

Trasplament

NÚMERO 28 DICIEMBRE 2004

III Congreso Internacional de Inmunosupresión

Novedades

Pág. 14

Adjudicación Becas y Premios de la FCT

Pág. 15

Legislación europea para células y tejidos de origen humano

Pág. 16

EDITORIAL

La lesión isquémica en el trasplante de órganos

El trasplante de un órgano entre un donante y un receptor implica siempre un período más o menos largo de isquemia, que es el tiempo que transcurre desde el pinzamiento de los vasos sanguíneos del órgano en el donante hasta la revascularización del mismo una vez implantado en el receptor. La privación de sangre, es decir, de oxígeno y metabolitos a un órgano tiene siempre unas consecuencias negativas en el funcionalismo posterior del mismo: es lo que se conoce como lesión isquémica o de isquemia-reperusión (LIR). La preservación de los órganos intenta paliar y tratar esta LIR. El principio básico es la hipotermia del órgano, que disminuirá los requerimientos energéticos celulares al mínimo, alargando su viabilidad. El reto de mejorar la preservación de los órganos para trasplante es trascendental para que la función inmediata de los mismos sea excelente y se evite la pérdida de injertos, pacientes y recursos. En el presente número se publican dos artículos de revisión sobre este tema. El primero incide en los progresos en el conocimiento de los mecanismos implicados en la LIR, que nos permitirá bloquear esta reacción inflamatoria de manera similar a como tratamos actualmente el rechazo inmunológico de los órganos trasplantados. El segundo aborda la preservación hepática mediante una perfusión normotérmica sanguínea *ex situ*, que puede ser un método revolucionario si se consiguen vencer las dificultades técnicas y logísticas que supone mantener un órgano en las condiciones más fisiológicas posibles, es decir, perfundiéndolo con sangre oxigenada y con nutrientes a una temperatura normal. Con este método se evitan todas las consecuencias negativas inducidas por la hipotermia y el cese del metabolismo aerobio celular. Los resultados preliminares obtenidos con este método son muy esperanzadores. Estos avances son imprescindibles para poder paliar el problema más grave del trasplante de órganos en la actualidad, la falta de órganos, ya que permitirán ampliar las fuentes de donantes aprovechando órganos subóptimos o de donantes a corazón parado.

SUMARIO

TEMA A REVISIÓN

Progresos en el conocimiento
de los mecanismos
inflamatorios implicados
en la isquemia-reperusión
en trasplante de órganos2

Perfusión normotérmica
hepática *ex situ*5

PREMIO DE LA FCT 2003

Efecto del preconditionamiento
isquémico sobre la lesión
hepática y pulmonar asociada
al trasplante hepático: papel
de la xantina/xantina oxidasa ..10

ACTIVIDAD CIENTÍFICA

III Congreso Internacional
de Inmunosupresión14

ACTUALIDAD

Adjudicación de becas
y premios de la FCT15

OCATT

La nueva legislación europea
para células y tejidos
de origen humano.....16

Actividad de donación
y trasplante16

Progresos en el conocimiento de los mecanismos inflamatorios implicados en la isquemia-reperfusión en trasplante de órganos

Es cada vez más evidente que en la etiopatogenia del fracaso renal agudo se produce una compleja cascada de mecanismos inflamatorios con consecuencias tanto agudas como crónicas. El interés en los mediadores no tradicionales del fracaso renal agudo, tales como las vías inflamatorias y los eventos microvasculares, ha generado nuevos paradigmas y líneas de investigación.

En las fases iniciales de la isquemia-reperfusión renal se producen cambios hemodinámicos microvasculares caracterizados por congestión y enlentecimiento de las células rojas, junto con plaquetas y leucocitos. El bloqueo de las interacciones leucocito-endotelio ha mostrado una protección significativa frente al daño

por isquemia renal en modelos experimentales. Sin embargo, los experimentos centrados en el papel de los neutrófilos en el fracaso renal agudo han ofrecido resultados modestos, a pesar de las expectativas. Estudios recientes han demostrado que las células T son mediadores directos del daño isquémico, por lo menos en el terreno experimental.

Las células T CD4+, a través tanto de la vía del IFN- γ como de las moléculas coestimuladoras, parecen ser moduladores importantes en el fracaso renal agudo, en cuyo mecanismo también se ha implicado recientemente a las células B. A pesar de que la presencia de macrófagos en el tejido isquémico esté bien definida, se sabe poco sobre la participación real de los macrófagos en la lesión. Finalmente, las células residentes del riñón también contribuyen en la patogenia de esta inflamación así como en la posterior reparación, pero cómo y hasta qué punto están involucradas no está totalmente definido. Las nuevas herramientas para modular las células inflamatorias, particularmente los leucocitos mononucleares, constituyen una promesa para los futuros ensayos clínicos en el fracaso renal agudo.

La isquemia de un órgano tras la interrupción del flujo de sangre y la posterior reperfusión es un proceso perjudicial que está presente en múltiples facetas de la medicina (infarto agudo de miocar-

dio, procesos vasculocerebrales agudos, *shock* de cualquier etiología, etc.) o de la cirugía (resección hepática, cirugía extracorpórea, trasplante de órganos sólidos, etc.). En el riñón, las consecuencias del daño de la isquemia-reperfusión se manifiestan principalmente como un fracaso renal agudo o una mala función del riñón tras el acontecimiento isquémico.

En su libro *The works of John Hunter*, publicado en Londres en 1835, Hunter realizaba sus comentarios sobre los principios de la cirugía y afirmaba: "*Blood... appears to carry life to every part of the body, for whenever the whole or a part is deprived of fresh blood it very soon dies*" (la sangre... parece que lleva la vida a cada parte del cuerpo, ya que cuando el total o una parte se

encuentra privada de sangre fresca, muy pronto muere). Esta frase nos confirma que el fenómeno de la isquemia ya era conocido de muy antiguo en medicina. Sin embargo, a pesar de los avances en las estrategias preventivas y las medidas de soporte, esta enfermedad continúa asociándose con una alta prevalencia de morbilidad y mortalidad.

Los leucocitos mononucleares constituyen una promesa para los futuros ensayos clínicos en el fracaso renal agudo.

REPERCUSIONES

En la clínica de trasplante de órganos sólidos de donante cadáver, la isquemia es un hecho absolutamente inevitable e inherente a toda la logística del procedimiento. Sin embargo, el enfoque e importancia que se le da en cada uno de los órganos es ligeramente diferente.

En el caso del corazón o en el de hígado, se intentan acortar al máximo los tiempos de preservación. A pesar del impulso que supuso la introducción de la solución de Belzer en el programa de trasplante hepático en la década de 1980, la sugerencia de que estas soluciones permitirían afrontar preservaciones de hasta 24 horas nunca fue totalmente aceptada. Por el contrario, los equipos quirúrgicos siguen programando el implante con tiempos de preservación cortos por miedo al fracaso primario del órgano o por temor a aumentar la morbimortalidad.

En trasplante renal, en cambio, a lo largo de su historia no ha habido ninguna modificación sensible en lo que respecta a la duración de los tiempos de preservación. El sentimiento común es que la diálisis permite el soporte vital del paciente durante la no-función del órgano y que la histocompatibilidad sigue siendo crucial. Algunos avances en el

conocimiento de la historia natural del trasplante, sin embargo, nos dan argumentos en contra. La mala evolución a largo plazo de los injertos que han sufrido daño isquémico grave en el peritrasplante nos indica que la isquemia no es un proceso gratuito. Por otro lado, el trasplante renal de vivo, que en estos momentos está de nuevo en creciente apogeo, ya que permite acortar las listas de espera, aporta algunos argumentos interesantes. Así, se sabe que los resultados a largo plazo del trasplante renal de vivo son mejores y que en gran medida dependen de la selección de un donante óptimo, pero también del acortamiento del tiempo de preservación. También, en el trasplante de vivo nos hemos desplazado al donante no emparentado cuya histocompatibilidad puede ser menor que en los clásicos donantes familiares, en los que se exigía una alta compatibilidad. Los resultados con estos donantes no emparentados son claramente esperanzadores. Esto nos indica nuevamente que la selección del donante, la programabilidad del proceso y el acortamiento del tiempo de preservación son elementos de vital importancia en la evolución de un aloinjerto renal.

LA ISQUEMIA-REPERFUSIÓN ES UN ESTADO INFLAMATORIO

En los últimos años, cada vez se dispone de mayor información que evidencia que los mecanismos patogénicos celulares y moleculares de la isquemia-reperfusión se asemejan a una enfermedad inflamatoria aguda. Así, en el daño isquémico renal, la respuesta que se produce resulta en activación y daño del endotelio, aumento de la adhesión entre célula endotelial y leucocito, atrapamiento de polimorfonucleares y compromiso en el flujo sanguíneo microvascular. Estas interacciones entre el endotelio y el leucocito se evidencian en mayor medida en la médula externa, no en el córtex, por la mayor congestión vascular que típicamente se aprecia en dicha región del riñón.

