

Características bioquímicas y factores pronósticos del rechazo agudo después del trasplante ortotópico de hígado en el adulto

José Fuster Obregón

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

**UNIVERSIDAD DE BARCELONA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRUGIA**

**CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS Y
FACTORES PRONOSTICOS DEL RECHAZO
AGUDO DESPUES DEL TRASPLANTE
ORTOTOPICO DE HIGADO EN EL ADULTO**

**TESIS DOCTORAL
JOSE FUSTER OBREGON
1992**

Jose Fuster Obregon



UNIVERSIDAD DE BARCELONA
DEPARTAMENTO DE CIRUGIA

Don Juan Carlos García-Valdecasas Salgado, Profesor Titular de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Barcelona, como Director y Don José Visa Miracle, Profesor Titular de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Barcelona, como Codirector

CERTIFICAN:

Que la tesis doctoral titulada "**Características bioquímicas y factores pronósticos del Rechazo Agudo despues del Trasplante Ortotópico de Hígado en el adulto**", realizada por Don José Fuster Obregón, para aspirar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía, está en condiciones de ser presentada ante el Tribunal correspondiente.

Lo que hacen constar a los efectos oportunos en Barcelona a diecinueve de Enero de mil novecientos noventa y tres.

Dr. Juan Carlos García-Valdecasas
Profesor Titular de Cirugía.

Dr. José Visa Miracle
Profesor Titular de Cirugía.

INDICE

1. INTRODUCCION	1
1.1. Justificación de la Tesis	2
1.2. Conceptos Fundamentales en el estudio del rechazo	6
1.2.1. Rechazo	6
1.2.1.1. Definición	6
1.2.1.2. Clasificación del Rechazo	7
1.2.1.2.1. Rechazo Hiperagudo	7
1.2.1.2.2. Rechazo Agudo o Reversible	7
1.2.1.2.3. Rechazo Crónico o Irreversible	12
1.2.1.3. Mecanismos por los que se produce	14
1.2.2. Complejo Mayor de Histocompatibilidad	18
1.2.3. Distribución de los antígenos de Histocompatibilidad en el Hígado	20
1.2.4. Inmunosupresión	22
1.2.5. Controversias inmunológicas que afectan al rechazo en el trasplante hepático	26
1.2.5.1. Rechazo hiperagudo y relación con la existencia de Anticuerpos linfocitotóxicos preformados. Papel de la prueba cruzada o crossmatch	26
1.2.5.2. Rechazo agudo y compatibilidad HLA	30
1.2.5.3. Rechazo crónico y compatibilidad HLA	33

2. HIPOTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS	36
3. MATERIAL Y METODO	40
3.1. Pauta de Inmunosupresión utilizada	41
3.2. Criterios utilizados en el diagnóstico y Tratamiento del Rechazo	43
3.2.1. Diagnóstico Clínico	43
3.2.2. Diagnóstico Bioquímico	44
3.2.3. Diagnóstico Histológico	44
3.3. Tratamiento utilizado	46
3.4. Diseño del Estudio	46
3.4.1. Variables relacionadas con el Donante	47
3.4.2. Variables relacionadas con el Receptor	47
3.4.3. Variables relacionadas con el episodio de disfunción hepática	48
3.4.4. Variables que correlacionan Donante y Receptor	49
3.5. Estudio Estadístico	50
3.5.1. Etapas del Estudio Estadístico	51
4. RESULTADOS	55
4.1. Estadística Descriptiva de los pacientes del grupo I o grupo con disfunción debida a un rechazo	56
4.2. Estadística Descriptiva de los pacientes del grupo II o grupo con disfunción no debida a un rechazo	64
4.3. Comparación de los datos de función hepática según el grado de rechazo	70

4.4. Comparación entre los grupos I y II de pacientes (Variables Cuantitativas)	71
4.5. Comparación entre los grupos I y II de pacientes (Variables Cualitativas)	74
4.6. Resumen de las Variables asociadas al rechazo en el análisis bivariable	78
4.7. Análisis Multivariable	83
4.8. Validación de la Ecuación	86
4.8.1. Validación de la ecuación en los primeros episodios de disfunción hepática	87
4.8.2. Validación de la ecuación en los segundos episodios de disfunción hepática	87
4.9. Supervivencia Libre de Rechazo	89
4.9.1. Análisis multivariable	104
5. DISCUSION	105
5.1. Análisis de los pacientes con rechazo	107
5.1.1. Características de los pacientes con rechazo	109
5.2. Validación de la Ecuación	114
5.3. Probabilidad de presentar un rechazo a lo largo del tiempo	116
5.3.1. Probabilidad de presentar un rechazo en función de la compatibilidad ABO	116
5.3.2. Probabilidad de presentar un rechazo en función de la prueba cruzada o crossmatch	117
5.3.3. Probabilidad de presentar un rechazo en función de la compatibilidad HLA	118
5.3.4. Probabilidad de presentar un rechazo en función	

