donors' and recipients' operations, including the combination of FAP domino liver transplantation with split are presented, mainly based on the experience of the Transplant Unit at Coimbra University Hospital, which amounts to 65 FAP domino liver transplantations in 63 patients.

The patient survival rates (at one year) for malignant and benign diseases are similarly low (76% and 74.2%), indicating the importance of preferential assignment of very high-risk patients to the procedure.

The need for expanding the original indications—malignant disease and patients younger than 50 years—is discussed. Some very special situations, the ever-increasing organ shortage and the limitations of living donation, imposed the broadening of the indications and the inclusion of younger patients.

This large, pioneering experience with FAP domino liver transplantation provides sufficient evidence on the safety of the procedure, its low rate of surgical complications and its significant usefulness in regions where FAP is most prevalent.

The probability of FAP development in FAP domino liver transplantation recipients seems to be a real threat. However, the absence of symptoms in patients six and seven years after FAP domino liver transplantation, as well as the apparent slow deposition of amyloid in peripheral nerves, justify the expectation that the disease will not appear earlier than 30 years posttransplantation, and probably then only in some patients.

ISCHEMIC PRECONDITIONING: A NEW STRATEGY FOR THE PREVENTION OF ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY

C. Peralta, A. Serafín, L. Fernández-Zabalegui, Z.Y. Wu and J. Roselló-Catafau

Department of Experimental Pathology, Instituto de Investigaciones Biomédicas de Barcelona, CSIC-IDIBAPS, Barcelona, Spain; General Surgery Division, Renji Hospital, Shanghai, China

Introduction

Ischemia-reperfusion injury is a serious problem in clinical transplantation and is the second cause of organ failure after immunological graft rejection. Ischemia-reperfusion injury shows a complex pathophysiology, with a number of factors contributing to energy degradation during ischemia: generation of reactive oxygen species during reperfusion, “no-reflow phenomenon” and calcium overload reperfusion. This makes it difficult to achieve an effective protection by targeting individual mediators or mechanisms. In contrast, the most promising protective strategy against ischemia-reperfusion injury explored during the last few years is ischemic preconditioning, which appears to increase the resistance of the organs/tissues to ischemia and reperfusion events.

Ischemic preconditioning is an adaptive pathophysiological phenomenon, first described by Murry *et al.* in 1986 when a canine heart ischemia model was used (1). The appearance of cardioprotection within 12-24 hours following preconditioning with ischemia has been also demonstrated. This form of preconditioning is known variously as “delayed preconditioning”, “late preconditioning” or “second window of protection” (2).

It is now well established that preconditioning turns out to be a universal phenomenon occurring in other organs and tissues such as brain, liver, skeletal muscle, lung, small intestine and kidney (3-8). The occurrence of ischemic preconditioning is specific for each tissue and animals species. In liver, small intestine and kidney, it is well known that a short and limited period of ischemia (5-10 minutes) followed by 10 minutes reperfusion confers an earlier, effective protection against ischemia-reperfusion injury (4, 7-8).

Ischemic preconditioning is also a multifactorial process in which multiple signals and several effective mechanisms interact. Several authors have described that myocardial protection is induced by brief ischemia-reperfusion of noncardiac tissues such as kidney and small intestine (9). Recent studies have evidenced that a remote protection is induced in lung and kidney by brief liver ischemia in rats (10–11).

Protective mechanisms of liver ischemic preconditioning

The molecular basis for ischemic preconditioning consists of a sequence of events. In response to the triggers of ischemic preconditioning, a signal must be rapidly generated that is then transduced into an intracellular message, leading to amplification of the effector mechanism of protection. Although the mechanisms are complex and specific for each organ and tissue, a widely adopted paradigm for ischemic preconditioning is as follows: 1) freely diffusible molecules/radicals such as nitric oxide and adenosine act in autocrine and/or paracrine manner as “triggers” to activate the protective mechanisms, and 2) activation occurs of a protein kinase signal cascade, including NFκB and others.

Nitric oxide

Nitric oxide plays a central role in the protective mechanisms of liver ischemic preconditioning in warm- and cold-ischemia models against ischemia-reperfusion injury (12, 13). Nitric oxide generation occurring in liver preconditioning is a consequence of the adenosine released to the extracellular space, which in turn activates nitric oxide synthase. This transient nitric oxide generation showed significant beneficial effects on reperfusion by inhibiting the release of endothelins, potent vasoconstrictors, formed in reperfusion. (14) This is consistent with the fact that nitric oxide induced by liver preconditioning improved hepatic intracellular oxygenation and reduced hepatocellular injury whereas inhibition of nitric oxide synthesis blocked the protective effect of preconditioning, reduced tissue oxygenation and increased hepatocellular injury (15). These data suggest that nitric oxide may be sufficient to limit the progress of ischemia-reperfusion in normal livers.

Adenosine

In rat liver, adenosine receptor blockade during preconditioning with selective adenosine A2 receptor antagonists abolished the protective effect of ischemic preconditioning, whereas the administration of adenosine A1 receptor antagonists was not able to modify this protective effect (16). Nitric oxide generation was also inhibited by administration of adenosine A2 receptor antagonists to the preconditioned rats. In other tissues such as heart, skeletal muscle and brain, ischemic preconditioning requires the activation of potassium adenosine triphosphate channels via adenosine receptors (2). These differences among various tissues could suggest a genetic activation of specific ischemic preconditioning-dependent proteins.

In liver, the optimum ischemic time window to induce preconditioning is defined by the tissue adenosine/xanthine ratio (17). Both adenosine triphosphate metabolites are accumulated in tissue as a function of the length of the ischemic period. The lower limit is defined as the minimum of adenosine able to induce nitric oxide, whereas the upper limit is defined as the concentration of xanthine that generates superoxide anion in sufficient quantity to remove the generated nitric oxide and lead to the formation of peroxynitrite (17).

Reactive oxygen species

Ischemic preconditioning is an effective strategy for preventing lipid peroxidation injury in rat cold- and warm-ischemia reperfusion models (18-20). The main source of toxic reactive oxygen species generated during hepatic ischemia-reperfusion is associated with xanthine oxidase activity. Thus, in ischemic tissue, xanthine dehydrogenase is converted to xanthine oxidase. At the same time, adenosine triphosphate degradation leads to an accumulation of xanthine. Ischemic preconditioning limited the accumulation of xanthine and reduced the conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase during sustained ischemia (18, 20). This fact could explain the effect of ischemic preconditioning on lipid peroxidation in normal and fatty livers by reducing postischemic reactive oxygen species generation. This endogenous protective mechanism is probably more effective against reactive oxygen species than pharmacological strategies based on the administration of antioxidants because they need to reach the site of action in adequate concentrations to be effective. Recently, it has been suggested that ischemic preconditioning could protect against hepatic ischemia-reperfusion injury by the preservation of mitochondrial redox state and thus, parenchymal tissue oxygenation (21).

Signal transduction

TNF κ B plays a key role in the regulation of inflammatory events associated with ischemia-reperfusion injury. Hepatic ischemia-reperfusion injury activates NF κ B and inflammatory cytokines, and the inhibition of NF κ B attenuates cytokine expression. The role of NF κ B in hepatic ischemic preconditioning in mice is controversial (22-24). Few studies have been carried out and their results are contradictory. Teoh *et al.* (23) reported that liver preconditioning activates NF κ B, p38 kinase and cell entry (21). By contrast, Funaki *et al.* (24) suggest that an attenuation of NF κ B activation with subsequent reduction of TNF α -mRNA expression is produced (22). These controversial results seem to be linked to the different pathophysiological conditions studied by these authors. However, the fact that reactive oxygen species can directly activate several intracellular pathways, such as I κ kinases, STAT-1 and p38 stress-activated protein kinase (SAPK), could be consistent with an upregulation of NF κ B expression during liver preconditioning, as well as SAPK activation.

Remote protection

An established consequence of hepatic ischemia-reperfusion is the induction of important pulmonary pathological alterations, such as the adult respiratory distress syndrome associated with human liver transplantation and the multiple organ failure associated with primary graft failure. These changes appear to be linked to hepatic release of TNF by Kupffer cells. Ischemic preconditioning reduces the increase in hepatic postischemic TNF release and prevents TNF release from the liver into the systemic circulation, thus attenuating the lung damage following hepatic ischemia-reperfusion (10). This beneficial effect seems to be due to the inhibitory action of the nitric oxide induced by ischemic preconditioning on the TNF released by Kupffer cells. Thus, the liver preconditioning by inhibiting hepatic postischemic TNF release, through nitric oxide, attenuates the inflammatory responses observed in liver and extrahepatic organs such as lung, intestine and pancreas (25). The role of TNF in liver preconditioning is controversial. In this sense, a recent study has evidenced that the hepatoprotective effects of ischemic preconditioning can be simulated by low doses of TNF (26).

Energy metabolism

Liver preconditioning preserves the energy metabolism degradation occurring during sustained ischemia (27). This is due to adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK), which mediates the protective effects of liver preconditioning by increasing AMPK activity and thus leading to adenosine triphosphate preservation and the subsequent reduction of lactate accumulation during ischemia (27). Neither mechanism has any relationship with the generation of nitric oxide occurring during preconditioning. The administration of AMPK activity inducers such as AICAR mimicked the beneficial effects of preconditioning.

Clinical applications

It is noteworthy that ischemic preconditioning is not only an object of academic interest; it has been applied in clinical trials. Ischemic preconditioning was successfully applied in patients undergoing hemihepatectomy in which a significant decrease in AST/ALT levels after 24 hours of surgery was observed (28). The use of one-cycle liver preconditioning consisting in 10 minutes of ischemia followed by 10 minutes of reperfusion was effective and allowed the continuous clamping of the portal triad during hepatectomy, preventing bleeding and thereby decreasing the risk of surgery for the healthy donor (28). In the clinical setting, preconditioning was superior to intermittent clamping for ischemic periods of up to 75 minutes because it is not associated with blood loss during transection of the liver. However, for prolonged ischemic insults exceeding 75 minutes, intermittent clamping was superior to preconditioning (29).

Conclusions

Ischemic preconditioning has been demonstrated to be a promising tool for the prevention of hepatic ischemia-reperfusion injury in different warm- and cold-ischemia models. Liver preconditioning has proved its usefulness in human liver resections, but its clinical application in liver transplantation must be elucidated in the coming years.

Acknowledgments

This work was supported by the Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI) through the 2002CN0012 project.

References

1. Murry, C.E. et al. *Preconditioning with ischemia: A delay of lethal cell injury in ischemic myocardium.* Circulation 1986; 74: 1124-1136.
2. Baxter, G.F., Ferdinandy, P. *Delayed preconditioning of myocardium: Current perspective.* Basic Res Cardiol 2001; 96: 329-344.
3. Kitagawa et al. *Ischemic tolerance phenomenon found in the brain.* Brain Res 1990; 528: 21-254.
4. Lloris-Carsi, J.M. et al. *Preconditioning: Effect upon lesion modulation in warm liver ischemia.* Transpl Proc 1993; 25: 3303-3304.
5. Pang, C.Y. et al. *Acute ischemic preconditioning protects against skeletal muscle infarction in the pig.* Cardiovas Res 1995; 29: 782-788.
6. Du, Z.Y. et al. *Ischemic preconditioning enhances donor lung preservation in the rat.* J Heart Lung Transplant; 15: 1258-1267.

7. Hotter, G. et al. *Intestinal preconditioning is mediated by a transient increase in nitric oxide*. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 222: 27-32.
8. Riera, M. et al. *Ischemic preconditioning improves postischemic acute renal failure*. *Transpl Proc* 1999; 31: 2346-2347.
9. Go, B.C.G. et al. *Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue*. *Circulation* 1996; 94: 2193-2200.
10. Peralta, C. et al. *Protective effect of liver ischemic preconditioning on liver and lung injury induced by hepatic ischemia-reperfusion in the rat*. *Hepatology* 1999; 30: 1481-1489.
11. Ates, E. et al. *Renal protection by brief liver ischemia in rats*. *Transplantation* 2002; 74: 1247-1251.
12. Peralta, C. et al. *Protective effect of preconditioning on the injury associated to hepatic ischemia-reperfusion in the rat: Role of nitric oxide and adenosine*. *Hepatology* 1997; 25: 934-937.
13. Yin, D.P. et al. *Protective effect of ischemic preconditioning on liver preservation-reperfusion injury in rats*. *Transplantation* 1998; 66: 152-157.
14. Peralta, C. et al. *Liver ischemic preconditioning is mediated by the inhibitory action of nitric oxide on endothelin*. *Biochim Biophys Res Commun* 1996; 229: 264-270.
15. Koti, R.S. et al. *The relationship of hepatic tissue oxygenation with nitric oxide metabolism in ischemic preconditioning of the liver*. *FASEB J* 2002; 16: 1654-1656.
16. Peralta, C. et al. *The protective role of adenosine in inducing nitric oxide synthesis in rat liver ischemia preconditioning is mediated by activation of adenosine A2 receptors*. *Hepatology* 1999; 29: 126-132.
17. Peralta, C. et al. *Hepatic preconditioning in rats is defined by a balance of adenosine and xanthine*. *Hepatology* 1998; 28: 768-773.
18. Peralta, C. et al. *Ischemic preconditioning: A defense against the reactive oxygen species generated after hepatic ischemia-reperfusion*. *Transplantation* 2002; 73: 1203-1211.
19. Serafín, A. et al. *Preconditioning increases the tolerance of fatty liver to hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat*. *Am J Pathol* 2002; 161: 587-601.
20. Fernández, L. et al. *Preconditioning protects liver and lung damage in rat liver transplantation: Role of xanthine/xanthine oxidase*. *Hepatology* 2002; 36: 562-572.
21. Glanemann, M. et al. *Ischemic preconditioning protects from hepatic ischemia-reperfusion injury by preservation of microcirculation and mitochondrial redox-state*. *J Hepatology* 2003; 38: 59-66.
22. Ricciardi, R. et al. *Regulation of NF-kappa B in hepatic ischemic preconditioning*. *J Am Coll Surg* 2002; 195: 319-326.
23. Teoh, N. et al. *Preconditioning in mice is associated with activation of NF-kappa B, p38 kinase and cell entry*. *Hepatology* 2002; 36: 94-102.
24. Funaki, H. et al. *Essential for nuclear factor kappa B in ischemic preconditioning for ischemia-reperfusion injury of the mouse liver*. *Transplantation* 2002; 74: 551-556.
25. Peralta, C. et al. *Preconditioning protects against systemic disorders associated with hepatic ischemia-reperfusion through blockade of tumor necrosis factor-induced P-selectin up-regulation in the rat*. *Hepatology* 2001; 33: 100-113.
26. Teoh, N. et al. *Low dose TNF protects against hepatic ischemia-reperfusion injury in mice: Implications for preconditioning*. *Hepatology* 2003; 37: 118-128.
27. Peralta, C. et al. *Adenosine monophosphate-activated protein kinase mediates the protective effects of ischemic preconditioning on hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat*. *Hepatology* 2001; 34: 1164-1173.
28. Clavien, P.A. *Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans*. *Annals of Surgery* 2000; 232: 155-162.
29. Rüdiger, H. et al. *Comparison of ischemic preconditioning and intermittent and continuous inflow occlusion in the murine liver*. *Annals of Surgery* 2002; 235: 400-407.

EXPERIENCIAS CON LA UTILIZACION DE MICOFENOLATO DE MOFETILO Y TACROLIMÚS EN EL TRASPLANTE PULMONAR

R. Lama Martínez

Servicio de Neumología, Unidad de Trasplante Pulmonar, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba

El tratamiento inmunosupresor convencional para la prevención del rechazo en el trasplante pulmonar consiste en una triple terapia con ciclosporina, azatioprina y corticoides. No obstante, la eficacia del régimen inmunosupresor no es óptima, ya que la incidencia de rechazo agudo es muy alta, sobre todo en los seis primeros meses postrasplante, y la incidencia de rechazo crónico, manifestado como síndrome de bronquiolitis obliterante, también es muy elevada, de hasta el 50% a los tres años del trasplante. El síndrome de bronquiolitis obliterante es la principal causa de mortalidad (30%) a partir del primer año después del trasplante, y el principal factor de riesgo para su desarrollo es el antecedente de episodios de rechazo agudo grave o recurrente. Un problema añadido es el efecto tóxico directo de los inmunosupresores sobre diversos órganos; la neurotoxicidad, la hipertensión arterial, la insuficiencia renal, la diabetes, etc., son trastornos frecuentes relacionados con los fármacos inmunosupresores. Además, las infecciones y el desarrollo de tumores *de novo* son importantes causas de morbimortalidad tras el trasplante, relacionadas con la depresión de la respuesta inmunológica.

Existen pruebas de que el tacrolimús y el micofenolato de mofetilo disminuyen la incidencia de rechazo agudo en los receptores de trasplante de riñón, corazón o hígado, sin producir un aumento significativo de la toxicidad. Sin embargo, aún está por demostrar su influencia en el rechazo crónico de estos injertos.

Basándose en la experiencia preliminar con tacrolimús y micofenolato de mofetilo en otros trasplantes, ambos fármacos se están utilizando actualmente en los receptores de aloinjerto pulmonar, tanto en régimen de inmunosupresión primaria de mantenimiento como en terapia de rescate, sustituyendo a la ciclosporina y a la azatioprina, respectivamente, en los casos de rechazo agudo recurrente o refractario y cuando existe síndrome de bronquiolitis obliterante inicial o ya establecido.

Tacrolimús en inmunosupresión primaria

La eficacia de tacrolimús frente a ciclosporina, ambos en asociación con azatioprina y corticoides, como inmunosupresión primaria se ha comparado en varios trabajos. Un estudio prospectivo realizado por el grupo de Pittsburg demuestra que la incidencia de rechazo agudo es menor en el grupo tratado con tacrolimús a los seis meses y un año de seguimiento. A los dos y cuatro años de seguimiento adicional, observaron que la incidencia y el periodo libre de síndrome de bronquiolitis obliterante era menor en el grupo de tacrolimús. La incidencia de infecciones fue similar en ambos grupos, si bien las infecciones bacterianas fueron más frecuentes en el que recibía ciclosporina y las infecciones micóticas se dieron con más frecuencia en los tratados con tacrolimús. La supervivencia también fue semejante en los dos grupos, aunque tendía a ser mejor en el de tacrolimús. Sin embargo, a los nueve años de seguimiento de este mismo grupo, los autores no encontraron diferencias significativas entre ambos brazos terapéuticos en cuanto a la incidencia de rechazo agudo, síndrome de bronquiolitis obliterante y supervivencia.

Otros estudios retrospectivos, realizados con pocos pacientes y con periodos de seguimiento cortos, muestran que la incidencia de rechazo agudo es significativamente menor en regímenes de inmunosupresión con tacrolimús frente a ciclosporina, sin aumentar la incidencia de infecciones, aunque con un incremento de la supervivencia en el grupo tratado con tacrolimús.

Tacrolimús como terapia de rescate

En cuanto al uso del tacrolimús en sustitución de la ciclosporina, en combinación con azatioprina y corticoides, en los casos de rechazo agudo recurrente o persistente, actualmente no existen ensayos clínicos controlados y la mayoría de los estudios son observacionales, con resultados positivos.

Los estudios publicados acerca de la sustitución de la ciclosporina por el tacrolimús como terapia de rescate en el síndrome de bronquiolitis obliterante son también retrospectivos, y en ellos se demuestra la estabilización o retardo en el descenso de la función pulmonar en algunos pacientes.

Micofenolato en inmunosupresión primaria

Basándose en la experiencia de otros trasplantes de órganos sólidos, muchos grupos de trasplante pulmonar han sustituido la azatioprina por el micofenolato de mofetilo.

Varios estudios retrospectivos comparan la eficacia del micofenolato de mofetilo frente a la azatioprina en combinación con la ciclosporina y los corticoides, encontrando una incidencia de rechazo agudo significativamente menor en el grupo tratado con micofenolato de mofetilo. En alguno de estos trabajos se observa que la incidencia de colonización por *Aspergillus* ssp. es significativamente mayor en este grupo. Sin embargo, dos estudios prospectivos multicéntricos muestran resultados preliminares a los seis meses y un año, en los cuales la incidencia de rechazo agudo, infecciones y supervivencia es similar.

Micofenolato como terapia de rescate

La experiencia es muy limitada en cuanto a la sustitución de la azatioprina por el micofenolato de mofetilo en el rechazo agudo recurrente o persistente y en el síndrome de bronquiolitis obliterante.

Tacrolimús en asociación con micofenolato

La asociación de tacrolimús junto con micofenolato de mofetilo, frente a ciclosporina y azatioprina o micofenolato de mofetilo se está estudiando tras los resultados preliminares de un trabajo retrospectivo donde se comprobó que el grupo de tacrolimús más micofenolato presentaban menos rechazo agudo que el grupo tratado con ciclosporina más azatioprina. Un estudio prospectivo, tras un año y medio de seguimiento, muestra un periodo libre de rechazo agudo mayor, aunque no significativo, en los que recibían tacrolimús, así como una incidencia de rechazo agudo significativamente menor también en los tratados con tacrolimús, siendo la incidencia de infecciones similar en ambos grupos, pero con tendencia a una mayor frecuencia de infecciones fúngicas. La supervivencia a los seis meses y tras un año de seguimiento se asemeja en los dos grupos.

Actualmente está en curso un ensayo clínico, prospectivo, aleatorizado y multicéntrico, promovido por el Grupo Europeo y Australiano, donde se compara la eficacia de tacrolimús más micofenolato de mofetil frente a ciclosporina más micofenolato de mofetilo, cuyo principal objetivo es evaluar la incidencia de síndrome de bronquiolitis obliterante a los tres años.

Conclusiones

- 1) Tacrolimús frente a ciclosporina en asociación con azatioprina y corticoides:
 - En inmunosupresión primaria: menor incidencia de rechazo agudo en el grupo tratado con tacrolimús; sin diferencias en cuanto a síndrome de bronquiolitis obliterante, infecciones y supervivencia.
 - En rechazo agudo recurrente o persistente: es eficaz en su control.
 - En síndrome de bronquiolitis obliterante: estabiliza o retarda el descenso del FEV₁.
- 2) Micofenolato de mofetilo frente a azatioprina en asociación con ciclosporina y corticoides:
 - En inmunosupresión primaria: es una alternativa segura, con similar perfil de seguridad e igual incidencia de rechazo agudo y supervivencia.
 - En rechazo agudo recurrente y síndrome de bronquiolitis obliterante: experiencia muy limitada.

3) Tacrolimús en asociación con micofenolato de mofetilo y corticoides: resultados alentadores como inmunosupresión de mantenimiento frente a otros regímenes inmunosupresores.

Como resumen final, el tacrolimús y el micofenolato de mofetilo son tan o más eficaces que la ciclosporina y la azatioprina, respectivamente, con similar perfil de seguridad, con tendencia a disminuir la incidencia de rechazo agudo y con igual toxicidad. Sin embargo, hacen falta más estudios controlados para comprobar el impacto sobre el síndrome de bronquiolitis obliterante.

MONITORIZACIÓN C_2 EN EL TRASPLANTE DE PULMÓN

A. Román

Servei de Pneumologia, Trasplante Pulmonar, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona

Introducción

Desde que el Dr. Borel descubrió la ciclosporina A, y pocos años después se introdujo en el tratamiento inmunosupresor del trasplante de órganos, han pasado casi 20 años. Durante este tiempo se han desarrollado todos los trasplantes de órganos sólidos, a excepción del trasplante renal. Los resultados han ido mejorando paulatinamente, y también se ha avanzado en la inmunosupresión. Concretamente, el tratamiento inmunosupresor con ciclosporina A se mejoró gracias a la formulación Neoral, que disminuyó la variabilidad de absorción del fármaco, tanto intra como interindividual. Esta nueva formulación presenta la característica de alcanzar la $C_{m\acute{a}x}$ a las dos horas de la ingesta, frente a la $C_{m\acute{a}x}$ a las cuatro horas de la ciclosporina A clásica.

Varios estudios avalan la idea de que la biodisponibilidad de la ciclosporina A está relacionada con la aparición de rechazo. Así, una baja biodisponibilidad o un aclaramiento aumentado de la ciclosporina representa un riesgo de rechazo incrementado. Por otra parte, la concentración de ciclosporina A en sangre se ha relacionado con su efecto inmunosupresor, según estudios que observan variaciones de la inhibición de la calcineurina en los leucocitos o del porcentaje de linfocitos que expresan IL-2.

Una aproximación al área bajo la curva (AUC) de la ciclosporina, en su forma Neoral, objetiva que la mayor variabilidad en la concentración del fármaco en sangre se produce durante las primeras cuatro horas tras la toma, y por lo tanto será el área bajo la curva de las primeras cuatro horas (AUC_{0-4}) la que mejor se va a correlacionar con la biodisponibilidad real del fármaco.

Objetivo

Se trata de conocer de la forma más sencilla posible la biodisponibilidad real de la ciclosporina A para cada paciente y para cada situación clínica. Se debe tener en consideración que existen al menos dos fases bien diferenciadas en el posoperatorio del trasplante de un órgano. La primera fase se denomina temprana, y es considerada de máximo riesgo inmunológico por acumular en todos los trasplantes de órganos sólidos la mayor incidencia de rechazo agudo. Este periodo también se conoce como fase de inducción. La segunda fase del posoperatorio, o fase tardía, se distingue por una menor incidencia de crisis de rechazo agudo, por la aparición de rechazo crónico en algunos pacientes y por la presencia de efectos secundarios a largo plazo relacionados con el tratamiento inmunosupresor.

Mejorando la monitorización de la ciclosporina A

Las evidencias de que el AUC_{0-4} de la ciclosporina A es la mejor aproximación a la biodisponibilidad real del fármaco se deben validar en cada tipo de trasplante. La validación pasa por realizar estudios retrospectivos y transversales observacionales como primer paso. Este tipo de trabajos se han completado con los trasplantes hepático y renal. Además, son necesarios estudios prospectivos en pacientes trasplantados *de novo* para tener datos en todas las fases del posoperatorio. A partir de aquí se debe intentar simplificar la metodología, y en este punto todos los estudios realizados apuntan que la C_2 es la que mejor se correlaciona con el AUC_{0-4} . Por último, a partir de los resultados de los estudios prospectivos, en cada órgano hay que definir las concentraciones de C_2 deseables para cada situación y para cada momento del posoperatorio.

En los trasplantes renal y hepático ya se han dado pasos importantes para conseguir estos objetivos. Por ejemplo, en 1999 Mahalati y cols. observaron en trasplantes renales *de novo* que los pacientes que alcanzaban un AUC_{0-4} de 4400 a 5500 ng·h/ml entre el tercero y el quinto día del posoperatorio presentaban durante los tres primeros meses una tasa de rechazo muy inferior a los pacientes con un AUC_{0-4} inferior a 4400 ng·h/ml. De los numerosos estudios que existen sobre trasplante renal y hepático, tanto retrospectivos como prospectivos multicéntricos, todos han presentado resultados en la misma línea.

El problema del estudio sistemático en la clínica del AUC_{0-4} es que se trata de un método poco práctico, especialmente por la necesidad de la toma de numerosas muestras. Por ello, los trabajos anteriores se han complementado con la búsqueda de una estrategia de muestreo limitado que se correlacione adecuadamente con el AUC_{0-4} . Los resultados en este sentido han sido claros: la C_2 es el punto que mejor se correlaciona con el AUC_{0-4} . Además, se ha demostrado que la C_0 , que es la monitorización clásica de ciclosporina A, presenta una mala correlación con el AUC_{0-4} . C_2 se correlaciona bien desde la primera semana en el trasplante renal, y esta correlación se ha observado en todos los tipos de trasplante de órgano estudiados. Claramente, es en el trasplante renal donde los datos son más abundantes, lo cual ha permitido definir, por ejemplo, la probabilidad de ausencia de rechazo relacionada con las concentraciones de C_2 .

Después de estos resultados, en febrero de 2002 tuvo lugar en París una reunión de consenso (*CONCERT International Consensus*) donde se aceptaron las concentraciones diana de C_2 para los trasplantes renal y hepático en los distintos periodos posoperatorios. En esta reunión, se concluyó que la monitorización de C_2 es la mejor opción de control del tratamiento con ciclosporina A en el trasplante renal y el hepático *de novo*. Además, los pacientes ya trasplantados con sospecha de toxicidad por ciclosporina A se pueden beneficiar del control mediante C_2 .

Datos en el trasplante pulmonar

Existen escasos estudios sobre trasplante pulmonar, la mayor parte de ellos publicados en el último año. Se han hecho ensayos transversales en pacientes estables, observándose unas concentraciones de C_2 intermedias entre las recomendadas para el trasplante renal y para el hepático. Un estudio reveló algunas diferencias en la farmacocinética de los pacientes con fibrosis quística que toman ciclosporina A, en el sentido de una menor biodisponibilidad y una mejor correlación de C_3 con el AUC_{0-4} en estos pacientes, que sin duda constituyen un grupo especial de trasplantes pulmonares. Por último, algunos trabajos sobre pacientes con toxicidad atribuible al tratamiento con ciclosporina A han permitido observar que el descenso de la dosis de este fármaco, controlado mediante C_2 , ha sido seguro y se ha producido una mejoría parcial de los pacientes.

Estrategia de implantación de la monitorización de la ciclosporina A mediante C_2

Una vez que se tienen estas pruebas, está claro que el estudio del AUC_{0-4} de forma simplificada es absolutamente necesario para el mejor control del tratamiento con ciclosporina A. El cambio de estrategia pasa por un proceso que ha de incluir sucesivamente cuatro puntos:

- 1) Aceptar la racionalidad del uso de C_2 .
- 2) Constatar que todos los estudios disponibles, aunque insuficientes, apoyan la idea de que la C_2 es una estrategia de monitorización mejor que C_0 .
- 3) Iniciar el estudio del AUC_{0-4} y la C_2 en los pacientes con la necesaria adaptación de todas las personas que cuidan de ellos y de los pacientes mismos. Ésta puede ser una tarea complicada y con malos resultados si no se hace un esfuerzo informando a todos aquellos que están relacionados con el trasplante.
- 4) Por último, se ha de ganar en experiencia prospectiva, tanto individual como multicéntrica, mediante estudios bien planificados, que permitan conseguir la información necesaria para que esta estrategia beneficie a los pacientes.

Tal como concluyeron los expertos que se reunieron en París en la conferencia de consenso, son necesarios más estudios prospectivos para evaluar los posibles beneficios a largo plazo de la monitorización de la ciclosporina A mediante C_2 en los pacientes ya trasplantados y trasplantados *de novo*, a fin de constatar la eficacia en la prevención del rechazo y la seguridad de esta estrategia de monitorización.

PROFILAXIS Y TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES FÚNGICAS EN EL TRASPLANTE PULMONAR

P. Morales

Servicio de Neumología, Unidad de Trasplante Pulmonar, Hospital Universitario La Fe, Valencia

El riesgo de infección en el paciente inmunodeprimido es significativamente mayor que en la población general. En el paciente receptor de un trasplante, y por tanto subsidiario de tratamiento inmunosupresor permanente, la infección y el rechazo son los dos pilares básicos en su seguimiento. Las infecciones son la principal causa de mortalidad precoz en el trasplante pulmonar; dentro de éstas, las producidas por microorganismos oportunistas, tanto víricas como fúngicas, ocupan un puesto primordial. El riesgo de infección en los pacientes con trasplante pulmonar es mayor que en los receptores de otros órganos, posiblemente como resultado de una combinación de factores. Entre otros, destaca el hecho de que el pulmón es el único órgano trasplantado que tiene contacto continuado con el exterior, sirviendo como puerta de entrada y asiento para la infección. Además, la relación directa con la morbilidad tiene importantes consecuencias inmunológicas en la génesis y en el curso clínico del rechazo, tanto agudo como crónico, y de la bronquiolitis obliterante.

La incidencia de infecciones fúngicas es inferior a la de las infecciones causadas por bacterias y virus, pero producen mayor mortalidad, por varios motivos: la dificultad del diagnóstico precoz, la ausencia de un tratamiento eficaz frente a hongos filamentosos, como el *Aspergillus* spp., y la toxicidad e interacciones de ciertos agentes antifúngicos con los fármacos inmunosupresores. El ajuste de la inmunosupresión puede conducir a la pérdida del injerto.

La infección fúngica se da en el 15% a 25% de los pacientes tras el trasplante pulmonar. En el 80% de los casos está causada por *Candida* spp. y *Aspergillus* spp., con una mortalidad global de cerca del 60%. La más prevalente e importante la produce *Aspergillus* spp. y, a pesar del diagnóstico precoz y el tratamiento agresivo, la mortalidad sigue siendo elevada.

Aspergillus es un hongo filamentosos con una amplia distribución ambiental (se encuentra en el polvo, el suelo y la vegetación). Las especies que más comúnmente afectan a los pacientes inmunodeprimidos son *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus*.

La infección por *Aspergillus* puede manifestarse en el receptor de un trasplante pulmonar en tres formas diferentes: colonización, traqueobronquitis y aspergilosis invasiva. Aunque se han notificado casos de aspergilosis broncopulmonar alérgica, raramente ocurre en pacientes con fibrosis quística (prevalencia del 0,5% a 11%). La cla-

sificación utilizada corresponde a la del Grupo Cooperativo de Infecciones Fúngicas Invasivas (IFICG) de la Organización Europea para la Investigación y Tratamiento del Cáncer (EORTC), junto con el Grupo de Estudio de las Micosis del Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas (NIAID MSG).

Comparado con otros trasplantes de órganos sólidos, la aspergilosis pulmonar invasiva es más frecuente en el trasplante pulmonar, con una incidencia del 3% al 18% y una mortalidad de entre el 45% y el 90%, dependiendo del tipo de trasplante, el tratamiento inmunosupresor y el lugar de la infección (afectación cerebral en el 88%). El grado de inmunosupresión, el ambiente hospitalario, el rechazo pulmonar, las infecciones víricas y la utilización o no de profilaxis antifúngica son factores contribuyentes.

Es difícil saber el valor clínico del aislamiento de *Aspergillus* u otro hongo en una muestra respiratoria, teniendo en cuenta que una colonización por este hongo es uno de los factores de riesgo de aspergilosis pulmonar invasiva que se han identificado en algunos trabajos (de 11 a 22 veces mayor durante los seis primeros meses después del trasplante, según diferentes estudios).

Objetivo

La finalidad de este trabajo es presentar los datos actuales referentes a la profilaxis y el tratamiento de las infecciones fúngicas.

Métodos

Como metodología, se expondrá la casuística del propio centro hospitalario en la prevención y el tratamiento de la infección fúngica, y se hará una revisión de la literatura.

Profilaxis

- Pretrasplante: administración de fluconazol (100 mg/12 horas) en caso de cultivo positivo para *Candida* spp. o itraconazol (100 mg/12 horas) para *Aspergillus* spp. (anfotericina inhalada, según los usos), hasta un mes después de su negativización con cultivo repetido.
- Postrasplante: durante el primer mes posoperatorio, administración de fluconazol (200 mg/12 horas) y anfotericina B nebulizada (0,2 mg/kg/8 horas), seguido de dosis más reducidas de anfotericina B nebulizada (<0,5 mg/kg/día) hasta el tercero o el sexto mes después del trasplante, especialmente si el paciente estaba recibiendo tratamiento antibiótico de amplio espectro para las infecciones intercurrentes bacterianas, o si tenía un cultivo positivo para *Aspergillus* antes del trasplante.

Tratamiento

- Pretrasplante: itraconazol (200 mg/día) y anfotericina B nebulizada (<0,5 mg/kg/día) hasta un mes después de su negativización con cultivo repetido. Supone la exclusión de la lista de espera para trasplante durante ese periodo.
- Postrasplante: la colonización en los seis primeros meses tras el trasplante se trata con anfotericina B nebulizada (0,2 mg/kg/8 horas) e itraconazol oral (200 mg/día), hasta un mes después de su erradicación con cultivo repetido. Hasta la fecha, después de los seis meses sólo se administraba anfotericina B nebulizada o itraconazol oral, según la tolerancia del paciente y bajo estrecha vigilancia. En la actualidad se administran ambos tratamientos.

En caso de traqueobronquitis siempre se recurre a un tratamiento combinado, independientemente del tiempo transcurrido.

Si existen ulceraciones se administra tratamiento intravenoso con formulaciones lípidas de anfotericina B, a dosis ajustada según la función renal durante tres semanas, seguido de itraconazol a dosis de 200 mg/día.

En la aspergilosis pulmonar invasiva, el tratamiento inicial consiste en anfotericina B liposomal a dosis ajustada según la función renal durante tres semanas, en combinación con dosis superiores de anfotericina B nebulizada (>0,5 mg/kg/día), hasta conseguir la mejoría clínica del paciente.

En todos los casos, el tratamiento inmunosupresor se ajusta por la interacción de algunos antifúngicos (sobre todo itraconazol y voriconazol) con la ciclosporina y el tacrolimús, con elevación secundaria de ambos. Al mismo tiempo, se intenta mantener dosis eficaces mínimas para disminuir la yatrogenia secundaria.

Obtención de muestras

- Cultivos seriados de esputo para bacterias y hongos cada cinco días durante el primer mes, y posteriormente en cada visita si el paciente mantiene una expectoración o ante cualquier síntoma de infección respiratoria.
- Fibrobroncoscopia con estudios microbiológicos de lavado broncoalveolar durante el primer mes (al menos en tres ocasiones), y posteriormente si se ha considerado clínicamente indicada por semiología de infección mantenida o rechazo.

Resultados

Durante el periodo analizado, que comprende 200 trasplantes consecutivos con profilaxis antifúngica (14 unipulmonares), se han diagnosticado 64 casos de aspergilosis (32%, y 33% en la serie publicada por Monforte y cols. [J Heart Lung Transp 2001], de los 55 trasplantes pulmonares consecutivos tratados con profilaxis). De éstos, en 19 (29%) la indicación del trasplante correspondía a un enfisema, en 18 (28%) a fibrosis pulmonar, en 15 (23%) a fibrosis quística y en 6 (9%) a bronquiectasias, siendo en el 11% restante indicado por otras patologías. Las formas clínicas de presentación se distribuyeron de la siguiente forma:

- 1) Colonización por *Aspergillus* en 48 pacientes (75%): *A. fumigatus* 59%, *A. flavus* 35% y *A. niger* 4%.
- 2) Alteraciones de la vía aérea o traqueobronquitis debida a *Aspergillus* en 6 casos (9%).
- 3) Aspergilosis pulmonar invasiva en 10 pacientes (16%), de los cuales en tres fue diseminada. Todos los casos fueron causados por *A. fumigatus* en cultivos monomicrobianos, excepto en uno coincidente con *Scedosporium apiospermium*.