A principios de la década de 1970, cuando se describió el edema endotelial y el estrechamiento de la luz del vaso sanguíneo como signos inequívocos de daño postisquémico, surgió el conocimiento de que las células endoteliales eran la diana del daño postisquémico. Recientemente se han descrito evidencias de disfunción endotelial en el córtex en estudios que demuestran flujo retrógrado a través de los capilares peritubulares durante la reperfusión, junto a un compromiso transitorio de la permeabilidad de estos capilares. Si se inyectan células endoteliales de cordón umbilical o células embrionarias que expresen óxido nítrico sintetasa por vía endovenosa, las células se implantan en el riñón y se produce una protección funcional parcial. Además, con isque-

mias muy mantenidas, los capilares peritubulares sufren un daño permanente con una reducción clara del número de microvasos en la banda interna de la médula externa, que se asocia a fibrosis tubulointersticial y alteraciones de la capacidad de concentración.

Aparte del daño celular endotelial, tras la isquemia-reperfusión se regulan las moléculas de adhesión para promover las interacciones endotelio-leucocito.

Entre estas moléculas se incluyen integrinas, selectinas y moléculas de la superfamilia de las inmunoglobulinas, tales como ICAM-1, VCAM y P-selectina. Así, se ha demostrado el papel de ICAM-1 en el daño renal en experimentos con

anticuerpos específicos que protegieron del daño isquémico. También los riñones de ratones *knockout* para ICAM-1 están protegidos frente a la isquemia. La sobreexpresión de estas moléculas y el edema de las células endoteliales asociado potencia las interacciones con los leucocitos y las plaquetas, conduciendo a una obstrucción mecánica de los pequeños vasos.

Existen diversos mecanismos por los que los leucocitos potencian el daño isquémico. Así, los leucocitos se activan por diversos mediadores inflamatorios, tales como citocinas, radicales libres de oxígeno y eicosanoides que inducen la sobreexpresión de moléculas de adhesión en la superficie de los leucocitos que se unen a los contrarceptores en el endotelio activado. Asimismo, algunas de estas quimiocinas, activadas por los radicales libres y por citocinas proinflamatorias como IL-1 y TNF- α , reclutan otros leucocitos del torrente circulatorio. Los leucocitos secuestrados en el riñón potencian el daño local, generando más radicales libres de oxígeno y eicosanoides y ampliando la inflamación y el tono vascular. La activación de las vías de la coagulación, incluyendo el complemento, puede ampliar el daño.

CÉLULAS INFLAMATORIAS EN EL DAÑO ISQUÉMICO

Muy recientemente se han ido perfilando diversos subgrupos de leucocitos que participan en este complejo proceso inflamatorio. Se conoce que, precozmente tras la isquemia, hay un incremento local de mieloperoxidasa, que se origina de los macrófagos pero también de los polimorfonucleares. Aunque se sabe que si se previene la acumulación de neutrófilos se mejora el daño tisular, no está claro que estos modelos de depleción sean capaces de discernir la participación de los neutrófilos frente a los linfocitos T y los macrófagos. Hay, sin embargo, un consenso general que admite que en fases iniciales hay un predominio de los polimorfonucleares, pero en etapas más tardías predominan los macrófagos y especialmente las células T. Así, si se utilizan ratones

Los mecanismos patogénicos celulares y moleculares de la isquemia-reperfusión se asemejan a una enfermedad inflamatoria aguda.

PERSPECTIVAS DE FUTURO

Todavía no está del todo claro hasta qué punto las alteraciones celulares agudas pueden persistir y afectar la función del órgano a largo plazo. Actualmente, estos efectos a largo plazo en el trasplante renal clínico tienen un gran interés. Tras extraer los riñones del donante, éstos presentan rápidamente signos de isquemia a pesar de que se efectúe un enfriamiento adecuado o de la utilización de soluciones de preservación cada vez más sofisticadas. El mayor problema de este daño isquémico es que la reacción oxidativa e inflamatoria que se produce desencadena la respuesta aloinmune y favorece la aparición de episodios de rechazo agudo.

Se han probado diversas estrategias para prevenir el daño de isquemia-reperfusión y mejorar la función renal inmediata. La mayoría de los estudios actuales se basan en el principio de que esta respuesta inflamatoria postisquémica existe. Así, se han demostrado efectos beneficiosos o por lo menos prometedores mediante la inhibición de la expresión de las moléculas de adhesión, reducción de la activación de las células endoteliales o de la prevención de la adhesión de leucocitos. Sin embargo, no está claro si estos efectos agudos pueden alterar la función renal del injerto a largo plazo o si el daño por isquemia-reperfusión realmente tiene un papel claro en el desarrollo de nefropatía crónica del aloinjerto.

knockout CD4/CD8 se demuestra un efecto protector frente a la isquemia, lo que evidencia el importante papel del linfocito T.

Asimismo, el bloqueo de la coestimulación CD28/B7 protege frente a la isquemia renal en ratas e inhibe significativamente la infiltración de células T y macrófagos, así como su activación *in situ*. Se sabe que B7-1 desempeña un papel central en la interacción leucocito-endotelio en los *vasa recta* ascendentes y

conduce a las alteraciones funcionales tras la isquemia. Utilizando anticuerpos anti B7-1 se bloquea la adherencia de células que expresan CD-28 a las células endoteliales que expresan B7-1 en estas

vénulas poscapilares, lo cual se asocia con una menor congestión vascular postisquémica.

Finalmente, los estudios más actuales en modelos *knockout* de CD4 y de CD8 nos indican que la célula T CD4+, y no la CD8+, es la principal efectora del daño por isquemia-reperfusión. El progresivo conocimiento de la participación de esta célula, que se cree que es la que organiza la respuesta celular inflamatoria postisquémica, nos desvelará los mecanismos iniciales de la interacción entre el fenómeno inflamatorio y la respuesta inmune en el campo de la alogenicidad.

Sin embargo, algunos autores han cuestionado el rol de la célula T en estos procesos. Así, se sabe que ratones deficientes en RAG-1 (*recombination-activating gene*) que carecen de células B y T, y no producen inmunoglobulinas o proteínas del receptor de la célula T, no están protegidos del fracaso renal agudo debido a isquemia. Tampoco se observa

mejoría del daño de necrosis tubular o de la infiltración de neutrófilos cuando se compara con ratones de cepas salvajes. Estos ratones tienen, sin embargo, un aumento en la población de células T *natural killer*, que expresan CD28. Así, es posible que todavía se pueda producir interacción CD28/B7-1 a nivel de *vasa recta*, con lo que se perdería la protección funcional.

PREVENCIÓN DEL DAÑO INFLAMATORIO AGUDO Y CAMBIOS A LARGO PLAZO

El daño por isquemia-reperfusión habitualmente se resuelve con restauración de la función del órgano. Sin embargo, después de esta recuperación inicial y tras un período de relativa quiescencia, en ocasiones aparece proteinuria junto a daño morfológico como glomeruloesclerosis, obliteración arterial y fibrosis intersticial. Estos fenómenos se acompañan de una reexpresión de moléculas de adhesión, infiltración progresiva de macrófagos y los mediadores que se segregan, especialmente IL-1, TNF- α , TGF- β e iNOS. Así mismo, la liberación de MCP-1 atrae nuevas oleadas de células infiltrantes. La presencia de macrófagos en el tejido renal clásicamente se ha relacionado con la patogenia del daño morfológico crónico. Sin embargo, algunas evidencias recientes cuestionan este efecto y, por el contrario, relacionan a los macrófagos con un efecto beneficioso en este proceso inflamatorio crónico.

.....

Joan Torras

Servicio de Nefrología

Hospital Universitario de Bellvitge, Barcelona

Se cree que la célula T CD4+ es la que organiza la respuesta celular inflamatoria postisquémica.

ANÁLISIS DE LA PROBLEMÁTICA ACTUAL

El trasplante de hígado se ha convertido en la elección más adecuada para el tratamiento de pacientes que padecen fallo hepático o que necesitan la sustitución de este órgano por otras razones, siendo la única respuesta terapéutica que la medicina puede ofrecer hoy en día, con garantías de supervivencia, para estos enfermos.

La restauración de los tejidos del cuerpo humano ha sido uno de los afanes más tenaces en la historia de la Humanidad. Como en otras áreas de la ciencia, los conocimientos médicos de cada período han condicionado las diferentes estrategias utilizadas para alcanzar este objetivo. Por eso, no ha sido hasta bien entrado el siglo XX cuando convergieron los diferentes aspectos científicos y técnicos que procuraron un sustrato favorable para el desarrollo del trasplante de tejidos y órganos, tal y como se practica en la actualidad. De este modo, suscribimos las palabras que pronunció William P. Longmire, Jr. cuando afirmó, en su presentación en la UCLA en marzo de 1999: "El trasplante de órganos debe considerarse, ciertamente, uno de los avances más importantes acaecidos en medicina durante el siglo XX".

En España, según datos facilitados por la ONT en 2003, en los últimos siete años (1996-2003) la lista de espera de pacientes pendientes de acceder a un trasplante de hígado ha aumentado un 42%, pasando de 1.164 a unos 2.000 pacientes. Sin embargo, la tasa de donación se ha estabilizado en los últimos cuatro años en alrededor de 34 pmp (n=1.250), permitiendo cubrir sólo de forma parcial las necesidades de los pacientes en lista de espera. Así, a pesar de los 1.037 trasplantes que se realizaron ese mismo año, sólo un 52% de los pacientes en lista de espera accedieron al trasplante, 196 (casi un 20%) han sido excluidos por una u otra razón y 172 (casi un 10%) fallecieron. Paralelamente, en el mismo período 1996-2003 se ha incrementado la edad media de los donantes, que pasó, aproximadamente, de 40 a 50 años.