del diagnóstico pretrasplante	123
5.3.5. Probabilidad de presentar un rechazo en función de la serología para CMV	127
5.3.6. Probabilidad de presentar un rechazo en función de la identidad de sexo	129
5.3.7. Probabilidad de presentar un rechazo en función de la Solución de Preservación utilizada	130
5.3.8. Probabilidad de presentar un rechazo en función del diagnóstico pretrasplante	132
6. RESUMEN Y CONCLUSIONES	134
7. BIBLIOGRAFIA	140

1. INTRODUCCION.

1.INTRODUCCION

1.1. JUSTIFICACION DE LA TESIS.

Durante las dos décadas que han transcurrido desde que Starzl lograra en 1963 el primer trasplante ortotópico de hígado ¹, se han sucedido las investigaciones, a nivel clínico, técnico e inmunológico, hasta conseguir en 1983, que el Instituto Nacional de la Salud (NHI) International "Consensus Development Conference" en Estados Unidos de Norteamérica ² considerara que el trasplante hepático, ya no era un tratamiento en fase experimental, sino que se había convertido en una modalidad terapéutica para aquellos pacientes que presentaran una enfermedad hepática en fase terminal.

La evolución progresiva observada durante los últimos años en el campo de los alotrasplantes de órganos, es el resultado de la suma de los trabajos de investigación experimental y clínica llevados a cabo por los distintos elementos que constituyen la Unidad de Trasplante multidisciplinaria de cualquier centro. Si bien en las fases iniciales fue fundamental el papel del cirujano, para conseguir mejorar día a día la técnica quirúrgica y garantizar la supervivencia del paciente, en la actualidad, el problema más grave que limita la efectividad del trasplante es la existencia del rechazo ³.

Los trabajos y experiencias desarrollados durante la primera mitad de nuestro siglo, condujeron a una conclusión extraordinariamente importante: El fenómeno de la incompatibilidad biológica ante tejidos extraños, con su consiguiente eliminación o rechazo, es una respuesta inmunitaria, resultado de una reacción entre los antígenos contenidos en el injerto y los anticuerpos elaborados por el organismo huésped. Establecido que el fenómeno de la eliminación o rechazo del aloinjerto es de naturaleza inmunitaria, ligado a una incompatibilidad genética entre

antígenos del donante y del receptor, se inició la búsqueda de dichos sistemas antigénicos, sobre la hipótesis de que mientras mayor fuera el número de antígenos compartidos entre donante y receptor, menor sería la intensidad del fenómeno del rechazo ⁴.

En la actualidad se han realizado aproximadamente unos 15.000 trasplantes de hígado en todo el mundo. La supervivencia que se ofrece a este tipo de pacientes publicada en la literatura es de alrededor del 75% a los doce meses y de alrededor del 60% a los 36 meses ⁵⁻⁸.

Sin embargo es necesario precisar que el 70% de los pacientes desarrollarán al menos un episodio de rechazo agudo, reversible ⁹. En algunas series como la de la Universidad de Pittsburg el rechazo no controlado representará una incidencia de alrededor del 20% de retrasplantes ¹⁰. Entre el 10-15% presentarán un rechazo crónico, que requerirán un retrasplante ^{9,11,12}. Por otra parte, pero asociadas directamente con el rechazo, están las infecciones producidas como consecuencia de la inmunosupresión. Son junto al rechazo la principal causa de mortalidad ¹³.

El deterioro de la función hepática después del trasplante, caracterizado por un incremento de la bilirrubina, transaminasas y fosfatasas alcalinas, unido a la aparición de fiebre o al cese del flujo de bilis a través del drenaje de Kehr, hace suponer la presencia de un episodio de rechazo. Esta suposición se ve reforzada si se han descartado complicaciones a nivel de la anastomosis biliar o/y complicaciones isquémicas, que pueden cursar clínicamente de forma similar. La certeza absoluta sólo se tiene después de realizar una biopsia hepática. El diagnóstico precoz del rechazo es fundamental, puesto que permite iniciar el tratamiento adecuado con prontitud. De ahí, el interés que ha existido por descubrir

marcadores séricos o a nivel de la bilis, cuyo incremento permita identificar el rechazo antes de que se manifieste clínicamente.

Por otra parte, no hay acuerdo unánime acerca de que la mayor compatibilidad entre donante y receptor, por lo que se refiere a los antígenos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad juegue un papel determinante en la aparición del rechazo y en la supervivencia del paciente y del órgano trasplantado.