La fecha promedio de detección fue de 15,5 a 14,38 meses (para la aspergilosis pulmonar invasiva fue de 10,7 a 9,6 meses), aunque en 28 casos (41%) se detectó durante el primer año.

La supervivencia actual para los pacientes con infección por *Aspergillus* fue aproximadamente del 87,5% al 4,2% anual (serie global del 61,3% a 4,5%), del 60,1% al 6,8% a los tres años (serie global 55,7% a 4,7%) y del 50,7% al 7,6% después de cinco años (serie global 52,2% a 5%) ($p=0.6$). La infección por *Aspergillus* se correlacionó significativamente con la supervivencia a partir del diagnóstico ($p=0.003$). En el punto de corte de seis meses, los casos diagnosticados en los primeros cinco meses tuvieron una menor supervivencia ($p=0.002$). Se observaron diferentes grados de rechazo crónico en el 45% (29/64), asociado con una menor probabilidad de supervivencia ($p=0.009$). El diagnóstico de infección por *Aspergillus* precedió al de rechazo agudo (de 1,8 a 4 meses), a la administración de ácido micofenólico (de 0,5 a 12 meses) y tacrolimús (de 1,3 a 9 meses). No se encontró asociación significativa con la infección por citomegalovirus debida a la administración de esteroides. En sólo uno de los casos de aspergilosis pulmonar invasiva había colonización previa por *Aspergillus*. La mortalidad por aspergilosis pulmonar invasiva fue del 80%; en dos casos el diagnóstico fue *postmortem*.

Conclusiones

La infección por hongos filamentosos plantea serios problemas debido a su alta morbilidad y mortalidad. Existe dificultad de interpretación de las muestras respiratorias aisladas en los pacientes asintomáticos. En el trasplante pulmonar, además de las alteraciones en la inmunidad celular y humoral comunes a otros trasplantes, hay otras del huésped secundarias a la propia cirugía (tos improductiva por dolor posoperatorio, denervación pulmonar), drenaje linfático alterado, aclaración ciliar alterado, transferencia pasiva de microorganismos, y finalmente por la exposición continua del injerto al medio exterior. En el momento actual no hay guías de actuación establecidas, tanto de profilaxis como de tratamiento. La profilaxis debe comenzar por las fuentes de contaminación ambientales, sobre todo hospitalarias y de la vivienda del paciente (por el aire o el agua). El hecho de que la infección fúngica tienda a asociarse con una disfunción del injerto hace recomendable instituir una profilaxis antifúngica, e incluso terapéutica, en los pacientes con rechazo crónico y cultivos positivos para *Aspergillus* sin otra evidencia de enfermedad. El tratamiento combinado, y sobre todo precoz, con anfotericina intravenosa o inhalada e itraconazol, o en la actualidad con caspofungina o voriconazol, puede resultar esperanzador.

VENTAJAS DE LA MONITORIZACIÓN C_2 DE NEORAL EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO

F.G. Villamil

Unidad de Hepatología, Cirugía Hepatobiliar y Trasplante Hepático, Fundación Favaloro, Buenos Aires, Argentina

Introducción

La ciclosporina A es un metabolito del hongo *Tolypocladium inflatum* que inhibe la actividad de fosfatasa de la calcineurina y la transcripción del gen de la interleucina 2, interfiriendo así en las etapas precoces de la serie de acontecimientos que llevan a la respuesta y proliferación de los linfocitos T frente a aloantígenos.

La introducción en la práctica clínica de la inmunosupresión con ciclosporina A, a principios de la década de 1980, se asoció a un incremento muy significativo de la supervivencia tras el trasplante hepático (del 35% al 70%), en comparación con el régimen histórico con azatioprina y corticoides. A pesar del impacto de la ciclosporina A en los resultados del trasplante hepático, diversos estudios demostraron que en su formulación de preparado liposoluble el fármaco tenía una pobre absorción intestinal, particularmente en el posoperatorio inmediato, con una biodisponibilidad de sólo el 34%. Debido a las grandes variaciones en la absorción de la ciclosporina A de individuo a individuo, o incluso en el mismo paciente (en gran medida dependiente de la concentración de sales biliares en el intestino para dispersar y liberar la ciclosporina A), y también por la imposibilidad de obtener concentraciones predecibles en sangre después de la administración oral, la mayoría de los centros utilizaban la vía intravenosa durante la primera semana postrasplante hepático. Tales dificultades fueron superadas en los años siguientes, con dos avances de trascendencia. El primero fue el desarrollo de una microemulsión de ciclosporina A (Neoral) que es rápidamente absorbida por vía oral, aún en pacientes con colestasis o drenaje biliar externo. Estudios farmacocinéticos demostraron que, en comparación con el preparado liposoluble, la administración en microemulsión dio como resultado un incremento significativo del área bajo la curva (AUC), la concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y el tiempo para obtener la concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$) de ciclosporina A, tanto en los adultos como en los niños. El incremento de la biodisponibilidad sistémica utilizando Neoral suprimió la necesidad de administrar la ciclosporina A por vía intravenosa. Las ventajas farmacocinéticas del Neoral se tradujeron en un claro beneficio desde el punto de vista clínico, con una disminución significativa de la incidencia de rechazo celular agudo. Debido a que se requieren

dosis menores de microemulsión que de formulación liposoluble para obtener la misma exposición a la ciclosporina A, la mejoría de los resultados se asoció además a una menor toxicidad y una mejor relación coste-beneficio.

El segundo avance, de introducción más reciente, surgió del análisis de la farmacocinética y absorción de la ciclosporina A. Se ha demostrado que la monitorización de las concentraciones de ciclosporina A a las dos horas de la ingesta (C_2) es más eficaz que la clásica determinación a las 12 horas de la última dosis (C_0), para disminuir la incidencia y gravedad del rechazo agudo después del trasplante hepático.

Racionalidad de la monitorización C_2

La farmacocinética de la ciclosporina A tras la administración de Neoral ha sido extensamente estudiada. Al observar las concentraciones de ciclosporina A obtenidas de un gran número de pacientes, resulta claro que a las 12 horas de ingerir el fármaco la mayoría están comprendidas en un rango reducido de concentraciones en sangre. De esta observación surgió la idea de que en los pacientes inmunosuprimidos con inhibidores de la calcineurina existe una estrecha “ventana” entre eficacia y toxicidad. La máxima absorción del Neoral se da en las primeras horas después de su ingestión, y varía de individuo a individuo. Por lo tanto, las concentraciones de ciclosporina A obtenidas durante las primeras cuatro horas se distribuyen en un rango mucho mayor, en comparación a lo mencionado para el C_0 . Los estudios farmacocinéticos han demostrado que, dentro del grupo de pacientes con concentraciones similares de ciclosporina A que utilizan la monitorización C_0 , algunos de ellos presentan concentraciones bajas en las primeras horas posteriores a la dosis, asociadas a un mayor riesgo de rechazo, y en otros pacientes, en cambio, se observan concentraciones elevadas, con mayor incidencia de toxicidad. La racionalidad de la monitorización C_2 en gran medida surgió del estudio de Grant y cols., que investigaron el AUC abreviada (0-6 horas) en 189 receptores de trasplante hepático. Los autores canadienses demostraron una correlación significativa entre la exposición a la ciclosporina A y la incidencia de rechazo agudo; es decir, a mayor AUC, menor rechazo. Según estas observaciones, podría concluirse que la determinación del AUC es el método ideal para la monitorización de la inmunosupresión con ciclosporina A. Sin embargo, investigar este índice es caro, laborioso y poco práctico. Además, se ha demostrado que la administración intravenosa de ciclosporina A permite obtener una elevada AUC y concentraciones adecuadas, pero es poco eficaz en la prevención del rechazo agudo. Estos hallazgos, junto con otros estudios farmacocinéticos, sugirieron que la eficacia inmunosupresora de la ciclosporina A estaría relacionada con las concentraciones obtenidas en las primeras horas después de administrar la dosis. Así, Grant y cols. hallaron una correlación significativa entre la incidencia de rechazo y la $C_{máx}$ de la ciclosporina A, un marcador que sustituye al AUC, pero no con las concentraciones de C_0 . En este trabajo se demostró además que el $T_{máx}$ de la ciclosporina A a los 10 días, 15 días y 16 semanas del trasplante hepático ocurrió a las 2,2, 2,1 y 2 horas, respectivamente. Por lo tanto, según un razonamiento aritmético simple, puede concluirse que el C_2 refleja la exposición a la ciclosporina A al expresar indirectamente la $C_{máx}$ y el AUC. En el estudio de Grant y cols. se observó una correlación estadísticamente significativa entre el C_2 y el AUC ($r=0,93$), hallazgos también confirmados por Dunn y cols. en los niños ($r=0,89$). Los beneficios de la monitorización C_2 fueron asimismo validados desde el punto de vista inmunológico, en los humanos y en modelos experimentales. Halloran y cols. demostraron que la máxima inhibición de la actividad de la calcineurina en trasplantados renales y en ratones (sangre y tejidos) ocurrió en las dos primeras horas tras la administración de una dosis única de ciclosporina A. Del mismo modo, Sindhi y cols. encontraron que la proporción de linfocitos CD4 con expresión de interleucina 2 (el llamado efecto ciclosporina) en los trasplantados renales fue significativamente menor a las 2 horas que a las 12 horas de administrar la ciclosporina A.

La concentración de metabolitos de la ciclosporina A es significativamente mayor a las 12 horas de ingerir el fármaco que en la fase de absorción precoz. Se ha demostrado que los metabolitos pueden tener reacción cruzada con los anticuerpos monoclonales que se utilizan en los reactivos para dosificar la ciclosporina A. Por tal motivo, las concentraciones de C_2 son similares utilizando cualquiera de los reactivos comercialmente disponibles (RIA, CEDIA, EMIT, LCMS, TDx), cosa que no ocurre con la monitorización C_0 , donde la presencia de los metabolitos puede modificar significativamente los resultados.

Puede concluirse entonces que la monitorización C_2 constituye hoy el método más racional para controlar la inmunosupresión con ciclosporina A desde el punto de vista farmacológico, biológico y también metodológico.

Resultados de la monitorización C_2 en trasplantados *de novo*

La utilidad en la práctica clínica de la monitorización C_2 en el trasplante hepático fue inicialmente demostrada en un estudio piloto realizado en Canadá y comunicado por Levy y cols., que incluyó a 30 pacientes inmunosuprimidos con Neoral (15 mg/kg/día) y esteroides. Las dosis de ciclosporina A fueron modificadas para obtener concentraciones de C_2 de 0,8 a 1,2 $\mu\text{g/ml}$. Uno de los aspectos más importantes de este trabajo fue haber obtenido las concentraciones deseadas de C_2 en el 80% de los pacientes a los tres días, y en el 97% a los cinco días del trasplante hepático. Con esta estrategia, la incidencia de rechazo celular agudo fue sólo del 7%. La mayoría de los episodios de rechazo fueron leves y respondieron rápidamente a la administración de dosis suplementarias de esteroides. A pesar de utilizarse dosis máximas de Neoral desde el posoperatorio inmediato, no se observó toxicidad renal significativa.

Los beneficios de la monitorización C_2 en el trasplante hepático se confirmaron en un estudio multicéntrico internacional (Neo-INT-06), recientemente publicado, en el que participaron 29 centros de nueve países. Se incluyeron 307 pacientes inmunosuprimidos con Neoral (15 mg/kg/día), de los cuales 158 fueron aleatorizados a la monitorización C_0 y 148 a la C_2 . Las concentraciones predefinidas para la monitorización C_2 fueron de 1,0 $\mu\text{g/ml}$ en los tres primeros meses, 0,8 $\mu\text{g/ml}$ entre los tres y los seis meses posteriores, y 0,6 $\mu\text{g/ml}$ a los seis meses del trasplante hepático. La incidencia global de rechazo agudo en los tres primeros meses del trasplante hepático fue del 31,6% en el grupo C_0 y del 23,6% en el grupo C_2 ($p=0.06$). Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas, debido a que la incidencia de rechazo agudo en el grupo C_0 resultó menor a la esperada (45%), de acuerdo con el análisis de los estudios controlados con Neoral publicados anteriormente. Cuando se diseñó el estudio era habitual utilizar ciclosporina A por vía intravenosa, seguida de la administración de Neoral. Después se comprobó que el uso de Neoral por sonda nasogástrica desde el posoperatorio inmediato, sin utilizar la vía intravenosa, se asociaba a una menor incidencia de rechazo agudo, del 30% al 35%, y similar al 31,6% observado en el grupo C_0 . De todos modos, la incidencia de rechazo agudo del 23,6% en el grupo C_2 es de las más bajas publicadas en estudios controlados de inmunosupresión en el trasplante hepático. La proporción de rechazos agudos moderados o graves, según la biopsia hepática, resultó significativamente menor en los pacientes con monitorización C_2 (47%) que en los aleatorizados a la monitorización C_0 (73%, $p=0.01$). A su vez, la proporción de pacientes libres de rechazo agudo moderado o grave fue significativamente menor ($p=0.006$) en el grupo C_2 durante los tres meses del estudio. Estos hallazgos tienen trascendencia, ya que se ha demostrado que sólo los rechazos moderados o graves pueden comprometer la supervivencia alejada del injerto postrasplante hepático. En los pacientes trasplantados por enfermedades no vinculadas al VHC, la incidencia global de rechazo fue del 33% en el grupo C_0 y del 21,2% en el grupo C_2 ($p<0.05$). No ocurrió lo mismo en los pacientes con hepatitis C que presentaron una incidencia similar de rechazo en ambas ramas del estudio (del 26,1% en el grupo C_2 y del 28,6% en el grupo C_0). Tales resultados seguramente reflejan la dificultad para diferenciar histológicamente el rechazo agudo de la recurrencia precoz de hepatitis C en algunos pacientes. De forma similar a lo observado en el estudio piloto canadiense, la incidencia de rechazo en los pacientes con monitorización C_2 tuvo una clara relación con el intervalo de tiempo para alcanzar las concentraciones predeterminadas de ciclosporina A: un 33,5% al día 10, un 26,3% al día 7 y un 12,5% al día 3 ($p<0.03$). Por tanto, cuando se utiliza la monitorización C_2 es importante no sólo obtener las concentraciones deseadas de ciclosporina A en sangre, sino además hacerlo en el menor intervalo de tiempo posible. En el grupo de pacientes con monitorización C_0 no se observó ninguna relación entre la incidencia de rechazo y el tiempo necesario para obtener concentraciones adecuadas de ciclosporina A. La pérdida del injerto por muerte o por un nuevo trasplante hepático a los tres meses de seguimiento fue del 7% en el grupo C_0 y del 6,8% en el grupo C_2 . A pesar de utilizarse las dosis máximas de ciclosporina A para llegar rápidamente a concentraciones eficaces de C_2 , no se registraron diferencias significativas en ambos grupos en cuanto a la incidencia de efectos adversos, como complicaciones infecciosas, insuficiencia renal, hipertensión arterial o neurotoxicidad. La proporción de pacientes en quienes se suspendió la administración de Neoral por sus efectos adversos fue del 7% en el grupo C_0 y del 9,5% en el grupo C_2 .

Lake y cols. demostraron que los beneficios de la monitorización C_2 observados en los primeros tres meses del trasplante hepático se mantuvieron al año de seguimiento, con una menor incidencia de rechazo agudo (26,6% frente a 33,5%), rechazo moderado o grave (13,5% frente a 23,4%, $p=0.02$) y menos necesidad de esteroides (4879 mg frente a 5640 mg) y azatioprina (10% frente a 27%, $p=0.02$). No se observaron diferencias significativas en la supervivencia (83,4% frente a 82,3%), pérdida del injerto por muerte o por otro trasplante hepático (16,6% frente a

17,7%), así como en la incidencia de rechazo crónico (1,7% frente a 2%), cáncer *de novo* (3,9% frente a 3,6%) o enfermedad linfoproliferativa (0,6% frente a 0%). Las concentraciones medias de creatinina sérica a los 12 meses del trasplante hepático fueron 118 $\mu\text{g/mol/l}$ en el grupo C_2 y 115 $\mu\text{g/mol/l}$ en el grupo C_0 .

Próximamente se conocerán los hallazgos de un ensayo multicéntrico internacional (LIS2T), que compara los resultados del trasplante hepático en 600 pacientes aleatorizados a inmunosupresión con Neoral y monitorización C_2 , frente a la inmunosupresión con tacrolimús y monitorización C_0 .

Monitorización C_2 en el seguimiento a largo plazo postrasplante hepático

Recientemente, Levy y cols. presentaron los beneficios de la monitorización C_2 en el seguimiento a largo plazo tras el trasplante hepático (Congreso de la *International Liver Transplantation Society*, Chicago, 2002). La conversión de C_0 a C_2 fue investigada en 351 pacientes con función estable del injerto, después de un seguimiento de 3 a 164 meses. El objetivo del estudio era obtener concentraciones de C_2 de 0,6 $\mu\text{g/ml}$ (0,4 a 0,8 $\mu\text{g/ml}$) en pacientes con un seguimiento posterior al trasplante de más de seis meses, así como evaluar el impacto de la conversión en la prevalencia de efectos adversos de la ciclosporina A. Se observó una ausencia de correlación entre las concentraciones basales de C_0 y C_2 . El 48,2% de los pacientes con monitorización C_0 presentaban concentraciones de ciclosporina A en sangre dentro del rango deseado de C_2 , el 36,5% tenían valores elevados ($>0,8 \mu\text{g/ml}$) y el 15,3% valores bajos ($<0,4 \mu\text{g/ml}$). La optimización de las concentraciones de C_2 en los pacientes con valores elevados se asoció a una disminución significativa de las concentraciones séricas de creatinina, triglicéridos y colesterol, así como de la incidencia de diabetes y la necesidad de insulina. La incidencia de hipertensión arterial disminuyó del 42% al 23% ($p < 0.002$), y el requerimiento de fármacos antihipertensivos de 2,6 a 1,1 por paciente ($p < 0.0003$). La modificación de las dosis de Neoral para obtener las concentraciones deseadas de C_2 en los pacientes con valores bajos y con función estable del injerto en el seguimiento a largo plazo después del trasplante hepático aún no se ha investigado. Puede concluirse que la monitorización C_2 en los pacientes con un seguimiento postrasplante hepático de más de seis meses permitió disminuir de forma significativa los efectos adversos de la inmunosupresión con ciclosporina A en una proporción notable de los receptores. Se han notificado hallazgos similares en los trasplantados renales.

Recomendaciones para optimizar la monitorización C_2

Un detalle importante de la monitorización C_2 es extraer la muestra de sangre exactamente a las dos horas de haber ingerido el Neoral. Hacerlo después, y especialmente antes de las dos horas, puede modificar sustancialmente los resultados. Se ha establecido como margen “aceptable” de error un periodo de 15 minutos antes o después de esas dos horas. En la práctica, el valor real de C_2 se debe multiplicar por 0,9 o 1,1 cuando la muestra se obtiene antes o tras las dos horas, respectivamente.

La modificación de las dosis de Neoral para lograr el valor deseado de C_2 debe basarse en la aplicación de una fórmula sencilla: dosis anterior \times (concentración deseada/concentración anterior).

Algunos pacientes absorben el Neoral de forma más tardía (“absorbedores lentos”). Esto se debe sospechar en los pacientes con valores bajos de C_2 a pesar de recibir dosis terapéuticas de Neoral (15 mg/kg/día). Pueden diferenciarse de los llamados “absorbedores pobres” obteniendo una concentración de ciclosporina A a las seis horas después de la dosis (C_6), la cual será superior al C_2 en el primer grupo e inferior también al C_2 en el segundo. La identificación de los absorbedores lentos es importante para disminuir el riesgo de toxicidad de la inmunosupresión con ciclosporina A.

Lecturas recomendadas

– Dunn, S., Cooney, G., Sommerauer, J. y cols. *Pharmacokinetics of an oral solution of the microemulsion formulation of cyclosporine in maintenance pediatric liver transplant recipients*. *Transplantation* 1997; 63: 1762-1767.

- Grant, D., Kneteman, N., Tchervenkov, J. y cols. *Peak cyclosporine levels (C_{max}) correlate with freedom from liver graft rejection*. *Transplantation* 1999; 67: 1133-1137.
- Graziadei, I.W., Wiesner, R.H., Marotta, P.J. y cols. *Neoral compared to Sandimmune is associated with a decrease in histologic severity of rejection in patients undergoing primary liver transplantation*. *Transplantation* 1997; 64: 726-731.
- Halloran, P.F., Helms, L.M., Kung, L., Noujaim, J. *The temporal profile of calcineurin inhibition by cyclosporine in vivo*. *Transplantation* 1999; 68: 1356-1361.
- Hemming, A.W., Greig, P.D., Cattral, M.S. y cols. *A microemulsion of cyclosporine without intravenous cyclosporine in liver transplantation*. *Transplantation* 1996; 62: 1798-1802.
- Kahan, B.D., Keown, P., Levy, G.A., Johnston, A. *Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice*. *Clin Ther* 2002; 24: 330-350.
- Lake, J.R. *Neo-INT-06 Study Group. Benefits of cyclosporine microemulsion (Neoral) C2 monitoring are sustained at 1 year in de novo liver transplant recipients*. *Transplant Proc* 2001; 33: 3092-3093.
- Levy, G.A. *Neoral C2 in liver transplant recipients*. *Transplant Proc* 2001; 33: 3089-3091.
- Levy, G., Burra, P., Cavallari, A. y cols. *Improved clinical outcomes for liver transplant recipients using cyclosporine monitoring based on 2-hr post-dose levels (C_2)*. *Transplantation* 2002; 73: 953-959.
- Levy, G., Therivet, E., Lake, J., Uchida, K. *The Consensus on Neoral C2; Expert review in transplantation (CONCERT) Group*. *Transplantation* 2002; 73 (Suppl. 9): S12-18.
- Otto, M.G., Mayer, A.D., Clavien, P.A., Cavallari, A., Gunawardena, K.A., Mueller, E.A. on behalf of the MILTON (Multicentre International Study in Liver Transplantation of Neoral) Study Group. *Randomized trial of cyclosporine microemulsion (Neoral) versus conventional cyclosporine in liver transplantation*. *Transplantation* 1998; 66: 1632-1640.
- Shah, M.B., Martin, J.E., Schroeder, First, M.R. *A meta-analysis to assess the safety and tolerability of two formulations of cyclosporine: Sandimmune and Neoral*. *Transplant Proc* 1998; 30: 4048-4053.
- Sindhi, R., La Via, M.F., Paulling, E. y cols. *Stimulated response of peripheral lymphocytes may distinguish cyclosporine effect in renal transplant recipients receiving a cyclosporine + rapamycin regimen*. *Transplantation* 2000; 69: 432-436.
- Wiesner, R.H., Demetris, A.J., Belle, S.H. y cols. *Acute hepatic allograft rejection: Incidence, risk factors, and impact on outcome*. *Hepatology* 1998; 28: 638-645.

ROLE OF SIROLIMUS IN LIVER TRANSPLANTATION

P. Neuhaus

Klinik für Allgemein-, Viszeral-, und Transplantationschirurgie, Universitätsklinikum Charité, Campus Virchow-Klinikum, Humboldt-Universität, Berlin, Germany

Inhibitors of the mammalian target of rapamycin are a new class of immunosuppressants. In contrast to other macrolides such as tacrolimus or ciclosporin, they do not inhibit calcineurin and therefore do not affect signal I of T-cell activation. However, given their inhibition of signal III, sirolimus (rapamycin) and its derivative RAD exhibit a mechanism of action and side effects which are distinct from those of other immunosuppressants. Reports of synergism with ciclosporin and tacrolimus in preclinical and clinical studies, avoidance of nephrotoxicity, and possible prevention and treatment of chronic allograft rejection are leading to high expectations for this new class of immunosuppressants. Furthermore, studies evaluating tolerance induction are being conducted (1). Experience with sirolimus after liver transplantation is still limited, and published data are based on small patient populations. However, due to its ability to inhibit tumor growth and its antiproliferative properties, sirolimus appears to have therapeutic potential, especially in patients suffering from hepatocellular carcinoma or hepatitis C.

The first multicenter study on the efficacy and safety of rapamycin as induction treatment combined with tacrolimus in liver transplants was halted early. This randomized, open-label study was conducted in 23 different centers in the United States, Europe, Canada and Australia. The study compared a triple-therapy regimen of sirolimus/low-dose tacrolimus/steroids (n=110) with a standard tacrolimus/steroids (n=114) regimen (2). The first analysis of the study showed similar efficacy failures in both groups. However, graft survival was significantly impaired in sirolimus-treated patients. Additionally, the number of hepatic artery thromboses, occurring mainly in the early period after transplantation, was higher in the sirolimus-treated patients.

However, these data stand in contrast to several previous single-center studies. At the 53rd AASLD meeting, Trotter *et al.* reported on 104 patients treated with sirolimus as primary immunosuppressant in combination with calcineurin inhibitors and steroids. Results from this study, in which the use of steroids was limited to three days, showed an excellent one-year patient survival of 94% and graft survival of 89%. Despite the excellent survival figures in the study, the rejection rate was 48% (3). The incidence of hepatic artery thrombosis in these patients was 2.9%, a figure similar to those found in other primary immunosuppressive regimens. These data have been confirmed by other groups utilizing sirolimus as primary immunosuppressant in small pilot studies. Moreover, the excellent renal function observed in studies performed thus far indicates that the drug has minimal nephrotoxicity, a finding also seen in renal transplantation studies.

In addition, the use of sirolimus may not be limited to the early period after liver transplantation. At a later stage, the drug may have applications as a rescue agent to avoid the severe side effects of the calcineurin inhibitors, to treat chronic rejection and to reduce the recurrence of hepatocellular carcinoma. In this context, several groups reported independently on their experience with sirolimus as a rescue agent in liver transplantation. A summary of the data from these studies showed that sirolimus offered the possibility of calcineurin inhibitor-free long-term immunosuppressive therapy without the nephrotoxic side effects of calcineurin inhibitors.

Patients suffering from chronic rejection were also effectively treated with the additional application of sirolimus. Nishida *et al.* reported on 16 patients with chronic rejection after liver transplantation. Of these patients, 15/16 were alive after a mean follow-up of 178 days and 8/16 patients showed a resolution of the chronic rejection within this follow-up period (4).

The antitumor effect of sirolimus observed *in vitro* has not yet been clinically confirmed. At the present time there are still no data available on the antitumor effects of sirolimus after human liver transplantation.

Our study group conducted a prospective trial of sirolimus in 21 patients suffering from T3 or T4 hepatocellular carcinoma (HCC). Of these, nine patients had T3 HCC and six of these nine exhibited angioinvasion. The remaining 12 patients had T4 HCC and eight of these 12 also showed angioinvasion. Five of the 21 patients developed a HCC recurrence within a follow-up period of five to 16 months. The side effects were diarrhea (n=1), hypertriglyceridemia (n=1) and rejection (n=1). These findings highlight the safety of sirolimus after liver transplantation.

Large multicenter studies are needed to further investigate the clinical efficacy of sirolimus in preventing tumor recurrence. The first promising results were presented showing a durable PTLD remission with sirolimus treatment after liver transplantation in children. A randomized, controlled, multicenter trial including 600 patients will soon be under way to evaluate the long-term efficacy of sirolimus to improve renal function in stable liver transplant recipients. In this study, the patients will be randomized to continuation of the calcineurin inhibitor or to a switch to sirolimus.

References

1. Neuhaus, P., Klupp, J., Langrehr, J.M. *mTOR Inhibitors: An overview*. Liver Transpl 2001; 7(6): 473-484.
2. Wiesner, R. *The safety and efficacy of sirolimus and low-dose tacrolimus versus tacrolimus in de novo orthotopic liver transplant recipients: Results from a pilot study*. Hepatology 2002; 36(4): 208A.
3. Trotter, J.F., Kugelmas, M., Bak, T., Wachs, M., Kam, I., Everson, G.T. *One-year outcomes in 104 liver transplant recipients receiving sirolimus as primary immunosuppression*. Hepatology 2002; 36(4): 208A.
4. Nishida, S., Pinna, A., Verzaro, R. et al. *Sirolimus (rapamycin)-based rescue treatment following chronic rejection after liver transplantation*. Transplant Proc 2001; 33(1-2).

INMUNOSUPRESIÓN SIN ESTEROIDES EN LOS PACIENTES CON TRASPLANTE HEPÁTICO

V. Cuervas-Mons Martínez

*Unidad de Trasplante Hepático, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid;
Departamento de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid*

Desde la década de 1960 los corticosteroides siempre han formado parte de la inmunosupresión básica en el trasplante de órgano sólido, inicialmente asociados a la azatioprina y a sueros antilinfocitarios, y desde hace dos décadas también se han asociado a un inhibidor de la calcineurina (ciclosporina o tacrolimús). La experiencia acumulada muestra claramente que los protocolos inmunosupresores con corticosteroides son eficaces para reducir la incidencia de rechazo agudo; pero también demuestra que su uso prolongado de corticosteroides se acompaña de frecuentes efectos adversos, que disminuyen la supervivencia a largo plazo del injerto y del paciente. La hipertensión arterial, la hiperlipidemia, la diabetes mellitus, la obesidad y la osteoporosis son algunos de estos efectos secundarios asociados a la utilización continuada de esteroides. Además, la administración de dosis altas y prolongadas de corticosteroides se ha relacionado con la intensidad de viremia de los virus de la hepatitis B y C, y con la gravedad de recidiva de la hepatitis C después del trasplante hepático. Por este motivo, muchos grupos de trasplante hepático han intentado interrumpir la administración de esteroides lo más precozmente posible (1, 2) después del trasplante hepático, e incluso evitar por completo su utilización (3).

Varios trabajos demuestran que la retirada tardía de esteroides (después del tercer mes del trasplante) se acompaña de disminución en la incidencia y gravedad de la hipertensión, de la diabetes mellitus y de la hipercolesterolemia, sin aumentar la incidencia de rechazo. En una revisión de la literatura realizada por Everson y cols. (4), los autores analizan cinco trabajos de trasplante hepático pediátrico, con un total de 152 pacientes, en los cuales la retirada tardía de esteroides se pudo realizar con éxito en el 76% de los casos, permaneciendo los pacientes con ciclosporina a azatioprina. En esta misma revisión se analizan 11 trabajos sobre trasplante hepático en la población adulta, con un total de 749 pacientes, siendo posible suspender definitivamente los corticosteroides en el 93% de ellos. En todos estos estudios, la retirada de los esteroides se acompañó de una mejoría en los efectos adversos más comunes asociados a su uso, como la hipertensión, la diabetes y la hipercolesterolemia, sin aumentar significativamente el número de rechazos y permitiendo un tratamiento monoterápico con inhibidores de la calcineurina. La tasa de rechazo después de la retirada de los corticosteroides fue del 4,5% al 14% (4). En la mayoría de dichos trabajos, la interrupción de los esteroides se realizó a partir del primer año, y generalmente sólo se incluyeron pacientes que presentaban una función estable del injerto y no habían sufrido episodios de rechazo en los seis meses previos.

Belli y cols. (5) comprobaron que la interrupción de los corticosteroides después del tercer mes del trasplante no repercutía negativamente sobre la supervivencia del injerto ni del paciente a los diez años del trasplante. En un trabajo prospectivo, aleatorizado y controlado, estos autores observaron que la tasa de supervivencia de los 50 pacientes en quienes se suspendieron los corticosteroides a partir del tercer mes fue igual a los dos años (82%), a los cinco años (75%) y a los diez años (72%) del trasplante, respecto a los 54 pacientes que siguieron con esteroides durante los primeros cinco años del trasplante (83%, 72% y 65%, respectivamente, todos NS). La incidencia de rechazo crónico fue similar en ambos grupos (2% y 1,8%, respectivamente).

De igual modo, existen varios estudios que demuestran que es posible suspender precozmente los corticosteroides, incluso a partir de la segunda semana, y que esto no se acompaña de una mayor incidencia de rechazo del injerto. Stegall y cols. (6) mostraron que se podían retirar los corticosteroides a los 14 días del trasplante, si los pacientes recibían micofenolato de mofetilo asociado a tacrolimús o ciclosporina. La incidencia de rechazo fue del 42,3% en los pacientes del grupo de tacrolimús y del 46% con ciclosporina (NS). En el seguimiento de seis meses, el 81% de los pacientes seguía sin esteroides y la supervivencia media era del 91,5%. La incidencia de diabetes de novo y de hipercolesterolemia fue significativamente menor en los pacientes que no recibían esteroides respecto al grupo control con corticosteroides.

Hasta el momento son pocos los estudios que investigan la posibilidad de realizar un trasplante hepático con protocolos inmunosupresores desde el inicio sin esteroides. Recientemente se han publicado los resultados prelimi-

nares de un estudio piloto, abierto, sin grupo control, realizado en ocho centros españoles, que investigaba si un protocolo de inmunosupresión primaria sin esteroides, consistente en la utilización de daclizumab asociado a micofenolato de mofetilo y tacrolimús, podía evitar la morbilidad asociada al uso de corticosteroides y al mismo tiempo podía disminuir la incidencia de rechazo (7). Participaron en este trabajo 102 pacientes, cuya edad media aproximada era de 52,5 a 11 años (valores extremos 18 a 67 años). Los pacientes eran sobre todo varones (75,5%), y como indicaciones más frecuentes para el trasplante se incluía cirrosis alcohólica (39%), seguida de cirrosis por virus de la hepatitis (34%), cirrosis por virus de la hepatitis B (10%) y hepatoma (5%). Antes de la reperfusión del injerto se administró a los pacientes una dosis única de 0,5 a 1 g de metilprednisolona, no estando permitido el uso de nuevas dosis de corticosteroides, a excepción del tratamiento del rechazo agudo. Todos ellos recibieron el mismo tratamiento inmunosupresor, que consistió en daclizumab, micofenolato de mofetilo y tacrolimús. Los 102 pacientes completaron los seis meses de seguimiento. Sin embargo, finalmente 84 de los sujetos sometidos al estudio lo terminaron, mientras que los 18 restantes fueron retirados por efectos secundarios (en 11 casos), fallecimiento (4), violación del protocolo (2) y retrasplante (1). La supervivencia del paciente y del injerto a los seis meses fue del 95% y del 94%, respectivamente. Diez pacientes (9,8 %) presentaron rechazo agudo durante los primeros seis meses. La mitad de los episodios de rechazo fueron moderados y todos se controlaron, seis de ellos aumentando la dosis de tacrolimús y los cuatro restantes mediante pulsos de corticosteroides. Ningún caso precisó OKT3 ni timoglobulina. No se apreció diferencia en la incidencia de rechazo entre los pacientes con cirrosis por virus C y los que tenían otras etiologías (8,6% frente a 10,4%, NS). Treinta y un pacientes (30,4%) presentaron 37 episodios infecciosos, la mayoría de ellos de etiología vírica (14 citomegalovirus, 3 herpes simple). Ochenta y nueve pacientes completaron 12 meses de seguimiento. En ese momento, siete pacientes (8,3%) precisaban tratamiento por hipertensión arterial *de novo*, cinco (6,0%) tenían diabetes mellitus *de novo* y había un caso (1,2%) de hipercolesterolemia; todos ellos porcentajes muy inferiores a los observados con regímenes clásicos que incluyen esteroides.

Los resultados de este estudio muestran que el protocolo de inmunosupresión sin esteroides, constituido por la asociación de daclizumab, micofenolato de mofetilo y tacrolimús, es eficaz en la prevención del rechazo agudo, sin aumentar el riesgo de mortalidad, infección ni otros efectos adversos. Especialmente es útil para disminuir los factores de riesgo cardiovascular asociados al uso prolongado de corticosteroides. Sin embargo, no se pueden obtener conclusiones sobre la seguridad y la influencia de esta pauta en la gravedad o en la incidencia de recidiva de la hepatitis C en estos pacientes. Tales conclusiones deben ser confirmadas en estudios controlados. Resultados similares han obtenido otros autores asociando basiliximab y ciclosporina microemulsión, daclizumab y tacrolimús, o rapamicina, tacrolimús y timoglobulina.

Bibliografía

1. Stegall, M.D., Everson, G.T., Schroter, G. y cols. *Prednisone withdrawal late after adult liver transplantation reduces diabetes, hypertension and hypercholesterolemia without causing graft loss*. Hepatology 1997; 25: 173-177.
2. Belli, L.S., Carlis, L., Rondinara, G. y cols. *Early cyclosporine monotherapy in liver transplantation: A 5-year follow-up of a prospective randomized trial*. Hepatology 1998; 27: 1524-1529.
3. Eason, J.D., Loss, G.E., Blazek, J., Nair, S., Mason, A.L. *Steroid-free liver transplantation using rabbit antithymocyte globulin induction: Results of a prospective randomized trial*. Liver Transplantation 2001; 7: 693-697.
4. Everson, G.T., Trouillot, T., Wachs, M. y cols. *Early steroid withdrawal in liver transplantation is safe and beneficial*. Liver Transpl Surg 1999; 5 (4 Suppl. 1): 48-57.
5. Belli, L.S., Alberti, A.B., Vangeli, M., Airolidi, A., Pinzello, G. *Tapering off steroids three months after liver transplantation is not detrimental for hepatitis C virus disease recurrence*. Liver Transpl 2003; 9: 201-202.
6. Stegall, M.D., Wachs, M.E., Everson, G.T. y cols. *Prednisone withdrawal 14 days after liver transplantation with mycophenolate*. Transplantation 1997; 64: 1755-1760.
7. Figueras, J., Bernardos, A., Prieto, M. y cols. *Steroid-free regimen with daclizumab, mycophenolate mofetil, and tacrolimus in liver transplant recipients*. Transplant Proc 2002; 34: 1511-1513.

APPROACHING THE PROBLEM OF LATE RENAL ALLOGRAFT DETERIORATION

P.F. Halloran

University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada

Many thousands of renal allografts still fail each year. In the USA and Canada, about 120,000 kidney transplants are functioning and about 15,000 new transplants are performed each year. About 6-7.5% of the existing transplants fail, giving about 7,000-8,000 failures each year. The main causes of failure are death with function (about 45%), recurrent disease (about 10%), and a slow form of scarring and atrophy previously known as chronic rejection (about 35-40%), but which we will here call allograft nephropathy. The causes of failure in the remainder are complex and multifactorial. It is difficult to classify failures accurately.