Existe, pues, una clara desproporción entre la oferta de hígados viables para el trasplante y las necesidades reales que el trasplante hepático demanda hoy en día, y es ello lo que ha provocado que las defunciones de pacientes en espera de recibir un trasplante de hígado se incrementasen hasta alcanzar casi un 10% (n=163) en 2003. De la misma manera, la indicación de trasplante

Perfusión normotérmica hepática *ex situ*

En este artículo, el autor introduce el concepto del innovador método de preservación normotérmica hepática *ex situ* y explica sus ventajas sobre otros métodos de preservación de órganos, unas ventajas que podrían convertirlo, en unos años, en una técnica de primera línea para la conservación de órganos destinados al trasplante.

hepático se ha situado en 46,9 pmp, mientras que la tasa de trasplante hepático se ha estabilizado en 24,3 pmp.

Los hígados desestimados para ser utilizados en trasplante clínico han pasado, en dicho período, de 147 a 264. En 2003, cerca del 90% de estos 264 órganos desechados, es decir, 237 órganos, se encontraban en la categoría de hígado patológico, y 166 de estos hígados (60%) presentaban daño hepático previo a la extracción reversible por esteatosis hepática; esto significa que estos órganos podrían haberse recuperado si se hubiera utilizado un método de preservación hepática eficaz, como es el caso de la perfusión normotérmica o normotermia dinámica. A estos órganos debemos sumar los hígados desestimados provenientes de donantes marginales, como donantes a corazón parado, que fueron 49 en 2003, y que también podrían haberse utilizado si se hubieran recuperado mediante una técnica de este tipo.

Recientemente, la *United Network for Organ Sharing* (UNOS) ha manifestado una vez más su preocupación en relación con la

necesidad de incrementar el *pool* de órganos donados, que se ha estabilizado en 5.000 al año en los últimos cinco años, mientras que, por el contrario, la lista de espera de trasplante hepático sigue creciendo, y actualmente ya ha superado los 18.000 pacientes.

Teniendo en cuenta todo ello, nuestro equipo se ha cuestionado la idoneidad de otras posibles vías de conservación de órganos que permitieran reducir el gran porcentaje de injertos que se malogran durante el período de preservación. El equipo ha descartado la preservación fría como método ideal para cubrir las necesidades actuales de trasplante hepático, porque este procedimiento conlleva un daño inherente por isquemia tisular, un daño que, ciertamente, puede aminorarse reduciendo la temperatura y, por tanto, la actividad. Pero también lo

Los métodos clásicos de conservación han demostrado ser incapaces de mantener la viabilidad de los órganos procedentes de los denominados "donantes marginales".

ha desechado porque este procedimiento no es lo suficientemente eficaz para poder recuperar un gran número de órganos, a diferencia de otros métodos de preservación, como es precisamente el caso de la perfusión normotérmica. Puede afirmarse que, en general, los métodos clásicos de conservación abocan al daño por isquemia y han demostrado ser incapaces de mantener la viabilidad de los órganos procedentes de los denominados “donantes marginales”.

ESCASEZ DE ÓRGANOS Y DONANTES MARGINALES

El trasplante de órganos ha significado un gran avance en diferentes campos de la medicina, pero su propio éxito ha redundado en una gran ampliación de sus indicaciones y, consecuentemente, en una mayor demanda, desequilibrando cada vez más la proporción entre la oferta y la demanda de órganos, siempre a favor de la primera.

Esta situación ha propiciado que en los últimos años surgiera un renovado interés, verificable en diferentes campos de investigación, por conseguir un incremento del número de órganos viables para su aplicación clínica en el trasplante. Como resultado de este esfuerzo investigador se han desarrollado diversos tipos de técnicas o de trasplante cuya utilización, en conjunto, ha permitido compensar parcialmente la desproporción antes mencionada. Entre estas técnicas o tipos de trasplante puede incluirse la utilización de injertos parciales (por ejemplo, hemihígados) procedentes de donantes vivos, genéticamente relacionados o no; el *split* o injerto de porciones de un mismo órgano que se trasplantan de manera independiente en varios receptores, y el denominado *trasplante en dominó*, en la que el mismo órgano es sucesivamente trasplantado en dos o más pacientes, un procedimiento que se ha utilizado con éxito en el trasplante hepático y cardíaco.

Posteriormente, y con el fin de incrementar este *pool* de órganos, los criterios para considerar a un donante apto como fuente de órganos viables para trasplante clínico se fueron ampliando, conforme las mejoras experimentadas en la técnica y la farmacología lo fueron permitiendo. Es así como cobró forma el concepto de donante marginal, que se define como un donante no óptimo al que puede recurrirse en casos de mayor necesidad y con el cual se están obteniendo buenos resultados. Es importante recordar que no todos los hígados provenientes de cadáver, como ocurre en los órganos extraídos a un donante marginal, son capaces de mantener su funcionalidad tras superar el período de preservación fría, un contratiempo que se presenta característicamente en el hígado graso y

en el donante a corazón parado. Además, muchos de los órganos que podrían trasplantarse pierden su disponibilidad debido al límite temporal que impone el método de preservación fría. A consecuencia de todo ello existe un gran número de órganos donados, cerca del 15% de las donaciones, que podrían ser potencialmente utilizados en trasplante clínico y que desgraciadamente se malogran por el uso de un método de preservación inadecuado, como es la perfusión hipotérmica, pero que podrían ser aprovechados si se utilizase la perfusión normotérmica, un método novedoso con el que se evita el daño por isquemia-reperfusión e hipotermia.

EL LÍMITE DE LA ISQUEMIA FRÍA

Durante el intervalo comprendido entre la extracción del donante y el trasplante, en que el órgano extraído se encuentra fuera del organismo, se pueden emplear diversos métodos de preservación, aunque el más común es la preservación hipotérmica, con frío estático (0-4 °C), en la que se emplea la solución de Wisconsin (UW) como fluido de preservación a baja temperatura. Se estima que el enfriamiento reduce la actividad metabólica de forma tal que por cada diez grados centígrados menos se consigue reducir la actividad metabólica en una proporción de entre 1,5 a 2 veces, considerándose una reducción estándar la de 12 veces (Belzer *et al*, 1988).

Existen evidencias de que este enfriamiento no se produce de forma instantánea ni tan rápidamente como se pensaba. Así, la actividad celular, aunque reducida, no queda anulada en su totalidad, y el daño hepático resultante de la isquemia tisular ocurre inevitablemente. Este ineludible daño es directamente proporcional al tiempo empleado en la preservación, observándose que períodos superiores a 18 horas se asocian con una elevada incidencia de fallo funcional hepático tras el trasplante.

El creciente interés en la búsqueda de nuevas vías de preservación ha propiciado el desarrollo de importantes trabajos sobre el conocimiento fisiopatológico de la isquemia fría y caliente, así como del daño originado durante la reperfusión. En 1990, Howard *et al* realizaron una serie de trabajos en los que demostraron la limitación temporal de la preservación hipotérmica hepática con solución UW. Posteriormente, Adam *et al* demostraron claramente la correlación que existe entre el tiempo de isquemia fría y la supervivencia postoperatoria del paciente. Por su parte, Clavien *et al* consideraron que la disfunción primaria, presente en el 2-23% de los trasplantes hepáticos, es la mayor causa de muerte en el trasplante. Finalmente, Howard *et al* destacaron la relación entre

La perfusión normotérmica evita el daño por isquemia-reperfusión e hipotermia.

el daño grave del hígado que ocurre durante la preservación del órgano y el incremento de los episodios de rechazo hepático.

Actualmente se sabe que, a nivel celular, durante el período de preservación con hipotermia estática se activa un metabolismo anaerobio que emplea como fuente de energía la glicólisis láctica, un método ineficaz para mantener la carga celular. Esto produce un descenso del pH intracelular y un acúmulo de ácido láctico que tiende a producir la activación de enzimas proteolíticas intracelulares y lleva a la destrucción de la célula. Por otro lado, la ausencia de O₂ a nivel mitocondrial redundaría en una imposibilidad de recargar las unidades de alta energía mediante la fosforilación oxidativa e imposibilita el funcionamiento de distintas estructuras celulares, como las bombas de membrana ATP-dependientes. Esto provoca sucesivamente una inundación de moléculas de Na·H₂O y Ca⁺⁺ intracelulares, un edema celular y nuevamente la activación de enzimas proteolíticas que concluirán con la destrucción celular. Otro problema asociado es la acumulación de productos metabólicos de ADP y AMP que serán reducidos a hipoxantina, una molécula que al iniciarse la reperfusión constituirá el sustrato para la formación de radicales libres, dadores de electrones que resultan letales durante el período de reperfusión. Además, este fenómeno, que antes de iniciarse la reperfusión quedaba limitado al órgano, a partir del inicio de este período se extenderá al resto del organismo, conforme todos los mediadores de la inflamación acumulados en la célula ingresen en la circulación sanguínea. Todos estos mecanismos, de manera conjunta, acabarán provocando, en mayor o menor medida, la destrucción del órgano, comprometiendo su viabilidad. Así pues, este compromiso celular planteará, en la mayoría de los casos, la necrosis del órgano trasplantado y la necesidad perentoria de que el paciente se someta a un nuevo trasplante; pero en otros casos también puede resultar fatal para el propio paciente.