Por ello el presente trabajo de investigación clínica pretende estudiar el fenómeno del rechazo en una serie amplia de trasplantes hepáticos, con la intención de analizar en detalle los cambios que se producen a nivel de las determinaciones bioquímicas en sangre periférica. No todas las biopsias realizadas bajo la sospecha de rechazo, confirman este punto. En la mayoría de las ocasiones la indicación de la biopsia se produce tras una alteración del funcionalismo hepático. Otras veces el inicio del tratamiento antirechazose realiza sin poseer los datos definitivos del estudio anatómo-patológico, con la intención de frenar el proceso de lucha inmunológica. Por el contrario, el retraso del diagnóstico definitivo puede condicionar un mayor grado evolutivo del rechazo, que lo haga incontrolado o persistente.

La posibilidad de disponer de un patrón bioquímico de rechazo, de fácil obtención, podría evitar la administración innecesaria de fármacos inmunosupresores que aumenten la susceptibilidad de estos pacientes a las infecciones. En otro sentido, permitiría iniciar con prontitud el tratamiento inmunosupresor, para disminuir la progresión o el tiempo de recuperación.

El hallazgo de factores que puedan considerarse de predicción o pronósticos de la aparición de un rechazo pueden ser de gran utilidad para modificar los criterios de selección de los donantes o de los

receptores. Por ello esta tesis, también pretende estudiar, la posible relación del fenómeno del rechazo con una serie de parámetros clínicos y biológicos del donante y del receptor obtenidos en las diferentes fases del trasplante, pre y postoperatorias.

1.2. CONCEPTOS FUNDAMENTALES EN EL ESTUDIO DEL RECHAZO

1.2.1. RECHAZO.

1.2.1.1. DEFINICION

El rechazo se define como la lesión del órgano trasplantado, producida por los sistemas inmunológicos del receptor. Los mecanismos por los cuales se desarrolla el rechazo son variados. La naturaleza del antígeno y el camino por el que se produce la estimulación juegan un papel preponderante. El drenaje linfático y la corriente sanguínea a partir del injerto son las vías a través de las cuales los antígenos del donante se ponen en contacto con las células del receptor ¹⁴. La sensibilización inicial se produce en el tejido linfoide periférico del receptor por los antígenos del órgano trasplantado o por los linfocitos incluidos en él.

El rechazo puede adoptar distintas modalidades que se manifiestan clínicamente de variadas formas. Sin embargo los criterios de rechazo difieren según los estudios, dependiendo que se enfatice más en los aspectos clínicos y bioquímicos, o bien en los parámetros histológicos. Existe confusión, no sólo en el momento de diagnosticar el rechazo sino también en cuanto a la nomenclatura y terminología que debe utilizarse. Clásicamente se ha dividido el rechazo en agudo y crónico, en una clara alusión al aspecto cronológico. Sin embargo, el hecho de que un rechazo crónico pueda presentarse a las pocas semanas del trasplante o bien un rechazo agudo aparecer muchos meses después de un aparente buen funcionamiento del órgano ¹⁰, hacen más aconsejable utilizar los términos

de rechazo reversible o rechazo irreversible para sustituir a los clásicos agudo y crónico ¹⁵.

1.2.1.2 CLASIFICACION DEL RECHAZO.

1.2.1.2.1 RECHAZO HIPERAGUDO.

Este tipo de rechazo, es una intensa respuesta inmunológica, mediada por la presencia de anticuerpos citotóxicos preformados en el receptor. Se ha visto con frecuencia en los trasplantes de riñón ^{16,17} y corazón. Ocurre a las pocas horas de la colocación del órgano y suele llevar aparejada la exéresis del órgano.

1.2.1.2.2. RECHAZO AGUDO O REVERSIBLE.

Afecta aproximadamente al 70% de los pacientes tras el trasplante. Aparece clínicamente, entre el día 4 y 14, pero puede recurrir después de una remisión, o bien aparecer por primera vez, después de mucho tiempo de un adecuado funcionamiento del órgano.

Cursa con fiebre y afectación del estado general. La bilis se torna pálida y diluida y generalmente el flujo de la misma termina por cesar . Desde el punto de vista bioquímico, se elevan los valores de bilirrubina, fosfatasas alcalinas y transaminasas.

Estos datos sugieren la existencia de un rechazo, pero deben descartarse la existencia de complicaciones sépticas o bien problemas relacionados con la isquemia del órgano o complicaciones en la vía biliar, en ausencia de una biopsia determinante.