We have recently proposed a new classification based on five general entities (*American Journal of Transplantation* 2002, 2(3): 195-200). Thus, our approach to the graft which is losing function is to use biopsy, clinical and laboratory parameters to determine: 1) if there is active rejection (T cell-mediated or antibody-mediated); 2) the extent of fibrosis and atrophy and the loss of function; 3) if there is transplant glomerulopathy (double contours); 4) if there are specific diseases (polyoma virus nephropathy, recurrent or *de novo* glomerulonephritis; and 5) if there are factors accelerating progression of other conditions (*e.g.*, proteinuria, hypertension or calcineurin inhibitor toxicity).

Separate factors affect function after transplant and the progression of function. Function at six months, and its pathologic correlates, interstitial fibrosis and tubular atrophy, reflect all the main types of injury and stress that affect a transplant (donor age, brain death, preservation and implantation injury, rejection and other stresses in the recipient environment such as drug toxicity and cytomegalovirus). However, our analyses suggest that the progressive loss of glomerular filtration rate in the years after transplant is mainly attributable to uncontrolled alloimmunity and recurrent disease. Thus, many stresses such as cold ischemia are injurious, but in the human they are not progressive.

Due to the increased success in preventing early graft loss, the late posttransplant course is now "where the action is" in terms of transplant research. The results from many studies indicate that the nihilism that has pervaded the approach to late graft dysfunction should be replaced by an aggressive new investigative approach to identify the causes of loss of glomerular filtration rate in unstable grafts. In many cases the graft can be restabilized. In this way renal transplants will become, in our opinion, permanent solutions, within the limits of our ability to control recurrent renal disease.

NEFROPATÍA CRÓNICA DEL TRASPLANTE: PAPEL DE LAS BIOPSIAS DE PROTOCOLO

D. Rush

Universidad de Manitoba, Winnipeg, Canadá

La nefropatía crónica del trasplante es un concepto impreciso que probablemente engloba una decena o más de afecciones, algunas de fisiopatología inmunológica (rechazo, glomerulonefritis *de novo* o recurrente), otras de origen tóxico (por inhibidores de la calcineurina), virales (por virus BK), etc. Las biopsias precoces y los métodos no invasivos de diagnóstico (metabonómica, proteómica), al igual que los estudios genómicos, podrían discriminar entre las numerosas patologías ahora incluidas bajo la designación de nefropatía crónica del trasplante.

Nuestro grupo en la Universidad de Manitoba siempre ha tenido interés por la correlación clinicopatológica en el trasplante renal. Desde hace más de diez años nuestro programa ha obtenido biopsias de protocolo en trasplantados renales con función renal estable. Hemos extraído cerca de mil quinientas biopsias, lo cual hacemos mensualmente durante los tres primeros meses del trasplante y al sexto mes. Antes obteníamos también una biopsia al año, pero abandonamos esa práctica cuando observamos que los hallazgos histopatológicos entre la biopsia de seis meses y la del año eran similares. Finalmente, como practican otros grupos, desde hace algunos años realizamos biopsias preimplantación. Nuestra experiencia sobre biopsias de protocolo nos ha permitido estudiar la inflamación subclínica del trasplante renal y las fases iniciales de la fibrosis intersticial.

En un trabajo publicado en 1998, nuestro grupo observó que entre los 6 y los 24 meses posteriores al trasplante el 80% de los pacientes mantenía o mejoraba su función renal, mientras que sólo en el 20% de los trasplantados se producía un empeoramiento. La fracción que empeoraba se caracterizaba por presentar más fibrosis intersticial y atrofia tubular, así como una inflamación aguda que reunía los criterios de rechazo agudo (tipo I) en el esquema de Banff 97. En otro estudio demostramos que parte de la fibrosis se debía a los rechazos agudos subclínicos, cuya prevalencia era del 30% en los pacientes tratados con ciclosporina, azatioprina y prednisona. Posteriormente constatamos que la prevalencia de los rechazos subclínicos no disminuía con el uso de ciclosporina (Neoral), micofenolato y prednisona, y lanzamos la teoría de que la patogenicidad de estos rechazos inapreciables era en parte responsable de la escasa mejoría de la supervivencia a largo plazo en los trasplantados renales.

Nuestros trabajos iniciales se basaron en pacientes tratados con ciclosporina. Actualmente estamos participando en un estudio canadiense multicéntrico, en el cual la inmunosupresión de base consiste en tacrolímús y micofenolato. En este estudio, cien pacientes por grupo serán aleatorizados a recibir o no biopsias de protocolo precoces (en los meses 1, 2 y 3), con tratamiento del rechazo subclínico si éste es detectado. A ambos grupos se les practicará una biopsia a los seis meses, y la comparación de la patología crónica en esta biopsia es el objetivo principal del estudio. Además, en todos los casos habrá biopsia preimplantación como punto de referencia.

La patología crónica en el riñón trasplantado que mejor se correlaciona con su longevidad es la fibrosis intersticial. Desafortunadamente, en los métodos semicuantitativos, como el esquema de Banff, la fibrosis intersticial es una variable categórica y no continua, lo cual imposibilita su cuantificación precisa. Por ejemplo, en el esquema de Banff la fibrosis del 26% y del 49% del parénquima tienen la misma asignación (grado II). Nuestro grupo ha estudiado la cuantificación del área de fibrosis en biopsias de protocolo teñidas con *Sirius Red* mediante computadora. Los resultados obtenidos muestran una buena correlación entre el índice de fibrosis intersticial y la longevidad del trasplante ($r=0,64$). Pensamos que la fibrosis intersticial cuantificada con este método puede ser útil para sustituir la pérdida del injerto.

En nuestra opinión, las biopsias deberán ser reemplazadas por métodos no invasivos de diagnóstico, lo cual podrá hacerse más frecuentemente. No creemos que un solo test (por ejemplo, la medición en plasma de la concentración de una citocina) vaya a tener la suficiente sensibilidad y la especificidad para diferenciar la variedad de enfermedades que puede presentar el riñón trasplantado. Nuestro grupo está trabajando desde hace algunos años en tratar de generar un “biomarcador” en la orina que permita diferenciar a los pacientes con rechazo subclínico de aquellos con parénquima normal. Se trata de detectar los espectros urinarios correspondientes a metabolitos de bajo peso molecular (metabonómica), específicos para cada afección (usando la biopsia de protocolo como *gold standard*), lo cual creemos posible a corto plazo. El análisis de sensibilidad y especificidad de los espectros se realiza mediante la informática. Es interesante que el diagnóstico no invasivo de la enfermedad coronaria se puede hacer con esta metodología, como se publicó en diciembre del pasado año en *Nature Medicine* (2002; 8: 1439).

Por último, nuestro grupo ha empezado a trabajar en proteómica. El análisis de los distintos tipos de proteínas que aparecen en la orina, en relación a la patología observada en las biopsias, es de gran interés, y podrá conducir a la elucidación de la fisiopatología de las lesiones detectadas. El análisis de la sensibilidad y especificidad de las proteínas urinarias en relación a los diagnósticos histológicos también se hará informáticamente.

En resumen, de las biopsias de protocolo hemos aprendido la cronología de las lesiones inflamatorias del riñón trasplantado y la evolución de las lesiones proliferativas. En la actualidad estamos usando las biopsias de protocolo para evaluar la eficacia de nuevos esquemas inmunosupresores, y como *gold standard* para el desarrollo de métodos no invasivos de diagnóstico.

EVALUACIÓN DE LA PROGRESIÓN DE LAS LESIONES HISTOLÓGICAS EN ALOINJERTOS RENALES

F. Moreso

Servicio de Nefrología, Hospital de Bellvitge, Barcelona

La primera causa de fracaso del aloinjerto renal durante los primeros seis meses postrasplante es el rechazo agudo. En cambio, a partir del sexto mes la razón fundamental de pérdida del injerto es la llamada nefropatía crónica del aloinjerto renal. En diversos trabajos se ha establecido una clara asociación entre los episodios de rechazo agudo y el desarrollo de esta nefropatía.

Durante las dos últimas décadas se han llevado a cabo estudios que han permitido la introducción en la práctica clínica de muchos inmunosupresores. Sin embargo, no se han realizado ensayos clínicos que traten la nefropatía crónica del aloinjerto renal.

Con el objetivo de valorar la existencia de lesiones renales agudas y crónicas en los aloinjertos con función estable, varios grupos han puesto en marcha programas de investigación basados en el estudio de biopsias de protocolo. Antes de entrar de lleno en el análisis de estas lesiones, podemos suponer que con el tiempo aumentarán las lesiones agudas y disminuirán las crónicas.

La valoración de las biopsias de protocolo se puede realizar de distintas maneras. Dado que la disfunción aguda y crónica del aloinjerto se evalúa histológicamente mediante los criterios de Banff, muchos grupos los han utilizado para valorar las biopsias de protocolo. Cabe destacar que en este nuevo contexto (la biopsia de protocolo) se debe validar la utilidad de unos criterios diseñados para la disfunción del injerto. Como es bien conocido, éstos evalúan la presencia de lesiones agudas y crónicas en cada uno de los compartimentos renales. Los diagnósticos más frecuentes dentro de los injertos con función estable son la ausencia de lesiones y la presencia de lesiones de rechazo agudo o nefropatía crónica del aloinjerto renal. Debido a que estas alteraciones no tienen una clara traducción clínica, nos referiremos a ellas como subclínicas.

Rechazo agudo subclínico

En el estudio de las biopsias de protocolo, muchos grupos han mostrado una prevalencia de rechazo agudo subclínico cercana al 30% durante los primeros tres meses postrasplante, disminuyendo ésta a menos del 10% a partir del sexto mes. Se ha propuesto que, al igual que existe un nexo entre el rechazo agudo clínico y el crónico, también lo debe haber entre los episodios de rechazo agudo subclínico y el rechazo crónico. En este sentido, el grupo de Winnipeg en Canadá, en un estudio prospectivo aleatorizado, ha demostrado que el tratamiento de los episodios de rechazo agudo subclínico durante los primeros tres meses se asocia a una menor lesión crónica en la biopsia de protocolo realizada a los seis meses, además de a una mejor función renal a los dos años del trasplante.

Sin embargo, en un estudio con más de 280 biopsias de protocolo realizadas aproximadamente a los cuatro meses del trasplante, nuestro grupo ha observado una prevalencia mucho menor de rechazo agudo, de tan sólo el 5%. Para explicar estas discrepancias se debe tener en cuenta que las poblaciones de estudio son distintas, así como también son diferentes los tratamientos inmunosupresores utilizados. De todas maneras, hay que recordar que se han realizado diversos trabajos para evaluar la reproducibilidad de las lesiones agudas. Tanto el trabajo liderado por el Dr. Furness como el realizado por el Dr. Marcusen muestran que la reproducibilidad de las lesiones agudas y el diagnóstico de rechazo agudo dista de ser tan elevado como sería deseable.

Nefropatía crónica del aloinjerto subclínica

La prevalencia de lesiones de nefropatía crónica del aloinjerto renal es muy elevada en las biopsias de protocolo. Revisando los distintos trabajos publicados en la literatura, podemos describir la aparición y progresión de estas

lesiones. Debemos tener en cuenta que en los donantes renales ya existen lesiones crónicas. Diversos grupos han demostrado que en las biopsias preimplantación existen lesiones de fibrosis intersticial, atrofia tubular y fibrosis intimal que son indistinguibles de las de la nefropatía crónica del aloinjerto renal. A pesar de que existen variaciones en función del tipo de donante (por edad y causa de muerte), nuestro grupo ha mostrado una prevalencia del 15% en los donantes. Durante los primeros seis meses postrasplante se produce un incremento progresivo de estas lesiones, alcanzando el 40% a 45% a los cuatro o seis meses después del trasplante. A partir de este momento la progresión es menor, hasta el 60% a 65% a los dos años de la intervención.

Se ha observado que la presencia de lesiones se asocia a una peor supervivencia del aloinjerto, especialmente en aquellos casos en que éste se acompaña de lesiones vasculares, es decir, nefropatía crónica del aloinjerto renal (b) según los criterios de Banff. En el análisis de supervivencia se observa cómo la existencia de esta nefropatía sin lesiones vasculares, la llamada nefropatía crónica del aloinjerto renal (a), se asocia a una tasa de supervivencia cercana al 80% a los diez años, y en cambio la nefropatía crónica del aloinjerto renal (b) va asociada a una supervivencia inferior al 40%.

Aunque las discrepancias en la prevalencia de lesiones crónicas es menor, hay que destacar que el Dr. Furness también demostró la existencia de una gran variabilidad interindividual en la evaluación de dichas lesiones. Debemos recordar que en el estudio de las biopsias con función estable la mayor parte de ellas mostrarán ausencia de lesiones o lesiones de grado I, siendo las de grado II poco frecuentes y las de grado III excepcionales. Así pues, la utilización de métodos de cuantificación nos debe permitir un mejor conocimiento de la progresión de las lesiones renales.

Biopsias de protocolo secuenciales

Con el objetivo de valorar cómo progresan las lesiones renales en los injertos estables, nuestro grupo realizó un estudio con dos biopsias secuenciales a los cuatro meses y a los 14 meses en 155 pacientes. En este trabajo observamos una disminución de los índices agudos de Banff y un aumento de los índices crónicos. Los cambios histológicos se produjeron sin ningún cambio significativo en la función renal, medida como creatinina sérica. Aunque se dio un incremento estadísticamente significativo de la proteinuria, éste no mostraba una clara relevancia clínica. Cabe destacar que según nuestra práctica clínica habitual se redujo la dosis de ciclosporina y sus concentraciones valle.

En este ensayo especialmente nos interesaba valorar la concordancia entre los diagnósticos realizados en la primera y en la segunda biopsia. Observamos que en un 25% de los casos hubo una progresión de las lesiones, y en cambio en el 12% la presencia de lesiones de nefropatía crónica del aloinjerto renal en la primera biopsia no se pudo demostrar en la segunda. Dado que la regresión de dichas lesiones es poco probable, intentamos evaluar las características de los distintos grupos de pacientes, según la presencia de nefropatía crónica del aloinjerto renal en ambas biopsias. Agrupamos a los pacientes entre los que no tenían lesiones en ninguna biopsia, con lesiones de nefropatía crónica del aloinjerto renal en ambas biopsias, con progresión a nefropatía crónica del aloinjerto renal y con regresión de nefropatía crónica del aloinjerto renal. El comportamiento de los pacientes con progresión y regresión no sólo fue bastante parecido desde el punto de vista clínico, sino que la supervivencia a largo plazo de los dos grupos fue también similar. Por lo tanto, asumiendo que las lesiones de nefropatía crónica del aloinjerto renal no regresan, y dado que la prevalencia de regresión es la mitad que la de progresión ($p < 0.05$), podemos afirmar que en aproximadamente el 25% de las biopsias el diagnóstico de nefropatía crónica del aloinjerto renal puede asociarse a un error de clasificación. Este fallo será derivado del error de muestreo y de la variabilidad interobservador.

Histomorfometría aplicada a las biopsias de protocolo

Dado que la utilización de medidas semicuantitativas se acompaña de una elevada variabilidad interobservador, nuestro grupo ha valorado la utilización de técnicas de histomorfometría aplicadas al estudio de biopsias de protocolo. Este tratamiento nos permite obtener medidas en una escala continua, con mayor reproducibilidad y precisión.

Desgraciadamente son técnicas laboriosas que requieren de bastante tiempo. Las más simples se basan en la utilización del método de recuento de puntos, con el cual es posible estimar fracciones porcentuales de volumen. Así, podemos medir el ensanchamiento del espacio intersticial y expresarlo como una fracción de volumen del córtex renal (Vvint/córtex). Se ha demostrado que una Vvint/córtex superior al 25% a los seis meses del trasplante se asocia a una peor supervivencia a los seis años. No sucedía así con este mismo parámetro, medido en biopsias de protocolo realizadas tras uno y tres meses de haberse realizado el trasplante. El hallazgo está relacionado con el hecho de que el ensanchamiento del intersticio renal no siempre es debido a la presencia de fibrosis intersticial. Nuestro grupo ha demostrado que en los biopsias preimplantación y en aquellas practicadas a los 14 meses Vvint/córtex se correlaciona con la fibrosis intersticial, mientras que en las realizadas a los cuatro meses del trasplante la correlación de Vvint/córtex se establece con el infiltrado inflamatorio y no con la fibrosis intersticial.

Dado que la presencia de nefropatía crónica del aloinjerto renal (b) se asocia a una peor supervivencia, valoramos mediante histomorfometría la progresión de la fibrosis mioendotelial en aloinjertos estables. Los parámetros morfométricos que hemos considerado son la fracción de volumen intimal arterial (Vvintima/arteria) y la fracción de volumen muscular arterial (Vvmuscular/arteria). Nuestro grupo, en colaboración con el grupo de Amberes (del Dr. Bosmans) ha demostrado una buena correlación entre la medición del engrosamiento intimal mediante recuento de puntos y con la aplicación de otro método morfométrico, como el ortogonal ($r=0,74$).

Hemos aplicado las técnicas de morfometría al estudio de 40 pacientes con biopsias secuenciales (donante, 4 meses y 14 meses). En este trabajo demostramos que Vvint/córtex y Vvintima/arteria aumentaban especialmente entre la biopsia inicial y la realizada a los cuatro meses. El análisis anatomoclínico nos puso de manifiesto que el engrosamiento intimal se asocia a la lesión preexistente, a la incompatibilidad del sistema HLA y a la hipercolesterolemia, mientras que el ensanchamiento intersticial está relacionado con la demanda metabólica del receptor (utilizamos una medida subordinada de ésta, como la superficie corporal) y con la necrosis tubular aguda postrasplante.

Creemos que el estudio de la progresión de las lesiones renales debe completarse con la estimación de distintos parámetros morfométricos (inflamación, fibrosis) en los compartimentos renales en diferentes momentos del seguimiento. Finalmente, todavía está por demostrar la utilidad que nos puede ofrecer la aplicación de técnicas de análisis de imagen para obtener los parámetros descritos. Es obvio que con estas técnicas se podría evitar la mayor limitación de la histomorfometría, su laboriosidad.

TRASPLANTE HEPÁTICO DE DONANTE VIVO EN EL NIÑO

M. López Santamaría

Departamento de Cirugía Pediátrica, Unidad de Trasplantes Digestivos, Hospital Universitario La Paz, Madrid

En países donde son posibles otras opciones técnicas de trasplante no se discute ya la conveniencia del trasplante hepático con injerto de donante vivo en el niño; por el contrario, está cada vez más extendida la opinión de que esta técnica debe incluirse en el arsenal quirúrgico de cualquier programa de trasplante pediátrico (Broelsch y Otte, *Pediatr Transplantation* 2001). Los buenos resultados obtenidos con el trasplante hepático con injerto de donante vivo en el niño, junto a la confianza que supone poseer una amplia experiencia previa en el procedimiento, han impulsado además su extensión al adulto. En este artículo revisamos el estado actual del trasplante hepático con injerto de donante vivo en el niño, y finalizamos mostrando la experiencia de nuestro grupo con dicha técnica.

Consideraciones éticas

El trasplante hepático con injerto de donante vivo plantea un problema ético singular, derivado de someter al donante a un procedimiento innecesario, cuyo riesgo está suficientemente documentado y del que sólo puede obtener un

beneficio psicológico. Por ello, para que la técnica tenga justificación se deben verificar los aspectos éticos y organizativos, que esquemáticamente se exponen a continuación:

- Existencia de un marco legal adecuado.
- Cumplimiento de un protocolo ético y operativo, que incluya un seguimiento del donante a largo plazo y apoyo psicológico.
- No debe existir otra motivación que no sea de naturaleza médica.
- El trasplante de donante cadáver debe ser imposible o problemático.
- La mortalidad y morbilidad en el donante deben ser bajas.
- Posibilidades razonables de supervivencia para el receptor, con una buena calidad de vida.
- Posibilidad de retrasplante con donante cadáver.
- El trasplante hepático debe ser la única opción terapéutica.
- En los niños, no presentar criterios formales para la contraindicación de trasplante de cadáver, no estando justificadas en estas edades, a diferencia de lo que ocurre en los adultos, las indicaciones “extendidas”.

Indicaciones de trasplante hepático con injerto de donante vivo en el niño

En los países occidentales, donde son posibles otras alternativas técnicas de trasplantes, se deben priorizar las siguientes indicaciones o situaciones:

- 1) Insuficiencia hepática aguda grave: aunque estos enfermos tienen prioridad absoluta entre los donantes de cadáver y las posibilidades de acceso al trasplante son altas (del 80% en España durante el año 2001), el trasplante hepático con injerto de donante vivo puede ser una opción; especialmente en los niños, para quienes muchos donantes de cadáver no son adecuados, bien por su edad o por otras circunstancias. No obstante, si el niño está en situación de fallo multiorgánico, este tipo de trasplante debe estar contraindicado, al reducirse significativamente las probabilidades de éxito.
- 2) Extranjeros no residentes en el territorio nacional: pese a que España cuenta con la tasa de donantes más elevada del mundo, el número de donantes de cadáver es insuficiente para cubrir la demanda de órganos para trasplantes (el 53,4% de probabilidades de acceso al trasplante hepático durante el año 2001, incluidos todos los grupos de edades, y el 64% para los niños). Esta indicación es éticamente discutible, pero se hace necesaria en una situación de escasez relativa de donantes de cadáver, siendo su propósito no perjudicar a los niños residentes en España candidatos a trasplante hepático.
- 3) Tumores hepáticos no resecales: la opción de trasplante de vivo es excelente, pues el periodo disponible para el trasplante suele ser muy corto por los siguientes motivos:
 - Necesidad de quimioterapia pre y postrasplante, aceptando en el caso de los hepatoblastomas (los más frecuentes) sólo seis ciclos de quimioterapia para no desarrollar toxicidad irreversible.
 - Desarrollo de periodos de depresión medular, con neutropenia grave, lo cual coloca a los niños en situación de exclusión temporal.
 - Riesgo de extensión tumoral extrahepática, mientras aguardan el trasplante de donante cadáver.
- 4) Atresia biliar en los niños pequeños: enfermedad que representa cerca de la mitad de las indicaciones de trasplante hepático en el niño. Los niños que no restablecen el flujo tras la operación de Kasai se convierten habitualmente en candidatos a trasplante hepático antes del primer año de vida. La hepatopatía produce un grave y rápido deterioro físico y nutricional, además de un importante retraso ponderoestatural, complicación única en el niño y que conlleva graves consecuencias, en caso de sobrevivir. Además, se ha demostrado que en la atresia biliar la corta edad y el retraso en el crecimiento se asocian a una mortalidad muy precoz en lista de espera, pudiendo ser problemático en estos casos el trasplante de cadáver.

Contraindicaciones relativas. Situaciones especiales

No se puede hablar de contraindicaciones absolutas, especialmente en una disciplina cuyas fronteras se alejan continuamente. No obstante, existen situaciones que requieren una especial consideración:

- 1) Anatomía desfavorable, ya sea en el donante o en el receptor: el trasplante hepático con injerto de donante vivo es técnicamente exigente, por lo cual se deben de evitar situaciones en que se den variantes anatómicas, especialmente vasculares, que dificulten el procedimiento. No obstante, se han documentado casos de este tipo de trasplante realizado con éxito en niños, pese a la existencia de importantes malformaciones en el donante (por ejemplo, complejo malformativo de vesícula de localización izquierda, atrofia de segmento IV y ausencia de bifurcación extrahepática de la porta) o en el receptor (por ejemplo, síndrome de polisplenia asociado a situs inverso abdominal).
- 2) Incompatibilidad de grupo sanguíneo entre el donante y el receptor: contraindicación que tampoco es absoluta, especialmente si el receptor es un niño de corta edad con títulos de anticuerpos preformados muy bajos, siendo mínimo el riesgo de rechazo humoral. No obstante, se ha relacionado a un incremento en la tasa de complicaciones biliares, por lo cual está indicada sólo en los países donde no es posible la opción de trasplante de donante cadáver.
- 3) Enfermedades genéticamente transmisibles: representan una proporción importante entre las indicaciones de trasplante en el niño (32% en nuestra serie global). En estos casos el donante, si es relacionado, puede ser portador de la enfermedad, existiendo la posibilidad de recurrencia con el trasplante. La experiencia documentada tampoco excluye absolutamente el trasplante hepático con injerto de donante vivo en estas situaciones:
 - Hiperoxaluria: existe un caso documentado de trasplante con éxito entre hermanos, en que el paciente recibió simultáneamente dos injertos, uno hepático y uno renal.
 - Enfermedad de Crigler-Najjar, déficit de α -1 antitripsina, enfermedad de Wilson, déficit de piruvato carboxilasa: en todos estos casos se han utilizado padres heterocigotos como donantes sin problemas.
 - Colestasis intrahepática familiar: existe un caso documentado de recurrencia en un niño.
 - Citrulinemia: se ha documentado un caso de recurrencia, aunque en un trasplante auxiliar.
 - Déficit de ornitina transcarbamilasa: el trastorno se localiza en el cromosoma X, por lo cual las madres que son portadoras no deberían ser utilizadas como donantes. No obstante, Tanaka ha realizado el trasplante hepático con injerto de donante vivo en dos niños utilizando a sus madres como donantes, tras un estudio exhaustivo de éstas, incluyendo su perfil de aminoácidos.
 - Hipercolesterolemia homocigótica familiar: tanto el padre como la madre son heterocigotos e hipercolesterolémicos, y no deben ser utilizados como donantes.
 - Síndrome de Alagille (forma sindrómica de escasez de conductos biliares intrahepáticos, displasia arteriohepática): enfermedad que tiene un patrón de herencia autosómica dominante, con penetrancia completa pero muy variable expresión. Por ello, aunque tanto el padre como la madre permanezcan asintomáticos, uno de ellos es portador. Existen dos casos documentados en que la cirugía del donante tuvo que interrumpirse una vez iniciada, al no haber podido encontrar una vía biliar adecuada para una posterior reconstrucción en el receptor, así como otro caso de posible recidiva de la enfermedad con el trasplante hepático con injerto de donante vivo.

Experiencia del Hospital Infantil La Paz

Enfermos y técnicas quirúrgicas

Entre junio de 1993 y diciembre de 2002 se han realizado 26 trasplantes hepáticos con injerto de donante vivo en niños de edades entre 0,5 y 14,8 años (mediana 1,16). Entre ellos se incluye el primer caso realizado en nuestro país (29 de junio de 1993), en una niña que conserva el injerto, y representa además el caso de mayor supervivencia en

España (casi 10 años) con un injerto hepático de donante vivo. Las indicaciones fueron atresia biliar (n=19), tumores (dos hepatoblastomas, un hepatocarcinoma), cirrosis (n=2), insuficiencia hepática aguda grave (n=1) y síndrome de Alagille (n=1). Uno de los niños con cirrosis era candidato a trasplante hepatointestinal y el trasplante hepático con injerto de donante vivo se realizó en el contexto de un trasplante secuencial. Se usó un segmento lateral izquierdo (s. II-III) en 23 casos (transformado uno a monosegmento), un lóbulo izquierdo (s. II-III-IV) en uno y un lóbulo derecho (s. V-VI-VI-VIII) en dos. La arterialización se hizo mediante un injerto de la vena safena interpuesto a la aorta en los tres primeros casos, y terminoterminal en los restantes, con técnica microquirúrgica, habitualmente bajo microscopio (puntos sueltos, polipropileno 9/0 o nailon 10/0). Sólo dos de los cuatro casos en que existía arteria doble precisaron de doble anastomosis; un lóbulo izquierdo con arterias separadas para cada uno de los segmentos requirió de triple anastomosis. La reconstrucción biliar se realizó en todos los casos mediante hepaticoyunostomía, con material reabsorbible, puntos sueltos y sin tutorización. En tres ocasiones (una en un lóbulo derecho) el injerto tenía una vía biliar doble.

Resultados

No hubo morbilidad mayor en ninguno de los donantes (estancia hospitalaria rango 5 a 21 días, 6 de mediana). Dos casos desarrollaron una fístula biliar en la zona de corte, que cerró espontáneamente manteniendo el drenaje abdominal antes de la tercera semana poscirugía. Sólo un niño falleció (el candidato a trasplante hepatointestinal). Se perdieron cuatro injertos, dos en los primeros tres trasplantes (trombosis de injerto de vena safena y rechazo refractario). Las complicaciones biliares precoces fueron frecuentes, con tres casos de estenosis anastomótica y dos de fístula biliar, corregidos todos ellos quirúrgicamente. Un caso de fístula en la zona de corte cerró espontáneamente tras drenaje percutáneo. Dos casos de estenosis anastomótica tardía fueron tratados con dilatación percutánea. Hubo un caso de trombosis portal, que se corrigió mediante reanastomosis, y dos niños fueron reintervenidos por hemoperitoneo, sin encontrar causa aparente, pudiendo relacionarse con la heparinización de los receptores. Cuatro niños desarrollaron rechazo celular, resistente sólo en uno de ellos, que requirió de retrasplante. No ha habido hasta el momento ningún caso de rechazo crónico. La supervivencia del injerto a los seis meses, uno y cinco años fue del 91%, 85% y 85%, respectivamente, y la de los enfermos alcanzó el 100%, 96% y 96%, respectivamente. En comparación con la serie general, existe un sesgo importante en el grupo sometido a trasplante hepático con injerto de donante vivo en cuanto a indicaciones por atresia biliar (73% frente al 43%) y tumores (12% frente al 4%). El mismo sesgo se produce a la inversa respecto a indicaciones genéticamente transmisibles (3% en trasplante hepático con injerto de donante vivo frente al 35% en la serie general).

Comentarios

En el niño, el trasplante hepático con injerto de donante vivo es una excelente opción técnica de trasplante hepático, con un riesgo para el donante, aunque real, reducido y con claras ventajas para el receptor (menor daño isquémico, elección del momento adecuado, etc.). El beneficio se extiende incluso al resto de niños no trasplantados con este procedimiento, en un doble sentido:

- Permitiendo que otros niños reciban un injerto de cadáver.
- Disminuyendo el tiempo de estancia en lista de espera de donante cadáver, lo cual permite al niño llegar al momento del trasplante en mejor situación clínica, mejorando indirectamente con ello los resultados.

Entre los problemas aún no resueltos destaca la tasa de complicaciones biliares, que es alta incluso una vez superada la curva de aprendizaje (Tanaka refiere una tasa del 18,2% en 400 trasplantes hepáticos con injerto de donante vivo), y posiblemente ello sea inherente a la técnica.

Con más de una década de experiencia en el trasplante hepático con injerto de donante vivo en el niño, el procedimiento no deja de evolucionar. Recientemente se ha demostrado la posibilidad técnica de hepatectomía del

donante mediante laparoscopia (segmento lateral izquierdo), técnica que, en caso de generalizarse, podría incrementar en el futuro la divulgación del procedimiento.

Lecturas recomendadas

1. Testa, G., Malagó, M., Broelsch, C. *From living related to in-situ split liver transplantation: How to reduce waiting-list mortality*. *Pediatr Transplant* 2001; 5: 16-20.
2. Lacaille, F., Sokal, E. *Living-related liver transplantation*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33: 431-438.
3. Otte, J.B. *The availability of all technical modalities for pediatric liver transplant programs*. *Pediatr Transplant* 2001; 5: 1-4.

IMPACTO DE LA FUNCIÓN RETRASADA DEL INJERTO EN EL PACIENTE HIPERSENSIBILIZADO

M. Arias

Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Universidad de Cantabria, Santander

Introducción

El análisis de las grandes bases de datos de trasplantes, tanto europeas como americanas, así como de múltiples estudios monocéntricos han demostrado repetidamente la influencia negativa de la función retrasada del injerto y de la presencia de anticuerpos anti-HLA pretrasplante sobre la supervivencia de los injertos de riñón.

La presencia de función retrasada del injerto en un paciente hipersensibilizado se debe analizar teniendo en cuenta diferentes aspectos, algunos ya demostrados en el pasado y otros más recientemente:

- 1) La función retrasada del injerto se asocia con un mayor número de rechazos agudos.
- 2) El daño por isquemia reperusión produce función retrasada del injerto más frecuentemente bajo la forma histológica de necrosis tubular aguda.
- 3) Se ha demostrado que la isquemia reperusión está genéticamente determinada en animales de experimentación, y la inmunidad y la reactividad humoral del sistema inmune tiene también un componente genético.
- 4) La isquemia fría prolongada se ha manifestado recientemente que se relaciona con un aumento en la producción de anticuerpos anti-HLA.
- 5) Los riñones de donantes mayores padecen más frecuentemente función retrasada del injerto, y además estos riñones de pacientes de edad avanzada tienen disminuida su capacidad de recuperación del daño intersticial inmunológico, ya que carecen de una respuesta a la apoptosis de las células tubulares.
- 6) La función retrasada del injerto en los pacientes hipersensibilizados es muy difícil de tratar en la clínica, ya que el rechazo subclínico aparece frecuentemente de manera asintomática.
- 7) El rechazo en los pacientes hipersensibilizados con función retrasada del injerto puede simular una necrosis tubular histológicamente aguda.
- 8) Los pacientes que tienen una recuperación lenta de la función renal después de un trasplante, aunque no necesitan diálisis, lo que se ha llamado recuperación lenta de la función renal, desarrollan también más rechazos agudos, tienen una supervivencia del injerto peor a corto y a largo plazo, y en biopsias de riñón protocolizadas expresan un aumento de las proteínas citolíticas inductoras de daño, granzyme y perforina.

Hemos analizado la experiencia del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla en cuanto a los resultados del trasplante renal de cadáver en el grupo de pacientes que presentaron necrosis tubular, la influencia de la presencia de anticuerpos anti-HLA pretrasplante y la asociación de ambas situaciones, intentando definir el momento que tiene mayor repercusión en la pérdida del injerto.

Hemos centrado nuestra investigación en la base de datos del Servicio de Nefrología de este mismo hospital, donde se han realizado 1315 trasplantes renales de cadáveres desde febrero de 1975 a diciembre de 2002, habiendo recibido estos pacientes un régimen de inmunosupresión consistente en azatioprina y prednisona hasta el año 1985, y luego un régimen basado fundamentalmente en ciclosporina, a la que se ha asociado más recientemente una triple terapia con micofenolato de mofetilo. Un porcentaje importante de los últimos trasplantes realizados han recibido diferentes regímenes de inmunosupresión, dependiendo de su año de realización. En este estudio no se analiza la influencia de la inmunosupresión en los resultados, sino simplemente el impacto de la necrosis tubular aguda y de la presencia de anticuerpos anti-HLA, independientemente del tipo de inmunosupresión utilizado.

Resultados

La sensibilización de los pacientes que esperan un trasplante renal ha disminuido en tanto en cuanto lo han hecho las transfusiones y los embarazos de las mujeres en diálisis. Sin embargo, ha aumentado el número de retrasplantes. En nuestra serie, un 85% de los pacientes en lista de espera tienen menos del 25% de anticuerpos actuales, en el momento del trasplante un 4,6% tenía entre el 26% y el 50% de reactividad contra PRA, un 7,7% presenta una PRA del 51% al 75%, y en un 1,5% la PRA es superior al 75%. Si se analiza el nivel máximo de anticuerpos, lo que se llama el pico de reactividad, lógicamente la sensibilización aumenta, y más de un 50% de los pacientes tienen una reactividad contra panel superior al 50%, de los cuales el 14% presenta una reactividad mayor del 75%. Con una experiencia de 28 años y una gran actividad trasplantadora, la situación actual de la lista de espera muestra que el 63,5% de los pacientes incluidos en este registro lo hacen para un segundo, tercer o cuarto trasplante, y sólo un 37% no ha recibido previamente ningún trasplante. Es clásico observar un aumento de la frecuencia de necrosis tubular aguda en los pacientes hipersensibilizados. En nuestra serie esta asociación no se observa, probablemente debido al insuficiente número de pacientes. En los pacientes de toda la serie con cualquier tipo de inmunosupresión que no desarrollaron necrosis tubular aguda se observó una frecuencia de rechazo agudo de un 30%, mientras que aquellos con función retrasada del injerto presentaron rechazo en un 47% de los casos ($p=0.0026$). La presencia de anticuerpos anti-HLA, tanto en el momento del trasplante como analizando la reactividad máxima histórica contra panel, demostró una influencia clara en la supervivencia a largo plazo de los pacientes con PRA superior al 50% e inferior al 50% (*Log Rank* $p=0.0000$).

La influencia de la necrosis tubular aguda sobre la supervivencia del injerto demuestra una diferencia significativa ($p=0.04$) entre los pacientes que desarrollaron necrosis tubular aguda y los que no lo hicieron, cuando se analiza de forma global, poniéndose de manifiesto en dichas curvas de supervivencia que la diferencia fundamental se produce en los primeros meses y hasta el año, para luego acercarse las diferencias a partir del quinto año, y a los diez años unos resultados muy similares entre los pacientes que desarrollaron dicha complicación y los que no. Cuando los pacientes con necrosis tubular aguda se comparan con aquellos que no sufrieron rechazo agudo ni necrosis tubular aguda, las diferencias estadísticas aumentan ($p=0.014$), pero el perfil de las curvas es similar, con una separación importante en los primeros años para igualarse al décimo año.

La influencia del rechazo agudo, simplemente diferenciado en sí o no, muestra una alta significación entre los pacientes, que se mantiene desde los momentos iniciales de la curva hasta el final, sin que lleguen nunca a unirse ambas curvas. El efecto del rechazo agudo es precoz y duradero, y esta significación aumenta cuando la presencia de rechazo agudo se compara con pacientes que no han sufrido rechazo agudo ni necrosis tubular aguda.

Cuando se analizan todas las posibilidades (los pacientes que no han tenido función retrasada del injerto ni rechazo agudo, aquellos sólo con necrosis tubular sin rechazo agudo, los que han presentado rechazo agudo pero no necrosis tubular aguda y los que han tenido ambas complicaciones), se observa, en porcentaje de supervivencia a corto y a largo plazo, que la necrosis tubular aguda manifiesta una incidencia mayor en el primer año y en los perio-

dos de supervivencia a medio plazo, mientras que el rechazo agudo produce un efecto de deterioro sobre la supervivencia precoz y tardía. La presencia tanto de anticuerpos actuales máximos superiores al 50% como de anticuerpos máximos de este nivel supone un importante descenso en los porcentajes de supervivencia del injerto de forma precoz y tardía. Cuando se realiza un análisis multivariable de todas estas posibilidades mediante regresión múltiple de Cox, son los anticuerpos en el momento del trasplante los únicos que conservan significación estadística. El peso de la sensibilización previa al trasplante es el factor más importante de disminución de la supervivencia.