SOLUCIONES PARCIALES A LA ISQUEMIA FRÍA CON HIPOTERMIA ESTÁTICA

Se han desarrollado diferentes estrategias para contrarrestar las limitaciones de la isquemia fría y, aunque los logros han sido parciales, se han conseguido algunas mejoras. Así, la perfusión hipotérmica ha podido ser utilizada con éxito, por ejemplo, en la preservación de riñones provenientes de donantes a corazón parado. Eso sí, siempre es aconsejable poder determinar la funcionalidad del órgano mediante marcadores de viabilidad tales como la glutatión S-transferasa, así como los parámetros de resistencia y caudal que se aprecian en el circuito durante la perfusión del órgano.

Otras estrategias desarrolladas para mejorar este método involucran a los aditivos que se añaden a las soluciones de preservación con el fin de evitar

el fenómeno nocivo de isquemia-reperfusión: tal es el caso de la superoxidodismutasa y el del alopurinol, que actúan disminuyendo el *pool* de radicales libres durante la reperfusión. Otros productos, como los llamados lazaroides, que inhiben la lipoperoxidación, así como los antagonistas del calcio y los inhibidores de la apoptosis, también han resultado de relativa utilidad. Asimismo, recientemente se ha demostrado la gran eficacia que poseen ciertos potentes inhibidores de la inflamación, como los inhibidores calcineurínicos, cuando son perfundidos conjuntamente con la solución de preservación.

Cabe señalar que en trabajos experimentales en porcinos realizados últimamente se ha demostrado que los hígados preservados durante 72 horas mediante perfusión normotérmica también mantienen una función hepática estable, con niveles enzimáticos normales y conservando de forma autónoma la homeostasis ácido-base del medio. Este avance ha sido posible gracias al desarrollo de circuitos de *bypass* que no necesitan anticoagulante, lo que permite mantener el órgano en temperaturas normales y sortear así la necesidad de enfriarlo antes de la extracción. Este hecho podría representar una ventaja en la práctica del trasplante, porque evitaría el daño por hipotermia inherente a este método de preservación de órganos. Desgraciadamente, a pesar de todos los esfuerzos realizados y los avances obtenidos, la preservación hipotérmica sigue asociándose a la pérdida de un gran número de órganos, por otra parte tan necesitados.

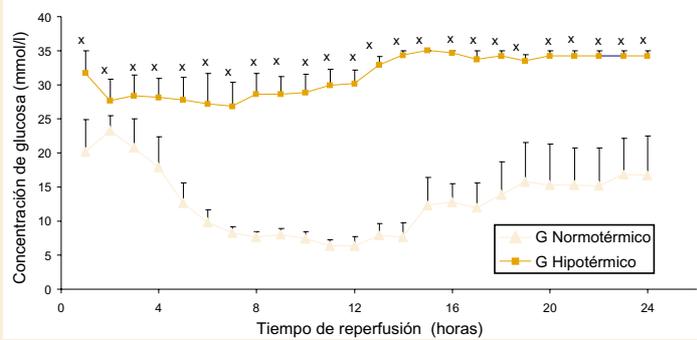
UNA NUEVA RESPUESTA: LA PERFUSIÓN NORMOTÉRMICA

La preservación *ex vivo* de un órgano a temperatura corporal mediante una máquina de perfusión no es un concepto nuevo. Ya en 1812, Jean César Le Gallois, fisiólogo francés, dejó claramente establecida la base racional de este método: "...sí se pudiera sustituir el corazón por un sistema de inyección ... de sangre arterial, de procedencia natural o constituida artificialmente, ...podría conseguirse mantener viva, con facilidad y por tiempo indefinido, cualquier parte del cuerpo, sin duda alguna". Desde entonces han ido surgiendo distintos problemas técnicos que, de una u otra manera, han dificultado y retrasado su aplicación clínica, pero a medida que se han ido introduciendo mejoras en las técnicas y materiales usados y se ha ido avanzando en el conocimiento fisiológico de la isquemia-reperfusión, se han ido superando estos obstáculos.

La perfusión normotérmica, que ya ha sido utilizada con diferentes grados de éxito como soporte auxiliar en pacientes con fallo hepático ("perfusión aislada del hígado") y ha sido descrita en los recientes estudios de aplicación clínica de D. C. Borie *et al*; se utiliza, además, en la preservación

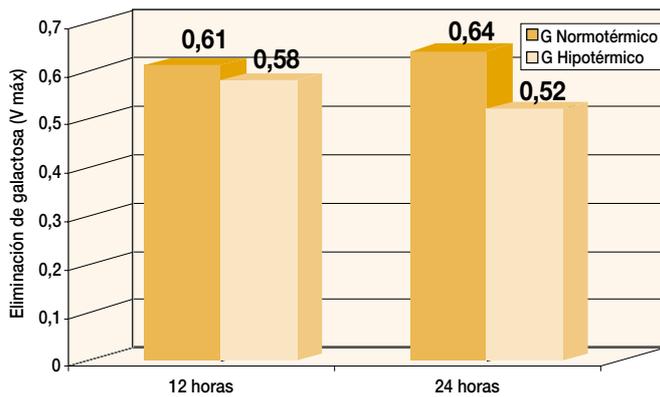
Metabolismo de la glucosa

Fig.1



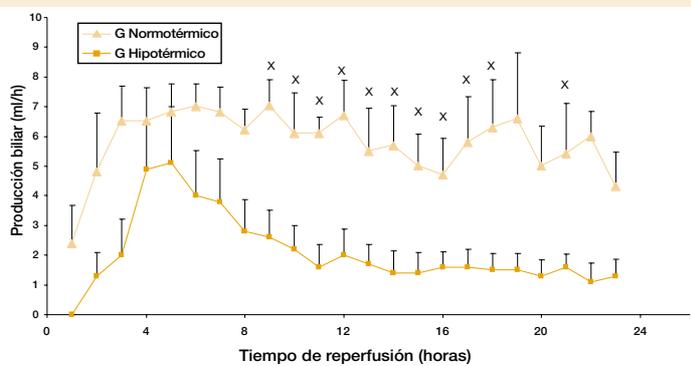
Aclaramiento de la galactosa

Fig.2



Producción biliar

Fig.3



década de 1970, Belzer había trabajado, obteniendo un éxito moderado, en la perfusión de órganos *ex vivo* en modelo renal canino como método de preservación. Uno de los problemas con los que toparon estas experiencias es el hecho de que requiriesen el empleo de un perfusor no sanguíneo (solución CPP-plasma crioprecipitado y Belzer-MPS). Pero probablemente, el mayor obstáculo era la falta de utilización de un oxigenador, lo que alteraba el ritmo fisiológico del órgano, obligándolo a reducir su metabolismo conduciéndolo a una situación de hipotermia.

En otros trabajos en preservación de órganos mediante perfusión sanguínea se utilizaron oxigenadores, como ocurrió en las experiencias de Brettschneider junto a Starzl, en Denver. Conviene señalar que las deficiencias de los oxigenadores de esa época requerían que la perfusión se realizara de forma hiperbárica, pues sólo con altas presiones se podía garantizar una correcta oxigenación sanguínea; por ello, los oxigenadores de aquella época, que de por sí eran muy voluminosos, debían acoplarse a una cámara hiperbárica, lo que convertía a este conjunto de artilugios en una maquinaria exageradamente grande, pesada y de poca maniobrabilidad.

En realidad, sólo recientemente ha tenido lugar la convergencia entre los avances habidos en los conocimientos sobre isquemia-reperfusion y en el desarrollo técnico, que en conjunto han proporcionando el marco necesario para poder mantener un órgano funcionando en condiciones fisiológicas *ex vivo*.

Sin dudas, la gran ventaja que ofrece la perfusión normotérmica es que, a diferencia de la preservación hipotérmica, permite mantener el metabolismo aerobio fisiológico proporcionando, mediante la propia perfusión, el sustrato alimenticio y el O₂ necesarios para la célula. Lógicamente, manteniendo el metabolismo fisiológico celular, se consigue prolongar el lapso de tiempo máximo que puede permanecer viable un órgano fuera del organismo, pudiéndose con este método superarse las 72 horas. Además, la conservación de la actividad durante el período de preservación reduce al mínimo la formación de productos sustrato de la formación de radicales libres que ocurre durante la reperfusion.

Merece la pena destacar que, si la perfusión normotérmica se lleva a cabo inmediatamente después de la extracción del órgano, entonces también puede conseguirse la restauración del metabolismo fisiológico celular. Este fenómeno, que es posible incluso cuando el órgano ha sufrido un insulto isquémico, como sucede en los órganos provenientes de donantes a corazón parado, se constata por la rápida normalización de los niveles energéticos celulares de ATP y el aclaramiento de los metabolitos nocivos generados durante el período de isquemia-reperfusion.

del órgano a transplantar, mejorando su calidad y permitiendo su implante después de un período de mantenimiento artificial. Asimismo, ya en la

CONCLUSIONES

La preservación normotérmica constituye un innovador método para conservar temporalmente los órganos *ex situ*, que puede tener muchas aplicaciones clínicas. Como es lógico, se requiere aún un gran esfuerzo y mucha experiencia para poder establecer sus indicaciones. En el campo del trasplante, se ha demostrado eficaz y superior a los métodos más tradicionales, como la preservación hipotérmica.