Se han estudiado algunos parámetros que puedan servir de predicción de la aparición de rechazo, o bien sustituir a la biopsia hepática. Así, Oldhafer¹⁸, comunica sus resultados con la monitorización de los niveles plásmaticos de Neopterina. Es un producto intermedio en la síntesis de la Biopterina, derivado de la guanósina-trifosfato y secretado por los macrófagos tras ser estimulados por el gamma interferon. Tras el trasplante se ha visto, que aumentan los niveles en plasma y la excreción urinaria de Neopterina, en el transcurso de una crisis de rechazo o bien durante complicaciones infecciosas. Sin embargo sus resultados confirman, que pueden existir niveles elevados de neopterina, en pacientes en los que hubo un curso clínico excelente tras el trasplante. Si bien en casos en los que se produjo rechazo, los valores se elevaron, la falta de especificidad fue manifiesta.

Parece ser que la mayor utilidad cabe buscarla como mecanismo de predicción de las complicaciones infecciosas. La magnitud del incremento plasmático está en relación con la severidad e intensidad del cuadro infeccioso.

Los niveles plasmáticos de proteína A amiloide, en trasplante renal, han ofrecido información acerca de la supervivencia del órgano y la existencia de rechazo ¹⁹. Pese a que la proteína A amiloide puede sintetizarse en varios tejidos extrahepáticos, está aceptado que el hepatocito es la primera fuente de producción. Parece que el rechazo agudo del hígado trasplantado, incrementa la producción de proteína A amiloide en el suero.

Asimismo los niveles séricos de beta 2 microglobulina, se han relacionado con la existencia de rechazo ^{19,20}. La beta 2 microglobulina es una proteína de bajo peso molecular asociada a los antígenos HLA de clase I, necesaria para la expresión de estos antígenos en la superficie celular ²¹. Sin embargo los niveles séricos no sólo están aumentados

durante los episodios de rechazo, sino también en casos de infección por citomegalovirus o nefrotoxicidad por Ciclosporina A (CyA). Esto implica una menor especificidad como elemento de predicción del rechazo. Por ello, la determinación de beta 2 en la bilis parece ser un marcador más fiable del rechazo, ya que está estrechamente relacionada con los antígenos HLA de clase I que se expresan de manera predominante en las células del epitelio biliar, células "diana" en el momento del rechazo ²¹. Del estudio se desprende que hay un significativo incremento en plasma y bilis de beta 2 en el grupo de pacientes trasplantados con rechazo, con respecto al resto de enfermos. Esta elevación tiene una sensibilidad del 96% y una especificidad del 87% para diagnosticar el rechazo. La elevación se produce antes de que aparezca clínicamente el rechazo, a partir de dos fuentes importantes:

- a) Los linfocitos activados, producen gran cantidad de beta 2 microglobulina. Estas células predominan sobre las otras en el infiltrado portal y biliar durante el rechazo.
- b) La lesión directa del epitelio biliar que expresa de forma dominante los antígenos de clase I estrechamente relacionados con la beta 2 microglobulina.

En 59 pacientes trasplantados en la Universidad de Pittsburgh, se comprobó que la gammaglutamil transpeptidasa se encontraba elevada en el plasma en muchos de los pacientes tras el trasplante, si bien nunca superaban las 250 UI/litro. Un aumento superior a esta cifra, en ausencia de alteración biliar clara, sugiere la existencia de rechazo ²².

La existencia de un infiltrado celular, rico en linfocitos T activados, en el momento del rechazo, sugiere que la medición de los factores de activación de estos linfocitos podría ser un buen marcador de dicho fenómeno. Los niveles séricos de interleukina 2, conocido activador

linfocitario son superiores en pacientes con rechazo agudo, pero también en otros pacientes con funcionamiento adecuado del órgano, con infección por citomegalovirus ²³ o colangitis. En cambio los niveles de Interleukina 2 en bilis son más específicos y sensibles para el diagnóstico de rechazo ²⁴, lo que los hace más recomendables, si intentamos utilizar este parámetro para valorar el rechazo.

A partir de los estudios realizados en biopsias de riñones que sufrían un rechazo, se ha comprobado que existía una eosinofilia en sangre periférica y también infiltrando al órgano ²⁵. Se ha podido ver asimismo, que la eosinofilia acompaña muchos casos de rechazo hepático ²⁶. El papel de los eosinófilos en el fenómeno del rechazo es desconocido. Su proliferación está controlada por la liberación de linfoquinas por parte de los linfocitos T ²⁷. La infiltración del órgano por parte de los eosinófilos, goza de una sensibilidad del 92% y una especificidad del 98% para predecir el rechazo. Sin embargo la existencia de una eosinofilia en sangre periférica no siempre se acompaña de un fenómeno de rechazo. Estos episodios en el trasplante renal pueden estar causados por reacciones alérgicas o necrosis tubular ²⁷.