Cuando se analiza la vida media de los injertos, un concepto diferente al de supervivencia actuarial, ya que aquí se eliminan los injertos fracasados en el primer año y se analiza el tiempo que sobrevive el 50% de los injertos realizados, se observa que la circunstancia que influye más negativamente es la presencia de anticuerpos previos al trasplante, debido a que una cifra mayor del 50% en los anticuerpos actuales proporciona una vida media de 2,2 años, siendo la de los anticuerpos máximos también muy corta, de 2,4 años. La presencia de rechazo agudo asociado a necrosis tubular aguda, una situación muy frecuente en el hipersensibilizado, lleva la vida media de los injertos a cinco años aproximadamente. El rechazo agudo aislado que aparece sobre un injerto que no ha desarrollado necrosis tubular aguda tiene una supervivencia de 6,4 años, la necrosis tubular aislada 8,7 años, y en la serie general, habiendo analizado todos los pacientes, la supervivencia está muy próxima a los 10 años; una vez depurados aquellos pacientes que no han sufrido ninguna de las dos complicaciones, ni necrosis tubular aguda ni rechazo, la vida media en nuestra serie es de 11,6 años, sumando todos los casos de la época histórica que fueron tratados, como se ha dicho antes, con azatioprina y prednisona, y los actuales con los más modernos inmunosupresores.

Conclusión

La situación actual del trasplante renal muestra que la frecuencia del rechazo agudo ha disminuido en los últimos años, en relación con los mejores tratamientos inmunosupresores, pero que la necrosis tubular aguda en la mayoría de las series permanece estable alrededor del 30%. La necrosis tubular aguda influye negativamente en la supervivencia del injerto a corto plazo, y es un dato muy controvertido si produce una repercusión negativa también a largo plazo. Esta circunstancia, producida por el daño de isquemia reperusión sobre el injerto renal, tiene la particularidad de que aparece más frecuentemente y de forma más grave en los riñones procedentes de donantes de edad avanzada, que es la situación más frecuente hoy día en la práctica clínica.

La necrosis tubular aguda se define normalmente por la necesidad de diálisis en la primera semana después del trasplante, pero este hecho es gradual, como también lo es la necrosis tubular a diuresis conservada, que no necesita diálisis y tienen influencia situaciones de daño tubular mínimo, sobre todo en la supervivencia a corto plazo del injerto y en el desarrollo de rechazo agudo. La presencia de anticuerpos anti-HLA pretrasplante ensombrece el pronóstico de los trasplantes y su asociación con necrosis tubular aguda multiplica el riesgo de daño renal.

En nuestra experiencia, como en la de otros autores, la necrosis tubular aguda y el daño tubular intermedio y de mayor gravedad parecen tener influencia negativa fundamentalmente en las etapas precoces del trasplante, mientras que el rechazo agudo lo hace desde el primer año, continuando luego de forma prolongada durante toda la evolución de los pacientes.

Bibliografía

- Bryan, C.F., Luger, A.M., Martínez, J. y cols. *Transplantation* 2001; 71: 875.
- Cecka, J.M., Shoskes, D.A., Gjertson, D.W. *Transplant Rev* 2001; 15: 57.
- De Fijter, J.W., Mallat, M.J.K., Doxiadis, I.I.N. y cols. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1538.
- Fernández Suárez, G., Marcen, R., Pascual, J. y cols. *Transplant Proc* 2002; 34: 338.
- Jordan, S.C. *Am J Transplant* 2002; 2: 691.
- Koike, J., Yamaguchi, Y., Horita, S. y cols. *Clin Transplant* 2001; 15: 41.
- Marcen, R., Orofino, L., Pascual, J. y cols. *Transplantation* 1998; 66: 461.

- McLaren, A.J., Jassem, W., Gray, D.W.R. y cols. Clin Transplant 1999; 13: 266-27.
- Park, J.H., Yang, C.W., Kim, Y.S. y cols. Clin Transplant 2002; 16: 18.
- Qurehi, F., Raab, R., Kasiske, B.L. Transplant 2002; 74: 1400.
- Regele, H., Bohmig, G.A., Habicht, A. y cols. J Am Soc Nephrol 2002; 13: 2371.
- Tilney, N.L., Guttman, R.D. Transplantation 1997; 64: 945.

PRECONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO EN EL TRASPLANTE RENAL

J. Torras

Servicio y laboratorio de Nefrología, Hospital de Bellvitge, Barcelona

En el trasplante renal, la isquemia-reperfusión puede producir un daño directo sobre el órgano o activar la alorrespuesta del receptor e influir en la aparición tanto del rechazo agudo como de la nefropatía crónica del aloinjerto. Por tanto, las maniobras protectoras de la isquemia pueden modificar el futuro del injerto.

Periodos breves de isquemia caliente y reperfusión confieren a un órgano resistencia frente a una isquemia prolongada o sostenida posterior. Este fenómeno se conoce como preconditionamiento o tolerancia isquémica, y ha sido principalmente estudiado y caracterizado en el corazón, pero también se ha descrito en el hígado, el intestino delgado y el cerebro. El preconditionamiento activa las defensas naturales de las células. Se puede inducir no sólo con el estímulo isquémico, sino que otros estímulos, que pueden ser fisicoquímicos (como la hipertermia o el ejercicio) o farmacológicos (como dosis bajas de ciclosporina o FK506), también lo producen.

El estudio del preconditionamiento cardiaco, paradigma de este fenómeno, ha permitido establecer dos ventanas de protección. Existe una protección precoz que ocurre en los primeros minutos hasta dos o tres horas después del estímulo, en la cual participan mediadores celulares preformados y de acción inmediata. Aquí se ha incluido el óxido nítrico, la adenosina a través del receptor A₁, la proteincinasa C y diversas MAP cinasas, y finalmente las *heat shock proteins*, unas proteínas celulares filogenéticamente muy antiguas y que son protectores naturales de las células frente a las agresiones primarias.

Pero existe una segunda ventana que se inicia más allá de las 24 horas, y que en algunos órganos puede prolongarse hasta siete o diez días. A pesar de que los mecanismos celulares que lo desencadenan son similares, existe un proceso de síntesis proteica que proporciona estabilidad y durabilidad al fenómeno en el tiempo. Aunque menos estudiado, en el periodo tardío intervienen la óxido nítrico sintetasa inducible, algunas MAP cinasas, como el p38, el JNK y la ERK1/2, o diversas enzimas antioxidantes, como la catalasa, la glutación peroxidasa y la superóxido dismutasa. El conocimiento de estos fenómenos tardíos tiene como principal objetivo desarrollar estrategias o fármacos útiles en el tratamiento y la prevención de la cardiopatía isquémica.

Finalmente, se sabe que los mecanismos protectores en el preconditionamiento actúan localmente en el órgano manipulado, pero que otros órganos a distancia pueden verse beneficiados. Así, se ha demostrado que el preconditionamiento intestinal o renal protege al miocardio de la isquemia coronaria, o también que el preconditionamiento hepático protege a los pulmones y a los riñones frente a la isquemia caliente.

Uno de los inconvenientes que tienen los protocolos de preconditionamiento es que generalmente comprenden varios ciclos breves de isquemia-reperfusión, en general cuatro de, por ejemplo, cuatro, seis u ocho minutos de isquemia, seguidos de cinco o diez minutos de reperfusión. Si bien estos protocolos son eficaces en el corazón y en algún otro órgano, su aplicación en la práctica clínica del trasplante sería especialmente dificultoso. Algunos grupos han introducido un protocolo más sencillo de preconditionamiento, que es igualmente eficaz en ciertos órganos. Nos referimos al protocolo de un ciclo con un solo periodo de isquemia y otro de reperfusión, con instauración inmediata de la isquemia caliente o la preservación del órgano. Este protocolo ha mostrado una gran eficacia en la protección hepática, tanto en modelos de isquemia caliente sobre hígado sano o esteatósico como en la preservación hepática, con varias soluciones de preservación.

En cuanto al riñón se dispone de poca información y todavía es un tema controvertido. Un trabajo de principios de los años 1980 demostró que se podía conferir al riñón una resistencia tardía frente a la isquemia mediante la

inducción de enzimas antioxidantes intrínsecas, gracias a una breve isquemia previa. Éste es un mecanismo dependiente de la síntesis proteica, similar al del preconditionamiento tardío del corazón. Otros trabajos fueron menos afortunados, no pudiendo demostrar el efecto protector del preconditionamiento, posiblemente dependiente del protocolo protector diseñado. Más recientemente, se han publicado algunos estudios que sí han demostrado eficacia en la protección renal, con protocolos de protección tanto precoz como tardía.

La caracterización del fenómeno de preconditionamiento en el riñón y de los mediadores moleculares que participan en él revelará mecanismos celulares innatos de supervivencia. Estos mecanismos endógenos son susceptibles de modificarse o inducirse para ofrecer protección a las células frente a la isquemia caliente, o durante la preservación en el trasplante renal clínico. Por ello, nuestro grupo diseñó un estudio para demostrar, en primer lugar, si se podía inducir preconditionamiento precoz en el riñón y, en ese caso, cuál era el mejor protocolo de aplicación. Asimismo, para aproximarnos a los mecanismos del preconditionamiento, evaluamos el papel del óxido nítrico en el riñón, introduciendo grupos preconditionados que se trataron con un inhibidor de la óxido nítrico sintetasa y grupos isquémicos tratados con un donante de óxido nítrico. Finalmente, ya que el mayor interés del preconditionamiento es su aplicación al trasplante renal clínico, determinamos si este efecto protector se hacía patente en el trasplante renal experimental.

En primer lugar, dentro del denominado Estudio A, en el terreno de la isquemia caliente demostramos que un ciclo de 15 minutos de isquemia seguido de 10 minutos de reperfusión era el protocolo de tiempos óptimo, ya que protegía tanto la función como la histología renal. Alternativamente, comprobamos que tanto 5 como 10 minutos de isquemia seguido de 10 minutos de reperfusión ofrecían protección funcional completa, pero sólo parcial de la estructura. Sin embargo, cuando la ventana isquémica se prolongaba más de 15 minutos el efecto protector del preconditionamiento desaparecía. La mayoría de estudios con protocolos de un ciclo sólo evalúan los tiempos de la ventana isquémica, manteniendo la reperfusión fija. Nosotros también analizamos el efecto que tiene la modificación del tiempo de reperfusión en el protocolo de preconditionamiento, y observamos que cuando ésta se prolongaba a 20 o 40 minutos después de 15 minutos de isquemia, desaparecía el efecto protector. Estos resultados son diferentes a los obtenidos en el corazón, y sugieren que el intervalo de protección inducido por el preconditionamiento varía según el órgano, siendo extremadamente corto en el riñón.

El óxido nítrico se ha asociado al preconditionamiento isquémico en diferentes órganos. Por lo que sabemos, el papel del óxido nítrico en el riñón sólo se ha estudiado en los mecanismos del daño isquémico, como un protector innato celular, pero escasamente se ha relacionado con el preconditionamiento. Así, se ha publicado una generación renal rápida de óxido nítrico después de diversos periodos de isquemia caliente (15 a 45 minutos), que fue creciente a medida que se prolongaba la reperfusión. Aunque tanto una isquemia corta como una larga inducían una producción similar de óxido nítrico, la primera se asociaba a una menor producción de radicales libres de oxígeno y de daño histológico. Nuestros resultados en el llamado Estudio B muestran un comportamiento similar, ya que las concentraciones de nitrito y nitrato se incrementaron al final del protocolo óptimo de preconditionamiento (15/10), con un incremento muy moderado de la 8-oxo-2'-desoxiguanosina tisular. Así el óxido nítrico puede ejercer su función fisiológica protectora óptima, con una mínima interferencia por los radicales libres. El efecto protector del tratamiento con el donante de óxido nítrico, reproduciendo el preconditionamiento, corrobora esta hipótesis.

A pesar de la mayor producción renal de nitrito y nitrato, cuando se prolongó la reperfusión a 20 o 40 minutos el efecto del preconditionamiento no se produjo. Esto sugiere que la ventana protectora inducida por el óxido nítrico endógeno es tremendamente estrecha. Intentamos por tanto entender tales resultados. Durante la reperfusión, la 8-oxo-2'-desoxiguanosina tisular, un marcador muy sensible del daño oxidativo celular, se incrementó paralelamente a las concentraciones renales de nitrito y nitrato. Aunque la producción de radicales libres es un hecho precoz y relativamente transitorio, a medida que el daño de la reperfusión avanza las estructuras celulares, incluyendo el ADN, se oxidan progresivamente. Así, el mayor índice de 8-oxo-2'-desoxiguanosina tisular en los grupos Prec 15/20 y Prec 15/40 refleja la presencia masiva de radicales libres que pueden oxidar el óxido nítrico, y de esa manera inactivar su acción protectora. Las grandes concentraciones de óxido nítrico pueden, por tanto, convertirse en citotóxicos, probablemente por la formación de peroxinitrito. En estudios en el hígado se han publicado resultados similares, sugiriendo que el intervalo de preconditionamiento óptimo está definido por el equilibrio entre la concentración tisular de adenosina y de óxido nítrico.

Los resultados obtenidos en el Estudio B con la manipulación farmacológica del bloqueante no selectivo de la óxido nítrico sintetasa corroboran también la implicación del óxido nítrico en el acondicionamiento renal. En primer lugar, las concentraciones tisulares de nitrito y nitrato se redujeron después de la administración de L-NAME. En segundo lugar, no se protegió la función renal, lo que sugiere que el efecto beneficioso del acondicionamiento se había perdido. Y finalmente, la administración de óxido nítrico del donante a los animales acondicionados y tratados con L-NAME restableció el efecto protector. Tal como reflejan nuestros resultados, y como otros grupos han demostrado, el uso de L-NAME agravó la disfunción renal y causó una gran mortalidad. De esta manera se confirma que el sistema del óxido nítrico es una defensa natural frente al daño isquémico.

Finalmente, en el denominado Estudio C evaluamos el efecto de nuestro protocolo de acondicionamiento sobre la isquemia fría en el modelo de trasplante renal experimental para aproximarlos a la clínica del trasplante. El acondicionamiento mejoró la función renal a lo largo de los siete días de seguimiento, y lo que es más importante, también se protegió el daño histológico. Aunque cinco horas de preservación en *Eurocollins* parece un periodo corto, estudios previos en nuestro laboratorio han demostrado que se produce un fallo renal agudo grave. En los protocolos clínicos de extracción de riñones, las posibles maniobras de protección deben ser muy simples. Por tanto, el procedimiento que se propone aquí de acondicionamiento de un ciclo con isquemia y reperfusión breves puede ser adecuado para el trasplante renal en humanos.

En resumen, el acondicionamiento isquémico mejora el fracaso renal agudo inducido tanto por isquemia caliente como fría. En el riñón, 15 minutos de isquemia caliente y 10 minutos de reperfusión es el procedimiento óptimo para el acondicionamiento. Nuestros datos indican que el efecto protector del acondicionamiento está mediado por la producción local de óxido nítrico. Este mecanismo protector endógeno puede ser una herramienta valiosa en la preservación renal clínica.

POSTTRANSPLANTATION ACUTE INFLAMMATION IN ISCHEMIA-REPERFUSION

J.M. Goujon¹, A. Vandewalle², M. Abdou¹, S. Milinkevitch¹, I. Petit³, J.P. Faure³ and T. Hauet³

¹Service d'Anatomo-Pathologie and Service de Biochimie, CHU La Milétrie, Poitiers Cedex; ²Unité U478, Institut fédératif de la Recherche, Faculté de Médecine X Bichat, Paris XVIII; and ³GRTMV-EA 2624 IFR FR CNRS 59, Université de Poitiers et Laboratoire de transplantation expérimentale de génétique animale, INRA, Le Magneraud, Surgères, France.

Introduction

In recent years, chronic allograft nephropathy has become one of the main causes of late organ loss following transplantation. Several clinical and experimental studies have suggested that, in addition to alloantigen-dependent factors, a number of alloantigen-independent factors may also be involved in this process (1). The most commonly accepted alloantigen-independent risk factors for chronic allograft nephropathy are cytomegalovirus infection, drug cytotoxicity, patient noncompliance, donor age, hyperlipidemia and hypertension. These nonimmunological factors certainly play an important part in the onset of chronic allograft nephropathy by directly damaging the transplanted kidney and also through their interaction with a variety of immune factors such as histoincompatibility and acute rejection episodes. Nonimmune renal injury of the kidney destined for transplantation may also begin before the brain death of the donor and continue after transplantation (2).

Until recently, the impact of ischemia-reperfusion injury, an antigen-independent event in the process of organ transplantation, on delayed graft function and late allograft deterioration tended to be underestimated (3, 11). Ischemia-reperfusion injury is a complex sequence of events that involves depletion of cellular ATP, entry of calcium, sodium and water into cells, activation of endothelial cells and infiltration of neutrophils into ischemic tis-

sues (4). The onset of nonspecific inflammatory processes has been shown to initiate and modulate antigen-specific immunity (5). The response to ischemia-reperfusion injury closely resembles an immune response, and includes the upregulation of major histocompatibility complex (MHC) antigens (6) and adhesion molecules, and the production of cytokines and chemokines, leading to inflammatory infiltrates (7, 8). The exact role of ischemia-reperfusion injury as an additional risk factor for delayed graft function and kidney graft survival remains a matter of debate. The conditions of storage of donor kidney may influence the deleterious consequences of ischemia-reperfusion injury on delayed graft function. The main steps required to preserve the organ to be transplanted include flushing, cooling and sometimes the use of drugs. The preservation solutions (Euro-Collins [EC] solution and University of Wisconsin [UW] solution) commonly used contain impermeable ions to minimize cell swelling and high concentrations of potassium to prevent intracellular potassium loss. Both the EC and UW preservation solutions have their own limitations in preventing ischemia-reperfusion injury. Modifications of the ionic content of preservation solutions intended to reduce reperfusion injury have therefore been proposed (9). Since the pig kidney seems to be the most attractive organ for xenotransplantation, we have developed an autotransplanted large pig kidney model to investigate the influence of ischemia-reperfusion and the conditions of cold storage on delayed graft function (10).

Methods

Morphological analysis of cold ischemia-reperfusion injury was performed in an experimental model of autotransplanted large pig kidneys. Biopsies from deep cortex outer medulla were performed at various times to analyze several morphological parameters. The degree of proximal tubule cell injury at 30 minutes, 1 hour and day 7 and the degree of interstitial inflammation at day 14 affecting a certain percentage of surface area (0, none; 1 <10%; 2, 10-25%; 3, 50-75%; 4 >75%) were evaluated using a semiquantitative graded scale. Considering that fibrosis is the final common pathway for nearly all forms of disease that progress towards end-stage organ failure, tissue sections (5 μ m) of late biopsies performed between weeks 2 and 12 were labeled with picrosirius, known to stain collagens I and III deposited within the interstitium and recommended for the diagnosis of chronic renal allograft injury (11). The degree of interstitial fibrosis stained with picrosirius was determined by a semiquantitative imaging technique. The percentage of picrosirius-stained surface was measured on five different tissue sections viewed at $\times 100$ magnification for each experimental condition and expressed as a percentage of the total surface area examined. In all experimental conditions, the nature of inflammatory cells and/or the expression of adhesion molecules were assessed by immunohistochemistry studies.

Results

Using this model of cold ischemia-reperfusion, we showed that the development of inflammatory injury was closely correlated to the conditions of cold preservation. The influx of inflammatory cells, particularly T cells, was shown to be of importance during ischemia-reperfusion injury. We also demonstrated that the cells recruited into an inflamed interstitium in the early phase of fibrosis consist mainly of CD4⁺ T lymphocytes and macrophages and that the number of infiltrating monocytes/macrophages and CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes depends mainly on the initial conditions of cold preservation (11). A biphasic period of CD4⁺ infiltration occurred between weeks 2-12 following transplantation. The number of CD4⁺ T cells gradually decreased from weeks 2-5 and then gradually increased from weeks 4-5 to weeks 10-12. In contrast to the phenomenon observed in CD4⁺ T cells, the number of CD8⁺ T cells increased from weeks 2-5 and remained at a plateau or slightly decreased from 4-12 weeks following surgery. Thus, the number of CD8⁺ T cells counted per surface area was always lower than that of CD4⁺ T cells in all experimental groups analyzed. Macrophages and monocytes progressively infiltrated the kidneys after a lag time of two weeks and were well correlated with the degree of interstitial fibrosis. At all times studied, no inflammatory cells were labeled by B-cell markers.

The *de novo* tubular expression of cell adhesion molecule VCAM-1 depends on the conditions of pig kidney cold storage and reflects the intensity of inflammatory reactions. Interstitial fibrosis, characterized by the destruction of renal tubules as well as by the accumulation of extracellular matrix proteins, is significantly associated with progressive loss of renal function (11).

Renoprotective effects of trimetazidine and PEG-20M

We investigated the effects of adding trimetazidine or polyethylene glycol 20000 (PEG-20M) to the perfusate of cold-stored kidneys on the function and morphology of reperfused autotransplanted pig kidney.

The addition of the antiischemic drug trimetazidine (TMZ, 1-[2,3,4-trimethoxy-benzyl] piperazine, 2 HCl), which prevented renal injury in the isolated perfused pig kidney exposed to prolonged cold ischemia (12), also had significant beneficial effects on the renal function of autotransplanted pig kidneys (11). Trimetazidine has been registered since 1978 and marketed in a number of countries as a safe drug able to prevent cellular ischemia without producing adverse hemodynamic effects (13). Although the clinical efficacy of trimetazidine has been demonstrated in several double-blind trials, and its antianginal effect has been shown to be equivalent to that of propranolol, the molecular mechanism of its antiischemic effects is not yet fully understood. Trimetazidine has been shown to improve energy metabolism and ATP synthesis in various models of myocardial and liver ischemia (14, 15). In the experimental model of autotransplanted large pig kidneys, trimetazidine added to the classical EC and UW preservation solutions protected cold-preserved proximal tubule cells, limited the extent of inflammatory changes in outer medulla and partly inhibited the occurrence of interstitial fibrosis and tubular atrophy (11).

We also tested the effects of polyethylene glycol (PEG), particularly PEG-20M, used as a colloid during cold preservation, on renal function and on the occurrence of interstitial fibrosis in the autotransplanted pig kidney model. This colloid can form a reversible complex with lipids in cell membranes and prevent osmotic swelling (16). We and others have demonstrated that PEG reduces lipid peroxidation (17) and modifies or reduces immunogenicity when combined with normally immunogenic antigens (18, 19). In a preliminary study, we have shown that adding PEG to a simplified high-potassium perfusion solution both improves renal function and significantly reduces early cellular and interstitial infiltrates in retransplanted pig kidneys, as compared to retransplanted kidneys cold-flushed with conventional EC and UW solutions (20). Recently, we demonstrated that adding PEG to simplified isoosmotic solutions reduced the overexpression of MHC class II molecules that was detected in epithelial tubule cells, inhibited the early inflammatory response to ischemia-reperfusion injury, improved renal functions and may have prevented the progression of interstitial fibrosis in long-term autotransplanted pig kidneys (21). These promising findings call for further studies to assess the long-term capacity of PEG alone and in association with antiischemic drugs to prevent chronic transplant nephropathy.

Conclusions

Chronic transplant nephropathy is a multifactorial process. It is the main cause of late graft loss. Morphologically, it is characterized by interstitial fibrosis, tubular atrophy and glomerular sclerosis. Chronic transplant nephropathy is caused by both alloreactive and nonalloreactive factors. Cold ischemia may lead to both alloantigen-independent lesions and allogenic-mediated injury. We have demonstrated in a recent study that the cause of delayed graft function in the absence of alloreactivity is closely related to the upregulation of MHC class II molecules and, according to the recent findings of Burnes *et al.* (22), to the activation of CD4⁺ T lymphocytes. The inflammation due to ischemia-reperfusion injury, which is largely independent of immunological processes, is clearly one of the main early deleterious events that promote chronic renal allograft dysfunction and graft loss. More attention should be devoted to preventing the initial injury caused by ischemia-reperfusion injury. This should allow optimized organ preservation before transplantation (23).

Acknowledgments

We would like to thank Drs. P. Babin, P. Levillain, J.P. Tillement, M. Carretier and M. Eugene for their collaboration. We also thank Mrs. N. Quellard and B. Fernandez for technical assistance. Our studies presented in this review have been supported by grants from the Etablissement Français des Greffes, l'Association pour le Développement de la Dialyse en Charente-Maritime and the Institut International de Recherche Servier.

References

1. Monaco, A.P., Burke, J.F., Jr., Ferguson, R.M. et al. *Current thinking on chronic renal allograft rejection: Issues, concerns and recommendations from a 1997 roundtable discussion*. Am J Kidney Dis 1999; 33: 150-160.
2. Halloran, P.F., Melk, A., Barth, C. *Rethinking chronic allograft nephropathy: The concept of accelerated senescence*. J Am Soc Nephrol 1999; 10: 167-181.
3. Du Bose, T.D., Jr., Warnock, D.G., Mehta, R.L. et al. *Acute renal failure in the 21st century: Recommendation for management and outcomes assessment*. Am J Kidney Dis 1997; 29: 793-799.
4. Massberg, S., Messmer, K. *The nature of ischemia/reperfusion injury*. Transplant Proc 1998; 30: 4217-4223.
5. Fearon, D.T. *Seeking wisdom in innate immunity*. Nature 1997; 388: 323-324.
6. Shoskes, D.A., Parfrey, N.A., Halloran, P.F. *Increased major histocompatibility complex antigen expression in unrelated ischemic acute tubular necrosis in the mouse*. Transplantation 1990; 49: 201-207.
7. Tilney, N.L., Guttman, R.D. *Effects of initial ischemia/reperfusion injury on the transplant kidney*. Transplantation 1997; 64: 945-947.
8. Sheridan, A.M., Bonventre, J.V. *Cell biology and molecular mechanisms of injury in ischemic renal failure*. Curr Opin Nephrol Hypertens 2000; 9: 427-434.
9. De Boer, J., De Meester, J., Smits, J.M. et al. *Eurotransplant randomized multicenter kidney graft preservation comparing HTK with UW and Euro-Collins*. Transplant Int 1999; 12: 447-453.
10. Huet, T., Goujon, J.M., Vandewalle, A. et al. *Trimetazidine reduces renal dysfunction by limiting the cold ischemia/reperfusion injury in autotransplanted pig kidneys*. J Am Soc Nephrol 2000; 11: 138-148.
11. Goujon, J.M., Vandewalle, A., Baumert, H., Carretier, M., Huet, T. *Influence of cold-storage conditions on renal function of autotransplanted large pig kidneys*. Kidney Int 2000; 58: 838-850.
12. Huet, T., Mothes, D., Goujon, J.M. et al. *Trimetazidine prevents renal injury in the isolated perfused pig kidney exposed to prolonged cold ischemia*. Transplantation 1997; 64: 1082-1086.
13. Harpey, C., Clauser, P., Labrid, C., Freyria, J.L., Poirier, J.P. *Trimetazidine, a cellular anti-ischemic agent*. Cardiovasc Drug Rev 1989; 6: 292-312.
14. Elimadi, A., Settaf, A., Morin, D. et al. *Trimetazidine counteracts the hepatic injury associated with ischemia-reperfusion by preserving mitochondrial function*. J Pharmacol Exp Ther 1998; 286: 23-28.
15. Fantini, E., Demaison, L., Sentex, E., Grynberg, A., Athias, P. *Some biological aspects of the protective effect of trimetazidine on rat cardiomyocytes during hypoxia and reoxygenation*. J Mol Cell Cardiol 1994; 26: 949-958.
16. Ganote, C.E., Worstell, J., Iannotti, J.P., Kaltenbach, J.P. *Cellular swelling and irreversible myocardial injury*. Am J Pathol 1977; 88: 95-99.
17. Mack, J.E., Kerr, J.A., Vreugdenhil, P.K., Belzer, F.O., Southard, J.H. *Effect of polyethylene glycol on lipid peroxidation in cold-stored rat hepatocytes*. Cryobiology 1991; 28: 1-7.
18. Collins, G.M., Wicomb, W.N., Levin, B.S., Verma, S., Avery, J., Hill, J.D. *Heart preservation solution containing polyethylene glycol: An immunosuppressive effect?* Lancet 1991; 338: 890.

19. Murad, K., Mahany, K.L., Brugnara, C., Kuypers, F.A., Eaton, J.W., Scott, M.D. *Structural and functional consequences of antigenic modulation of red blood cells with methoxypoly (ethylene glycol)*. Blood 1999; 93: 2121-2127.
20. Hauet, T., Baumert, H., Ben Amor, I. et al. *Protection of autotransplanted pig kidneys from ischemic-reperfusion injury by polyethylene glycol*. Transplantation 2000; 11: 1569-1575.
21. Hauet, T., Goujon, J.M., Baumert, H. et al. *Polyethylene glycol reduces the inflammatory injury due to cold ischemia-reperfusion injury*. Kidney Int 2002; 62: 654-667.
22. Burne, M.J., Daniels, F., El Gandour, A. et al. *Identification of the CD4(+) T cell as a major pathogenic factor in ischemic acute renal failure*. J Clin Invest 2001; 108: 1283-1298.
23. Hauet, T., Goujon, J.M., Vandewalle, A. *To what extent can limiting cold ischemia/reperfusion injury prevent delayed graft function?* Nephrol Dial Transplant 2001; 16: 1982-1985.

PHARMACODYNAMICS OF CALCINEURIN INHIBITORS

P.F. Halloran

University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada

The most important drugs in transplantation over the past two decades have been the calcineurin inhibitors ciclosporin and tacrolimus. These drugs engage ubiquitous intracellular proteins called immunophilins, namely, cyclophilin and FKBP, respectively. The new drug-immunophilin complexes thus formed are the active drugs. They engage calcineurin, also known as protein phosphatase 2B, and inhibit its phosphatase activity for protein substrates. Of the large number of substrates of calcineurin, most interest has focused on the NFAT family of transcription factors. Some of these are involved in regulating the transcription of cytokines such as IL-2. By dephosphorylating NFAT proteins, calcineurin causes them to translocate to the nucleus and activate transcription.

The administration of ciclosporin results in a sharp decline in calcineurin activity as monitored by assaying the phosphatase activity against specific substrates in cell supernatants *ex vivo*. Our studies indicate that calcineurin inhibition closely reflects ciclosporin levels and effects *in vivo* in mice and humans. Calcineurin inhibition is not complete in humans receiving ciclosporin. For this reason, it is necessary to adjust and monitor doses and levels carefully. In the case of tacrolimus, the correlations among drug concentration, drug effects and calcineurin activity are less satisfactory. Part of this problem may lie in limiting amounts of the binding protein FKBP, but the stoichiometry of calcineurin, FKBP and tacrolimus in the assay may simply not simulate that *in vivo*. We have postulated that the problem may be that FKBP and calcineurin are preassembled in some compartment that is disrupted in the *ex vivo* assay conditions. Speculation aside, our findings indicate that the relationship between calcineurin inhibition in the assay and tacrolimus effects *in vivo* are less clear than they are for ciclosporin.

Calcineurin inhibition represents the probable explanation of the immunosuppressive and toxic effects of ciclosporin and tacrolimus, but other mechanisms are invoked as well, such as induction of TGF- β . This relationship remains murky, however. TGF- β is an abundant and complex factor in development, inflammation, scarring, repair of injury and oncogenesis, and it has many paradoxical effects. For example, TGF- β is induced in many forms of renal injury. But, when TGF- β is associated with nephrotoxicity, is it a cause or an effect? These issues are as yet unresolved.

RAPAMICINA

M. Brunet

Laboratori de Farmacologia, Centre de Diagnòstic Biomèdic, Hospital Clínic, Universitat de Barcelona

La rapamicina es un fármaco que posee un elevado potencial inmunosupresor y antiproliferativo. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la enzima intralinfocitaria mTOR, enzima multifuncional que desempeña un papel relevante en la síntesis del ADN y proteínas necesarias para la división celular desde la fase G1 a la S. La rapamicina es un profármaco que presenta una elevada afinidad por las inmunofilinas intralinfocitarias, en especial por la FKBP12, a la cual se une formando el complejo farmacológicamente activo FKBP12-SRL, cuya diana específica de acción es la mTOR.

Diversos estudios multicéntricos han puesto de manifiesto que se establece una estrecha correlación entre las concentraciones sanguíneas de la rapamicina y su efecto inmunosupresor o la aparición de efectos adversos. Por ello, la monitorización de este fármaco permite elegir las dosis y las concentraciones más adecuadas de rapamicina en situaciones de monoterapia, o bien en terapias combinadas con inhibidores de la calcineurina o con micofenolato de mofetilo.

La monitorización de la rapamicina queda ampliamente justificada por la elevada variabilidad farmacocinética intra e interindividual, por las notables interacciones farmacocinéticas y farmacodinámicas que se producen entre este fármaco y la ciclosporina, el tacrolímús, el micofenolato de mofetilo y otros sustratos del citocromo P450 3A4, así como por la estrecha correlación entre las concentraciones sanguíneas y el efecto farmacológico o tóxico. En el caso de la rapamicina, es de destacar que se establece una buena correlación entre las concentraciones antes de la dosis matinal (C_{\min}) y el valor del área bajo la curva (AUC). Por ello, la monitorización de su C_{\min} permite ajustar la dosis para alcanzar en cada paciente el grado de inmunosupresión adecuado con un mínimo de toxicidad.

Los primeros estudios multicéntricos de fases II y III en pacientes adultos trasplantados renales demostraron que concentraciones de rapamicina superiores a 20 ng/ml se asociaban a la aparición de hiperlipidemia y mielosupresión, mientras que si éstas eran inferiores a 4 ng/ml ello se correlacionaba con mayor incidencia de ineficacia terapéutica. Los resultados obtenidos en estos estudios multicéntricos europeos y americanos permitieron establecer un margen terapéutico preliminar para la rapamicina de 4 a 12 ng/ml (por HPLC/UV; de 5 a 15 ng/ml método enzimático), en los pacientes trasplantados renales que reciben ciclosporina concomitantemente. Para alcanzar estas concentraciones se aconseja iniciar la terapia con una dosis de carga de 6 mg de rapamicina, seguida de una dosis de mantenimiento diaria de 2 mg/día, que se ajustará en cada paciente para alcanzar las concentraciones dentro del margen terapéutico.

Respecto a las interacciones farmacológicas entre la ciclosporina y la rapamicina, se conoce que la ciclosporina aumenta en un 50% el valor de la C_{\min} y del AUC de la rapamicina, cuando ésta se administra cuatro horas después de la dosis matinal de ciclosporina. Esta notable interacción farmacocinética se explica porque la ciclosporina compete con la rapamicina en el proceso de biotransformación a través de la isoenzima CYP 3A4, a nivel gastrointestinal y hepático, y también porque la ciclosporina es un potente inhibidor de las p-glucoproteínas. Por su parte, la rapamicina aumenta ligeramente las concentraciones de ciclosporina, y por ello la dosis de este inhibidor de la calcineurina debe disminuirse aproximadamente un 15% para mantener las concentraciones dentro del margen terapéutico.

La asociación de ciclosporina y rapamicina presenta una notable sinergia en cuanto a su acción inmunosupresora y también respecto a la aparición de efectos adversos. En este sentido, estudios en animales de experimentación han demostrado que la ciclosporina altera significativamente la distribución de la rapamicina, favoreciendo su acumulación tisular, especialmente en el riñón y en el hígado. Por ello, la combinación de ambos fármacos puede favorecer la nefrotoxicidad asociada a la ciclosporina. La ciclosporina también puede potenciar la toxicidad de la rapamicina mediante mecanismos farmacodinámicos que favorecen la mielosupresión o la hiperlipidemia. Estos conocimientos indican que ambos agentes deben combinarse a dosis bajas, y que las concentraciones óptimas se ajustarán en función del perfil de toxicidad que predomine en cada paciente.

En cuanto a la asociación de rapamicina y tacrolimús, la mayoría de estudios experimentales y clínicos demuestran que ambos fármacos pueden administrarse simultáneamente en pacientes trasplantados. La concentración de la inmunofilina FKBP12 intralinfocitaria es lo suficientemente elevada como para que ambos fármacos puedan formar sus correspondientes complejos activos (FKBP12-TRL y FKBP12-SRL), incluso los dos inmunosupresores alcanzan su concentración máxima. La mayoría de estudios coinciden en que no se producen interacciones farmacocinéticas significativas en el perfil de absorción de la rapamicina cuando se administra conjuntamente con tacrolimús. Sin embargo, la rapamicina puede disminuir aproximadamente en un 20% a 30% el valor del AUC del tacrolimús.

La asociación de tacrolimús y sirolimús presenta una potente sinergia de acción inmunosupresora, que permite administrar ambos medicamentos a dosis más bajas de las convencionales. En los estudios piloto realizados en pacientes trasplantados renales tratados con rapamicina más tacrolimús más esteroides, se observó que en un porcentaje elevado de casos no se conseguían concentraciones dentro del margen terapéutico establecido para cada fármaco. La terapia con rapamicina se iniciaba según los conocimientos adquiridos de su asociación con ciclosporina (rapamicina, una dosis de carga de 6 mg el primer día, seguida de una dosis diaria de mantenimiento de 2 mg). Sin embargo, al no producirse una interacción farmacocinética entre la rapamicina y el tacrolimús que favorezca un incremento significativo de las concentraciones de ésta, ha sido necesario modificar las dosis de carga y de mantenimiento, con el objetivo de alcanzar concentraciones de rapamicina dentro del margen terapéutico en los primeros días postrasplante y para prevenir con mayor eficacia los episodios de rechazo agudo. Estudios muy recientes demuestran la importancia de administrar dosis de carga de 15 mg de rapamicina (de uno a tres días) seguidas de dosis de mantenimiento de 5 a 10 mg (durante una semana), para obtener una incidencia de rechazo agudo inferior al 10%, sin que se observe un incremento significativo en la aparición de efectos adversos.

En definitiva, la monitorización de la rapamicina, en monoterapia o combinada con ICN, es imprescindible para la elección de las dosis más adecuadas y poder establecer los márgenes terapéuticos que garanticen una inmunosupresión eficaz y segura.

MICOFENOLATO DE MOFETILO

L. Pou

Servicio de Bioquímica, Hospital Vall d'Hebron, Barcelona

El micofenolato de mofetilo es un profármaco que se transforma en ácido micofenólico por la acción de las esterasas. El ácido micofenólico ejerce su acción inmunosupresora inhibiendo a la inosinmonofosfatodeshidrogenasa, una enzima clave en la síntesis *de novo* de las purinas. El principal metabolito (inactivo) es el glucurónido del ácido fenólico. Se han identificado otros metabolitos, uno de ellos el derivado acilglucurónido, presenta actividad inmunosupresora y se ha implicado en los mecanismos de toxicidad del fármaco. El glucurónido del ácido fenólico se elimina fundamentalmente por la orina; una pequeña parte puede llegar otra vez a la sangre mediante la circulación enterohepática, la cual condiciona la farmacocinética del ácido micofenólico en la fase posdistributiva, además de ser responsable de la aparición de un segundo pico de concentración, que se observa en el perfil cinético de algunos pacientes.