La primera ventaja que ofrece la preservación normotérmica es que el órgano se conserva metabólicamente activo, por lo que se puede mantener viable durante más tiempo y evaluar mejor antes de ser trasplantado. Ello generará un menor número de incidencias graves en la reperfusión y a largo plazo.

Otra ventaja destacable es que permite la restauración de un mayor número de órganos que han sufrido daño antes de ser extraídos (hígado graso, órganos procedentes de donante a corazón parado), y ello podría redundar, teóricamente, en un mejor aprovechamiento de los órganos procedentes de donantes marginales y subóptimos y colaborar en una reducción de la lista de espera.

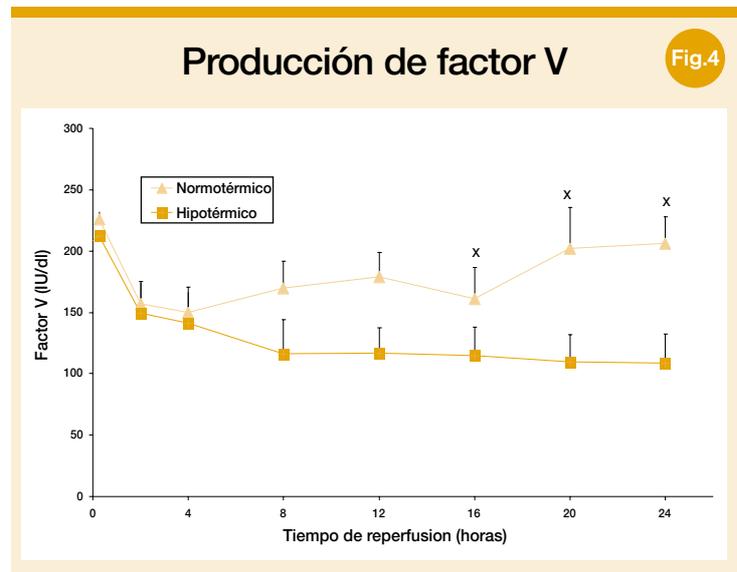
Como contrapartida, este método de preservación de órganos requiere la participación de un equipo de expertos para su puesta en marcha y una monitorización continua por parte de personal entrenado, lo que supone unos límites en su aplicación clínica.

Se puede afirmar que gracias al desarrollo reciente técnico y racional, actualmente se dan las circunstancias que permiten considerar la “normotermia dinámica”, en tanto que método de preservación de órganos, como una realidad que responde a las necesidades del trasplante del siglo XXI. Sin embargo, para que esto se traduzca en una realidad en la práctica clínica, es necesario que previamente se valide la viabilidad de los órganos así preservados tras el trasplante y que se encuentre la solución a diversas cuestiones, como el desarrollo de un sistema de perfusión *ex situ* sencillo, portátil, eficaz y polivalente.

NUESTRA EXPERIENCIA EN PERFUSIÓN NORMOTÉRMICA

Se han conseguido grandes avances en el campo del trasplante experimental con preservación normotérmica. Por nuestra parte, recientemente hemos podido demostrar que hígados de origen porcino preservados *ex vivo* mediante perfusión normotérmica sanguínea durante 24 horas muestran unas funciones metabólica, sintética y excretora estables evaluadas por parámetros bioquímicos, hematológicos, físicos e histológicos. Cabe destacar la superioridad en la viabilidad de estos órganos al compararlos con los preservados mediante preservación hipotérmica con solución UW, una superioridad que se expresa tanto en los valores normales en el metabolismo de la glucosa (figura 1), como en el aclaramiento de la galactosa (figura 2) y en la producción biliar (figura 3) y de factor V (figura 4).

Los resultados de este trabajo permiten concluir que la perfusión normotérmica sanguínea constituye un método de preservación superior a la preservación hipotérmica con solución UW, ya que hace posible evaluar la viabilidad del órgano antes de efectuar el trasplante, recuperar hígados extraídos de donantes con parada cardíaca tras haber estado sometidos una hora a isquemia caliente y



mantener la homeostasis ácido-base, una función que está ausente en los hígados dañados.

.....
Iñigo López de Cenarruzabeitia

Unidad de Cirugía Hepato-Bilio-Pancreática y Trasplante Hepático
 Hospital Vall d'Hebron, Barcelona

Efecto del preconditionamiento isquémico sobre la lesión hepática y pulmonar asociada al trasplante hepático: papel de la xantina/xantina oxidasa

El premio 2003 al mejor artículo publicado sobre trasplante, convocado por la Fundació Catalana de Trasplantament y la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya, fue otorgado a la Dra. Leticia Fernández por su trabajo (con la colaboración de los doctores N. Heredia, L. Grande, G. Gómez, A. Rimola, A. Marco, E. Gelpí, J. Roselló-Catafau y C. Peralta) *Preconditioning protects liver and lung damage in rat liver transplantation: role of xanthine/xanthine oxidase*, publicado en *Hepatology* 2002, 36: 562-572, que se resume a continuación.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

El trasplante hepático es en la actualidad la única solución eficaz para un gran número de patologías hepáticas tanto agudas como crónicas, muchas de las cuales no tenían solución hasta que se estandarizó la cirugía del trasplante. España es uno de los países con mayor tasa de donaciones a escala mundial; aún así, la demanda de órganos para trasplantar supera en gran medida la oferta de injertos hepáticos. Es por lo tanto muy importante optimizar en todo lo posible los recursos en este sentido; por una parte, aumentando el número de injertos válidos para ser trasplantados (aprovechando órganos que en la actualidad se desechan para el trasplante, como pueden ser los hígados grasos o los procedentes de donantes de edad avanzada), y por otra, evitando en la medida de lo posible recurrir al retrasplante. El hecho de realizar un retrasplante implica por un lado una disminución significativa del éxito del trasplante y por otro, desaprovechar un órgano, lo que viene a agravar el problema de la falta de injertos para trasplantar.

Una de las causas principales de retrasplante es el fallo primario del injerto, que la mayor parte de las veces es debido al síndrome de isquemia-reperusión (I/R). Durante la operación quirúrgica de trasplante, todo injerto hepático está sometido al síndrome de I/R: la isquemia comienza al perfundir el órgano con solución de preservación para su almacenamiento y la reperusión, cuando se restablece el flujo sanguíneo en el receptor. Por tanto, *todos* los injertos hepáticos se ven afectados por el síndrome de I/R, con lo cual toda estrategia encaminada a disminuir este daño sería *a priori* una estrategia válida para reducir el número de retrasplantes. Ade-

más de la lesión hepática debido a la I/R, este síndrome asociado al trasplante hepático puede producir también daño extrahepático, causando, entre otras consecuencias, lesión pulmonar.

Debido a la I/R se ponen en marcha diferentes mecanismos que darán lugar a lesión. Entre estos mecanismos, a nivel hepático, se encuentran el empeoramiento de la microcirculación, la activación de las células de Kupffer, la producción de citocinas (como TNF), la infiltración de neutrófilos y la producción de radicales libres de oxígeno (RLO), estos últimos sujeto de estudio de este trabajo. Una de las principales fuentes de RLO en un proceso de I/R es el sistema xantina/xantina oxidasa. Durante el período de isquemia, se produce en el hígado una degradación del ATP que da lugar a xantina. Paralelamente, durante este proceso se

produce una modificación de la enzima xantina deshidrogenasa (XDH) en su isoforma xantina oxidasa (XOD). Ambas isoformas catalizan la conversión de xantina e hipoxantina en ácido úrico; la diferencia entre ambas es que la forma oxidasa utiliza como aceptor de electrones el oxígeno, dando lugar a la producción de RLO, que son responsables de parte de la lesión por I/R.

Al comenzar la reperusión, la sangre llega nuevamente al órgano isquémico, y con ella, el oxígeno. Durante el período de isquemia se ha acumulado xantina y XOD; al aparecer de nuevo el oxígeno, la XOD ya dispone del cofactor para poder catalizar el paso de xantina a ácido úrico, produciendo RLO como subproductos. Estos RLO provocarán directamente una lesión hepática. Además, una vez comenzada la reperusión, la xantina y la XOD pueden ser liberadas a la circulación general y llegar a otros órganos, como por ejemplo el pulmón.

En 1986, Murry *et al.* describieron por primera vez el llamado "preconditionamiento isquémico" (PCI). Con el corazón como órgano de estudio, descubrieron que breves períodos de isquemia-reperusión previos a una isquemia prolongada disminuían de forma efectiva el daño por I/R. Tras la publicación de estos resultados, la eficacia de esta estrategia quirúrgica se ha probado con éxito en piel, músculo e hígado. En el caso del hígado, se ha demostrado que la aplicación de PCI es eficaz frente a la I/R caliente (en el caso de las resecciones hepáticas) y fría (aplicado al campo del trasplante hepático). Al comenzar este estudio se sabía que el PCI protegía frente a la I/R asociada al trasplante hepático en un modelo de trasplante en rata utilizando unos tiempos de isquemia muy largos,

mucho mayores que los utilizados en la práctica clínica; no obstante, se desconocía si este mecanismo era capaz de proteger de la lesión hepática a tiempos de isquemia fría más cortos (como los utilizados normalmente en la práctica clínica), y tampoco se sabía nada sobre los mecanismos implicados en esta protección, ni el efecto del PCI sobre la lesión pulmonar asociada al trasplante hepático.