Pese a que todos estos factores como la Beta 2 Microglobulina, la Interleukina 2, la Neopterina, los eosinófilos circulantes y la proteína A amiloide se han demostrado relacionados con el rechazo agudo, no han sido adoptados como exploración rutinaria para predecirlo, puesto que en muchas ocasiones constituyen procesos largos que precisan de una infraestructura sofisticada y costosa.

En el rechazo agudo existen tres características histológicas bien definidas^{28,29}:

a) Infiltrado celular mixto (linfocitos, monocitos, eosinófilos y neutrófilos) que afectan al espacio porta.

b) Lesión del conducto biliar debido a la infiltración por linfocitos y neutrófilos.

c) Inflamación de las ramas venosas portales y hepáticas a nivel del endotelio, que da lugar a la denominada endotelialitis.

Los tres apartados pueden darse juntos o por separado en mayor o menor grado ^{30,31}, así como asociarse en algunos casos con fenómenos de arteriolitis o arteritis. En ausencia de endotelialitis, ha de existir una lesión de conductos biliares, mayor del 50% para ser considerado como rechazo ⁹.

Esta triada junta no se había observado, en las biopsias realizadas en pacientes afectos de otras enfermedades hepáticas.

El signo más específico de rechazo, es la presencia de endotelialitis ²⁸. La lesión del conducto biliar puede observarse en otras enfermedades, como la hepatitis aguda o crónica, la colestasis o la hepatitis causada por tóxicos.

Asimismo el infiltrado celular, tampoco constituye un signo específico. En algunas biopsias, realizadas en el momento del trasplante se ha podido apreciar que existe un infiltrado celular, asociado con necrosis.

En un intento de establecer el diagnóstico de rechazo con mayor precisión, a partir de los datos histológicos, se desarrolló un modelo de regresión logística, en el que se apreció que sólo había seis, de 35 variables analizadas, que afectan al diagnóstico de rechazo ³²: infiltrado celular del espacio porta, infiltrado eosinófilo del espacio porta, endotelialitis a nivel de la vena porta, infiltrado neutrófilo del espacio porta, endotelialitis de la vena centrolobulillar y la colestasis. A través de este estudio, se ha conseguido predecir el grado de sensibilidad y especificidad de cada parámetro, en el diagnóstico de rechazo.

1.2.1.2.3. RECHAZO CRONICO O IRREVERSIBLE.

El rechazo crónico afecta aproximadamente al 10-15% de pacientes después de un trasplante de hígado y en general se considera irreversible, precisando un retrasplante ¹⁵. La mortalidad y morbilidad de esta segunda intervención es mucho mayor que tras la primera ³³. El dato histológico característico de este tipo de rechazo es la desaparición de los conductos biliares, que ha supuesto la adopción de las siglas VBDS (por Vanishing Bile Duct Syndrome) para denominar a esta entidad clínicohistológica. El VBDS puede presentarse inicialmente a las pocas semanas del trasplante, o bien puede aparecer más tardíamente después de un período de normal funcionamiento del hígado. Otras veces el curso es insidioso, con una lenta deteriorización de la función hepática ^{34,35}. Estas distintas presentaciones, han permitido la clasificación del VBDS en tres subtipos ¹⁵:

a) VBDS agudo, inicial. Puede presentarse dentro de los diez primeros días del trasplante. Inicialmente la clínica no se distingue del rechazo agudo, con fiebre, sensación de gravedad e incremento de los datos de laboratorio en las pruebas funcionales hepáticas, particularmente la bilirrubina. Mientras que el rechazo agudo suele responder a altas dosis de corticoides, el VBDS no lo hace. Los datos de la biopsia hepática muestran una pérdida rápida de los pequeños canalículos biliares que culmina con la desaparición de los conductos biliares del espacio porta. Generalmente se acompaña de infiltración arterial por macrófagos que provoca un engrosamiento de la íntima, esclerosis y una desaparición de las vénulas de alrededor de los hepatocitos ³⁴⁻³⁶. En este momento no es posible predecir que pacientes con rechazo agudo, progresarán hasta un VBDS. El grado de lesión del endotelio estimado por los datos de arteritis detectados en la biopsia ⁹, los niveles de gamma

glutamyltranspeptidasa en suero ²² y el tipo de infiltración de linfocitos T en los espacios porta ³⁷ pueden ser en el futuro de gran valor para detectar los pacientes que probablemente desarrollarán un VBDS.

b) VBDS agudo, tardío. Este cuadro puede presentarse también, después de un período de tiempo durante el cual el órgano ha funcionado normalmente. El curso siguiente es similar que el de la forma inicial, desapareciendo los canalículos biliares y desarrollando una ictericia. En algunos casos, la aplicación incorrecta de los fármacos inmunosupresores, puede precipitar el cuadro. Sin embargo, otra posible explicación, es que la existencia de ictericia, impide la normal absorción de la CyA ¹⁵.