El ácido micofenólico presenta una amplia variabilidad farmacocinética, tanto inter como intraindividual, atribuida fundamentalmente a tres factores: la edad, la proporción de fármaco libre (el aclaramiento del ácido micofenólico es de tipo restrictivo) y la comedición con otros inmunosupresores.

Es conocido que los pacientes tratados con tacrolimús y micofenolato de mofetilo presentan concentraciones de ácido micofenólico significativamente más altas que los que han recibido las mismas dosis de micofenolato de mofetilo y ciclosporina, independientemente del periodo postrasplante. En un principio se lanzó la teoría de que el tacrolimús inhibía el metabolismo del ácido micofenólico, dado que *in vitro* es un inhibidor de la glucuronidasa 90 veces más potente que la ciclosporina. En estudios posteriores, al comparar las concentraciones en poblaciones tratadas sólo con micofenolato de mofetilo, se constató que las de ácido micofenólico eran significativamente más ba-

jas cuando se administraba conjuntamente con ciclosporina. El mecanismo de interacción entre el ácido micofenólico y los anticalcineurínicos no está totalmente aclarado, aunque varios autores sugieren que la ciclosporina inhibiría la excreción de glucurónido del ácido fenólico del hepatocito a la bilis. En este sentido, un trabajo de van Gelder y cols. (2001) en ratas observa que los perfiles farmacocinéticos de los animales tratados con micofenolato de mofetilo o micofenolato de mofetilo asociado a tacrolimús presentaban un segundo pico de concentración consistente con la circulación enterohepática, ausente en los que recibían micofenolato de mofetilo asociado a ciclosporina.

El análisis retrospectivo de los primeros ensayos sobre trasplante renal demostraron que unos valores del área bajo la curva (AUC) de ácido micofenólico superiores a 40 mg·h/l se asociaban a una menor incidencia de rechazo. Posteriormente, la mayor parte de estudios prospectivos han confirmado estos resultados. En el trasplante cardíaco la menor incidencia de rechazo se observa con concentraciones predosis superiores a 2 mg/l.

Los estudios multicéntricos controlados no encuentran correlación entre las concentraciones plasmáticas de ácido micofenólico y la aparición de efectos adversos, aunque algunos autores observan que la concentración a los 30 minutos posteriores a la dosis se asocia a episodios de toxicidad. No se han hallado diferencias entre C_{\min} , C_{\max} y AUC para discriminar la toxicidad del fármaco.

La utilidad de la monitorización del ácido micofenólico es un tema controvertido. Las recomendaciones del año 2001 establecen objetivos de concentración para AUC (30 a 60 mg·h/l) y C_{\min} (1 a 3,5 mg/l), aunque aconsejan valorar más de una concentración predosis. Se debe evaluar el incremento de fracción libre en los casos de insuficiencia renal, hipoalbuminemia e hiperbilirrubinemia.

IMMUNOSUPPRESSIVE DRUG DISCOVERY

R.E. Morris

Novartis Pharma AG, Corporate Headquarters, Basel, Switzerland

Immunosuppressive drug discovery has two main goals: 1) to create novel low-molecular-weight organic molecules and high-molecular-weight biologicals that effectively control all forms of allograft rejection and 2) to create molecules that are so selective in their actions on immune cell-specific targets that the side effects of these drugs will be minimal. If these goals can be achieved, it is likely that improved immunosuppression will be used for applications in autoimmune disease, thus expanding the use of these drugs well beyond transplant patients. For improved immunosuppression to be achieved, there are several stages that must be successful. Immune cell-selective targets (normally proteins) must be identified by understanding the differences in genomic and proteomic profiles between resting immune cells and alloactivated immune cells, and between immune cells in nonrejecting organs and rejecting organs. These differences can be used to identify genes and proteins that may be responsible for rejection. But before drugs can be discovered to block the actions of these targets, the targets must be validated (*i.e.*, shown to be pivotal for immune function). Validation is performed by using siRNA, knockout mice and monoclonal antibodies to these targets to prove that inactivating either mRNA for the targets or the targets themselves suppresses immune functions important for alloreactivity. Once a target has been validated, it is expressed in large quantity by cDNA techniques and used in *in vitro* assays to screen hundreds of thousands of chemicals for their binding to the target. The most promising of the chemicals are further tested for their immunosuppressive effects on immune cells *in vitro*, and the most selective compounds from these secondary screenings are modified by medicinal chemistry to improve immune cell selectivity, potency, pharmacokinetics, bioavailability, solubility and many more characteristics required to convert a molecule into a drug. Extensive preclinical studies in experimental animals use pharmacokinetic, pharmacodynamic and safety assessments after dosing in nontransplanted animals to select the compounds in the drug class for the target which have the best pharmacokinetic and pharmacodynamic properties and

which have the widest therapeutic index based on the difference in drug exposures required to produce pharmacodynamic effects *versus* exposures that cause adverse effects. Finally, the best compound is tested in humans in proof-of-concept assays to insure that it inhibits the desired target. After successful proof-of-concept testing, the compound is ready for registrational clinical trials. The steps noted above precede registrational clinical trials and can take over a decade.

UTILIDAD DE DACLIZUMAB EN LA TERAPIA DE INDUCCIÓN EN EL TRASPLANTE CARDIACO. RESULTADOS DEL ESTUDIO ZxHTX/00

G. Rábago

Facultad de Medicina y Clínica Universitaria, Departamento de Cardiología y Cirugía Cardiovascular, Universidad de Navarra, Pamplona

La utilización de terapias de inducción con anticuerpos monoclonales anti IL-2 ha demostrado su eficacia en la prevención de episodios de rechazo agudo en los pacientes con trasplante cardiaco. Estos resultados nos animaron a diseñar un estudio piloto, multicéntrico, con brazo único abierto y no comparativo, utilizando dos dosis de daclizumab en asociación con FK-506, micofenolato de mofetilo y dosis bajas de corticoides, en un intento por determinar la eficacia y seguridad de este tratamiento.

Método

Cuarenta pacientes a los que se les había realizado por primera vez un trasplante cardiaco recibieron dos dosis (en los días 1 y 14) de daclizumab (1 mg/kg) como terapia de inducción. Como inmunosupresor de base se les administró FK-506 a dosis de 0,075 mg/kg, ajustado según concentraciones valle de 8 a 12 ng/ml, micofenolato de mofetilo 1 gramo cada 12 horas y prednisona a dosis bajas (0,15 mg/kg). Los pacientes fueron controlados mediante biopsia endomiocárdica, según el protocolo establecido. Se presentaron los datos a tres meses.

Resultados

Dos pacientes fallecieron por fallo primario del injerto (el primer día) y sepsis (después de dos semanas), siendo la mortalidad durante el seguimiento del 5%. Tres pacientes fueron excluidos por cambio o utilización de una medicación no autorizada en el protocolo. En total se realizaron 173 biopsias, de las cuales el 8% fue igual o superior a 3A, según la clasificación de la ISHLT. De todos los pacientes, 11 (28%) presentaron un rechazo igual o superior a 3A, pero resultó asintomático (excepto en dos casos) y se resolvió con bolos de corticoides. Curiosamente, el 80% de las mujeres incluidas en el estudio (cinco pacientes) presentaron algún rechazo, y el 90% de todos los pacientes con rechazo tenía concentraciones subóptimas de uno o dos fármacos inmunosupresores. La tolerancia al daclizumab fue excelente, sin ningún episodio grave relacionado con su administración. No se produjeron alteraciones hematológicas, enzimáticas ni metabólicas. En cuanto a los episodios de infecciones, se registraron siete virales (cinco por citomegalovirus) y dos neumonías no filiadas.

Conclusión

El tratamiento inmunosupresor que consiste en dos dosis de daclizumab en asociación con micofenolato de mofetilo, FK-506 y dosis bajas de esteroides es eficaz en el trasplante cardiaco. Se ha presentado una tasa aceptable de rechazo, con una baja mortalidad. Este tratamiento es seguro, con un perfil de efectos adversos esperable para dicha asociación. La inducción con dos dosis de daclizumab constituye una elección válida en el trasplante cardiaco.

OPTIMIZACIÓN DEL TRATAMIENTO CLÁSICO CON MONITORIZACIÓN DE NEORAL MEDIANTE C_2

B. Díaz Molina, J.L. Rodríguez Lambert, M.J. Bernardo Rodríguez, L. Tricas y M.E. Gutiérrez Arias
Servicio de Inmunología, Hospital Central de Asturias, Oviedo

Introducción

La farmacocinética de la ciclosporina es compleja, siendo la variable clave su absorción sistémica. La fase de absorción se produce en las cuatro horas siguientes a la toma del medicamento, precisamente cuando el efecto inmunosupresor es máximo. En esta fase hay una gran variabilidad tanto inter como intraindividual. Se ha observado que el área bajo la curva en estas cuatro horas (AUC_{0-4}) es el mejor predictor de aparición del rechazo agudo. Por razones prácticas se ha buscado cuál es el punto de muestreo que mejor se correlaciona con el AUC_{0-4} , y el resultado son las concentraciones dos horas después de la dosis (C_2). Actualmente hay datos que apuntan que la monitorización C_2 en el trasplante cardiaco estable (de más de un año) consigue un mejor control del paciente.

Objetivos

Los objetivos del presente estudio son:

- 1) Averiguar cuál es la proporción de malos absorbedores entre los pacientes tratados con ciclosporina en microemulsión.
- 2) Hallar si existe correlación entre las concentraciones C_2 y las concentraciones valle.
- 3) Hallar si existe correlación entre las concentraciones C_2 y la dosis por kg.
- 4) Determinar la relación entre las concentraciones C_2 y la existencia de rechazo agudo.
- 5) Determinar la relación entre las concentraciones C_2 y la presencia de toxicidad renal.

Pacientes y métodos

En 25 pacientes consecutivos con trasplante cardiaco *de novo* (menos de un año desde el trasplante) se determinaron las concentraciones valle (C_0) y las concentraciones C_2 . Todos recibieron tratamiento inductor, bien con OKT3, o bien con basiliximab, prednisona en dosis decrecientes y micofenolato de mofetilo.

Con objeto de evitar errores en el muestreo, las extracciones sanguíneas para determinar las concentraciones valle y a las dos horas se realizaron en régimen de ingreso hospitalario, siempre por la misma persona. Coincidiendo con la extracción para hallar las concentraciones de ciclosporina, se determinó la uremia y la creatinina sérica. Así mismo, se recogió la dosis diaria de Neoral, el peso del paciente y la fecha en que se realizó la extracción. No se alteró la programación de las biopsias endomiocárdicas efectuadas según el protocolo de nuestro centro, es decir, a las dos semanas y en los meses 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9 y 12 postrasplante.

Los pacientes fueron divididos en cuatro grupos, según la media de las concentraciones C_2 . Así, el grupo 1 incluía a aquellos cuya media de C_2 era inferior a 1000 ng/ml, en el grupo 2 las concentraciones eran de 1000 a 1200 ng/ml, en el grupo 3 éstas oscilaban entre 1200 y 1500 ng/ml y en el grupo 4 superaban los 1500 ng/ml.

Los ajustes de dosis se realizaron según las concentraciones valle, con un objetivo de 200 a 250 ng/ml en los primeros seis meses postrasplante y de 150 a 200 ng/ml entre los meses 6 y 12. Se tenían en cuenta la situación clínica del paciente y las concentraciones C_2 , sirviendo de referencia unas cifras de entre 1200 y 1500 ng/ml en los primeros seis meses postrasplante y de 1000 a 1200 ng/ml del sexto al décimo segundo mes.

En la práctica clínica, algunos pacientes manifiestan un marcado retraso en la absorción de la ciclosporina (absorbedores lentos). Si modificamos la dosis de Neoral según C_2 podemos ocasionar sobreexposición. Un cociente entre C_2 (g/ml) y dosis (mg/kg) inferior a 0,2 identifica a los malos absorbedores.

Resultados

En total se realizaron 107 determinaciones C_2 , con una media de 4,28 muestras por paciente, y se practicaron 72 biopsias endomiocárdicas, lo cual supone una media de 2,88 biopsias por paciente.

El seguimiento medio de los pacientes fue aproximadamente de 141 a 120 días, siendo el mínimo de cuatro y el máximo de 364 días.

Entre C_0 y C_2 existe un pobre coeficiente de correlación de Pearson de 0,598, con un valor de $p=0.002$, no existiendo correlación entre la dosis por kg con las concentraciones valle ni con las determinadas a las dos horas posdosis.

De los 25 pacientes estudiados, en tres casos resultaba un cociente entre las concentraciones C_2 ($\mu\text{g/ml}$) y la dosis recibida (mg/kg) inferior a 0,2 $\mu\text{g/ml/mg/kg}$, es decir, eran malos absorbedores, lo cual supone un 12% de los pacientes trasplantados en tratamiento con ciclosporina en microemulsión.

En cuanto a la distribución de los pacientes según la concentración de C_2 , 20 individuos (80%), pertenecían al grupo 1, cuatro (16%) al grupo 2 y uno (4%) al grupo 3. Ningún paciente tenía concentraciones superiores a 1500 ng/dl.

En el grupo 1 el 60% de los pacientes tenían algún grado de rechazo agudo, y en el grupo 2 el 50%. En el grupo 3 no se detectó ningún episodio de rechazo.

Además de ser el grupo con mayor número de episodios de rechazo, el grupo 1 presentó los episodios de rechazo de más gravedad, con un episodio de rechazo 3A y dos de rechazo 2, mientras que en el grupo 2 se halló un episodio de rechazo 1A y cuatro de rechazo 1B, y en el grupo 3 se registraron cuatro episodios de rechazo 1A, todos ellos grados de la ISHLT. No hubo diferencias estadísticamente significativas respecto a los porcentajes de cada grado de rechazo en los cuatro grupos de estudio (prueba χ^2 , $p=0.074$).

Tampoco hubo diferencias estadísticamente significativas entre las medias de la creatinina sérica en los cuatro grupos (Kruskal-Wallis, $p=0.819$). En el grupo 1 la media de creatinina era de 1,58 mg/dl \pm 0,37, 1,56 mg/dl \pm 0,06 en el grupo 2 y 1,57 mg/dl en el grupo 3.

Conclusiones

- Al igual que en el trasplante renal y en el hepático, existe una pobre correlación de las concentraciones C_2 con las valle, mientras que ni la C_0 ni la C_2 se correlacionan con la dosis por kg.
- Aproximadamente un 12% de los pacientes son malos absorbedores.
- Existe una tendencia a presentar menos rechazo agudo y menor toxicidad renal en pacientes con concentraciones de C_2 entre 1000 y 1500 ng/ml.
- En el trasplante cardiaco, como en el renal y en el hepático, la C_2 parece ser la mejor herramienta para monitorizar el tratamiento con ciclosporina en microemulsión.

Esta experiencia con 25 pacientes nos proporciona datos preliminares que deben validarse con otros ensayos multicéntricos en curso, como el *Motown (Monitoring of Neoral two hours absorption with Simulect in heart transplantation)*.

Bibliografía

- Cantarovich, M. y cols. *Two-hour cyclosporine level determination is the appropriate tool to monitor Neoral therapy*. Clin Transplant 1998; 12: 243-249.
- Cantarovich, M. y cols. *Clinical benefit of neoral dose monitoring with cyclosporine 2-hr post-dose levels compared with trough levels in stable heart transplant patients*. Transplantation 1999; 68: 1839-1842.

- Chatenoud, L., Roche, A., Lavenne, D. y cols. *Clinical aspects of immunologic monitoring*. Transplant Proc 1999; 31: 1812-1813.
- Halloran, P.F., Helms, L.M., Kung, L. y cols. *The temporal profile of calcineurin inhibition by cyclosporine in vivo*. Transplantation 1999; 68: 1356-1361.
- Johnston, A. Personal communication, 1999.
- Johnston, A., David, O.J., Cooney, G.F. *Pharmacokinetic validation of Neoral absorption profiling*. Transplant Proc 2000; 32 (Suppl. 3A): 53S-56S.
- Keown, P. *Two-hour cyclosporine level determination is the appropriate tool to monitor Neoral therapy*. Personal communication, 2002.
- Lindholm, A., Kahan, B.D. *Influence of cyclosporine pharmacokinetics, trough concentrations, and AUC monitoring on outcome after kidney transplantation*. Clin Pharmacol Ther 1993; 55: 205-218.
- Sindhi, R., LaVia, M.F., Pauling, E. y cols. *Stimulated response of peripheral lymphocytes may distinguish cyclosporine effect in renal transplant recipients receiving a cyclosporine + rapamycin regimen*. Transplantation 2000; 69: 432-436.

EXPERIENCIA CON TACROLIMÚS EN EL TRASPLANTE CARDIACO

M.G. Crespo-Leiro

Programa de Trasplante Cardíaco, Hospital Juan Canalejo, La Coruña

El tacrolimús, antes llamado FK-506 (Fujisawa Pharmaceutical Co., Healthcare, Japón), es un macrólido derivado del hongo *Streptomyces tsukubaensis*, con gran potencia inmunosupresora. Aunque la estructura molecular es diferente de la de la ciclosporina, ambos fármacos, mediante la unión a una inmunofilina citoplasmática específica (en el caso del tacrolimús la FKPB-12), bloquean la actividad de la calcineurina e inhiben la transcripción de diferentes genes responsables, como el causante de la síntesis de la IL-2, y frenan la proliferación de las células T y B. La primera utilización del tacrolimús en trasplante cardíaco fue en la Universidad de Pittsburgh en 1989, inicialmente como tratamiento de rescate y después como inmunosupresión primaria, utilizando un régimen de triple terapia.

En dos estudios multicéntricos aleatorizados de tacrolimús frente a ciclosporina (formulación estándar), asociados a azatioprina y esteroides, el tacrolimús, comparado con la ciclosporina, mostró una eficacia similar en cuanto a incidencia de rechazos y supervivencia, ninguna diferencia respecto a nefrotoxicidad, diabetes o infecciones y un efecto más favorable que la ciclosporina en la hipertensión arterial y la dislipidemia. Se realizó un ensayo clínico en Europa comparando el tacrolimús con la ciclosporina (formulación Neoral), en asociación con azatioprina, esteroides y un tratamiento de inducción con anticuerpos, cuyos resultados están pendientes. En un estudio piloto que asociaba tacrolimús con micofenolato de mofetilo y esteroides, se sugiere que ajustando la dosis de micofenolato de mofetilo para mantener unas concentraciones de ácido micofenólico en sangre de 2,5 y 4,5 µg/ml se consigue una baja incidencia de rechazo, con una toxicidad similar a las asociaciones anteriores. Está en marcha el estudio europeo PANEUHTX, aleatorizado y multicéntrico, que compara tacrolimús más micofenolato de mofetilo frente a ciclosporina Neoral más micofenolato de mofetilo, ambos asociados a esteroides y tratamiento de inducción. En pacientes que reciben inmunosupresión primaria con ciclosporina, el tacrolimús ha mostrado ser eficaz como tratamiento de rescate del rechazo agudo refractario a esteroides. Existe experiencia preliminar notificada, pero con resultados prometedores en la utilización del tacrolimús como inmunosupresor primario asociado a esteroides, con retirada posterior de éstos y permaneciendo el tacrolimús como monoterapia, aunque está por definir la eficacia y seguridad a largo plazo de dicha pauta.

En resumen, el tacrolimús puede ser empleado como alternativa a la ciclosporina en los actuales regímenes inmunosupresores. Dado que no produce hiperplasia gingival ni hirsutismo (ambos relacionados con la ciclosporina), puede ser de utilidad en las mujeres y en los pacientes pediátricos, con el fin de mejorar su calidad de vida y

su adherencia al tratamiento, así como en los que tienen hipertensión arterial o dislipidemia de difícil control. Estudios futuros que parecen prometedores aclararán la eficacia y seguridad del tacrolimús en asociación con micofenolato de mofetilo o rapamicina.

PROPHYLACTIC IMMUNOSUPPRESSIVE REGIMENS IN RENAL TRANSPLANTATION

Y. Vanrenterghem

The Leuven Collaborative Group for Kidney Transplantation, Department of Nephrology, University Hospital Gasthuisberg, Leuven, Belgium

After the introduction of ciclosporin in 1983, prophylactic immunosuppression in renal transplantation has mainly consisted of a combination of ciclosporin and steroids (dual therapy), in some countries associated with azathioprine (triple therapy). Over the last decade we have seen an almost explosive increase in the number of new immunosuppressive agents. The triple drug combination of either ciclosporin or tacrolimus, mycophenolate mofetil and steroids has now become the golden standard. One-year patient survival is often 95% or higher with a one-year graft survival of around 90%. The incidence of acute rejections during the first year after transplantation has been reduced to 20%.

In two randomized, double-blind, multicenter trials, one using a combination of ciclosporin, mycophenolate mofetil and steroids, and the other using tacrolimus, mycophenolate mofetil and steroids, it was shown that with this induction regimen, steroids can be safely withdrawn three months after transplantation, with an acute rejection rate after withdrawal of 4-5%. Replacing mycophenolate mofetil with monoclonal antibodies against the IL-2 receptor has been shown to be safe, yielding comparable patient and graft survivals, but with a slightly higher incidence of acute rejections. Calcineurin inhibitor-free regimens have been attempted, mainly with the goal of improving the function of the renal allograft. Combination induction with IL-2R monoclonal antibodies, mycophenolate mofetil and steroids has shown excellent patient and graft survival, but an excessively high 52% incidence of acute rejection. The combination of rapamycin and azathioprine plus steroids also resulted in an excessive incidence of rejection; however, the replacement of azathioprine with mycophenolate mofetil led to an acceptable incidence of acute rejections.

More recently, the combination of tacrolimus with various doses of rapamycin has been tested. Based on the currently available data from the phase II trials, it can be concluded that this combination may result in a very low incidence of acute rejections (10% or less), with improvement of renal function. Reduced doses of tacrolimus in combination with IL-2R monoclonal antibodies, mycophenolate mofetil and steroids also result in better renal function. At present, several trials have been initiated to determine whether steroids can be completely avoided from the very beginning after transplantation. Whether this approach will result in higher tolerance remains to be proven.

IMMUNOSUPPRESSION OF HYPERIMMUNIZED PATIENTS

D. Glotz

Hôpital Européen Georges Pompidou and Unité INSERM U430, Paris, France

Hyperimmunized patients, *i.e.*, patients with sera anti-HLA antibodies that react with more than 80% of a panel, pose the transplant physician with three types of difficulties: 1) giving these patients access to transplantation, mainly through deimmunization procedures; 2) avoiding rejection once transplantation has been performed and, last but not least, 3) avoiding overimmunosuppression in the long term. Access of these patients to transplantation can only

be achieved through specific procedures aimed at causing the disappearance of the anti-HLA antibodies. Our group has pioneered the use of intravenous immunoglobulins for this purpose and has recently shown that three monthly cycles of 1 g/kg intravenous immunoglobulins can lead, in more than 80% of patients, to a dramatic and sustained drop in anti-HLA antibody titers. These findings have been confirmed by others, most notably Stanley Jordan *et al.* in California. Another approach currently under investigation is the association of plasmapheresis with intravenous immunoglobulins, an approach advocated by Lloyd Ratner *et al.* at John Hopkins University.

Once deimmunized, these patients need a heavy immunosuppressive protocol when transplanted to minimize the risks of early vascular rejection. The benefits of an induction agent such as OKT3 or thymoglobulin in these patients has been well documented, both in a metaanalysis by Szczech and in a randomized, single-center study by Thibaudin *et al.* Our group uses –together with a 10-day course of thymoglobulin, tacrolimus, Cellcept and steroids– an additional cycle of intravenous immunoglobulins. This approach, in our experience, leads to excellent graft and patient survival, with a low incidence of rejection (less than 10%).

However, such heavy immunosuppression can lead, in the long term, to tumoral or infectious complications. Thus, in our series of patients, we have had one case of PTLD and two cases of BK virus nephropathy. The challenge ahead is to devise a way of reducing immunosuppression a few months after transplant to limit the side effects without losing the efficacy that allowed those patients to finally benefit from transplantation.

NEORAL C₂ MONITORING IN RENAL TRANSPLANTATION

E. Thervet

Service de Néphrologie et Transplantation Rénale, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

Neoral C₂ monitoring is a patient management tool in which dose adjustment is determined based on the blood concentration of Neoral, the microemulsion formulation of ciclosporin (CsAME), at two hours after administration.

For almost 20 years, ciclosporin has been known to have a narrow therapeutic index: therapeutic drug monitoring is therefore necessary. It has been shown that the efficacy of CsAME is associated with CsAME variability. Since the greatest variation of drug exposure occurs during the first four hours postdose, some authors have retrospectively analyzed their data to explore the role of AUC_{0→4} on the incidence of acute rejection. For example, in a retrospective study of 55 *de novo* renal transplant patients, an AUC_{0→4} above 4,400 ng.h/ml by days 3-5 posttransplant was associated with a 3% incidence of acute rejection at six months, compared to 45% in patients who did not achieve the target AUC_{0→4}. However, the AUC_{0→4} analysis is not easy to perform in clinical practice. Therefore, studies have been conducted to determine the best single time point that correlated with AUC_{0→4} in renal transplant recipients. In various studies, out of all the single time points assessed, C₂ showed the best correlation with AUC_{0→4} (r²=0.85). There was only a poor correlation between C₀ and AUC_{0→4} (r²=0.12). C₂ remains the best single time point for AUC_{0→4} correlation between days 3-84 posttransplantation. This correlation has also been found for other transplant populations, including liver, heart, lung and pediatric recipients.

Pharmacodynamic evidence, such as inhibition of calcineurin or the proportion of T lymphocytes that produce IL-2, also supports the use of C₂ monitoring in CsAME-treated patients. The immunosuppressive effects of CsAME are maximal and most consistent during the peak period of exposure, *i.e.*, within the first 1.5-2.5 hours postdose.

The predictive value of C₂ in CsAME-treated renal transplant patients has been assessed retrospectively. Patients managed by conventional C₀ monitoring were stratified according to whether their C₂ level was higher or lower than 1.5 µg/ml at day 7 posttransplant. A target CsAME C₂ level higher than 1.5 µg/ml at day 7 is associated with a low rate of acute rejection.

After these retrospective studies, the objectives of the MO2ART (Monitoring Of C₂ After Renal Transplantation) study were to prospectively assess the clinical benefit of CsAME C₂ monitoring during the first three months posttransplant and to evaluate optimal C₂ levels for maintenance therapy beyond three months in renal transplant patients. MO2ART is a 12-month international study of *de novo* renal transplant recipients managed by CsAME C₂

monitoring. Centers in 10 countries have recruited a total of 296 patients. The immunosuppressive regimen used in these patients associated CsAME, steroids and a purine synthesis inhibitor. Steroid dosage was used following local protocols. CsAME was initiated within 24 hours posttransplant at a dose of 5 mg/kg twice a day. CsAME dose had to be adjusted in order to achieve target C_2 range within five days posttransplant. In patients with delayed graft function, the use of a biological induction treatment was permitted and the C_2 target could be lowered by half. From day 5 and during the whole first month, this target was between 1.6-2 $\mu\text{g/ml}$. During the second month, this target was 1.4-1.6 $\mu\text{g/ml}$ and during the third month, it was 1.2-1.4 $\mu\text{g/ml}$. The patients were then randomized to either: 1) the high target group, with a target of 1-1.2 $\mu\text{g/ml}$ during months 4-6 and 0.8-1.0 $\mu\text{g/ml}$ until the first year posttransplantation or 2) the low target group, with targets of 0.8-1.0 $\mu\text{g/ml}$ and 0.6-0.8 $\mu\text{g/ml}$, respectively, for the same time periods. The only data available are the efficacy and safety results at three months, before randomization. All of the 277 patients evaluable were recipients of a primary or secondary graft. Mean recipient age was 46 years, 62% were male, 92% were Caucasian and 77% received a graft from a cadaveric donor.

Two thirds of the patients ($n=182$) experienced immediate graft function and one third ($n=91$) experienced delayed graft function. Of the patients experiencing immediate graft function, 60% achieved or exceeded the target C_2 range by day 5 posttransplant, with a median CsAME dose of 10.2 mg/kg/day at day 5. For patients with delayed graft function, because a 50% decrease in target C_2 was acceptable, most of the patients were below the initial target. Patients with delayed graft function received a median CsAME dose of 6.8 mg/kg/day by day 5 and 20% achieved or exceeded the standard target C_2 range by day 5. At one month posttransplantation, the majority of patients with delayed graft function were within the acceptable C_2 range.

In the overall population at three months, patient survival was 96.8% and graft survival was 92.9%. For patients with immediate graft function, patient survival was 98.1% and graft survival was 95.3%. In the 91 patients with delayed graft function, patient survival was 95.2% and graft survival was 90.0%. Among all 277 patients, there were 31 episodes of biopsy-proven acute rejection, mostly grades IA or IB rejection according to the Banff classification. The resulting Kaplan-Meier estimate is 11.9% at three months. In the group with immediate graft function, this incidence was 9.7%. In the 91 patients with delayed graft function, the global incidence was 16.5%. Interestingly, when antibody induction was used ($n=31$), only one patient in this group experienced an episode of acute rejection.

At three months, renal function was good in all groups of patients. The median serum creatinine was 132 $\mu\text{mol/l}$ in the overall population. This value was 130 $\mu\text{mol/l}$ in patients with immediate graft function *versus* 139 $\mu\text{mol/l}$ in the population with delayed graft function. Mean blood pressure was within normal range. Twenty-seven patients discontinued CsAME prior to month 3 (excluding deaths and graft failure) due to adverse events ($n=21$), unsatisfactory therapeutic response ($n=5$) and abnormal laboratory values ($n=1$). The MO2ART study is still ongoing and will determine the targeted C_2 levels between three months and one year.

Retrospective data regarding the targeted C_2 levels after one year are scarce. It has been shown that adult renal patients with chronic allograft nephropathy have significantly lower C_2 levels than those without chronic lesions, with observed C_2 levels of 0.49 $\mu\text{g/ml}$ and 1.05 $\mu\text{g/ml}$, respectively, for the two populations. We found similar results when we analyzed C_2 levels in 165 renal transplant recipients after one year. A study from an Italian group demonstrated that lowering C_2 levels below 0.8 $\mu\text{g/ml}$ may lower serum creatinine and improve other ciclosporin-related toxicities such as hypertrichosis and gum hyperplasia in renal transplant recipients long term.

One major drawback for the use of C_2 monitoring is related to the habits of the renal transplant community. We and others have now switched all our transplant population treated with CsAME to routine C_2 monitoring, so some guidelines for implementing this strategy may be derived from past experience. These recommendations focus on a step-by-step approach to implementation in order to obtain the commitment of all staff and patients, to set up a system that ensures that patients are sampled on time and to minimize the impact on workload. To achieve these objectives, the first step involves a review of scientific and clinical rationale by the clinical team. The second step is the more critical and involves the presentation of the C_2 monitoring concept to all team members, including clinicians, nurses, laboratory staff and patients. The third step is to define a transition team which must train the staff in every unit. After this transition team has developed specific tools and trained all personnel, pilot testing in a small group of patients may enable the transplant team to become familiar with CsAME target levels in different clinical situations. Finally, the full-scale implementation can take place.

In summary, many studies have shown that the monitoring of Neoral treatment using C_2 levels is scientifically sound and clinically relevant. The interim analysis of the MO2ART study has demonstrated that a high proportion of patients may achieve the C_2 target soon after transplantation. The chosen C_2 target is associated with a low incidence of biopsy-proven acute rejection and the safety profile is good. However, the optimal long-term (after three months and after one year) targets need to be defined. Implementation in a transplant unit is feasible but requires cooperation among transplant physicians, nurses, laboratory staff and patients. Many others questions, like identifying the C_2 targets for mTOR inhibitors, remain to be answered.

INTESTINAL TRANSPLANTATION IN CHILDREN

O. Goulet and Y. Révillon

Combined Program of Intestinal Transplantation, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

The results from the Intestinal Transplant Registry (www.intestinaltransplant.org) indicate that intestinal transplantation is currently an acceptable clinical modality for selected patients with permanent intestinal failure. To date, more than 800 intestinal transplantations have been performed throughout the world, essentially in the USA, Canada, France and the UK. Currently, the registry has conducted follow-up on 696 transplantations in 656 patients from 55 intestinal transplantation programs. Among recipients, 61% were children or adolescents. The transplants involved the isolated small bowel with or without the colon (41.8%), the liver–small bowel (44.5%) and multivisceral grafts (13.6%). The main indications in children were: short-bowel syndrome (62%), chronic intestinal pseudoobstruction syndrome (11%), severe intractable diarrhea (10%) and total aganglionosis/Hirschsprung's disease (7%). In the 106 adults, the main indications were: ischemia (21%), Crohn's disease (17%), trauma (15%), desmoid tumor (13%) or cancer (13%). Immunosuppression included tacrolimus (97%) and steroids in association with a variety of immunosuppressive agents, including mycophenolate mofetil, rapamycin, azathioprine and interleukin-2 blockers.

Overall, three-year patient survival is around 50-65%, depending on several factors related to the type of transplanted organ (*e.g.*, isolated intestine or combined with liver), the experience of the center, the immunosuppressive regimen and the period from 1991 to now. Posttransplant death was due mainly to infections (49%), multiorgan failure (26%) or lymphoma (10%). Full nutritional autonomy with complete discontinuation of parenteral nutrition has been achieved in 70% of the cases and partial recovery was documented in another 17%, giving a total rehabilitation rate of 87% in survivors, 13% of intestinal graft being removed. It is clear from the intestinal transplantation registry and from individual programs that prognosis has improved during the last 10 years. Centers that have performed at least 10 transplants have comparatively better graft and patient survival. Additionally, patient survival is associated with the type of organ transplanted, with better survival after small bowel transplantation. Nevertheless, care must be taken in the interpretation of these results because they represent the first 12 years of experience involving a large number of programs in children and adults, using different immunosuppressive regimens. In general, the clinical status of liver–small bowel recipients is poor at the time of transplantation, as suggested by the one- and two-year survival rates of 30% and 22%, respectively, in patients who have not undergone transplantation, as well as by the number of deaths of patients on a waiting list. On the other hand, the isolated small bowel graft not only has the highest incidence of rejection, but also requires more intense immunosuppression to control it.

At the Necker University Hospital in Paris, 20 isolated intestinal transplantations and 29 combined liver–intestine transplantations were performed after November 1994 in 46 children (14 girls) ranging between the ages of 2.5-15 years (median, 5 years). Associated right colon transplantation was performed 33 times (20 liver–intestine transplantations). All patients were on long-term parenteral nutrition for a median duration of 4.5 years (range, 18 months-13 years) for congenital enteropathy (n=16), short-bowel syndrome (n=14), Hirschsprung's disease (n=11) and intestinal pseudoobstruction (n=4). Immunosuppression included tacrolimus, methylprednisolone, aza-

thioprine (2 mg/kg/day) and IL-2 blockers (Simulect®, Novartis). All recipients received intravenous antibiotics until intestinal transit recovery and total bowel decontamination had been achieved. Treatment included ganciclovir for the first three months and EBV-PCR monitoring.

At follow-up ranging between six months and 8.5 years, 32 patients are alive (patient survival, 69.5%; graft survival, 55%). Recorded graft survival after liver–intestine transplantations is higher than after isolated intestinal transplantations ($p < 0.03$). Fourteen patients (8 receiving liver–intestine transplantations) died within 2.5 months from early surgical failure ($n = 3$), bacterial sepsis ($n = 5$), fungal sepsis ($n = 4$) and EBV-associated PTLD ($n = 2$). The first episode of intestinal rejection appeared a median of 13 days (range, 3–28 days) after grafting. Among 15 episodes of intestinal rejection, seven (six isolated intestinal transplantations) did not respond to three-day methylprednisolone bolus requiring antilymphoglobulins (Pasteur-Mérieux). Two recipients out of the seven died from EBV-associated PTLD, and five isolated intestinal transplantations recipients underwent graft removal. Acute liver rejection occurred 11 times in six patients during the first two months and responded to three-day methylprednisone bolus.

Surgical complications occurred in 20 recipients and were more frequent in combined liver–intestine than in isolated intestinal transplantations recipients (62% vs. 25%; $p < 0.05$). They included intestinal perforation, intestinal bleeding, biliary leak or stenosis, hepatic artery thrombosis, intraabdominal abscess, occlusion, eventration and chylous ascites. Infectious complications included bacterial sepsis ($n = 22$), fungal sepsis ($n = 7$), cytomegalovirus disease ($n = 8$) and EBV-associated posttransplant lymphoproliferative disease ($n = 10$). Three combined liver–intestine transplant recipients presented with lymphoma (mediastinal, intestinal, abdominal) 3–18 months after transplantation. All three resolved by decreasing immunosuppression and the use of antiCD-20 monoclonal antibodies. The following factors are significantly related to poor outcome (*i.e.*, death or graft loss): age of more than 7 years ($p < 0.01$), multiple surgery before transplantation ($p < 0.01$), TPN-related complications ($p < 0.01$), intestinal pseudoobstruction ($p < 0.01$), steroid-resistant intestinal rejection ($p < 0.01$) and fungal sepsis ($p < 0.01$). Right colon grafting did not affect patient or graft survival regardless of the type of transplantation. Feeding was introduced at a median of nine days posttransplant (6–62 days); 28 children (21 combined liver–intestine) were weaned from parenteral nutrition after 3–50 weeks and recovered normal growth velocity.

Intestinal transplantation is indicated for patients permanently dependent on parenteral nutrition. Functional grafts lead to intestinal autonomy (weaning off parenteral nutrition). However, as parenteral nutrition is generally well tolerated, even for long periods, each indication for intestinal transplantation must be carefully weighed in terms of survival rate, morbidity and quality of life. A global strategy for the management of intestinal failure should be designed.

INTESTINAL TRANSPLANTATION: ADVANCES IN IMMUNOSUPPRESSION AND SURGICAL TECHNIQUES

A.G. Tzakis¹, P. Tryphonopoulos¹, T. Kato¹, S. Nishida¹, D.M. Levi¹, J.R. Nery¹, J. Madariaga¹, W. De Faria¹, N. Mittal², J.F. Thompson² and P. Ruiz^{1,3}

¹Department of Surgery, Division of Transplantation; ²Department of Pediatrics, Division of Pediatric Gastroenterology; and

³Department of Pathology, Division of Immunopathology, University of Miami School of Medicine, Miami, Florida, USA

Campath-1-H is being utilized as induction immunosuppression for intestinal/multivisceral transplantation. Patient and graft survival in this preliminary study were similar to those found previously, but a significant decrease was observed in the incidence and severity of acute rejections, without an increase in opportunistic infections. Collage of the abdominal wall (transplantation of a composite graft of the abdominal wall) can provide biological coverage of the newly transplanted abdominal organs if necessary. Partial abdominal exenteration, *ex vivo* resection and intestinal autotransplantation may be useful in removing otherwise unresectable lesions of the route of the mesentery.