Considerando todos estos precedentes, la hipótesis general de este trabajo fue investigar si el PCI podía modular la acumulación de xantina y la conversión de XDH en XOD durante el período de isquemia y, de esta manera, proteger de la lesión hepática y pulmonar asociada al trasplante hepático.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para investigar esta hipótesis, nos planteamos varios objetivos. El primer objetivo fue investigar si el PCI isquémico era capaz de proteger de la lesión hepática y pulmonar asociada al trasplante hepático. Para llevar a cabo este objetivo se realizaron los siguientes grupos experimentales, utilizando un modelo experimental de trasplante hepático ortotópico (los animales de experimentación utilizados fueron ratas macho de la cepa Sprague Dawley):

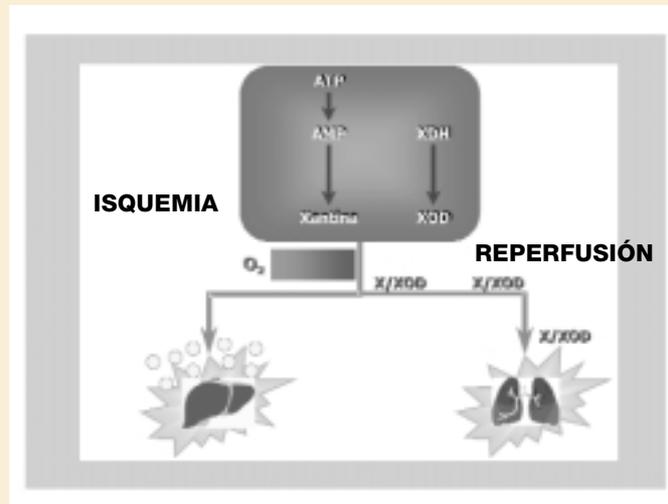
1. Grupo Sham: los animales fueron sometidos a laparotomía.
2. Grupo trasplante: los animales se sometieron a un trasplante ortotópico de hígado; el hígado fue preservado durante 8 horas a 4 °C en solución de preservación, y a las 24 horas de la intervención quirúrgica se recogieron muestras de sangre y de tejido hepático y pulmonar.
3. Grupo PCI: igual que el grupo anterior pero con previa inducción de PCI isquémico consistente en 10 minutos de isquemia y 10 minutos de reperfusión hepática previos a la isquemia fría. Al final de la reperfusión se tomaron muestras de plasma y tejido pulmonar. La lesión hepática se evaluó mediante la determinación de transaminasas en plasma. El daño pulmonar se evaluó mediante la determinación de la acumulación de neutrófilos (actividad MPO), el estrés oxidativo (nivel de MDA) y el edema en tejido hepático. Asimismo, se realizaron análisis histológicos de hígado y pulmón.

El segundo objetivo fue evaluar si el PCI podía modular la acumulación de xantina y la conversión XDH en XOD durante el período de isquemia fría. Para llevar a cabo este objetivo se formaron tres grupos experimentales, llevados a cabo en un modelo de isquemia fría hepática en rata:

4. Grupo control: se perfundió el hígado con solución de preservación a 4 °C e inmediatamente se tomaron muestras de tejido hepático.
5. Grupo de isquemia: se perfundió el hígado con solución de preservación a 4 °C y se mantuvo sumergido en ésta a 4 °C durante 8 horas; al final de este tiempo, se recogieron muestras de tejido hepático.

Lesión por I/R asociada al trasplante hepático

Fig.1



6. Grupo de PCI e isquemia: igual que el anterior, pero sometiendo al hígado a un PCI consistente en 10 minutos de isquemia y 10 minutos de reperfusión, previos a la perfusión del órgano.

Para comprobar si este fenómeno era dependiente o no del tiempo de isquemia utilizado, se repitieron estos grupos sometiendo a los hígados a un período de isquemia fría de 16 horas. Al final del período de isquemia fría se recogieron muestras de tejido hepático en las que se determinó la acumulación de xantina y la actividad XDH/XOD.

El siguiente paso fue evaluar el papel del sistema xantina/XOD en la generación de lesión hepática y pulmonar asociada al trasplante hepático. Para llevar a cabo este objetivo se realizaron los siguientes grupos experimentales:

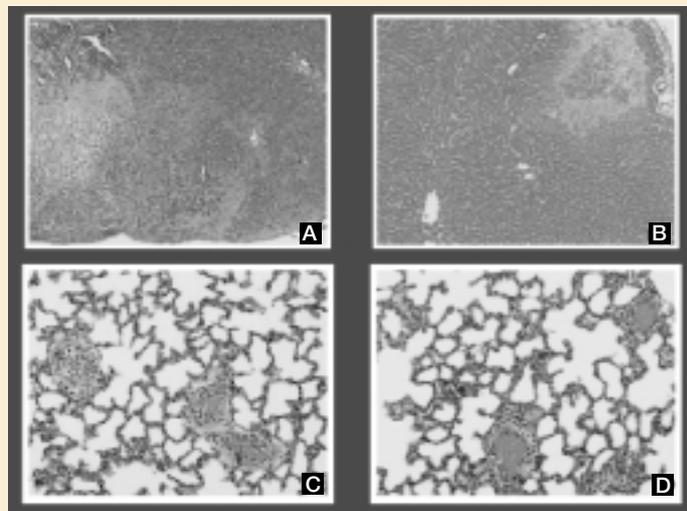
7. Grupo alopurinol: igual que el grupo 2 pero con administración de alopurinol (inhibidor de XOD) al comenzar la reperfusión.
8. Grupo PCI + xantina/XOD: igual que el grupo 3 más administración de xantina/XOD al comienzo de la reperfusión.

Estos grupos experimentales se realizaron también en condiciones de 16 h de isquemia fría y 6 horas de reperfusión, para comprobar si el efecto del sistema xantina/XOD es dependiente o no del tiempo de isquemia fría.

Otra parte del trabajo consistió en evaluar el efecto del PCI sobre la lesión hepática y pulmonar asociada al trasplante hepático utilizando como solución de preservación la solución de la Universidad de Wisconsin, que en su composición contiene sustancias que mejoran la preservación tales como antioxidantes (entre ellos, alopurinol). En todos los experimentos expuestos hasta el momento se había utilizado solución de Euro Collins (EC) como solución de preservación.

Análisis histológico

Fig.2



Análisis histológico hepático (A y B) y pulmonar (C y D) de los grupos de trasplante (a la izquierda de la imagen) y PCI (a la derecha de la imagen). Se observa una mayor lesión en los grupos de trasplante (necrosis de hepatocitos en hígado e infiltración neutrofílica en pulmón) con respecto a los grupos de PCI.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

El PCI reduce la lesión hepática y pulmonar asociada al trasplante hepático. Los niveles de transaminasas y el daño histológico se redujeron significativamente en el grupo de PCI con respecto al grupo de trasplante; estos resultados indicaron que el PCI protegía de la lesión hepática a tiempos de isquemia fría como los utilizados en la práctica clínica. Con respecto a la lesión pulmonar, tanto los parámetros bioquímicos de lesión (infiltración de neutrófilos, estrés oxidativo y edema) como el análisis histológico mostraron una disminución significativa de la lesión pulmonar en el grupo de PCI con respecto al grupo de trasplante, mostrando también la protección de esta estrategia frente a la lesión pulmonar asociada al trasplante hepático (figura 1).

El PCI modula la acumulación de xantina y la conversión de XDH en XOD durante el período de isquemia fría. Tal y como se esperaba, al evaluar la acumulación de xantina en los grupos sometidos a isquemia fría, éstos mostraron una acumulación de xantina con respecto al grupo control; en cambio, al someter al hígado a un PCI previo, esta acumulación disminuyó significativamente. En cuanto a la XDH/XOD, la actividad total de la enzima no varió en los tres grupos realizados. En cambio, la proporción de XOD (forma productora de RLO) fue significativamente mayor en el grupo de isquemia con respecto al grupo control. Cuando se aplicó un PCI previo, la proporción de XOD fue similar a la del grupo control. Estos resultados fueron similares al someter al hígado tanto a 8 como a 16

horas de isquemia fría. Este experimento demostró que el PCI isquémico era capaz de disminuir la acumulación de xantina y la conversión de XDH en XOD durante el período de isquemia.