c) VBDS crónico. En algunos pacientes el VBDS puede presentarse de forma más insidiosa, sin que haya existido el precedente de un episodio de rechazo agudo ³⁵. Después de un período de buena función del órgano, el paciente empieza a ponerse icterico con prurito y fiebre. La histología revela la escasez de conductos biliares, lesiones arteriales y también infiltrado inflamatorio del espacio porta. El comportamiento de este cuadro es impredecible, e incluso algunos pacientes continúan con un estado general satisfactorio durante algunos meses. Las biopsias repetidas, demuestran una pérdida continuada de conductos hepáticos asociada a una elevación progresiva y lenta de las cifras de bilirrubina.

Algunos pacientes con rechazo agudo diagnosticado por biopsia, muestran a su vez pérdida de canalículos biliares. Este dato puede persistir durante tiempo en biopsias repetidas antes de retornar a la normalidad. La etiología de este VBDS transitorio y atenuado todavía permanece desconocida en este momento ¹⁵.

No se puede afirmar categóricamente de que el VBDS recurra en los casos en que se realiza un trasplante. El número de casos es insuficiente para aseverarlo. El análisis de la serie de trasplantes de Birmingham revela que 19 pacientes desarrollaron rechazo crónico del primer órgano

de los cuales once fueron retrasplantados. En este segundo trasplante, hubo tres casos en los que el VBDS recurrió lo que significa un 27% de incidencia frente a un 10% en el caso del primer trasplante ¹⁵.

Se han realizado trabajos para relacionar la etiología del VBDS con la compatibilidad HLA. El papel que ejerce la compatibilidad HLA en el trasplante hepático permanece controvertida. En trasplantes de corazón, riñón y córnea parece favorable la presencia de una compatibilidad HLA ^{38,39}. Por el contrario algunos estudios realizados en trasplante de hígado, sugieren que no hay diferencia entre órganos con compatibilidad e incompatibilidad HLA, por lo que al rechazo y supervivencia del órgano se refiere ^{40,41}.

1.2.1.3. MECANISMOS POR LOS QUE SE PRODUCE

Los mecanismos por los cuales se desarrolla el rechazo son variados. La naturaleza del antígeno y el camino por el que se produce la estimulación juegan un papel preponderante. El drenaje linfático y la corriente sanguínea a partir del injerto son las vías a través de las cuales los antígenos del donante se ponen en contacto con las células del receptor ¹⁴. La sensibilización inicial se produce en el tejido linfoide periférico del receptor por los antígenos del órgano trasplantado o por los linfocitos incluidos en él.

Las secuencias de la reacción inmunitaria responsable del rechazo, es lo que se conoce como reflejo inmunitario que consta de tres fases ⁴²:

1. Arco aferente del reflejo o Iniciación de la respuesta inmunitaria. En esta fase se produce una interacción entre los antígenos incompatibles del injerto, que han llegado por vía hemática, linfática o por el mismo órgano, y las células presentadoras del antígeno, constituidas por los monocitos y los macrófagos. Estas células presentadoras procesan los

antígenos antes de mostrarlos a los linfocitos T ayudantes que son los que están preparados genéticamente para responder.

2. Reacción a nivel del centro linfoide. El reconocimiento de los antígenos extraños, provoca la proliferación y diferenciación en células, capaces unas de producir anticuerpos (linfocitos B), y otras capaces de destruir al órgano trasplantado, directamente o bien a través de reacciones de hipersensibilidad celular retardada (linfocitos T). Se produce una cooperación entre las células B y las células T y las subpoblaciones de estas últimas, T ayudantes, T citotóxicos y T supresores para en definitiva producir la reacción inmunitaria de rechazo. Los linfocitos T ayudan a los B, en la labor de producir anticuerpos, mediante la liberación de linfoquinas, que estimulan el crecimiento y diferenciación de las células B hacia la producción de anticuerpos. Los linfocitos T ayudantes son necesarios para esta respuesta de los linfocitos B, pero también hay otra diferenciación de aquellos en linfocitos T citotóxicos que son los efectores en último término de la reacción.

Los linfocitos T ayudan a que puedan liberarse las células B, de dos maneras distintas. Una involucra la interacción directa de las células T y la respuesta de las B. Las células T parecen reconocer determinantes antigénicos confinados a las células B mediante receptores en las inmunoglobulinas para antígenos de histocompatibilidad de clase II. La activación de los T ayudantes generalmente depende del reconocimiento del antígeno en la superficie de las células presentadoras de antígeno. Estas, además de procesar el antígeno, segregan una monokina, que es la interleukina-1, esencial para la activación de la célula T.