RESULTS AND QUALITY OF LIFE AFTER INTESTINAL TRANSPLANTATION

D. Sudan

University of Nebraska Medical Center, Omaha, Nebraska, USA

Since its introduction in the late 1960s, parenteral nutrition has been the standard treatment for patients unable to absorb nutrients from their intestine. Survival is generally excellent, with one-year patient survival over 90%. Approximately 90% of deaths in patients dependent on parenteral nutrition are related to the underlying disease and only 10% are a result of complications of the parenteral nutrition. A small group of individuals, however, develop severe and life-threatening complications of parenteral nutrition, including liver disease, vascular occlusions and infections. In these patients, intestinal transplantation can be a life-saving treatment for their intestinal failure.

Intestinal failure is a general term that encompasses all the causes for failure of absorption of nutrients from the gut. Intestinal failure can be the result of resections (*i.e.*, short-bowel syndrome), or the result of functional abnormalities precluding the absorption of nutrients from the intestine (*i.e.*, microvillous inclusion disease or pseudoobstruction). Although parenteral nutrition can provide adequate nutrition without serious complications in most individuals, a small number develop life-threatening complications during parenteral nutrition administration. Children on parenteral nutrition have a higher risk for the development of liver disease and therefore account for more than half of the recipients of intestinal transplantation.

Prior to the introduction of tacrolimus around 1990, there were only a few successful cases of intestinal transplantation reported. The intestinal allograft appears to be much more immunogenic than other solid organ allografts, and the immunosuppressive regimens that were available and provided for routine success in kidney and liver allografts were insufficient to prevent severe exfoliating rejection of the intestinal allografts. Since the early 1990s, however, tacrolimus has been used for standard immunosuppression in intestinal transplant recipients, and one-year patient survival has improved from 30% under ciclosporin-based immunosuppression to 65-70%. Despite the improved patient survival, complications have been frequent in the intestinal transplant recipient. Acute rejection of the intestinal allograft has been reported to occur in approximately 85% of intestinal transplant recipients. The incidence has been decreased to approximately 35% with the more recent introduction of interleukin-2 inhibitors such as basiliximab. Infections also occur in most recipients and include bacterial (90%), viral (45%) and fungal (30%) infections.

In recent years, more emphasis has been placed on quality of life as a measure of therapeutic interventions. Prolonging survival that is filled with suffering is not the goal of therapy, and patients therefore want to know that the quality of their lives will be good in addition to being prolonged. Measurements of quality of life, however, have been difficult historically due to the subjective nature of these determinations. Early measures were brief, subjective and usually determined by a caregiver such as a nurse or physician. An example is the Karnofsky score. Studies have shown, however, that a caregiver's assessment may differ from the assessment made by the patient. Health-related quality-of-life measures attempt to determine the level of functional well-being in terms of physical, social and psychological aspects or domains. More recently, emphasis has been on the development of tools that are reliable, reproducible, internally consistent (*i.e.*, when asked the same question in different ways the answer is the same) and valid. An example of a quality-of-life measure in widespread use that has undergone rigorous testing and been found to meet these qualifications of consistency and validity is the SF-36 form.

These quality-of-life measures were initially developed for adults due to concern over the ability of young children to understand abstract concepts. Studies in pediatric oncology, however, revealed that patients as young as five years old can reliably report on subjective symptoms such as pain. In the mid-1990s, a pediatric measure of quality of life was developed called the Child Health Questionnaire (CHQ). Initially, it was developed to be filled out by the parent. Over time, evidence has accumulated that differences may be found between the responses of parents and their children, with parents of ill children generally reporting worse scores than the child. Subsequently, child forms were also developed and tested.

We initially performed an ad hoc evaluation of quality of life in our pediatric intestinal transplant recipients. Although valuable preliminary data were obtained through a phone interview with the parents, ad hoc measures are

prone to bias and difficulty with interpretation due to the lack of standardization and testing for reliability and validity. We therefore elected to administer the CHQ to both parents and pediatric transplant recipients from our center. This could then be used to compare results with published norms, as well as with published results of children with other chronic illnesses.

In this study, we selected all pediatric transplant recipients who had a functional graft at more than one year after transplant and were more than five years old now. The mean age of these recipients was 10 years and they were at a mean of five years after transplantation. This study was performed by sending an introductory letter inviting participation in this study that contained all the elements of consent along with the pediatric patient (CF-87) and parent forms (PF-50) of the CHQ. The child forms contain 87 questions and the parent forms contain 50 questions. Each form takes approximately 20 minutes to complete. The questions ask about the ability to perform physical functions and also explore the psychosocial aspects of well-being. There are 14 domains evaluated and summary scores are calculated based on responses using a scale of 1-4 or 1-5. The domains evaluated included physical function, role limitations due to physical factors, general health, bodily pain, role limitations due to emotional factors, role limitations due to social factors, change in health, self-esteem, mental health, behavior, effect on family activities, family cohesion, parental impact on emotion and parental impact on time. All questionnaires had personal identifiers removed in order to maintain anonymity, and the patients and their parents were encouraged to be candid and as accurate as possible in answering the questions. The analysis was performed according to the instructions accompanying the questionnaires in the manual provided by the authors. Scores for each domain are reported as the mean (\pm standard deviation) for the entire group of patients or parents and are converted to a scale from 0-100, with 100 being the highest level of function or well-being. Comparisons were made by comparing 95% confidence intervals, with a level of significance set to $p < 0.05$. Published results were used for population norms as well as for other groups of children with chronic illness. Due to the small numbers, no subgroup analysis was performed for patients that were father out from transplant, for older children or for patients that had hospitalizations or illnesses within the six months or year prior to the questionnaire. It is likely that these factors and others may impact the analysis. Hopefully these differences will be explored in future studies with larger numbers.

Responses were obtained from 21 children and 24 parents out of the 32 eligible recipients. Three children were unable to answer the questions due to young age or autism. The demographics of the intestinal transplant recipients who responded included nine males and 12 females, and nine of the recipients had completed the sixth grade or higher levels of education. The parent form was completed by the recipient's mother most of the time (21/24).

The children reported remarkably similar scores throughout all domains compared to normal schoolchildren. When compared to pediatric patients on chronic dialysis, intestinal transplant recipients generally reported higher scores in most domains. Due to the small sample sizes in each group, the standard deviation is larger, and therefore only the difference in mental health scores reached the level of statistical significance set for this study. Parents of intestinal transplant recipients reported worse scores in six domains compared to parents of normal schoolchildren. These domains included physical function, role limitations due to physical problems, general health perception, negative impact on the parent in terms of emotion and time, and a negative effect on family activities.

These preliminary data are very exciting and suggest that children who receive intestinal transplants are capable of resuming a normal life after transplantation. This study furthermore identifies no areas where pediatric recipients perceive their functional well-being to be different from perceptions of normal schoolchildren. We know that these children continue to require medications and hospitalizations to undergo surgical procedures or to treat infections; however, we hypothesize that the children have adjusted over time to the differences that exist between them and normal schoolchildren so that they do not feel limited by their transplant. Parents of intestinal transplant recipients, on the other hand, may have persistent anxiety that influences their perception of the child's well-being. Many of the children who receive intestinal transplants are either hospitalized or in the intensive care unit prior to transplantation, and the fragility of the intestinal graft's function and impact on their child's well-being is fully realized by most of these parents. It is not surprising, therefore, in light of previous studies comparing parental proxy responses to those of children, that some differences were identified. Further studies in the same recipients over time may help to further understand these differences and evaluate the impact of complications on the overall perceptions. Additional studies are ongoing at our center and it is hoped that similar studies at other centers will confirm these preliminary findings.

LIVER TRANSPLANTATION IN HIV-INFECTED PATIENTS

D. Samuel

Centre Hépatobiliaire, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

Introduction

The prognosis of HIV infection has dramatically improved over the past years since the advent of antiretroviral therapy (HAART). Coinfection with hepatitis C (HCV) or B (HBV) virus occurs in 20-40% of patients. The evolution of viral disease in patients with HIV coinfection is more rapid than in non-coinfecting patients. Many of the coinfecting patients die of liver disease and not directly from HIV infection. For this reason, there is a strong pressure to offer transplantation to patients with life-threatening liver disease who are also coinfecting with HIV. Following is a description of our experience in liver transplant patients.

Liver transplantation in HIV-infected patients

Before the advent of HAART, the results of liver transplantation in HIV-infected patients were poor, a finding supported by our personal experience of transplantation in these patients. Eleven patients were contaminated at our center during the year 1985. At 15 years, nine of these patients have died and two are alive and receiving HAART. Deaths were due either to AIDS, to septic complications or to chronic rejection. There was a progression of HIV diseases after transplantation (1-6).

At a congress held in Paris in 1993, the conference consensus concerning indications for liver transplantation concluded that AIDS was an absolute contraindication to liver transplantation and that HIV infection without AIDS was a relative contraindication to transplantation which required case-by-case examination. In fact, very few of these patients have received transplants since then. More recently, the issue of transplantation in HIV-infected patients was raised due to the advent of HAART and the dramatic improvement in survival in patients with HIV.

Problems concerning transplantation in HIV-infected patients

a) The timing of transplantation in HIV-coinfecting patients. Indeed, liver disease evolves particularly rapidly in these patients and many patients die before transplantation. Other patients are clearly referred too late and are in too severe a condition to receive transplantation. The criteria for indication of transplantation in this population need to be refined.

b) The risk of HIV transmission to the medical team. This risk is low but should be discussed with physicians, surgeons and nurses before initiating the program. Liver transplantation involves a higher risk for needle-stick injury due to the length of the procedure, the high volume of blood loss and the fact that transplantation is performed overnight. Needle-stick injury can occur during and after the procedure. For this reason, it is important to know the sensitivity of the HIV strain to HAART before transplantation in order to adapt prophylactic treatment in the case of needle-stick injury.

c) The problem of interaction between HAART and calcineurin inhibitors. There is a strong interaction between protease inhibitors and calcineurin inhibitors due to the inhibition of the P450 cytochrome by protease inhibitors (7). This requires cautious follow-up and blood monitoring upon initiating or discontinuing protease inhibitors to avoid renal- or neurotoxicity. The interaction with non-nucleoside and nucleoside analogues is less strong.

d) The toxicity of HAART for the liver and for mitochondria. Nucleoside analogues may alter the DNA-polymerase mitochondrial enzyme and decrease the DNA content in mitochondria. This affects the respiratory chain of the mitochondria and may provoke microvesicular steatosis in the liver, pancreatitis and lactic acidosis. The hepatotoxicity of HAART may be increased by the presence of HCV virus.

e) *The problem of association of treatment.* HIV patients receive a lot of drugs after transplantation: HAART, immunosuppressive drugs, CMV prophylaxis, and anti-HBV and -HCV prophylaxis. There is a risk of poor tolerance and toxicity.

f) *The risk of progression of HIV infection after transplantation.* Preliminary experience does not show an acceleration of HIV disease after transplantation. CD4 count remains stable and HIV RNA continues to be controlled by HAART.

g) *Liver transplantation in HIV-HBV coinfecting patients.* Before transplantation, there is a risk of persistent HBV replication due to HBV strains resistant to lamivudine. HBV replication should be controlled before transplantation either by the use of adefovir in these patients or by avoiding overuse of lamivudine in HIV-HBV coinfecting patients. The introduction of lamivudine before transplantation should be discussed among the hepatologists and the transplant physicians to avoid the occurrence of HBV-resistant strains before transplantation. After transplantation, it is possible to control HBV reinfection of the graft by use of combination prophylaxis with anti-HBs immune globulins (HBIG) and lamivudine and/ or adefovir. This combined prophylaxis given long-term posttransplantation is highly effective at reducing the risk of recurrence to below 10%.

h) *Liver transplantation in HIV-HCV coinfecting patients.* Before transplantation, the risk of rapid progression of cirrhosis is high (8). Recent reports suggest that the main problem will be the risk and severity of reinfection of HCV on the graft. A report from King's College in London (9) showed disappointing results, with a high rate of HCV reinfection: all three patients receiving transplants died from HCV reinfection. We have started a program at Paul Brousse Hospital to evaluate the feasibility of liver transplantation in HIV-HCV coinfecting patients. Seven patients (6 male, 1 female; mean age, 39 years) underwent liver transplantation from December 1999 to October 2002. All patients had Child C cirrhosis and controlled HIV replication. CD4 count was over 150/mm³ in six patients and 100/mm³ in one patient. HIV and HCV serum viral loads were determined before and after liver transplantation; liver biopsy was performed at six, 12 and 24 months after transplantation. Immunosuppression was a combination of tacrolimus and steroids. Three patients received a domino graft (from a donor transplanted for familial amyloidotic polyneuropathy), two a living related donor graft and two a cadaver graft. All but two patients are alive at a mean follow-up of 18 months (12-30). Protease inhibitors and tacrolimus interaction was responsible for acute rejection due to low tacrolimus levels in one patient and to toxic levels of tacrolimus in one patient. After transplantation, all patients but one have undetectable or low levels of HIV RNA, and all have high levels of serum HCV RNA with hepatitis. One patient developed an unexplained episode of jaundice, one developed microvesicular steatosis probably related to antiretroviral treatment, one developed severe chronic hepatitis C requiring combination therapy of interferon plus ribavirin, which was successful (HCV RNA negative), and two patients died of liver failure from mixed causes. Significant improvements in quality of life and weight gain were observed in four out of seven patients. We confirmed in this small series that there was no acceleration of HIV infection after transplantation; the two main problems were HAART toxicity, particularly to the liver, and the severity of HCV recurrence.

Conclusions

Transplantation in HIV patients remains a challenge. It should be developed by a rational approach and be reserved at present to patients with controlled HIV disease. The management of these patients after transplantation requires a cautious follow-up and a collaborative approach by a multidisciplinary team including transplant physicians, hepatologists and physicians in charge of HIV patients. The two main problems after liver transplantation are the severity of HCV recurrence and the toxicity of HAART.

References

1. Bouscarat, F., Samuel, D., Simon, F., Debat, P., Bismuth, H., Saimot, A.G. *An observational study (1985-1993) of 11 HIV-1-infected liver transplant recipients.* Clin Infect Dis 1994; 19: 854-859.
2. Erice, A., Rhame, F.S., Heussner, R.C., Dunn, D.L., Balfour, H.H. Jr. *Human immunodeficiency virus infection in patients with solid-organ transplants: Report of five cases and review.* Rev Infect Dis 1991; 13: 537-547.

3. Gordon, F.H., Mistry, P.K., Sabin, C.A., Lee, C.A. *Outcome of orthotopic liver transplantation in patients with hemophilia*. Gut 1998; 42: 744-749.
4. Jury of the International Consensus Conference on Indications of Liver Transplantation. *Consensus statement on indications for liver transplantation: Paris, 1993*. Hepatology 1994; 20: 63S-68S.
5. Samuel, D., Castaing, D., Adam, R. et al. *Fatal acute HIV infection with aplastic anemia transmitted by liver graft*. Lancet 1988; I: 1221-1222.
6. Tzakis, A.G., Cooper, M.H., Dummer, J.S., Ragni, M., Ward, J.W., Starzl, T.E. *Transplantation in HIV positive patients*. Transplantation 1990; 49: 354-358.
7. Sheikh, A.M., Wolf, D.C., Lebovics, E., Golberg, R., Horowitz, H.W. *Concomitant human immunodeficiency virus protease inhibitor therapy markedly reduces tacrolimus metabolism and increases blood levels*. Transplantation 1999; 68: 307-309.
8. Zylberbeg, H., Pialoux, G., Carnot, F., Landau, A., Brechot, C., Pol, S. *Rapidly evolving hepatitis C virus associated cirrhosis in HIV coinfecting patients in relation to antiviral therapy*. Clin Infect Dis 1998; 27: 1255-1258.
9. Prachalias et al. Transplantation 2001.

ASISTENCIA VENTRICULAR: ESTADO ACTUAL

M. Castellá

Departamento de Cirugía Cardiovascular, Instituto de Enfermedades Cardiovasculares, Hospital Clínico, Barcelona

En la última década los mecanismos de asistencia cardiaca se han convertido en una terapia importante para los pacientes con insuficiencia cardiaca. Los buenos resultados de la asistencia ventricular como puente al trasplante cardiaco han abierto las indicaciones de su implantación. En la actualidad, los pacientes con insuficiencia cardiaca y fallo multiorgánico presumiblemente recuperable, de causa médica o quirúrgica, son también candidatos a una asistencia circulatoria. Pero los nuevos avances tecnológicos permiten ya la asistencia ventricular como tratamiento definitivo de la insuficiencia ventricular izquierda, con aparatos sin conexiones al exterior y transmisión de energía y control percutáneos.

El actual estado de desarrollo de los mecanismos de asistencia está representado por una gran variedad de aparatos, desde bombas centrífugas, bombas de flujo continuo o pulsátil externas, parcialmente internas o totalmente implantables, así como el corazón artificial. Esta diversificación condiciona una amplia gama de posibilidades, que permite que la elección de sistemas circulatorios esté basada en tres puntos básicos: las necesidades clínicas del paciente, la mayor o menor accesibilidad a un corazón donante y, lamentablemente, la capacidad económica. El implante de los diferentes sistemas de soporte circulatorio viene forzado por la situación crítica del paciente, siendo el objetivo primordial hasta hace pocos años mantener al paciente vivo hasta el día del trasplante o de su recuperación cardiovascular. Sin embargo, en la actualidad la mejoría de los diferentes sistemas facilita que los pacientes con asistencia recuperen la movilidad, la función respiratoria, renal o hepática, que salgan de las unidades de cuidados intensivos y, según los sistemas, sean seguidos en régimen ambulatorio. Esta mejoría en la calidad de vida, conjuntamente con la constatación de que la supervivencia postrasplante es un 10% mayor en los pacientes con asistencia ventricular previa, ha modificado las indicaciones terapéuticas, siendo los pacientes con insuficiencia cardiaca y fallo multiorgánico preferentemente candidatos a asistencia ventricular, y no a trasplante. A pesar de ello, este tratamiento está limitado en el tiempo en la mayoría de los sistemas. Nuevos estudios han demostrado que la asistencia ventricular supera al tratamiento médico en la insuficiencia cardiaca terminal, equivaliendo a salvar 270 vidas frente a 70 por cada 1000 pacientes al año, respectivamente, pero dicho efecto no supera el año y medio, siendo la supervivencia a los dos años inferior al 10% en ambos grupos. Estos datos confirman que el puente al trasplante no debe superar, con sistemas de última generación, los 18 a 24 meses.

Los programas de corazón artificial, que se iniciaron de manera experimental en 1958 con los modelos Kolff y que llegaron a ser una realidad clínica en 1969 con el modelo Liotta, se han impulsado nuevamente con la intro-

ducción del Abiocr, implantado por vez primera en la Universidad de Kentucky en septiembre de 2001. Hasta la fecha se han implantado nueve Abiocr en el estudio multicéntrico aprobado por la FDA, en pacientes no candidatos a tranplante y con una esperanza de vida de un mes. Los resultados son esperanzadores, aunque el tamaño del corazón artificial y el índice de tromboembolias todavía limitan este importante avance médico.

CARDIAC STEM CELLS: THEIR REGENERATIVE PROPERTIES IN THE POSTISCHEMIC HEART

B. Nadal-Ginard

Cardiovascular Research Institute, Department of Medicine, New York Medical College, Valhalla, New York, USA

Until recently, the heart was considered a terminally differentiated organ that did not have self-renewal capability and that, from early in the postnatal period, could not generate new cardiocytes. Therefore, the notion arose that any increase in cardiac mass in the adult results from the exclusive enlargement of preexisting myocytes which, in turn, are responsible for the initial adaptation and subsequent deterioration of the overloaded heart. This belief was based on the generally accepted twin notions that in the adult heart all myocytes are terminally differentiated and, therefore, unable to be recalled into the cell cycle and also that the heart lacks a stem-cell population able to generate new myocytes.

This postulated inability of the myocardium to replace its myocytes lost by normal wear and tear or as a consequence of physiological or pathological stress has straight-jacketed and limited cardiovascular research in conceptually important ways: if no new myocytes can be generated in adult life, then it follows that all therapeutic interventions need to be oriented toward the preservation of the remaining myocytes. For this reason, little attention has been paid until recently to the possibility of regenerating lost myocytes. Furthermore, according to this view, in a given heart all myocytes have to be as old as the individual. Each and every one of the myocytes of a 90-year-old person must be at least 90 years old. For the same reason, myocyte death must be seen as a very rare event if cardiac mass and a certain level of function are to be preserved throughout the lifespan of the individual. Thus, according to the accepted paradigm, cardiac homeostasis is very static because in the absence of myocyte renewal it is dependent mainly on the ability of cardiac myocytes to be as long-lived as the individual.

In contrast to this prevalent point of view, recent evidence supports the notion that, although most myocytes are terminally differentiated, the heart has a remarkable capacity for regeneration, both in normal conditions and in response to diverse pathological stimuli. Myocyte death and regeneration are part of the normal homeostasis of the heart. New data question the concept that changes in myocyte size and shape are the exclusive structural modifications that condition the remodeling of the diseased heart. It is now clear that generation of new myocytes plays a crucial role in the myocardial response to ischemic and nonischemic injury. Measurements of cell proliferation after human myocardial infarction have shown very high levels of proliferation in the surviving myocardium, both in the acute and chronic stages. These degrees of cell proliferation strongly suggest that generation of new myocytes is a major determinant of ventricular remodeling. Myocyte hypertrophy with cell lengthening also contributes to the process, but it is only one of the factors involved in ventricular dilation and wall restructuring. Myocardial growth within the viable tissue restores the original amount of ventricular mass, but it does not invade and substitute the necrotic or scarred area of the ventricular wall.

Cardiac hypertrophy in response to work overload has been considered a classic example of the heart's ability to increase its mass in the absence of new myocyte formation. This picture needs to be revised. The magnitude of myocyte replication in the overloaded heart in the absence of coronary artery disease can be accurately determined by the absolute increase in myocyte number in the ventricular myocardium. By this approach, significant increases in myocyte number (of up to 60%) have been documented in humans and in animal models, further demonstrating that the adult mammalian heart possesses a significant growth reserve that can generate a large number of myocytes in a very short time. More recently, we have identified very high levels of new myocyte formation in patients with

aortic stenosis undergoing valve replacement. In most of these cases, myocyte regeneration is characterized by the lack of cellular hypertrophy, suggesting that the two forms of myocyte growth do not participate equally and simultaneously in increasing the mass of the stressed ventricle. Little information is available about volume-overload hypertrophy, but some results support the conclusions reached for pressure overload.

The recognition that myocytes are continuously replaced in adulthood and that cell regeneration is accelerated in response to hemodynamic overloads and ischemia indicates that cells of different ages are present during the entire life of the diseased and nondiseased heart. These distinct cell populations differ in their ability to react to growth stimuli. Whether a myocyte responds to increased overload with replication, hypertrophy or programmed cell death is largely influenced by its size which, in turn, reflects the age of the cell. Large myocytes are old, do not react to growth stimuli and are more prone to activate the programmed death pathway. Smaller cells are younger, possess the ability to hypertrophy and are less susceptible to trigger the apoptotic cascade. The smallest cells are those that have been born recently and still have the capacity to undergo a limited number of cell cycles. One of the most intriguing questions has been to determine the origin of these cycling new myocytes.

Bone marrow-derived multipotent cells, either injected in the border zone of a myocardial infarction or mobilized *in vivo* with cytokines, home to the necrotic zone and differentiate into myocytes, smooth muscle vascular cells and endothelial cells to reconstitute a functional ventricular wall. Recently, several reports have cast doubt about the transdifferentiation potential of hematopoietic stem cells. The hypothesis has been put forward that the donor stem cells, instead of transdifferentiating, might fuse to the parenchymal cells of the host tissue and give the appearance of transdifferentiation. Our results of myocardial regeneration by bone marrow-derived cells do not address the issue of hematopoietic stem cell plasticity because we do not know the nature of the myocardium-regenerating cells. Our data only document the existence of myocardium-regenerating cells in the bone marrow. Many lines of evidence argue against cell fusion as the cause of the cardiac phenotype and pattern of gene expression of the injected and mobilized cells. Therefore, we believe that our results document the existence of bone marrow and cytokine-mobilized cells able to differentiate into bona fide cardiac cells and coronary vessels. The precise identity of these cells remains to be established.

The cytokine administration used for bone marrow cell mobilization only amplifies a naturally occurring phenomenon since, under normal conditions, there are bone marrow-derived stem cells in the circulation. The cases of sex-mismatched cardiac transplants in humans, where a female heart is transplanted into a male host, offers an ideal setting to test whether these circulating cells continuously colonize the myocardium and contribute to myocyte renewal under normal and pathological conditions. Using this setting, we and others have shown that soon after cardiac transplantation, the female hearts have a significant number of male myocytes and coronary vessels. Undoubtedly, these male cells originated from the host cells that colonized the transplanted heart and subsequently differentiated. We hypothesized that these migrating myocyte- and coronary vessel-generating cells were likely to be stem-like cells. Such cells of male origin were identified in the myocardium. To address whether these cells behave like true stem cells, we tested whether they could produce the cardiac cell types and regenerate the myocardium.

We have shown that the progeny of a single stem-like cell isolated from the adult ventricular myocardium can generate the three major cardiac cell types *in vivo* and *in vitro*. The progeny of these clonal cells, when placed into an infarcted heart, are able to reconstitute a functional myocardium. Thus, these cells exhibit the properties expected for a cardiac stem cell: self-renewal, multipotency and clonogenicity.

A further demonstration that cells with stem cell characteristics reside in the adult myocardium has been the recent finding that after an acute myocardial infarction it is possible to mobilize and activate the cardiac resident stem cells using a regimen of local cytokine stimulation. A combination injection of intramyocardial cytokines rapidly mobilized a population of primitive cells to the border zone of the infarct. These cells rapidly differentiated into myocytes, endothelial and smooth muscle vascular cells, regenerating a functional myocardium. The presence of stem cells in the myocardium, either as a resident population of embryonic origin or as a blood-born population that continuously seeds the tissue, points to a mechanism for the continuous renewal of myocytes and coronary vessels throughout the lifespan of the individual. Additionally, it provides the basis for an increase in myocardial mass in response to physiological and pathological demands. Although much needs to be learned about these cells and their origin, their existence and ability to commit to the myogenic and vascular lineage opens the possibility for the development of true reconstitutive therapies for postischemic and other cardiovascular diseases.

References

- Anversa, P., Leri, A., Kajstura, J., Nadal-Ginard, B. *Myocyte growth and cardiac repair*. J Mol Cell Cardiol 2002; 34: 91-105.
- Anversa, P., Nadal-Ginard, B. *Myocyte renewal and ventricular remodeling*. Nature 2002; 415: 240-243.
- Beltrami, A.P. et al. *Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction*. N Engl J Med 2001; 344: 1750-1757.
- Grounds, M.D., White, J.D., Rosenthal, N., Bogoyevitch, M.A. *The role of stem cells in skeletal and cardiac muscle repair*. J Histochem Cytochem 2002; 50: 589-610.
- Molkenin, J.D., Dorn, G.W. *Cytoplasmic signaling pathways that regulate cardiac hypertrophy*. Ann Rev Physiol 2001; 63: 391-426.
- Orlic, D. et al. *Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium*. Nature 2001; 410: 701-705.
- Orlic, D. et al. *Mobilized bone marrow cells repair infarcted heart improving function and survival*. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98: 10344-10349.
- Quiani, F. et al. *Chimerism of the transplanted heart*. N Engl J Med 2002; 346: 5-15.
- Strauer, B.E. et al. *Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans*. Circulation 2002; 106: 1913-1918.

HEART–LUNG TRANSPLANTATION

J. Wallwork

Papworth Hospital NHS Trust, University of Cambridge, UK

Heart–lung transplantation was first performed by Bruce Reitz in Stanford in 1981. Following that successful operation, there was a gradual increase in the number of operations performed worldwide. At Papworth Hospital in Cambridge we performed the first successful heart–lung transplantation in Europe in 1984. Through the early 1980s, the number of heart–lung transplants rose, but after that the number of heart–lung transplants worldwide has declined, mainly as a result of the introduction of bilateral single-lung transplantation for patients with primary lung pathology (*e.g.*, patients with emphysema and cystic fibrosis). There are a variety of reasons why this became a more popular procedure. However, heart–lung transplantation still remains a major part of the transplant program at Papworth Hospital, where we have now performed over 300 heart–lung transplants.

In common with all transplant procedures, to be successful in the short term, three important elements have to be combined. Firstly, a good recipient; secondly, good quality organs; and thirdly, a good operative procedure. One of the most important points in heart–lung transplantation is to take care to preserve the vagus and phrenic nerves within the chest when removing the diseased organs.

Heart–lung transplantation requires only three anastomoses, compared with six for bilateral lung transplantation, and the implantation of the organs is relatively easy. It has been argued that heart–lung transplantation for cystic fibrosis patients, for example, is a waste of organs. However, many of the hearts of the patients who have heart–lung transplantation can be used in other recipients, the so-called “domino” heart operation. This has some advantages for the heart recipient in that the organ has not suffered from the inflammatory responses associated with brain death, usually has a short ischemic time, and generally comes from a younger donor with no preexisting coronary disease. The results of domino heart transplantation are as good, and our indications are that it may be better, in the long term, for those recipients.

The results of heart–lung transplantation have shown a measurably good quality of life in the majority of patients, with over 70% of patients surviving one year. In common with all lung transplantation, the Achilles’ heel of this procedure is chronic rejection, as exhibited by obliterative bronchiolitis, which is the major cause of organ loss in the long term. Clearly, the longer term outlook for heart–lung transplant and lung transplant patients can only

be improved with better strategies to prevent obliterative bronchiolitis and perhaps with the introduction of some of the newer immunosuppressive agents with particular antiproliferative activity.

Organ availability will always be a restriction on interthoracic transplantation and demand for transplantation still far exceeds supply. Heart–lung transplantation remains one of the most remarkable operations in the world for the fortunate few for whom appropriate donor organs become available.

VASCULARIZED PANCREAS TRANSPLANTATION

D.E.R. Sutherland

Department of Surgery, University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, USA

Although enteric-drained pancreas transplants have been carried out to correct exocrine deficiency, the overwhelming majority have been done to restore endogenous insulin secretion to a diabetic individual by providing the functioning beta cells missing (totally in type I, partially in type II) from the recipient's native gland.

Since the first clinical pancreas transplant done at the University of Minnesota in 1966, about 1,600 have been conducted at that institution and approximately 19,000 have been completed worldwide (about 14,000 in the USA; about 5,000 outside the USA), with progressive improvement in results. As recorded by the International Pancreas Transplantation Registry (IPTR), more than 1,000 pancreas transplants have been done annually over the past decade.

For USA primary cadaver pancreas transplants reported to the IPTR from January 1996 to October 2002 in the three major recipient categories: simultaneous pancreas and kidney (SPK; $n=5,784$), pancreas after kidney (PAK; $n=1,033$) and pancreas transplant alone (PTA; $n=470$), one-year patient survival rates were 95%, 94% and 98%, respectively ($p=ns$), and graft survival rates were 84%, 76% and 77%, respectively ($p<0.0001$). Posttransplant insulin-independence rates were identical for simultaneous pancreas and kidney recipients classified as type I ($n=5,350$) or type II ($n=287$) diabetics: 84% at one year for both subgroups.

In the USA, enteric draining was done for 66% of SPK, 50% of PAK and 38% of PTA transplants. For SPK transplants, bladder-drained ($n=1,943$) and enteric-drained ($n=3,712$) pancreas graft survival rates were not significantly different, at one year 85% and 84%, respectively, as was the case for PTA, at one year 78% ($n=241$) and 74% ($n=204$), respectively, while for PAK transplants, graft survival rates were significantly higher with bladder-drained ($n=495$) than enteric-drained ($n=492$) transplants, 80% versus 72% at one year. Pancreas graft survival rates were not significantly different with portal versus systemic venous drainage for enteric-drained SPK transplants, 85% ($n=842$) and 84% ($n=2,859$) at one year, nor for enteric-drained PAK transplants, 71% ($n=134$) and 73% ($n=356$) at one year, but for enteric-drained PTA there was a difference ($p=0.09$), 81% ($n=88$) versus 70% ($n=115$) at one year.

In all categories, more grafts in the USA were lost for technical (*e.g.*, thrombosis, infection) reasons (10% overall) than for rejection (2% in SPK, 7% in PAK and 8% in PTA at one year). The most common maintenance immunosuppression regimen in all three categories was tacrolimus/mycophenolate mofetil, with one-year graft survival rates of 86% for SPK ($n=3,130$), 80% for PAK ($n=620$) and 82% for PTA ($n=284$).

There were too few non-USA solitary pancreas transplants for comparison, but for 1996-2002 non-USA SPK transplants ($n=2,163$) the outcomes were similar, with one-year patient, kidney and pancreas survival rates of 96%, 91% and 85%, respectively.

Pancreas transplantation is highly effective at establishing insulin-independence in diabetic recipients and should be applied to the fullest extent possible. The number of uremic and nonuremic patients who develop diabetic problems more serious than the potential side effects of the current immunosuppression regimens used to prevent graft rejection exceeds the number of available donors. Thus, islet transplantation should primarily be done only from selected donors who have characteristics (*e.g.*, obesity) predicting a relatively high islet yield into recipients with characteristics (*e.g.*, low insulin requirements) predicting that a single donor will be sufficient in spite of the attrition associated with islet isolation. With all other donors and candidates, pancreas transplants should be done in order to maximize the number of diabetics who can benefit from beta-cell replacement therapy.

DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL RECHAZO EN EL TRASPLANTE DE PÁNCREAS

M.J. Ricart

Unidad de Trasplante Renal, Hospital Clínic, Barcelona

El rechazo del páncreas, al igual que ocurre con otros órganos sólidos, puede ser hiperagudo, agudo o crónico. El rechazo hiperagudo, atribuido a la presencia de anticuerpos preformados en la sangre del receptor, es extremadamente raro. Aparece de forma inmediata tras la revascularización del injerto, estableciéndose el diagnóstico en la misma mesa de operaciones; el injerto se vuelve edematoso e isquémico, precisando su extracción durante la cirugía. El rechazo agudo puede aparecer en cualquier momento de la evolución del trasplante, aun cuando lo más frecuente es que se trate de un proceso precoz, habitualmente en los tres primeros meses del trasplante. Es el único rechazo que puede ser tratado, y de no hacerlo puede llevar a la pérdida del injerto. Además, establecer el diagnóstico antes de que se detecte una hiperglucemia es fundamental para lograr su reversibilidad. El rechazo crónico aparece de forma insidiosa, generalmente pasados los tres primeros meses del trasplante, y lleva progresivamente a la pérdida del injerto. Su incidencia parece ser algo inferior a la observada con el riñón trasplantado, aunque se desconoce la incidencia real, ya que la realización de biopsias seriadas en el páncreas trasplantado no ha sido una práctica habitual hasta el día de hoy.

El rechazo agudo es el más frecuente, a pesar de que su incidencia ha disminuido de forma considerable en los últimos años, estimándose entre un 20% a 30% en el momento actual. En la Universidad de Minnesota, tal y como podemos ver en una reciente publicación de Sutherland y cols. (*Ann Surg* 2001; 4: 463-501), en la que se realiza una revisión sobre los más de 1000 trasplantes de páncreas realizados en esta institución, la incidencia de rechazo agudo a un año del trasplante en los receptores de un trasplante combinado de riñón y páncreas ha descendido del 51% (julio de 1986 a diciembre de 1993: Era 2) al 25% (marzo de 1998 a marzo de 2000: Era 4). Cuando el trasplante de páncreas no se realiza de forma combinada con el trasplante renal, la incidencia de rechazo es más elevada, aunque también se ha reducido de forma considerable (78% Era 2, 56% Era 4).

El rechazo agudo en los receptores de un trasplante simultáneo de páncreas y riñón suele ser de ambos injertos. Lo más frecuente es que el rechazo pancreático se presente al mismo tiempo, o incluso algo después del rechazo renal. Por ello, en la mayoría de los casos, el diagnóstico lo podremos establecer con la monitorización de la función renal, o bien con la realización de una biopsia renal. La incidencia de rechazo de páncreas aislado es inferior al 10%, e incluso algunos equipos lo consideran prácticamente inexistente. Shapiro y cols. (*Transplantation* 2000; 69: 440-441) se plantean si el rechazo no sincrónico entre ambos injertos realmente existe, ya que al realizar una biopsia renal en un grupo de siete pacientes, en los que existe una sospecha de rechazo pancreático por detectarse un aumento de las lipasas séricas sin afectación de la función renal, la biopsia renal muestra en todos los casos lesiones compatibles con la existencia de un rechazo agudo celular renal.

No obstante, es importante conocer los marcadores de que disponemos para poder identificarlo en aquellos casos en que el rechazo pancreático se presenta de forma aislada, o bien cuando el trasplante de páncreas no se realiza de forma simultánea con el trasplante de riñón. Como manifestaciones clínicas de rechazo, el paciente puede presentar fiebre o dolor sobre el injerto, aunque con las actuales pautas de inmunosupresión ambas son poco frecuentes. Entre los marcadores bioquímicos, cabe resaltar la importancia de la monitorización de las enzimas pancreáticas en la sangre; en el rechazo acostumbra a estar elevados, siendo las lipasas un marcador más sensible que las amilasas. Por otra parte, la monitorización de estas enzimas en la orina puede ser de utilidad en los pacientes con derivación urinaria de la secreción exocrina pancreática; en ellos, un descenso superior al 25% de estas enzimas en la orina puede indicarnos la existencia de un rechazo, aun cuando no es un indicador fiable, tal y como en un principio se había considerado. La aparición de una hiperglucemia, como se ha comentado anteriormente, es un marcador tardío, ya que indica una destrucción significativa y generalmente irreversible de las células beta del injerto.

En nuestra unidad realizamos un estudio sobre la evolución de las enzimas pancreáticas en 61 trasplantes de riñón y páncreas consecutivos, efectuados durante un periodo de cuatro años (de noviembre de 1994 a noviembre de 1998).