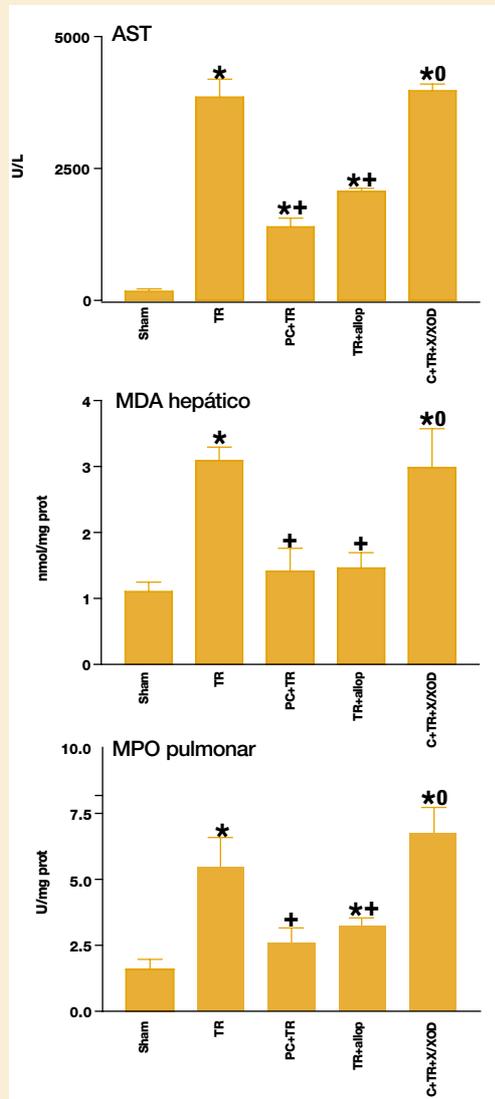
Papel de la xantina y de XOD sobre la lesión hepática y pulmonar asociada al trasplante hepático. El grupo al que se había administrado alopurinol (inhibidor de XOD) resultó en la disminución significativa de la lesión hepática y del estrés oxidativo hepático al trasplante hepático; por lo tanto, el alopurinol emuló el efecto del PCI. En cambio, al administrar xantina/XOD en el grupo en el que previamente se había inducido un PCI se revirtieron los efectos beneficiosos de este mecanismo quirúrgico sobre la lesión hepática y el estrés oxidativo hepático asociados al trasplante hepático, de forma que estos parámetros de lesión fueron similares a los encontrados en el grupo de trasplante. Estos resultados se encontraron en ambas condiciones de isquemia y reperfusión, lo que demuestra que este fenómeno es independiente del tiempo de isquemia fría utilizado. Los resultados obtenidos en el análisis histológico corroboraron estos resultados bioquímicos (figura 2)

Paralelamente a los resultados obtenidos con respecto a la lesión y estrés oxidativo hepático, la lesión pulmonar mostró un comportamiento similar en estos grupos de estudio. De esta forma, el grupo al que se le había administrado el inhibidor de XOD mostró una reducción de la lesión pulmonar, evaluada mediante la infiltración de neutrófilos, el estrés oxidativo y el edema pulmonar; mientras que en el grupo de PCI al que se le administró xantina/XOD se observó una reversión de la protección ejercida por el PCI. Estos resultados se encontraron en ambas condiciones de isquemia y reperfusión, lo que demuestra que este fenómeno es independiente del tiempo de isquemia fría utilizado. Los resultados obtenidos en el análisis histológico corroboraron estos resultados bioquímicos de lesión pulmonar y fueron similares a los del grupo de trasplante (figura 2).

Los resultados expuestos hasta el momento confirmaban la hipótesis inicial: el PCI isquémico disminuye la acumulación de xantina y la conversión de XDH en XOD. Este hecho provoca la protección frente a la lesión hepática y pulmonar asociada al trasplante hepático.

La protección del PCI sobre la lesión hepática y pulmonar asociada al trasplante hepático es independiente de la solución de preservación utilizada. Todos los experimentos expuestos hasta el momento fueron realizados utilizando como solución de preservación solución de Euro Collins (EC). Esta solución no se utiliza como solución de preservación hepática en la actualidad, ya que hay otras soluciones que han demostrado resultados mucho mejores en la preservación hepática. Normalmente, en trasplante hepático se utiliza como solución de preservación la solución de la Universi-

Fig.3



AST: lesión hepática a 8 h de isquemia y 24 h de reperfusión en los grupos de trasplante, PCI, administración de alopurinol y PCI más xantina/XOD; esta gráfica es representativa de AST y ALT y de ambas condiciones experimentales (8 h de isquemia-24 h de reperfusión y 16 h de isquemia-6 h de reperfusión).

MDA hepático: estrés oxidativo hepático en los grupos de trasplante, PCI, administración de alopurinol y PCI más xantina/XOD; esta gráfica es representativa de ambas condiciones experimentales.

MPO pulmonar: daño pulmonar en los grupos de trasplante, PCI, administración de alopurinol y PCI más xantina/XOD; esta gráfica es representativa de infiltración de neutrófilos, estrés oxidativo y edema pulmonar en ambas condiciones experimentales.

pio se eligió la solución de EC para este trabajo porque se quería demostrar si el PCI protegía frente a la lesión hepática y pulmonar asociada al trasplante hepático, si el sistema xantina/XOD estaba implicado en esta protección, y si la composición de esta solución no incluye sustancias que puedan enmascarar estos efectos, como podría ser el alopurinol u otros antioxidantes presentes en la solución de UW.

Al realizar este experimento, con solución de UW como solución de preservación, los resultados obtenidos mostraron, tal y como se esperaba, una disminución del daño hepático asociado al trasplante en el grupo en el que se utilizó solución de UW frente al que se utilizó solución de EC. En cambio, los grupos de PCI no mostraron diferencias al utilizar una y otra solución de preservación. Estos resultados indican que la protección ofrecida por el PCI frente a la lesión hepática es independiente de la solución de preservación utilizada. Con respecto a la protección frente al daño pulmonar asociado al trasplante hepático, la utilización de solución de UW no mostró mejora con respecto a la utilización de la solución de EC. El PCI protegió de igual forma al utilizar ambas soluciones, lo que corrobora la independencia de esta estrategia quirúrgica con respecto a la solución de preservación utilizada.

COMENTARIO

El PCI se anuncia como una estrategia muy eficaz a la hora de proteger al hígado frente a la lesión por isquemia-reperfusión. Este trabajo se enmarca dentro de una investigación activa en este campo, tanto en isquemia fría como en isquemia caliente. Desde la publicación de este trabajo, ya hace más de dos años, se han publicado más trabajos continuando estas investigaciones en revistas internacionales. De esta forma, se ha demostrado que el PCI es también capaz de proteger y mejorar el síndrome de I/R, tanto en isquemia caliente como isquemia fría, en hígados esteatósicos, que son mucho más sensibles a esta patología. Este hecho apunta a la extensión del número de injertos hepáticos susceptibles de ser trasplantados, ya que donantes que hasta ahora se desechaban podrían, gracias al PCI, ser considerados aptos. También se ha demostrado que el PCI mejora la regeneración hepática, hecho que podría ser aplicado a la mejora de las resecciones hepáticas y al trasplante hepático de donante vivo. En el ámbito clínico ya existen también resultados publicados en isquemia caliente que demuestran la eficacia del PCI frente a la I/R en resecciones hepáticas. No obstante, todavía son necesarias muchas investigaciones para comprender los mecanismos de actuación de esta estrategia quirúrgica.

dad de Wisconsin (UW). Esta solución lleva en su composición sustancias que mejoran la preservación, como por ejemplo alopurinol. En un princi-

.....
Leticia Fernández

Departamento de Patología Experimental
Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer, Barcelona

III Congreso Internacional de Inmunosupresión

Del 8 al 11 de diciembre se celebró en San Diego, California, el III Congreso Internacional de Inmunosupresión. La reunión, presidida por el Prof. R. Busuttil, de la Universidad de UCLA, Los Ángeles, y el Prof. P. Neuhaus, de la Universidad Clinic Charité de Berlín, contó con un amplio comité organizador. En este artículo, el autor reseña los moderadores más interesantes que se presentan en este evento.

Este congreso, dedicado íntegramente a inmunosupresión abarcando todos los órganos sólidos, contó con sesiones plenarias dedicadas fundamentalmente al área de investigación y sesiones generales, divididas por órganos, donde se presentaron las comunicaciones seleccionadas en las áreas de investigación, ensayos clínicos, ciencia básica o aplicación clínica. También se presentaron un número importante de pósteres que fueron discutidos en varias sesiones; cabe destacar, asimismo, las sesiones de actualización y las de controversias. Una de las conferencias interesantes, que corrió a cargo del Dr. S. Knechtle, fue la titulada "Estrategias de preconditionamiento". El Dr. Knechtle hizo hincapié en el papel de los linfocitos en la respuesta inmune y la importancia de los fármacos que producen la depleción de los mismos. Uno de ellos, Campah-1H, se ha usado en trasplante renal reduciendo la tasa de rechazo agudo, fundamentalmente en pacientes con alto riesgo, como los pacientes con necrosis tubular aguda inicial que requieren diálisis postrasplante. Además, esta depleción de linfocitos permite minimizar la utilización de anticalcineurínico en el mantenimiento. Otro de los temas relevantes fue el de la inmunosupresión en los receptores de trasplante hepático con infección crónica por virus de la hepatitis C (VHC). Una de las sesiones estuvo dedicada íntegramente a este tema. De forma clásica, las pautas inmunosupresoras sin esteroides o en las que los esteroides se utilizaban a dosis bajas o se retiraban rápidamente parecían tener un efecto beneficioso sobre la recurrencia viral. Recientemente, en trabajos presentados en este congreso, se ha visto que pautas inmunosupresoras con dosis bajas de prednisona durante un largo período de tiempo tienen un efecto protector frente a la recurrencia viral. Los esteroides disminuyen la fibrosis, lo que pue-

de actuar de forma favorable en estos pacientes. Un estudio interesante fue el presentado por la Universidad de UCLA sobre los factores operatorios y perioperatorios que influyen sobre la recidiva del VHC realizado en un grupo de 307 trasplantes VHC+. El examen multivariado mostró que el aumento en la edad de los donantes, donantes con más de cinco días de estancia hospitalaria, tiempo de isquemia caliente superior a 45 minutos y receptores urgentes eran factores predictores independientes de recidiva temprana.