La células T también puede ayudar a la activación de la células B, mediante la producción de linfokinas. En éstas hay dos factores de crecimiento. El principal factor de crecimiento de la célula B (BCGF),

que regula la proliferación de células B en respuesta a la estimulación antigénica, y factores de diferenciación (TRC) que causan proliferación de las células B para desarrollar anticuerpos. Los linfocitos T ayudantes juegan un papel importante en la respuesta de la células T frente al antígeno. Los T ayudantes secretan interleukina-2, cuando son estimulados por la célula presentadora del antígeno que a su vez produce interleukina-1.

La interleukina-2 estimula la proliferación de T ayudantes en la vecindad, y permite la diferenciación de clonas de células efectoras específicas frente al antígeno.

La diferenciación de las células B para producir anticuerpos a través de las células plasmáticas se acompaña de proliferación celular.

Cuando la célula B prolifera, la diferenciación morfológica acompaña a la diferenciación funcional, y el resultado es una célula plasmática encargada de la producción específica de anticuerpos. También los T ayudantes y citotóxicos proliferan de manera variable para diferenciarse. El modelo estándar de respuesta inmunitaria in vitro frente a un aloinjerto, obtenido en un cultivo mixto de linfocitos, muestra una proliferación de las dos poblaciones linfocitarias, que se puede medir marcando el DNA con timidina tritiada. Los T ayudantes constituyen la mayoría de la respuesta proliferativa en el cultivo mixto de células, mientras que los T citotóxicos lo hacen en menor grado. No sólo los dos tipos de células responden de manera diferente, sino que su respuesta es dirigida por aloantígenos diferentes. Los antígenos de clase II, estimulan principalmente los T ayudantes, mientras que los antígenos de clase I son reconocidos por los T citotóxicos, aunque esto no es una regla que se cumpla indefectiblemente.

3. El arco eferente del reflejo. Todas las células implicadas se dirigen a su objetivo común que es la destrucción del órgano trasplantado. Se

produce una activación en cascada de diferentes sistemas que lleva finalmente a que diferentes células sean activas en la destrucción del injerto. Las células T citotóxicas son las principales efectoras del rechazo. En general los linfocitos T citotóxicos reconocen más rápidamente los antígenos de histocompatibilidad de clase I que los de clase II. El primer paso es reconocer las moléculas de clase I en la célula diana, posteriormente desarrolla la lesión en la célula y por último, produce la lisis definitiva.

La utilización de cultivos de dos tipos distintos de linfocitos ha permitido estudiar los elementos que mediatizan el rechazo ¹⁴. La máxima citotoxicidad se produce cuando existe disparidad tanto en los antígenos de clase I como de clase II del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH). Cuando la diferencia estriba tan sólo en los antígenos de clase I la citotoxicidad es menor, alcanzando el grado más bajo de lesión cuando la desigualdad se limita a los antígenos de clase II. Asimismo se ha podido precisar el papel preponderante del macrófago en su misión de presentar el antígeno al linfocito. Gracias al examen histológico con adición de anticuerpos monoclonales se ha estudiado el infiltrado celular en el órgano trasplantado. Algunos autores han encontrado incremento de T8 o linfocitos citotóxicos/supresores ⁴³, mientras otros han encontrado incremento de T4 o linfocitos ayudantes durante el rechazo agudo ⁴⁴. En realidad existe una interacción de ambos tipos de linfocitos mediada por la interleukina -2 ¹⁴. Se ha comprobado que la Cyclosporina inhibe la producción o la liberación de interleukina-2, lo que confiere a esta sustancia un papel efectivo en el rechazo. Asimismo la administración de anticuerpos monoclonales anti interleukina-2 han conseguido prolongar la supervivencia del corazón trasplantado en el ratón y en la rata ¹⁴.

1.2.2. COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD.

Durante la década 1930-40, Gorer, recogiendo, las ideas de Landsteiner, que sugirió que grupos sanguíneos similares podían intervenir en la aceptación o rechazo de otros tejidos trasplantados, identificó en ratones un grupo de antígenos cuya compatibilidad entre el animal donante y el receptor mejoraba de forma notoria la capacidad de supervivencia de un injerto ⁴⁵. Por ello a estos antígenos se les dió el nombre de antígenos de histocompatibilidad, apreciándose que estaban situados en una región particular del genoma. Esta región es el llamado complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), que fue estudiado en los leucocitos humanos, por lo que se conoce con el nombre de sistema HLA (antígenos leucocitarios humanos), localizados en el cromosoma 6.