Todos ellos presentaban derivación intestinal de la secreción exocrina pancreática, y el seguimiento fue de 19 a 14 meses. En dicho trabajo pudimos observar un total de 58 episodios de elevación de estas enzimas a lo largo del seguimiento. La etiología fue atribuida a un rechazo agudo en 39 casos (67,2%), y a otras causas, o bien no se llegaron a etiquetar, en los 19 restantes. Todos, excepto uno de los 39 episodios de rechazo agudo (97,4%) cursaron con un aumento de lipasas, mientras que sólo en 21 de esos 39 (53,8%) se produjo un incremento de amilasas, lo cual nos indica la mayor sensibilidad de las lipasas como marcador del rechazo. El aumento de dichas enzimas, aunque según hemos podido observar no se trata de un marcador específico de rechazo, deberá ponernos alerta de su posible existencia. Para confirmar el diagnóstico en estos casos, la realización de una ecografía Doppler puede ser de gran utilidad. La ecografía nos permitirá detectar variaciones en el tamaño y en la ecoestructura del injerto, pero además el Doppler pulsado permitirá medir el registro arterial y venoso en el hilio y el parénquima pancreático. En el rechazo del injerto puede detectarse la presencia de fluido peripancreático, aumento del tamaño, ecoestructura heterogénea e hipocogenicidad del injerto, con un índice de resistencia elevado en el Doppler. No obstante, la prueba más sensible y específica para establecer el diagnóstico de rechazo es la biopsia pancreática. En la actualidad, todavía no se realiza de forma rutinaria en los receptores de un trasplante de páncreas y riñón, pero en el trasplante de páncreas aislado son cada vez más los equipos que lo hacen ante la sospecha de un episodio de rechazo. Entre las principales indicaciones de la biopsia pancreática cabría resaltar un aumento de enzimas pancreáticas, fiebre inexplicable o intolerancia a la glucosa. Como principales complicaciones asociadas a su realización se incluirían el hematoma o sangrado intraabdominal, pancreatitis, fístula o absceso. Raramente requieren reintervención o pérdida del injerto. La adherencia del páncreas a las estructuras colindantes reduce el riesgo de su aparición, particularmente el sangrado y las fístulas del conducto pancreático. Puede realizarse por cirugía laparoscópica, por vía percutánea bajo control ecográfico, o bien por vía transcistoscópica en aquellos pacientes en que se ha practicado el drenaje urinario de la secreción exocrina pancreática. Esta última técnica permite además biopsiar el duodeno.

Para valorar las lesiones detectadas en la biopsia, Drachenberg (Transplantation 1997; 63: 1579-1586) estableció hace unos años un sistema de clasificación, en el que la histología del páncreas se valora por una escala del 0 al V, dependiendo del grado de inflamación y de otros hallazgos histológicos, como la eosinofilia, la inflamación acinar, la inflamación ductal, la endotelitis o la arteritis necrotizante. Se ha observado una relación entre las concentraciones de enzimas pancreáticas y el rechazo demostrado por biopsia, y también que la gravedad del rechazo se correlaciona con la pérdida del injerto y con la respuesta a los esteroides o al suero antilinfocitario. Por otra parte, la patología ductal sin inflamación se correlaciona más con pancreatitis del injerto que con rechazo. Entre los hallazgos histológicos de rechazo crónico destacarían la fibrosis densa septal y la pérdida de células acinares.

Entre los factores que pueden predisponer a la aparición de un rechazo agudo destacan los inherentes al propio receptor (elevada tasa de anticuerpos linfocitotóxicos, retrasplantes), el tratamiento inmunosupresor utilizado como tratamiento de inducción, el grado de incompatibilidad HLA, y más recientemente se ha descrito la mayor probabilidad de rechazo en los pacientes con drenaje venoso sistémico, frente a aquellos en los que se ha realizado el drenaje venoso portal. No obstante, son necesarios más estudios para confirmar esta hipótesis, ya que la supervivencia del injerto al año del trasplante, según datos del Registro Internacional de Trasplante de Páncreas (IPTR), es similar con ambas técnicas. En relación al tratamiento inmunosupresor, la mayoría de los equipos realizan una terapia de inducción con una tanda de anticuerpos monoclonales o policlonales. Según datos obtenidos del IPTR, la pauta más utilizada en la actualidad son los anticuerpos monoclonales frente al receptor de IL-2, asociados a tacrolimús y micofenolato de mofetilo.

En nuestra unidad, la incidencia de rechazo agudo ha ido disminuyendo de forma progresiva a lo largo de los años. Inicialmente era del 100%; después, con la introducción de la cuádruple terapia, la incidencia pasó a ser del 80%. Con la sustitución de la azatioprina por micofenolato de mofetilo descendió al 71%, y posteriormente, tras la sustitución del OKT3 por la timoglobulina, se redujo hasta el 38%. La introducción del tacrolimús hizo descender aún más esta incidencia de rechazo, pasando a ser del 23%, y más recientemente tratamos un grupo de pacientes con ciclosporina con determinación de C_2 , junto a esteroides y micofenolato de mofetilo con basiliximab como tratamiento de inducción, detectándose una incidencia de rechazo del 20%. En relación al grado de compatibilidad HLA, éste no parece tener una influencia significativa en la supervivencia del injerto pancreático, en el trasplante de páncreas y riñón, pero en los receptores de un trasplante de páncreas aislado, y según datos del IPTR, el mayor grado de incompatibilidad sí que parece influir en la supervivencia del injerto.

El rechazo agudo es habitualmente tratado con tres bolos de metilprednisolona, siempre que no exista una afectación de la función endocrina pancreática. Aunque lo más frecuente es que se observe una respuesta satisfactoria al tratamiento, algunos episodios pueden ser insensibles a éstos. Además, en ocasiones los corticoides pueden empeorar el ya comprometido control glicémico. Como resultado de todo ello, algunos centros que establecen el diagnóstico por biopsia prefieren tratar el rechazo grado II o superior de la clasificación de Drachenberg con una tanda de anticuerpos antilinfocitarios, además de los bolos. Los rechazos resistentes a los esteroides, el rechazo recurrente o el rechazo moderado a grave son también probablemente mejor tratados con una tanda de anticuerpos. Por otra parte, un rechazo significativo puede también merecer un cambio de inmunosupresión. Así pues, los pacientes que reciben ciclosporina como tratamiento de base podrían ser reconvertidos a tacrolimús, o bien si no se desea modificar el anticalcineurínico podría incrementarse la dosis de micofenolato de mofetilo. En los trasplantados ya tratados con tacrolimús, la optimización de la dosis o la introducción del sirolimús podría ser una buena opción. El rechazo agudo irreversible, como ocurría hace unos años, apenas se observa en el 5% de los pacientes en el momento actual. No obstante, si el diagnóstico se establece tras el desarrollo de la hiperglucemia el tratamiento antirrechazo está lejos del éxito. Por otra parte, conviene recordar que cualquier incremento de la inmunosupresión requiere instaurar una nueva profilaxis infecciosa.

En resumen, en los receptores de un trasplante de páncreas y riñón, la monitorización de la función renal y la realización de una biopsia renal permite en la mayoría de los casos establecer el diagnóstico. En la actualidad, todavía no existe un test ideal de *screening* para el rechazo pancreático. No obstante, la elevación de las enzimas pancreáticas en sangre, en especial las lipasas, aun cuando se trata de un marcador no específico, debería alertarnos de su posible existencia. En estos casos, la realización de una ecografía Doppler nos permitirá en muchas ocasiones confirmar el diagnóstico. La realización de biopsias pancreáticas, aunque hasta hoy no ha sido una práctica habitual, puede hacerse necesaria cuando existe duda diagnóstica, así como en los receptores de un trasplante de páncreas aislado.

DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO RADIOLÓGICO DE LAS COMPLICACIONES VASCULARES EN EL TRASPLANTE DE PÁNCREAS

R. Gilabert

Secció d'Ecografia, Centre de Diagnòstic per l'Imatge, Hospital Clínic, Barcelona

La diabetes mellitus es una enfermedad prevalente y con elevada morbilidad asociada, siendo el principal factor etiopatogénico de las complicaciones crónicas el estado de hiperglucemia mantenido. El objetivo del trasplante pancreático es proporcionar al paciente tejido insular normal que le permita obtener la independencia de la insulina. En la actualidad, el trasplante de páncreas presenta una supervivencia que se sitúa alrededor del 90% al año cuando se realiza simultáneamente con el trasplante renal, supervivencia que es superponible a la de cualquier otro trasplante de órgano sólido. Estos buenos resultados han conseguido prevenir la aparición y mejorar la evolución de la nefropatía y la neuropatía, disminuir la mortalidad y mejorar la calidad de vida de estos pacientes.

Sin embargo, la complejidad técnica del trasplante de páncreas y el hecho de que se realice en pacientes que presentan una notable pluripatología influyen en su significativa morbilidad. Esta importante morbilidad se refleja en el elevado índice de relaparotomía (18% a 30%), el más alto de los trasplantes de órganos sólidos, y que es consecuencia de dos características de este tipo de injerto: el manejo de la derivación de la secreción exocrina pancreática y el bajo flujo del drenaje venoso del injerto pancreático. Ambas condicionarán el tipo de complicaciones que pueden tener estos pacientes: pancreatitis, uretritis, fístulas duodenopancreáticas, complicaciones sépticas y vasculares (1-6).

Aunque la incidencia de las complicaciones vasculares, en concreto la de la trombosis venosa, ha disminuido de forma notable con el perfeccionamiento de la técnica quirúrgica y el uso de la anticoagulación profiláctica en el

posoperatorio, éstas continúan siendo la principal causa no inmunológica de pérdida del injerto pancreático. Dada la inespecificidad de las manifestaciones clínicas de las diferentes complicaciones que pueden presentarse en el curso postrasplante, y debido a la importancia de un diagnóstico precoz para la supervivencia del injerto y del receptor, las técnicas de diagnóstico por imagen tienen un papel fundamental en el seguimiento de estos pacientes. Entre las que hay disponibles, la ecografía Doppler color es la técnica de elección en el seguimiento, dado su carácter no invasivo y su capacidad para ofrecer información morfológica y hemodinámica (7). La tomografía computarizada se indica en aquellos casos en que la ecografía Doppler color no es concluyente, sobre todo en el estudio de la extensión de las colecciones líquidas. Respecto a la resonancia magnética, existen artículos sobre su aplicación en el diagnóstico del rechazo, pero la experiencia no es amplia. Por último, la angiografía es otra técnica de imagen que con sus dos vertientes, diagnóstica y terapéutica, ha incidido también de forma notable en el tratamiento de estos pacientes.

Ecografía Doppler color. Injerto normal

La exploración mediante ecografía Doppler color se realiza con un transductor Doppler color multifrecuencia (2,5-6 MHz) 3,75 MHz. Es conveniente realizar un estudio inicial (antes de las 48 horas) que nos servirá de referencia para controles posteriores. En nuestro centro, la ecografía Doppler color en el curso postrasplante se efectúa con una periodicidad de tres a cinco días, o bien según indicación clínica (fiebre, disfunción del injerto, dolor abdominal). Dado que generalmente el paciente recibe de forma simultánea un trasplante renal, éste también debe incluirse en el protocolo de exploración. En el estudio inicial es conveniente realizar además una exploración abdominal completa, con el objetivo de descartar la presencia de colecciones líquidas intraabdominales y valorar el estado de los riñones propios.

En la ecografía en tiempo real, el injerto pancreático tiene una ecogenicidad media, unos límites bien definidos y su ecoestructura es homogénea. En ocasiones es posible visualizar el conducto de Wirsung ($N < 0,3$ cm de diámetro). En el postrasplante inmediato no es raro observar una mínima cantidad de líquido peripancreático, que desaparece en controles posteriores. La exploración Doppler debe incluir la obtención de registros arteriales y venosos a nivel hiliar o anastomótico y en el parénquima (cabeza/cuerpo/cola). Los registros arteriales son de baja resistencia ($IR < 0,75$). El registro venoso es continuo, pudiendo observarse en ocasiones una mínima pulsatilidad a nivel hiliar, que es transmisión de la vena ilíaca. En las dos primeras semanas postrasplante es fundamental explorar mediante Doppler las venas mesentérica y esplénica del injerto en toda su longitud, con el objetivo de descartar la existencia de una trombosis venosa parcial.

Trombosis venosa

La trombosis venosa es la complicación vascular más frecuente y la primera causa no inmunológica de pérdida del injerto pancreático, con una incidencia del 4% al 20%, que tiene lugar generalmente dentro de las dos primeras semanas del curso postrasplante. Como se ha comentado anteriormente, el injerto pancreático es susceptible al desarrollo de trombosis debido al bajo flujo del drenaje venoso. Otros factores predisponentes son el tiempo de preservación prolongado, el uso de injertos para la extensión de la vena porta, la colocación del injerto en la fosa ilíaca izquierda, y por último la existencia de una coagulopatía de base en estos pacientes (2). Debido probablemente a que el diagnóstico de trombosis se realizaba tardíamente, cuando ya existía necrosis del injerto, y también a la ausencia de procedimientos seguros de “rescate”, el desarrollo de esta complicación normal conducía a la trasplantectomía, aunque se ha comunicado en casos puntuales el rescate del injerto mediante trombectomía quirúrgica (8, 9).

El estudio con ecografía duplex Doppler, y posteriormente la introducción de la ecografía Doppler color en el seguimiento de estos pacientes en el postrasplante han permitido el diagnóstico precoz de dicha complicación. En la trombosis venosa, la ecografía a tiempo real evidenciará aumento de tamaño, alteración de la ecoestructura del injerto, engrosamiento de la pared del asa duodenal (0,8 a 1 cm; $N < 0,5$ cm), presencia de líquido peripancreático,

y más raramente visualización del trombo en el interior de la vena. Con excepción de la visualización del trombo venoso, que es diagnóstica, el resto de las alteraciones ecográficas son inespecíficas. La exploración Doppler será diagnóstica en los casos de trombosis total, demostrando la ausencia de registro venoso, además de un importante aumento de las resistencias arteriales a nivel hiliar y parenquimatoso ($IR=1$ con inversión de la fase diastólica), pudiendo llegar a desaparecer también los registros arteriales con la progresión de la trombosis (7, 10). En los casos de trombosis venosa parcial el diagnóstico se efectuará ante la presencia de un trombo parcialmente oclusivo en el interior de la luz venosa, junto con la obtención de registros Doppler (pulsado y color) en la periferia del trombo. En las trombosis venosas parciales no se observan alteraciones ecoestructurales ni elevación de las resistencias arteriales, y los pacientes permanecen asintomáticos (11).

Inicialmente, la aparición de una trombosis venosa implicaba la realización de una pancreatometomía. En el momento actual el diagnóstico precoz de la trombosis venosa mediante la ecografía Doppler color permite salvar el injerto, ya sea mediante una trombectomía quirúrgica, procedimientos intervencionistas angiográficos (trombólisis con infusión de urocinasa, trombectomía mecánica con o sin tratamiento coadyuvante mediante infusión de urocinasa), o por descoagulación (11-13). Los procedimientos de intervencionismo angiográfico son tratamientos establecidos en la patología vascular periférica y visceral, y, aunque son métodos invasivos, en casos seleccionados permiten evitar la reintervención quirúrgica (14-16). En nuestra experiencia con 211 trasplantes renopancreáticos (desde 1986 a febrero de 2002), en 26 de ellos se realizó el diagnóstico de trombosis venosa mediante ecografía Doppler color dentro de las primeras dos semanas postrasplante. Se intentó un tratamiento de rescate en 12 pacientes, seis con trombosis total y seis con trombosis parcial. La selección del tratamiento (cirugía frente a intervencionismo angiográfico) se realizó sobre la base de los datos de la ecografía Doppler color. Así, en aquellos casos en que existía una trombosis venosa total, pero se obtuvieron registros arteriales de alta resistencia en el parénquima y el hilio, además de observarse una buena pulsatilidad arterial en el acto quirúrgico, se practicó la trombectomía quirúrgica. Los pacientes con trombosis parcial fueron tratados con procedimientos angiográficos intervencionistas en cinco casos y en uno con anticoagulación. En nuestra experiencia, con estos tratamientos obtuvimos la recuperación del injerto (seguimiento, $r=8-50$ meses) en cuatro de los seis pacientes en que se realizó la trombectomía quirúrgica, y en cuatro de los cinco tratados con procedimientos vasculares intervencionistas. No se observó mortalidad en relación con la técnica. Durante los seis meses siguientes a los procedimientos de rescate los pacientes recibieron anticoagulación. Respecto a la morbilidad asociada, cuatro pacientes presentaron hemorragias, que requirieron una disminución de la anticoagulación o su retirada.

En el paciente tratado con anticoagulación se produjo una progresión de la trombosis, y finalmente necesitó trasplantectomía.

Complicaciones arteriales

Las complicaciones arteriales son menos frecuentes que las venosas, e incluyen la trombosis arterial, la estenosis arterial y los pseudoaneurismas anastomóticos. En el estudio de Troppmann y cols. (2), donde se incluyeron 438 pacientes con trasplante pancreático, la incidencia de trombosis arteriales fue del 7%. En nuestra serie de 211 pacientes con trasplante renopancreático, sólo hemos observado cuatro complicaciones arteriales: trombosis parcial de la arteria esplénica, estenosis arterial esplénica, pseudoaneurisma anastomótico y pseudoaneurisma de la ílica primitiva postrasplantectomía.

En el paciente con trombosis arterial, ésta afectaba a los dos tercios distales de la arteria esplénica y existía además una trombosis parcial de la vena esplénica. Se realizó un tratamiento fibrinolítico intraarterial que no fue resolutivo, siendo necesario realizar una trasplantectomía. El paciente con estenosis de la arteria esplénica se trató mediante angioplastia y colocación de una prótesis, consiguiéndose la recuperación del injerto (seguimiento de 20 meses).

El pseudoaneurisma consiste en una degeneración o ruptura de la pared arterial con formación de una cavidad vascular, que está contenida por la adventicia vascular o por un hematoma. Entre sus factores etiológicos, en el caso de los pacientes receptores de un trasplante pancreático, se incluyen la infección intraabdominal y la pancreatitis. Los pseudoaneurismas pueden aumentar de tamaño debido a la transmisión de la presión arterial en el interior del

pseudoaneurisma, con el consiguiente riesgo de ruptura y hemorragia intraabdominal. Ante un paciente que presente un pseudoaneurisma en cualquier localización anatómica, las opciones terapéuticas que ofrecen los procedimientos angiográficos intervencionistas, son la embolización del pseudoaneurisma con *coils* para conseguir su oclusión o la de sus vasos nutricios, y la colocación de una prótesis recubierta para excluir el pseudoaneurisma. En los dos casos de nuestra serie se realizó un tratamiento de exclusión del pseudoaneurisma con prótesis recubierta. En el paciente con pseudoaneurisma anastomótico el diagnóstico se realizó por ecografía Doppler color, al mes del trasplante por presentarse fiebre. En primer lugar, se intentó la reparación quirúrgica, lo cual no fue posible ya que en la zona existía un importante componente inflamatorio, aislándose *Candida albicans* del cultivo de las muestras obtenidas en la zona del pseudoaneurisma. La colocación de la prótesis recubierta permitió excluir el pseudoaneurisma y realizar la trasplantectomía en un segundo tiempo. En el paciente con pseudoaneurisma de la ílica primitiva el diagnóstico se realizó en el estudio de evaluación para retrasplante, estando el paciente asintomático.

Conclusión

Las complicaciones vasculares son una causa significativa de morbilidad en los pacientes receptores de un trasplante pancreático. La introducción del uso sistemático de la ecografía Doppler color en el seguimiento posterior al trasplante ha permitido realizar el diagnóstico precoz de estas complicaciones, lo cual ha hecho posible ofrecer a estos pacientes una opción terapéutica, ya sea quirúrgica o vascular intervencionista. Esta última, en pacientes seleccionados, es una alternativa terapéutica a la reintervención quirúrgica.

Bibliografía

1. Humar, A., Kandaswamy, R., Granger, D., Gruessner, R.W., Gruessner, A., Sutherland, D.E.R. *Decreased surgical risk of pancreas transplantation in the modern era*. Ann Surg 2000; 2: 269-275.
2. Troppmann, C., Gruessner, A.C., Benedetti, E. y cols. *Vascular graft thrombosis after pancreatic transplantation: Univariate and multivariate operative and non-operative risk factor analysis*. J Am Coll Surg 1996; 182: 285-316.
3. Gruessner, R.W.G., Sutherland, D.E.R., Troppmann, C. y cols. *The surgical risk of pancreas transplantation in the cyclosporine era: An overview*. J Am Coll Surg 1997; 185: 128-144.
4. Sollinger, H.W. *Pancreatic transplantation and vascular graft thrombosis*. J Am Coll Surg 1996; 182: 362-363.
5. Fernández-Cruz, L., Sabater, L., Gilabert, R., Ricart, M.J., Sáenz, A., Astudillo, E. *Native and graft pancreatitis following combined pancreas-renal transplantation*. Br J Surg 1993; 80: 1429-1432.
6. Benedetti, E., Troppmann, C., Gruessner, A.C., Sutherland, D.E.R., Dunn, D.L., Gruessner, R.W.G. *Pancreas graft loss caused by intra-abdominal infection*. Arch Surg 1996; 131: 1054-1060.
7. Gilabert, R., Fernández-Cruz, L., Bru, C., Sáenz, A., Andreu, J. *Duplex-Doppler ultrasonography in monitoring clinical pancreas transplantation*. Transplant Int 1988; 1: 172-177.
8. Fernández-Cruz, L., Gilabert, R., Sabater, L., Sáenz, A., Astudillo, E. *Pancreas graft thrombosis: Prompt diagnosis and immediate thrombectomy or retransplantation*. Clin Transplantation 1993; 7: 230-234.
9. Fisher, R.A., Munda, R., Madden, R. *Pancreas transplant functional salvage after segmental vascular thrombosis*. Transplant Proc 1993; 25: 2138-2140.
10. Foshager, M.C., Hedlund, L.J., Troppmann, C., Benedetti, E., Gruessner, R.W.G. *Venous thrombosis of pancreatic transplants: Diagnosis by duplex sonography*. AJR Am J Roentgenol 1997; 169: 1269-1273.
11. Gilabert, R., Fernández-Cruz, L., Real, M.I., Ricart, M.J., Astudillo, E., Montaña, X. *The treatment and outcome of pancreatic venous graft thrombosis after kidney - pancreas transplantation*. Br J Surg 2002; 89: 355-360.
12. Ciancio, G., Julián, J.F., Fernández, L., Miller, J., Burke, G. *Successful surgical salvage of pancreas allografts after complete venous thrombosis*. Transplantation 2000; 70: 126-131.

13. Kuo, P.C., Wong, J., Schweitzer, E.J., Johnson, L.B., Lim, J.W., Bartlett, S.T. *Outcome after splenic vein thrombosis in the pancreas allograft*. *Transplantation* 1997; 64: 933-935.
14. Bücker, A., Schmitz-Rode, T., Vorwek, D., Günther, R.W. *Comparative in vitro study of two percutaneous hydrodynamic thrombectomy systems*. *J Vasc Interv Radiol* 1996; 7: 445-449.
15. Sharafuddin, M.J.A., Hicks, M.E. *Current status of percutaneous mechanical thrombectomy. Part III. Present and future applications*. *J Vasc Interv Radiol* 1998; 9: 209-224.
16. Reekers, J.A., Blank, L.E.C. *Iliocaval thrombosis: Percutaneous treatment with hydrodynamic thrombectomy*. *Eur Radiol* 2000; 10: 326-328.

HEPATITIS C VIRUS AFTER LIVER TRANSPLANTATION

M. Berenguer

Hepato-Gastroenterology Service, Hospital Universitario La Fe, Valencia, Spain

Introduction

HCV-related end-stage liver disease, alone or in combination with alcoholism, has become the leading indication for liver transplantation in most transplant programs. Liver transplantation is typically considered for these patients in two situations: decompensated cirrhosis and hepatocellular carcinoma. HCV recurrence, defined as the presence of virus in serum, is nearly universal and is characterized by a steep rise in the levels of viremia. Early short-term survival is comparable to that obtained with other etiologies. Emerging data are, however, demonstrating that the long-term outcome is not as benign as previously thought. Histological damage occurs in the majority of patients, with progression to cirrhosis in as many as 50% within the first 10 years posttransplantation. The development of cirrhosis heralds early decompensation, which is associated with a very poor survival. Factors associated with a worse outcome include infection with HCV genotype 1b, high levels of viremia prior to and early following transplantation, recurrence within the first six months posttransplantation, severe initial histological findings, heavy immunosuppression and old age of the donor.

Natural history of posttransplantation hepatitis C

Source of infection

When the patient is infected at the time of transplantation, recurrent infection, defined as the presence of virus in serum, is universal. In these circumstances, a rapid and sharp decline in viral load occurs immediately after removal of the infected liver, followed by a progressive increase in serum HCV RNA reaching pretransplantation levels as early as day 4 and up to 10- to 20-fold higher at one month (1). Although rare since the implementation of routine donor screening, the virus may also be acquired from contaminated blood and organ donors and by nosocomial acquisition.

Histological outcome

Recurrence of infection is associated with histological evidence of liver injury in the majority of patients (2-9), and with progression to cirrhosis in a percentage that varies between 6-23% at a median of three years posttransplantation. This wide range is likely related to the use of different case definitions (biochemical vs. virological vs. histological criteria). Indeed, liver function tests are not correlated with either viremia or histologic disease severity (2-4, 10), and protocol liver biopsies are generally needed to identify progression to severe forms of chronic hepatitis.

In one study based on yearly liver biopsies, the probability of developing HCV-related graft cirrhosis was 28% at five years (3). An extended follow-up has shown that this percentage may increase to 51% at seven years (6). In addition, in a small proportion of patients (<10%), an accelerated course of liver injury leading to liver failure has been observed (2), reminiscent of that described in HBV-infected recipients with fibrosing cholestatic hepatitis (11).

The course of hepatitis C is more aggressive in immunocompromised patients than in immunocompetent patients, with the former group showing a significantly higher rate of fibrosis progression (0.3 fibrosis units/year [0.004-2.19] vs. 0.2 fibrosis units/year [0.09-0.8], respectively, $p<0.0001$) (8), and as a consequence a shorter interval until the development of cirrhosis (9-12 years vs. 20-30 years, respectively) (8). These differences are also present once the cirrhosis has become established, with a higher risk of clinical decompensation (42% vs. 5-10%) in one year (12).

Finally, recent data have shown that disease progression, and the consequent risk of developing severe HCV hepatitis posttransplantation, have been increasing in recent years (6, 8).

Survival

The negative clinical impact of HCV infection has been reported in several studies (6, 13), with two recent studies showing that HCV infection significantly impairs patient and allograft survival (60-70% vs. 76-77% in non-HCV controls at five years). In addition, the poorer histological outcome seen in recent years is beginning to translate in some centers into a reduced survival, with recurrence of the original disease (*i.e.*, HCV cirrhosis) being the main cause of death (6).

In order to increase the number of potential donors, organs from anti-HCV-positive donors are sometimes utilized in recipients already infected with HCV. The natural history of posttransplantation hepatitis C in these cases seems to be similar to that of anti-HCV-positive recipients receiving anti-HCV-negative grafts (2).

Prognostic factors

While one third of patients progresses to cirrhosis, another third remains stable. Determinants of accelerated progression have been sought in many studies (2).

Viral-related factors

The relationship between disease severity and infecting genotype is unclear (2). Some but not all studies have implicated genotype 1, and in particular subtype 1b, in a more aggressive course. The association between levels of viremia and disease severity have also been discrepant (2), with most cross-sectional studies showing no correlation. High levels of viremia have been described in the setting of fibrosing cholestatic hepatitis and during the acute phase of recurrent hepatitis C, suggesting that in these situations liver damage may be due to the direct cytopathic effect of HCV (11). Hepatitis C viremia levels prior to (7, 8) and/or early posttransplantation appear to predict subsequent outcome. Data suggest that HCV quasispecies mutation may play a role in the pathogenesis of progressive HCV infection. Results from published studies are, however, inconclusive (2, 11).

Immunosuppression-related factors

Several findings point indirectly to the relevant role played by the immune system. In addition, most studies have found a positive correlation between a high rate of cirrhosis development and potent immune suppression (high number of boluses of methylprednisolone, use of OKT3 or antilymphocytic preparations and high total cumulative doses of steroids). Results concerning the association between the type of immunosuppression administered and disease severity are less clear. In particular, conflicting data exist as to whether ciclosporin (neoral)-based regimens are better or worse than tacrolimus-based regimens, whether mycophenolate mofetil is detrimental, and whether a rapid steroid withdrawal is beneficial (2, 11).

Early histological findings

Initial severe recurrent hepatitis C is predictive of subsequent progression to cirrhosis (3, 4). The timing of recurrence is also important, with early recurrence (less than six months posttransplantation) being associated with a poorer outcome (9).

Donor age

Organs from old donors are at an increased risk of developing progressive hepatitis C posttransplantation (6). This may be one reason for the poorer histological outcome seen in recent years.

Other factors

Some but not all studies have suggested that while HLA-B sharing between the donor and the recipient reduces the incidence of acute cellular rejection, it also promotes the recurrence of viral hepatitis in the liver transplant recipients. Patients who develop CMV viremia and those with a prolonged rewarming are probably at increased risk of severe HCV recurrence. The effect of HBV coinfection on HCV recurrence is unclear. In contrast, coinfection with HGV does not influence the course of HCV disease. Race may affect outcome, with non-Caucasians doing worse than Caucasians (8). The rate of fibrosis progression prior to transplantation was shown to be unrelated to that observed after transplantation (8).

Retransplantation

Because of the progressive nature of recurrent HCV disease, it is likely that in the next decade there will be a marked increase in the number of HCV-infected recipients in need of retransplantation. It is thus imperative to determine whether all patients with graft failure due to recurrent HCV disease are candidates for further transplantation. This is a difficult issue to resolve at present because very few studies have focused on this problem. The debate is further complicated by an increasing shortage of organ donors, as well as by concerns about the severity of recurrent HCV disease in the second graft. In a recent case series based on annual protocol biopsies, HCV-related disease severity following retransplantation was found to be related to that observed following the first transplant (14).

References

1. García-Retortillo, M., Forns, X., Feliu, A. et al. *Hepatology* 2002; 35: 680.
2. Berenguer, M., López-Labrador, F.X., Wright, T.L. *Hepatitis C and liver transplantation*. *J Hepatol* 2001; 35: 666.
3. Gane, E., Portmann, B., Naoumov, N. et al. *Long-term outcome of hepatitis C infection after liver transplantation*. *N Engl J Med* 1996; 334: 815.
4. Prieto, M., Berenguer, M., Rayón, M. et al. *High incidence of allograft cirrhosis in hepatitis C virus genotype 1b infection following transplantation: Relationship with rejection episodes*. *Hepatology* 1999; 29: 250.
5. Feray, C., Caccamo, L., Alexander, G.J.M. et al. *European Collaborative Study on factors influencing the outcome after liver transplantation for hepatitis C*. *Gastroenterology* 1999; 117: 619.
6. Berenguer, M., Prieto, M., San Juan, F. et al. *Contribution of donor age to the recent decrease in patient survival among HCV-infected liver transplant recipients*. *Hepatology* 2002; 36: 202.
7. Charlton, M., Seaberg, E., Wiesner, R. et al. *Predictors of patient and graft survival following liver transplantation for hepatitis C*. *Hepatology* 1998; 28: 823.

8. Berenguer, M., Ferrell, L., Watson, J. et al. *HCV-related fibrosis progression following liver transplantation: Increase in recent years*. J Hepatol 2000; 32: 673.
9. Testa, G., Crippin, J.S., Netto, G.J. et al. *Liver transplantation for hepatitis C: Recurrence and disease progression in 300 patients*. Liver Transpl 2000; 6: 553.
10. Berenguer, M., Rayón, M., Prieto, M. et al. *Are post-transplantation protocol liver biopsies useful in the long-term?* Liver transplantation 2001; 7: 790.
11. McCaughan, G.W., Zekry, A. *Pathogenesis of hepatitis C virus recurrence in the liver allograft*. Liver Transpl 2002; 8(Suppl. 1): 7.
12. Berenguer, M., Prieto, M., Rayón, J.M. et al. *Natural history of clinically compensated HCV-related graft cirrhosis following liver transplantation*. Hepatology 2000; 32: 852.
13. Forman, L.M., Lewis, J.D., Berlin, J.A. et al. *The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation*. Gastroenterology 2002; 122: 889.
14. Berenguer, M., Prieto, M., Palau, A. et al. *Severe recurrent hepatitis C following liver re-transplantation for HCV-related graft cirrhosis*. Liver Transpl 2002 (in press).

PROFILAXIS Y TRATAMIENTO DE LA REINFECCIÓN POR EL VHC

X. Forn

Servicio de Hepatología, IMD, Hospital Clínic, Barcelona

El virus de la hepatitis C (VHC) es un virus ARN que pertenece a la familia de los *Flaviviridae* (1). Una de las características más importantes del VHC es que evoluciona a una infección crónica en más de la mitad de los pacientes infectados, y en una proporción significativa de éstos puede dar lugar a la aparición de cirrosis hepática con el paso de los años. La cirrosis hepática terminal secundaria a una infección crónica por el VHC es la indicación más frecuente de trasplante ortotópico de hígado, representando más de dos terceras partes de los casos en la mayoría de los programas de trasplante de nuestra área geográfica.

Después del trasplante, la infección del injerto por el VHC se produce de forma casi universal. En estos pacientes la infección se cronifica en prácticamente todos los casos, y en una proporción notable, que supera el 50%, existen ya lesiones de hepatitis crónica al año del trasplante. Diversos estudios realizados en Europa y en Estados Unidos han puesto de manifiesto que entre un 20% y un 40% de los casos desarrollan una cirrosis hepática pasados cinco años del trasplante (2, 3). Ello explicaría la disminución en la supervivencia de los injertos y de los individuos infectados por el VHC a medio y a largo plazo, si se compara con la de los pacientes sometidos a trasplante por otras causas (alcohol, enfermedades crónicas colestáticas, virus de la hepatitis B [VHB]) (4).

Estos hechos hacen que la prevención de la infección por el VHC en el injerto hepático sea uno de los objetivos más importantes en los programas de trasplante hepático.

Existen diversas estrategias para intentar prevenir la recurrencia de la infección por el VHC (o al menos la recurrencia de la enfermedad) tras el trasplante hepático. Ninguna de ellas se ha demostrado hasta ahora muy eficiente, y es por ello que presumiblemente deban combinarse varias para lograr la máxima eficacia.

Erradicación de la infección por el VHC antes del trasplante

Hasta hace poco, el único tratamiento eficaz para la infección por el VHC era el interferón, que conseguía eliminar el virus en menos del 20% de los pacientes tratados. La tasa de respuesta era especialmente baja en los enfermos cirróticos y en aquellos infectados por el genotipo 1b (la gran mayoría en nuestra área geográfica). La introducción de la ribavirina en el arsenal terapéutico frente a la hepatitis C ha conseguido incrementar de forma significativa la

eficacia del tratamiento, y en más de un tercio de los enfermos con hepatitis crónica C y genotipo 1b se produce una respuesta viral sostenida. La reciente incorporación de los interferones pegilados ha mejorado estos resultados, muy probablemente por su mejor farmacocinética, alcanzando una respuesta viral sostenida en casi la mitad de los pacientes tratados.

Una de las posibles opciones para evitar la infección del injerto por el VHC en pacientes tributarios de trasplante hepático es el tratamiento de la infección en la fase previa al trasplante. Teóricamente, si el recambio orgánico se produce en un momento en que el ARN del VHC es indetectable, y se elimina el único o principal reservorio del virus (el hígado), la reinfección se podría evitar. Los problemas asociados a esta estrategia terapéutica son, básicamente, la peor eficacia del tratamiento en enfermos cirróticos y la mala tolerancia y los efectos adversos potencialmente graves. Es importante recordar que la escasa proporción de cirróticos incluidos en los grandes ensayos terapéuticos hace difícil saber con exactitud la eficacia de la terapia combinada en este tipo de pacientes. Ello es todavía más difícil en los casos de cirrosis avanzada.

Existe un solo estudio publicado en la literatura sobre tratamiento antiviral en pacientes en lista de espera para trasplante hepático (5). En dicho estudio, en el que se incluyeron 15 pacientes, se realizó tratamiento con interferón o con interferón y ribavirina. Se obtuvo una respuesta viral sostenida en una tercera parte de los pacientes, pero los efectos secundarios graves fueron muy frecuentes y se produjo un caso de muerte por sepsis. Por otro lado, no se dispone del seguimiento (postrasplante) en los pacientes que consiguieron una respuesta viral. Los resultados de este estudio desaconsejaban la utilización de tratamiento en este grupo de pacientes.

Nuestro grupo, con la colaboración de otros centros en España, ha realizado un estudio que evaluó la eficacia y seguridad del tratamiento con interferón y ribavirina en 30 pacientes en lista de espera para trasplante hepático (6). La mitad de los pacientes eran *Child A* y la otra mitad *Child B/C*. En más del 80% de los casos estaban infectados por el genotipo 1. El tratamiento se iniciaba cuando se calculaba que el tiempo de espera para el trasplante era de unos cuatro meses y se continuaba hasta el mismo momento del trasplante. El tiempo medio de tratamiento fue de 12 semanas; se produjo respuesta viral durante el tratamiento en nueve (30%) de los 30 pacientes. Las variables que se asociaron a dicha respuesta fueron una baja carga viral pretratamiento y el descenso precoz del ARN-VHC ($>2 \log_{10}$ a las cuatro semanas del tratamiento). Tras el trasplante hubo recidiva de la infección en todos los pacientes con carga viral detectable pretrasplante, y en tres de los nueve que respondieron al tratamiento. Por lo tanto, la respuesta viral mantenida tras el trasplante fue del 20%. Los efectos adversos fueron frecuentes (especialmente los hematológicos), pero ningún paciente falleció durante el tratamiento. Estos resultados son equiparables a los presentados recientemente por Everson y cols. (7). La estrategia utilizada por este grupo fue distinta a la nuestra. Los pacientes iniciaron el tratamiento a dosis bajas de interferón y ribavirina, y éstas se incrementaban de forma progresiva en función de la tolerancia, hasta alcanzar las 48 semanas. Se alcanzó respuesta viral sostenida en 20 (20%) de los 102 pacientes incluidos en el estudio. Diez de ellos han sido trasplantados sin que se haya producido recurrencia de la infección. Como ocurrió en el anterior trabajo, los efectos secundarios fueron frecuentes y obligaron a modificar o suspender la medicación en una proporción significativa de los pacientes.