Otro estudio de interés fue el del Dr. O'Grady, que presentó los resultados a 3 años del estudio multicéntrico prospectivo aleatorizado donde se comparaba la eficacia y seguridad de tacrolimus frente a ciclosporina neoral en un grupo de receptores de trasplante hepático. Los resultados a 3 años ratifican los resultados a 6 meses-1 año ya publicados, en los que tacrolimus presenta un mayor beneficio como inmunosupresor principal en los receptores de trasplante hepático. Sin embargo, los resultados no mostraron diferencias en relación a la pérdida de injertos por recidiva del VHC.

Otro destacable estudio fue el presentado por el Dr. Evaristo Varo, en el que han participado doce centros de trasplante hepático españoles con el objetivo de evaluar la eficacia en la prevención del rechazo agudo en receptores de un primer trasplante hepático de un régimen libre de esteroides en comparación con un tratamiento estándar. Fueron incluidos 154 pacientes; el grupo A recibió daclizumab, tacrolimus y MMF (2 g/día), mientras que el grupo B recibió tacrolimus y esteroides en pauta clásica descendente. Los esteroides deberían ser retirados entre los 3 y 6 meses postrasplante. Lo más destacable de los resultados es que la incidencia de rechazo agudo fue menor en el primer grupo frente al segundo (grupo A: 8,6%; grupo B: 28,1%, $p=0,003$).

Finalmente, cabe destacar la conferencia de Dra. Kelly, del Children's Hospital HHS Trust, Birmingham, quien comentó la buena tolerancia de los niños con la inmunosupresión a largo plazo. Históricamente, la mayoría de ellos eran inmunosuprimidos con ciclosporina como inmunosupresor basal. También presentó datos en los que se mostraba que los trasplantados de riñón o corazón recibían una inmunosupresión más elevada que los niños con un trasplante hepático. En la actualidad, los regímenes libres de esteroides cada vez son más comunes en la práctica diaria.

.....
Ramón Charco

Consultor Cirugía Hepática y Trasplante
INDiM. Hospital Clínic i Provincial, Barcelona

8º Congreso de la Societat Catalana de Trasplantament



Fechas

Del 6 al 9 de febrero de 2005

Sede

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

Idioma

Los idiomas del Congreso serán el castellano y el inglés

Secretaría

AOPC - 8º Congreso de la SCT
Edif. Colon

Av. Drassanes, 6-8, 19º
08001 Barcelona

Tel: 933 027 541 - Fax: 933 011 255

E-mail: congress@aopc.es

Web del congreso

Recomendamos remitirse a la web de la Fundació Catalana de Trasplantament para registrarse u obtener información actualizada sobre el congreso (www.fcctransplant.org)

Adjudicación Becas de la FCT para la investigación–2005

- “Detección y estudio de nuevos marcadores moleculares de rechazo: la proteincinasa Par1/Emk1, un regulador de la polarización linfocitaria”

Violeta Beltrán Sánchez

- “Interacción de calcineurina con su inhibidor endógeno calcipresina 1: análisis estructural para el diseño de nuevos fármacos”

Anna Aubareda Rodríguez

- “Caracterización inmunológica de receptores de un trasplante hepático tolerantes a su injerto”

Isabel Puig-Pey Comas

- “Análisis de la variabilidad genética del VHC y su respuesta al tratamiento antiviral antes y después del trasplante hepático”

José Antonio Carrión Rodríguez

Adjudicación Premio a la mejor ponencia sobre trasplante–2004

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

Premiado: A. Amador Marchante

Cirugía Hepática i Trasplantament, Institut Clínic de Malalties Digestives i Metabòliques, Hospital Clínic i Provincial, Barcelona

Adjudicación Premio de la FCT al mejor artículo publicado sobre trasplante–2004

Título del artículo: “Tim-3 inhibits T helper type 1-mediated auto and alloimmune responses and promotes immunological tolerance”

Premiado: Alberto Sánchez Fueyo

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

Publicación: *Nature Immunology*, noviembre 2003

Nueva legislación europea para células y tejidos de origen humano

A mediados del año 2003, en la legislación europea empezaron a producirse cambios muy importantes, que se han mantenido durante el 2004, relacionados con la obtención y autorización de tejidos y células de origen humano. Los primeros cambios legislativos se iniciaron en junio del 2003 con la publicación de los anexos de la Directiva sobre medicamentos de uso humano (DC 2003/63), en los cuales se incluyó la terapia celular somática, es decir, los cultivos celulares, en el apartado de "Terapias avanzadas". Con esta inclusión de la Directiva del Medicamento, cualquier tipo de cultivo celular de origen humano para ser aplicado en humanos pasa a considerarse y a tener el mismo trato que un medicamento. Esta directiva se transpuso de manera muy rápida a la legislación española y el día 12 de diciembre de 2003 fue publicada en el BOE núm. 297 (Orden SCO 3461/2003). Posteriormente, el 7 de febrero de 2004 se publicó el RD 223/2004 por el que se regulan los

ensayos clínicos con medicamentos y, por tanto, los ensayos clínicos con células de origen humano. Con este RD, cualquier ensayo clínico que quiera ponerse en marcha con células de origen humano ha de ser autorizado por la Agencia de Evaluación del Medicamento (AEM) de Madrid. Cuando haya finalizado la fase de ensayo clínico, el cultivo celular ensayado tendrá que ser aprobado por la AEM para su distribución como medicamento. Finalmente, el 31 de marzo de 2004 se publicó la Directiva Comunitaria 2004/23, destinada a establecer normas de calidad y seguridad para la donación, obtención, evaluación, preservación, procesamiento, almacenaje y distribución de células y tejidos humanos, que todavía no ha sido transpuesta y que, cuando lo esté, sustituirá al RD 411/96. Ahora, con la actual legislación, nos encontramos con que todo lo que hace referencia a los cultivos celulares destinados a ser distribuidos y utilizados en humanos ten-

drá una doble vertiente de control. Por una parte, la AEM debe autorizar los ensayos clínicos a realizar y, cuando éstos hayan finalizado, tendrá que autorizar el propio cultivo celular/medicamento para su distribución y aplicación en humanos. Por otra parte, todo lo relativo a las normas de calidad y seguridad en la donación, obtención y evaluación del tejido extraído para obtener células, o las propias células obtenidas, deberá estar controlado por los organismos sanitarios competentes de las comunidades autónomas (CCAA). Si la transposición de la Directiva 2004/23 sigue las normas del actual RD 411/96, la implantación, aplicación o infusión del cultivo y el seguimiento de paciente también serán responsabilidad de las CCAA. Respecto a los tejidos tradicionales, no se prevén grandes cambios, ya que actualmente es de aplicación el RD 411/96 y la DC 2004/23 lo será cuando se transponga.

Comparación de la actividad de donación y trasplante 2002-2004 Datos acumulados interanualmente hasta noviembre

	Período 12/02-11/03 n % ⁽³⁾	Período 12/03-11/04 n %	Variación (%)
Negativas familiares ⁽¹⁾	73 21,2	65 18,1	-7,5
Negativas judiciales ⁽²⁾	1 1,4	1 2,1	-1
Donantes válidos	237	253	6,8
Trasplantes			
Renales	418	436	4,3
Hepáticos	231	205	-11,3
Cardíacos	45	52	15,6
Pulmonares	23	32	39,1
Pancreáticos	24	13	-45,8

⁽¹⁾ El porcentaje está calculado sobre el total de entrevistas familiares realizadas en el período.

⁽²⁾ El porcentaje está calculado sobre el total de donantes judiciales del período.

⁽³⁾ Debido a los cambios en el sistema de información, el número de entrevistas y de donantes judiciales correspondientes al año 2002 se ha calculado en base a estimaciones.

Publicación periódica de la Organització Catalana de Trasplantaments y de la Societat Catalana de Trasplantament

DIRECCIÓN: Carles Margarit y Rosa Deulofeu

COMITÉ DE REDACCIÓN: Ramón Charco, María Jesús Félix, Carles Margarit y Rosa Deulofeu

SECRETARIA DE REDACCIÓN: Marga Sanromà

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

EDITOR: Adolfo Cassan

COORDINACIÓN: Pablo Stajnsznajder

ASESORAMIENTO LINGÜÍSTICO: Mònica Noguero

DISEÑO Y MAQUETACIÓN: DuoDisseny

PRODUCCIÓN: Letramédica scp.

E-MAIL: 19515psh@comb.es

REDACCIÓN, SUSCRIPCIONES Y CORRESPONDENCIA:

Fundació Catalana de Trasplantament

Carrer Muntaner, 292, 3er, 2a

08021 Barcelona

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

web:www.fcctransplant.org

Patrocinado por la Fundació Catalana de Trasplantament con el soporte económico de Fujisawa. Se autoriza la reproducción citando la procedencia. Butlletí de Trasplantament no comparte necesariamente las opiniones en él publicadas.

Fujisawa
New Medicines for New Times