Estos resultados pueden considerarse buenos, teniendo en cuenta la gravedad de la recurrencia de la hepatitis C en el postrasplante. Lógicamente sería necesario evaluar la aplicabilidad real de este tratamiento en los pacientes en lista de espera. En nuestro estudio, sólo alrededor de una tercera parte de los que estaban en lista no fueron tributarios de tratamiento, debido a las cifras de plaquetas o leucocitos. Parece lógico que los pacientes con función hepatocelular preservada (carcinoma hepatocelular con buena función hepática) y los tributarios de un trasplante de donante vivo (en quienes es posible programar con antelación la intervención) son los mejores candidatos al tratamiento.

Inmunoprofilaxis de la recurrencia

Desde hace tiempo se conoce la existencia de anticuerpos neutralizantes frente al VHC. Los datos de que se dispone hasta ahora parecen demostrar que los anticuerpos con capacidad neutralizante están dirigidos contra las proteínas de la envoltura y especialmente contra la proteína E2 (8, 9). Sin embargo, parece claro que el VHC puede evadir la respuesta inmune, mediante la aparición de mutantes de escape frente a estos anticuerpos con capacidad neutralizante (9, 10).

Existen algunos estudios que han contribuido a la demostración de la existencia de anticuerpos con capacidad neutralizante en experimentos realizados en chimpancés, único modelo animal que permite la replicación del virus. Krawczynski y cols. (11) objetivaron que la infusión de preparados comerciales de Ig anti-VHC positivos (con títulos altos de anti-E2) a chimpancés, 24 horas tras la inoculación experimental del virus, era capaz de retardar significativamente la aparición de viremia y hepatitis.

Respecto a la aplicación de la inmunoprofilaxis pasiva para la prevención de la infección del injerto por el VHC, un estudio retrospectivo (12) demostró que los pacientes trasplantados por cirrosis hepática por VHC y VHB, y que habían recibido inmunoglobulina anti-HBsAg (para prevenir la infección por VHB) antes de 1990, presentaban una tasa de infección por el VHC significativamente inferior a enfermos que la habían recibido después de 1990. La diferencia entre estos grupos es que la Ig anti-HBsAg utilizada antes de 1990 contenía anticuerpos contra el VHC, (virus aún no descubierto). Por lo tanto, estos datos también sugieren que es posible prevenir la infección por el VHC mediante inmunoprofilaxis pasiva.

Las principales dificultades que plantea esta estrategia son la obtención de anticuerpos y la variabilidad genética del virus, que le permitiría eludir la acción de los anticuerpos neutralizantes con relativa facilidad.

Tratamiento antiviral tras el trasplante hepático

La estrategia más utilizada en estos momentos para prevenir la recurrencia de la enfermedad por el VHC en el injerto hepático parece ser la erradicación del virus en la fase posterior al trasplante hepático. Sin embargo, los estudios realizados hasta ahora en pacientes trasplantados demuestran que la eficacia del tratamiento antiviral es claramente inferior si se compara con enfermos inmunocompetentes (13).

El tratamiento antiviral se puede iniciar precozmente (durante los primeros días o semanas siguientes al trasplante) o bien de forma más tardía. La ventaja teórica de iniciar el tratamiento de forma precoz es que se podría erradicar la infección antes del desarrollo de lesiones hepáticas. Sin embargo, es más que probable que se aplicara el tratamiento a pacientes que no desarrollarían lesiones graves a medio y largo plazo. Además, hay que tener en cuenta que en la fase inicial del trasplante los pacientes están muy inmunosuprimidos, lo cual puede influir en una menor eficacia. Por otro lado, la tolerancia a la medicación en esta fase del trasplante es mucho peor. Existen pocos estudios que hayan evaluado el tratamiento antiviral en fases precoces postrasplante. La monoterapia con interferón no se ha demostrado eficaz en la obtención de una respuesta viral, aunque en los pacientes que recibieron tratamiento precoz se produjo un retraso en la aparición de la hepatitis y una menor incidencia de recidiva histológica (14, 15). Parece que el tratamiento combinado, iniciado a los pocos días del trasplante, podría ser mucho más eficaz, pero actualmente existen pocos datos para recomendar su utilización de forma generalizada (16).

Uno de los aspectos que menos se ha investigado en la fase precoz del trasplante hepático es la cinética viral, clave para plantear nuevas estrategias terapéuticas. Nuestro grupo realizó recientemente un estudio en el que se determinó la carga viral del VHC durante e inmediatamente después del trasplante hepático (17). Nuestros datos demuestran que se produce una disminución significativa de la viremia en la fase anhepática, y especialmente durante la reperfusión del hígado, sugiriendo esto último una entrada masiva de viriones en el nuevo órgano. Fue particularmente importante observar que en la mayoría de pacientes, la carga viral alcanzaba índices iguales o superiores a los del pretrasplante a las 24 horas de haberse realizado. Por dicho motivo, cualquier tratamiento antiviral precoz debería iniciarse antes del primer día del trasplante, aprovechando los índices bajos (o indetectables en ocasiones) del ARN del VHC.

Actualmente, la estrategia más razonable de tratamiento antiviral en los pacientes con recurrencia de la hepatitis C postrasplante es iniciarla pasados unos meses del trasplante, cuando los índices de inmunosupresión son más bajos y se dispone de un seguimiento clínico e histológico que permite evaluar la gravedad de la recidiva. Existen algunos estudios piloto de tratamiento antiviral combinado con interferón y ribavirina. La eficacia del tratamiento combinado, en términos de respuesta viral sostenida, oscila entre el 5% y el 30% (18). En todos los trabajos publicados se demuestra que la aparición de efectos adversos (especialmente la anemia y la leucocitopenia) es muy frecuente, lo cual obliga a la modificación o suspensión de las dosis de antivirales en una proporción significativa de los casos.

El único estudio controlado de tratamiento combinado en este tipo de pacientes fue comunicado recientemente por Samuel y cols. (19). En dicho trabajo se incluyeron un total de 52 pacientes, de los cuales 24 formaron el grupo control y 28 recibieron tratamiento a dosis estándar. El tratamiento se inició como mínimo seis meses tras el trasplante y se prolongó por espacio de 48 semanas. Se consiguió una respuesta viral sostenida en seis (21%) de los 28 pacientes tratados, frente a ninguno del grupo control. Como en otros estudios, los efectos adversos fueron habituales y fue necesario suspender el tratamiento en 12 (43%) de los pacientes que lo estaban recibiendo. La anemia fue el efecto secundario más frecuente. En general, y a tenor de la mayoría de estudios publicados hasta la fecha, no parece que la incidencia de rechazo sea superior en los pacientes tratados con interferón.

La reciente incorporación del interferón pegilado al arsenal terapéutico de la hepatitis crónica C podría mejorar los resultados obtenidos hasta el momento, dada su mejor farmacodinámica en relación al VHC. Sin embargo, habrá que esperar a la publicación de estudios controlados para conocer si la eficacia es realmente superior.

Cambios en la inmunosupresión

Aunque es muy difícil demostrar una influencia directa del tipo de inmunosupresión en la evolución de la recurrencia de la hepatitis C tras el trasplante hepático, hay datos que sugieren que las pautas inmunosupresoras actuales podrían influir negativamente en la recurrencia C. En un estudio publicado recientemente, se plantea que tanto la utilización de inmunosupresores más potentes como la retirada precoz de fármacos inmunosupresores de “segunda línea” podrían explicar el incremento en la incidencia de recidivas graves en los últimos años (20). En cuanto a este último aspecto, la posible “reconstitución” del sistema inmune que se produciría tras una reducción brusca de la inmunosupresión podría justificar un mayor daño hepático en algunos pacientes.

Los datos acerca de una recidiva más grave de la infección por el VHC en función del tipo de esquema inmunosupresor, a día de hoy, son todavía especulativos. Sí parece demostrado que el reciclaje con corticoides o la utilización de OKT3 para el tratamiento del rechazo son variables que se asocian a recurrencias graves. Sin embargo, es fundamental recalcar que los estudios realizados hasta el momento son retrospectivos. Por lo tanto, es imprescindible un análisis detallado de la influencia del tipo de inmunosupresión en la recurrencia de la hepatitis C en ensayos controlados que ya se están llevando a término.

Conclusiones

Con los datos de que disponemos hasta la fecha, es evidente que no existe un tratamiento eficaz para la prevención de la recurrencia de la infección por el VHC en pacientes sometidos a trasplante hepático. La terapia antiviral antes del trasplante es posible en grupos de pacientes seleccionados, especialmente en aquellos con buena función hepática y con variables virales favorables (genotipo no-1, carga viral baja). Si se produce la infección del injerto tras el trasplante, parece lógico iniciar el tratamiento pasados unos meses. En ambas situaciones, hay que esperar una elevada incidencia de efectos adversos y será necesario un seguimiento clínico y analítico estricto de estos pacientes. En cualquier caso, hacen falta estudios controlados que incluyan un número suficiente de pacientes como para que las decisiones terapéuticas se establezcan con criterio, así como para poder conocer qué variables pueden predecir el tipo de respuesta al tratamiento. Ello facilitará una mejor selección de los pacientes candidatos al tratamiento.

Parece también claro que, en pacientes con recurrencia de la infección por el VHC, será necesario analizar más profundamente el papel de la inmunosupresión en la gravedad de la recidiva y, si fuera necesario, ajustar el tipo de fármacos de forma muy individualizada.

Una vez hechas estas observaciones, es muy probable que dentro de algunos años dispongamos de fármacos con acción antiviral potente y con menor toxicidad que los actuales. Será entonces cuando la recurrencia del virus en el injerto dejará de representar el mayor problema en los programas de trasplante hepático.

Bibliografia

1. Forns, X., Purcell, R.H., Bukh, J. *Quasispecies in viral persistence and pathogenesis of hepatitis C virus*. Trends Microbiol 1999; 7: 402-410.
2. Berenguer, M., Ferrell, L., Watson, J. y cols. *HCV-related fibrosis progression following liver transplantation: Increase in recent years*. J Hepatol 2000; 32: 673-684.
3. Prieto, M., Berenguer, M., Rayón, J.M. y cols. *High incidence of allograft cirrhosis in hepatitis C virus genotype 1b infection following transplantation: Relationship with rejection episodes*. Hepatology 1999; 29: 250-256.
4. Forman, L.M., Lewis, J.D., Berlin, J.A., Feldman, H.I., Lucey, M.R. *The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation*. Gastroenterology 2002; 122: 889-896.
5. Crippin, J.S., McCashland, T., Terrault, N., Sheiner, P., Charlton, M.R. *A pilot study of the tolerability and efficacy of antiviral therapy in hepatitis C virus-infected patients awaiting liver transplantation*. Liver Transpl 2002; 8: 350-355.
6. Forns, X., García-Retortillo, M., Feliu, A. y cols. *Antiviral therapy of patients with decompensated cirrhosis to prevent recurrence of hepatitis C after liver transplantation*. Hepatology 2002; 36 (Abstract): 177A.
7. Everson, G., Trouillot, T., Trotter, J., Halprin, A., McKinley, C., Fey, B. *Treatment of decompensated cirrhotics with a low-accelerating dose regimen (LADR) of interferon-alfa-2b plus ribavirin: Safety and efficacy*. Hepatology 2001; 32 (Abstract): 595.
8. Farci, P., Alter, H.J., Wong, D.C. y cols. *Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees after antibody-mediated in vitro neutralization*. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91: 7792-7796.
9. Farci, P., Shimoda, A., Wong, D. y cols. *Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees by hyperimmune serum against the hypervariable region 1 of the envelope 2 protein*. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93: 15394-15399.
10. Weiner, A.J., Geysen, H.M., Christopherson, C. y cols. *Evidence for immune selection of hepatitis C virus (HCV) putative envelope glycoprotein variants: Potential role in chronic HCV infections*. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89: 3468-3472.
11. Krawczynski, K. *Passive transfer of anti-HCV in chronic and acute HCV infection in chimpanzees - trials of experimental immune treatment*. Hepatology (Abstract) 1999; 30: 423A.
12. Feray, C., Gigou, M., Samuel, D. y cols. *Incidence of hepatitis C in patients receiving different preparations of hepatitis B immunoglobulins after liver transplantation*. Ann Intern Med 1998; 128: 810-816.
13. Berenguer, M., López-Labrador, F.X., Wright, T.L. *Hepatitis C and liver transplantation*. J Hepatol 2001; 35: 666-678.
14. Sheiner, P.A., Boros, P., Klion, F.M. y cols. *The efficacy of prophylactic interferon alfa-2b in preventing recurrent hepatitis C after liver transplantation*. Hepatology 1998; 28: 831-838.
15. Singh, N., Gayowski, T., Wannstedt, C.F. y cols. *Interferon-alpha for prophylaxis of recurrent viral hepatitis C in liver transplant recipients: A prospective, randomized, controlled trial*. Transplantation 1998; 65: 82-86.
16. Mazzaferro, V., Regalia, E., Pulvirenti, A. y cols. *Prophylaxis against HCV recurrence after liver transplantation: Effect of interferon and ribavirin combination*. Transplant Proc 1997; 29: 519-521.
17. García-Retortillo, M., Forns, X., Feliu, A. y cols. *Hepatitis C virus kinetics during and immediately after liver transplantation*. Hepatology 2002; 35: 680-687.
18. Berenguer, M., Wright, T.L. *Treatment strategies for recurrent hepatitis C after liver transplantation*. Clin Liver Dis 1999; 3: 883-899.
19. Samuel, D., Bizollon, T., Feray, C. y cols. *Combination interferon alfa-2b and ribavirina for recurrent HCV infection after liver transplantation*. Hepatology 2001 (Abstract).
20. Berenguer, M., Prieto, M., San Juan, F. y cols. *Contribution of donor age to the recent decrease in patient survival among HCV-infected liver transplant recipients*. Hepatology 2002; 36: 202-210.

INGENIERÍA TISULAR

A. Meana y S. Llames

Unidad de Ingeniería Tisular, Centro Comunitario de Sangre y Tejidos del Principado de Asturias

La ingeniería tisular representa una alternativa a los trasplantes tradicionales de órganos y tejidos, ya que nos permite, a partir de un pequeño fragmento de tejido, recuperar la funcionalidad global del tejido u órgano dañado. La ingeniería tisular es la tecnología de la futura “medicina reparadora” (1). Conviene reseñar que sus posibilidades actuales radican en “la recuperación de la función perdida”, ya que la formación de órganos y tejidos similares a los naturales todavía está dentro de la ciencia ficción.

Un tejido humano está compuesto por células de diferente fenotipo, fijadas a una matriz extracelular y relacionadas entre sí por un complejo sistema de señales solubles (factores de crecimiento, diferenciación...). La matriz extracelular es fabricada y degradada por las células. Éste es un fenómeno dinámico en constante funcionamiento. En la matriz extracelular están presentes señales de fijación celular (proteínas de adhesión) importantes en el comportamiento final de las células. A su vez, la nutrición de este órgano se establece mediante la vascularización, y el tejido está sometido constantemente a fuerzas físicas y a la supervisión del sistema inmune. Todos estos puntos son críticos si queremos establecer una correcta estrategia de ingeniería tisular para un tejido determinado.

Las células son el componente primordial de un tejido. Para su desarrollo por ingeniería tisular es necesaria la obtención de suficientes células en las mejores condiciones posibles. Normalmente se parte de un fragmento de tejido, por lo cual el número inicial de células es escaso, siendo necesario realizar una expansión de dicha cantidad inicial mediante cultivo celular. Sin embargo, estas técnicas pueden modificar las células originales, produciéndose un fenómeno de indiferenciación que hace que las células obtenidas tras el cultivo no sean funcionales ni representen a las extraídas originariamente del tejido. El conocimiento de la biología celular, así como de los factores de crecimiento y diferenciación que controlan el mantenimiento de una estirpe celular determinada son importantes para lograr nuestro objetivo, que es obtener un gran número de células funcionales a partir de un pequeño fragmento de tejido (2).

Las células pueden originarse a partir de un fragmento de tejido adulto (piel, cartílago) (3); normalmente esto servirá para desarrollar un tejido semejante al del origen (cultivo de queratinocitos, cultivo de condrocitos). También se pueden obtener células embrionarias multi o totipotentes, con las cuales podríamos desarrollar cualquier tipo de tejido (4). Sin embargo, en los últimos tiempos se conoce que es posible, a partir de un tejido adulto, extraer células que pueden diferenciarse hacia células de múltiples tejidos. El ejemplo más claro son las células de la médula ósea, ya que a partir de ellas podemos encontrar células con capacidad para diferenciarse a hepatocitos (5), células del sistema nervioso (6), tejidos derivados del mesénquima (osteocitos, condrocitos, adipocitos...) (7), células musculares (8), etc. Esta capacidad de multipotencialidad se puede ver también en otros tejidos, como la grasa subcutánea (9, 10). La presencia en algunos tejidos del adulto de células con potencialidad parecida o similar a la de las células embrionarias abre un número ilimitado de posibilidades de reparación tisular (11).

La matriz extracelular es una estructura que en ingeniería tisular hay que facilitar a las células para formar estructuras tridimensionales. El término utilizado en la bibliografía para referirse a ella es el de *scaffolds*. Un perfecto *scaffold* debe aportar tanto el componente “sostén” del tejido como las estructuras necesarias para que las células se adhieran a esta matriz. En dicha matriz artificial que se ha aportado, las células deben crecer y ser capaces de realizar sus funciones fisiológicas, digerirla y “producir” una matriz extracelular similar a la del tejido natural. La sustitución de la artificial por la extracelular se suele alcanzar una vez trasplantado el tejido fabricado al organismo, y en este cambio final interviene el sistema inmunitario, que ayuda a la degradación definitiva del *bioscaffold*. Una revisión de los diversos materiales utilizados, con una amplia bibliografía, se puede ver en Griffith (12).

Tras la unión de las células expandidas con la matriz extracelular, el tejido neoformado precisa un periodo de maduración, lo cual se logra en condiciones que imiten las normales del organismo (37°C, tensión de CO₂, humedad, factores de diferenciación...). Para dicho periodo se utilizan desde simples frascos de cultivo celular (similares

a los del periodo de expansión) a los modernos biorreactores, que son capaces de someter al nuevo tejido a unas condiciones muy similares a las fisiológicas (13).

Las fases finales del proceso de ingeniería tisular son la preparación del tejido para el trasplante y su transporte en condiciones idóneas al hospital. Estas fases son extremadamente importantes, ya que de nada sirve el tejido si el prototipo no puede ser manejado convenientemente en el quirófano (esterilidad del producto, manejabilidad), o si pierde gran parte de su viabilidad cuando lo sacamos del biorreactor.

Tras el trasplante es necesario que nuestro prototipo sea capaz de dejarse vascularizar, para que se integre definitivamente en el receptor. En dicha integración es importante el sistema inmunitario, que colabora a eliminar el material extraño permitiendo que poco a poco el tejido trasplantado sea similar al natural.

La complejidad de estos pasos hace que la ingeniería tisular sea un campo multidisciplinar donde los biólogos celulares, los químicos, los cirujanos, etc. intervienen para hacer posible el desarrollo de nuevos prototipos de tejidos.

Usos clínicos de productos de ingeniería tisular

A pesar de todo lo comentado, los usos clínicos actuales claramente aceptados de la ingeniería tisular están limitados a unas pocas aplicaciones, la mayoría de las cuales se realizan dentro de estrictos protocolos clínicos.

El uso más generalizado son los cultivos de queratinocitos y condrocitos. Los cultivos de queratinocitos se emplean en las unidades de quemados. A partir de una pequeña biopsia se consiguen grandes superficies de epitelio suficientes para cubrir todas las heridas de un gran quemado (14). Posteriormente se han desarrollado cultivos sobre dermis artificiales que mejoran los resultados del cultivo de epitelio aislado (15, 16).

Los cultivos de condrocitos para el tratamiento de las lesiones agudas y profundas del cartílago articular se realizan desde el año 1994 (17). Los resultados obtenidos durante el seguimiento son suficientes para que la técnica descrita por estos autores (trasplante de una suspensión de condrocitos expandidos *ex vivo*) se siga practicando.

Los tejidos realizados mediante ingeniería tisular también han sido utilizados en la reparación de lesiones óseas (18), corrección de miopatías (19), regeneración de lesiones cardíacas (20) y endotelización de prótesis vasculares (21), pero quizás el campo de mayor aplicación es la inmunoterapia antioncológica (22, 23). En este campo se están realizando actualmente múltiples ensayos clínicos, por lo que los resultados aún no han sido claramente evaluados.

La importancia futura que tienen estos tratamientos está fuera de toda duda. Además, la posibilidad de utilizar células genéticamente modificadas en la composición de los nuevos tejidos (24) hace que la ingeniería tisular se integre plenamente con otra de las tecnologías con más futuro en el campo de la medicina: la terapia génica.

Por último, las expectativas de reparación tisular que han abierto las recientes investigaciones sobre células madre totipotentes, tanto embrionarias como del adulto, hacen que el futuro de la medicina reparadora pase necesariamente por las técnicas de ingeniería tisular.

Bibliografía

1. Sipe, J.D. *Tissue engineering and reparative medicine*. Ann NY Acad Sci 2002; 961: 1-9.
2. Parenteau, N.L., Young, J.H. *The use of cells in reparative medicine*. Ann NY Acad Sci 2002; 961: 27-39.
3. Dunnwald, M., Tomanek-Chalkley, A., Alexandrunas, D., Fishbaugh, J., Bickenbach, J.R. *Isolating a pure population of epidermal stem cells for use in tissue engineering*. Exp Dermatol 2001; 10: 45-54.
4. Soria, B., Roche, E., Berná, G., León-Quinto, T., Reig, J.A., Martín, F. *Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice*. Diabetes 2000; 49: 1-6.
5. Petersen, B.E., Bowen, W.C., Patrene, K.D. y cols. *Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells*. Science 1999; 284: 1168-1170.
6. Kopen, G.C., Prockop, D.J., Phinney, D.G. *Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains*. Proc Natl Acad Sci 1999; 96: 10711-10716.
7. Pittenger, M.F., Mackay, A.M., Beck, S.C. y cols. *Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells*. Science 1999; 284: 143-147.

8. Ferrari, G., Cusella-De Angelis, G., Coletta, M. y cols. *Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors*. Science 1998; 279: 1528-1530.
9. Katz, A.J., Lull, R., Hedrick, M.H., Futrell, J.W. *Emerging approaches to engineering of fat*. Clin Plast Surg 1999; 56: 207-216.
10. Zuk, P.A., Zhu, M., Mizuno, H. y cols. *Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies*. Tissue Eng 2001; 7: 211-228.
11. A human stem cell project? Nature 2002; 418: 1.
12. Griffith, L.G. *Emerging desing principles in biomaterials and scaffolds for tissue engineering*. Ann NY Acad Sci 2002; 961: 83-95.
13. Godbey, W.T., Atala, A. *In vitro systems for tissue engineering*. Ann NY Acad Sci 2002; 961: 10-26.
14. Berthod, F., Rouabhia, M. *Exhaustive review of clinical alternatives for damaged skin replacement*. En: Rouabhia, M. (Ed.). *Skin Substitute Production by Tissue Engineering: Clinical and Fundamental Applications*. RG Landes Company 1997; 23-45.
15. Burke, J.F., Yannas, W.C., Quinby y cols. *Successfull use of a physiologically acceptable artificial skin in the treatment of extensive burn injury*. Ann Surg 1991; 194: 413-428.
16. Meana, A., Iglesias, J., Del Río, M. y cols. *Large surface of cultured human epithelium obtained on a dermal matrix based on live fibroblast-containing fibrin gels*. Burns 1998; 24: 621-630.
17. Brittberg, M., Lindahl, A., Nilsson, A. y cols. *Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte implatation*. N Engl J Med 1994; 331: 889-895.
18. Horwitz, E.M., Prockop, D.J., Fitzpatrick, L.A. y cols. *Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta*. Nat Med 1999; 5: 309-313.
19. Urtizbera, J.A. *Therapies in muscular dystrophy: Current concepts and future prospects*. Eur Neurol 1999; 43: 127-132.
20. Orlic, D., Hill, J.M., Arai, A.E. *Stem cells for myocardial regeneration*. Circ Res 2002; 91: 1092-1102.
21. Meinhart, J.G., Deutsch, M., Fischlein, T., Howanietz, N., Froschl, A., Zilla, P. *Clinical autologous in vitro endothelialization of 153 infrainguinal ePTFE grafts*. Ann Thorac Surg 2001; 71: S327-S331.
22. Minez, B.R. *Melanoma vaccines*. Sem Oncol 2002; 29: 479-493.
23. Hwu, P., Freedman, R.S. *The immunotherapy of patients with ovarian cancer*. J Immunother 2002; 25: 189-201.
24. Del Río, M., Larcher, F., Meana, A., Segovia, J.C., Álvarez, A., Jorcano, J.L. *Non viral transfer of genes to pig primary keratinocytes. Induction of angiogenesis by composite grafts of modified keratinocytes over-expressing VEGF driven by a keratin promoter*. Gene Therapy 1999; 6: 1734-1741.

TRASPLANTE DE STEM CELLS EMBRIONARIAS Y ADULTAS

B. Soria

Instituto de Bioingeniería, Universidad Miguel Hernández, Alicante

Introducción

Las células madre o troncales (*stem cells*) son células que poseen la doble propiedad de poder regenerarse a sí mismas o de diferenciarse en otros tipos celulares (1). Dada la frecuencia con que se han descrito fenómenos de transdiferenciación celular, es oportuno añadir una tercera propiedad: la capacidad de colonizar y repoblar un tejido. Existen células madre en el embrión, en el feto y en el adulto (por extensión, las células madre del adulto incluyen las que puedan obtenerse de un individuo a partir del nacimiento). Las células madre embrionarias proceden de la masa celular interna del blastocisto (embrión de cinco a siete días). Las células madre del adulto y las de origen fetal

ya se utilizan en clínica, por ejemplo, en los trasplantes de médula. También las fetales se han ensayado en la terapia celular de la enfermedad de Parkinson. La principal diferencia en lo que respecta a estos tres orígenes es la capacidad de expansión y de diferenciación. En el ratón se ha comprobado que las células madre de origen embrionario pueden dar lugar a “cualquier tipo celular” presente en un individuo adulto, pero no a la placenta o a los tejidos extraembrionarios. Para ello se introdujo una de estas células en la masa celular interna de otro blastocisto, y se pudo constatar que la quimera resultante (mezcla de células de dos individuos) poseía descendientes de la célula introducida en cualquiera de sus tejidos, incluida la línea germinal. Es decir, a partir de las células madre embrionarias puede obtenerse cualquiera de los tipos celulares del individuo adulto; son, por lo tanto, células pluripotenciales. Cuando una célula madre puede diferenciarse en varios tipos se dice que es multipotencial. Las células ductales (progenitoras del páncreas endocrino) pertenecen a este grupo, ya que pueden dar lugar a cualquiera de los tipos celulares que encontramos en el islote. Cuando una célula madre está comprometida en su diferenciación hacia un solo tipo celular, se habla de células unipotenciales. Una célula totipotencial es aquella que puede dar lugar a todos los tipos celulares del embrión, es decir, no sólo a la masa celular interna, de la que deriva el feto, sino a la del trofocotodermo, de donde procede la placenta. Sólo los blastómeros de la mórula y el propio cigoto son totipotenciales.

¿Cuáles son las células madre del islote de Langerhans?

El páncreas procede del endodermo y aparece como resultado de la fusión de dos primordios (ventral y dorsal) del endodermo primitivo. La influencia de factores difusibles procedentes de la notocorda, y muy probablemente de la aorta, reprime la expresión de *sonic hedgehog* y pone en marcha la expresión de Pdx1. Pdx1 es un factor de transcripción presente en los precursores de célula beta (2). Este factor del grupo de los *homeoboxes* controla la expresión de grupos de genes. Durante el desarrollo es responsable de la diferenciación hacia células pancreáticas endocrinas. En la célula beta ya diferenciada controla la expresión del gen de la insulina. Pdx1 no es el único factor de transcripción que participa en el desarrollo y la función de la célula beta pancreática; el listado es largo y aún se están describiendo nuevos componentes y nuevos mecanismos. Para una revisión reciente ver Soria y cols. (2).

Uso de células madre embrionarias para generar células productoras de insulina

El grupo de ingeniería celular y tisular del Instituto de Bioingeniería de la Universidad Miguel Hernández ha desarrollado un método para la obtención de células que contienen y liberan insulina a partir de células embrionarias de ratón (2-4). El procedimiento se desarrolla en tres pasos: diferenciación *in vitro*, selección clonal y maduración. Para dirigir la diferenciación *in vitro*, a las células madre embrionarias de ratón que se mantienen indiferenciadas gracias a la presencia de una citocina, el factor inhibidor de la leucemia, se les retira dicho factor y se les cultiva en presencia de otros factores que pueden inducir diferenciación. El principal esfuerzo en este sentido debe ser intentar forzar la diferenciación hacia células que sean positivas a la insulina, Pdx1 o Nkx6.1, todos ellos marcadores de células beta. A continuación se procede a la selección clonal, ya que, aun en el supuesto de que se obtenga una población enriquecida de células positivas a la insulina y a marcadores de precursores de células endocrinas pancreáticas, hay que trabajar con una preparación que no contenga otros tipos celulares. Nunca sería aceptable el implante de células beta mezcladas con otros tipos celulares cuya fisiología se desconoce, o que incluso pueden acabar produciendo teratomas. El sistema de selección clonal que nosotros hemos publicado permite obtener células que sintetizan insulina (3). Para ello, las células se transfectan con una construcción en la cual la zona reguladora del gen de la insulina se había fusionado con un gen quimérico, β geo, que posee la doble propiedad de codificar la expresión de la enzima β galactosidasa y la proteína que confiere resistencia a la neomicina. Es decir, que cuando una célula exprese insulina, el mismo complejo de factores de transcripción que activa la polimerasa I del ARN, se activará también la expresión de β galactosidasa y del gen de resistencia a la neomicina. Si en estas condiciones añadi-

mos neomicina al cultivo eliminaremos todas las células que no produzcan insulina. Las células que se obtienen con este procedimiento son aún inmaduras y deben seguir un proceso de maduración. De entre los muchos sistemas ensayados, el que mejores resultados nos ha dado hasta el momento es la exposición a nicotinamida y glucosa en el rango fisiológico (5 mM). Por razones desconocidas, las células madre se cultivan en alta glucosa (25 a 30 mM), algo que a quienes trabajamos con la diabetes nos sorprende; al parecer, dichas concentraciones no son glucotóxicas para las células madre, aunque ésta sea la norma para las células adultas (5). Sin embargo, lo que es quizá más importante es que el trasplante de células derivadas de células madre normaliza la glucemia de ratones diabéticos. Cuando las células seleccionadas se implantaron en ratones a los que se había inducido una diabetes experimental mediante la inyección de 200 mg/kg de estreptozocina, se normalizó la glucemia en el 100% de los casos; por el contrario, ninguno de los ratones trasplantados sobrevivió más allá de cuatro o seis semanas (3, 4). Cuatro meses más tarde se pudo comprobar que tanto en el bazo como en el hígado, adonde llegan por la vía porta, existen células positivas para insulina y para β galactosidasa, lo cual indica que el fenotipo de las células trasplantadas se mantiene estable (4).

Células madre del epitelio ductal pancreático y células madre intraislote

La masa celular beta del adulto se adapta a las necesidades fisiológicas. Se sabe que aumenta en estadios incipientes de obesidad, y por supuesto durante el embarazo. Es decir, existen mecanismos que regulan el incremento de dicha masa celular. ¿Cuál es el origen de estas nuevas células beta? En el adulto, pueden proceder, por una parte, de la replicación de células beta preexistentes (que abandonarían por lo tanto su estado posmitótico) y de las posibles células madre intraislote (6), y por otra parte, la neogénesis de nuevos islotes se produce a partir de células del epitelio ductal. Bonner-Weir y cols. (7) han desarrollado un método para la obtención *in vitro* de islotes a partir de células ductales humanas. Para ello, las células ductales son cultivadas en monocapa en presencia de un medio que contiene insulina, transferrina y selenio, para a continuación ser cultivadas en una matriz tridimensional. En los “islotes” resultantes están presentes los diferentes tipos celulares. Aunque hasta el momento esta técnica posee una limitada capacidad de expansión, es de esperar que pueda mejorarse y ser utilizada para aumentar la cantidad de tejido con posibilidad de trasplantarse tras la obtención de islotes de un donante. Es importante señalar que en el protocolo de Edmonton (8) aproximadamente un 20% del material trasplantado posee marcadores positivos para células ductales.

¿Qué sentido tiene buscar nuevas fuentes de células madre para el islote de Langerhans?

El control estricto de la glucemia evita y retrasa la aparición de complicaciones en la diabetes (9). Aunque la terapia intensiva con insulina permite alcanzar este objetivo, la única forma de eliminar la necesidad de inyecciones de insulina es devolver al paciente las células de las que carece (8, 10). Hasta el momento la única fuente de islotes es la procedente de los donantes. Un eficiente servicio en la Coordinación de Trasplantes ha hecho que España posea la cifra de donantes de órganos más alta del mundo (aproximadamente de 34 donantes por millón de habitantes; es decir, se podría disponer de unos 1350 páncreas por año). Pero incluso si se alcanza el objetivo de normalizar la glucemia de un paciente tipo 1 con un solo donante (y no con los dos o tres que ahora mismo son necesarios), nunca dispondremos de suficientes donantes como para tratar a los 100.000 diabéticos tipo 1 que se estima que hay en nuestro país. En términos prácticos, no habrá bastantes órganos para el ritmo de pacientes que se diagnostican con diabetes tipo 1 cada año (aproximadamente 2000 de entre la población con menos de 30 años de edad). Por lo tanto, sólo si somos capaces de generar nuevas células beta tendremos material suficiente para atender las necesidades de nuestros pacientes. Si éste es el objetivo, la ingeniería celular con células madre puede ser de gran utilidad.

Células madre del adulto

Todos los tejidos sometidos a regeneración (piel, sangre, epitelio intestinal) poseen células madre. Se trata de células madre predeterminadas para formar ese tejido. Por ejemplo, en el caso de la regeneración hepática, parece ser que las células ovasales pueden desempeñar ese papel. Aparte de la extraordinaria utilidad que puede suponer la identificación y el aislamiento de las células madre de un tejido para la medicina regenerativa, en los últimos dos o tres años han aparecido una serie de trabajos en los que se formulaba la hipótesis sobre una mayor capacidad de diferenciación para algunos tipos celulares identificados en el adulto (ver 11, 12 para una revisión). Un estudio reciente de la Dra. Verfaillie ha identificado un tipo celular procedente de la médula ósea con una gran capacidad de proliferación y diferenciación (13). Es probable que en el adulto existan células que, separadas de su nicho y sometidas a mensajes del medio, adquieran unas propiedades de las que carecen *in vivo*. Sin embargo, otros trabajos también recientes han cuestionado la pluripotencialidad de estas células (14-16).

La regulación de la expresión génica puede proporcionar alguna clave sobre los mecanismos que controlan la proliferación y la diferenciación. Por ejemplo, el bloqueo de un canal de potasio presente en la membrana perinuclear activa la expresión de c-myc, un gen de expresión temprana ligado a la proliferación celular (17).

Bibliografía

1. Soria, B. y cols. *Pflugers Arch* 2000; 440: 1-18.
2. Soria, B. *Differentiation* 2001; 68: 205-219.
3. Soria, B. y cols. *Diabetes* 2000; 49: 157-162.
4. Soria, B. y cols. *Diabetologia* 2000; 44: 407-415.
5. Roche, E. y cols. *J Physiol Biochem* 200; 56: 119-128.
6. Zulewski, H. y cols. *Diabetes* 2001; 50: 521-533.
7. Bonner-Weir, S. y cols. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 7999-8004.
8. Shapiro, A.M.J. y cols. *N Eng J Med* 2000; 343: 230-238.
9. DCCT. *N Eng J Med* 1993; 329: 6510-6520.
10. International Islet Transplant Registry. University of Giessen, Germany 2001 (<http://www.med.uni-giessen.de>).
11. Berná, G., León-Quinto, T., Enseñat-Wasser, R., Montanya, E., Martín, F., Soria, B. *Biomed Pharmacother* 2001; 55: 206-212.
12. Berná, G., León-Quinto, T., Fuentes, E. y cols. *Rev Clin Esp* 2001; 201: 548-556.
13. Jiang, Y. y cols. *Nature* 2002; 418: 41-49.
14. Ying y cols. *Nature* 2002; 416: 545-548.
15. Terada y cols. *Nature* 2002; 416: 542-545.
16. Wagers, A.J. y cols. *Science* 2002; 297: 2256-2259.
17. Quesada, I. y cols. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 9544-9549.

ISLET CELL TRANSPLANTATION

D.E.R. Sutherland

Department of Surgery, University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, USA

Since the first clinical islet transplantation was done at the University of Minnesota in 1974, only 500 have been done worldwide. Because of beta-cell attrition during tissue processing, the application and logistics of islet transplants have been more difficult than those of pancreas transplants. It was not until the last three years that islet trans-

plant outcomes approached those of pancreas transplants, first at the University of Alberta, where islet retransplantations were conducted to obtain a sufficient beta-cell mass to induce insulin independence, and then at the University of Minnesota, with primary islet transplants from nondiabetic obese donors (above average beta-cell mass) to recipients with low pretransplant insulin requirements.

Under the concept of beta-cell replacement therapy, pancreas and islet transplants should be noncompeting technical modalities for diabetic candidates on a common or integrated waiting list. Those with low insulin requirements can receive islets from large donors (body mass index $>28 \text{ kg/m}^2$, representing about 25% of the donor pool) and those with high insulin requirements can receive a pancreas transplant from donors with a normal ($<28 \text{ kg/m}^2$) body mass index. This allocation scheme would allow primary (single donor) transplants to induce insulin independence in the largest number of recipients while still minimizing the need for major surgery or retransplantation in as many individuals as possible.

Living donor and split cadaver segmental pancreas transplants have also been done, so if islet isolation efficiency increases, two recipients could be done per cadaver donor. If half of the current number of cadaver donors (6,000 annually in the USA, one-fifth the annual incidence of new-onset cases of type I diabetes) were suitable to split, and hemipancreases were procured from living donors at a rate half that of living kidney donors (also 6,000 now annually in the USA), the potential to treat at least one third of all type I diabetics exists, a rate that would be equal to the incidence of complication-prone diabetes with current exogenous insulin management.



Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo las fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de almacenamiento de información sin el permiso escrito de los titulares de Copyright.

© 2003, Societat Catalana de Trasplantament

© 2003, Prous Science, S.A.

Provenza 388, 08025 Barcelona

Dep. legal: B-24.464-03

Impreso en España