Dentro de este cromosoma 6 hay cuatro regiones principales que codifican moléculas proteicas distintas. Las regiones B, C y A codifican moléculas proteicas de clase 1, es decir constituidas por dos polipéptidos, de los cuales el mayor es codificado por el CMH y se encuentra asociado con el polipéptido B2 microglobulina, que es codificado fuera del CMH. La región D codifica las proteínas de clase 2 que consisten en dos polipéptidos, llamados cadenas alfa y beta ⁴⁶. Los antígenos derivados de las regiones B, C y A, son denominados antígenos de clase I y los que proceden de la región D, antígenos de clase II.

En el hombre, prácticamente todas las células nucleadas son portadoras de antígenos de clase I, mientras que los de clase II sólo se encuentran en los linfocitos B, macrófagos, monocitos, células epiteliales y células T humanas activadas.

Si se examinan los antígenos de una determinada región CMH de cepas diferentes, se encuentra que tienen estructuras básicas similares, pero la estructura fina de los antígenos difiere en cada haplotipo. Estas

diferencias pueden evaluarse empleando aloantisueros contra los antígenos. De esta forma, los antígenos del CMH pueden ser comparados y definidos por referencia a un cuadro estándar de antisueros ⁴⁶. De la misma manera, cuando se utilizan los antisueros para la tipificación de tejidos, se dice que han sido tipificados serológicamente. Se utilizan antisueros específicamente definidos frente a las células en estudio, normalmente linfocitos junto con complemento, observando después si dichas células mueren. Otra forma de tipificar tejidos, lo constituye la reacción de linfocitos mixtos, en el que se aprovecha la característica de que se estimulan la proliferación de los linfocitos T, cuando estos se encuentran con células extrañas portadoras de antígenos de clase II no compatibles ⁴⁷. Los antígenos determinados por esta técnica son especificidades de la región D. Cuando los antígenos de la región D son detectados por métodos serológicos se denominan especificidades DR. Cuando los dos métodos de tipificación detectan antígenos idénticos se dan los mismos números a las especificidades D y DR. A los antígenos bien definidos de cada serie se les asigna un número. Si una especificidad no ha sido bien definida se añade la letra "w" a la designación ⁴⁷.

Las posibles combinaciones de los alelos dentro de un cromosoma son muy numerosas, lo que acentúa las dificultades para encontrar tejidos u órganos histocompatibles entre alotrasplantes.

Cada individuo sería portador de un máximo de 8 antígenos diferentes del sistema HLA, siendo heredado en bloque de cada progenitor un haplotipo de cuatro antígenos.

1.2.3. DISTRIBUCION DE LOS ANTIGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD EN EL HIGADO.

La distribución de los antígenos de clase I y clase II del CMH en el hígado juega un papel importante en el proceso del rechazo ^{48,49}. Los hepatocitos expresan debilmente antígenos de clase I, pero no los de clase II ⁵⁰. En cambio el epitelio de los conductos biliares y el endotelio de las venas centrolobulillares expresan antígenos de ambos tipos, aunque preferentemente los de clase I. Tras el trasplante empiezan a expresarse antígenos de histocompatibilidad de tipo II en el endotelio de las venas, en el epitelio biliar y en el endotelio de las arterias. Esto se correlaciona con los datos histológicos que aparecen en el rechazo. En la forma aguda, el infiltrado linfocítico se produce en los tractos portales y en las paredes de las venas centrales, con lesión de los conductos biliares y del endotelio de las venas centrales. Así pues, parece existir un potencial inmunogénico por parte de estas estructuras, ya que la mayoría de alteraciones histológicas que aparecen en el órgano trasplantado se sitúan en la vecindad de elementos, que expresan antígenos de clase II.

Aunque existen estudios que han demostrado in vitro, mediante cultivos de hepatocitos de ratón, que éstos pueden ser atacados por linfocitos T, al reconocer los antígenos de clase I que expresan debilmente los hepatocitos ⁵¹⁻⁵³, todavía es objeto de controversia que estos hechos se produzcan in vivo, porque la necrosis de los hepatocitos no es un dato remarcable en el rechazo agudo ⁵⁴. Sin embargo se ha podido constatar un aumento de la expresión de antígenos de clase I en los hepatocitos de hígados trasplantados con signos histológicos de rechazo agudo ⁵⁰, disminuyendo progresivamente con la resolución del rechazo ⁵⁴. No puede afirmarse que el aumento en la expresión de antígenos de clase I en los hepatocitos juegue un papel determinante en la patogénesis del

rechazo, porque podría ser un fenómeno concomitante con los cambios inflamatorios que se producen en el rechazo agudo, pero si parece sugerir, que puede aumentar la susceptibilidad del hepatocito frente al ataque de los linfocitos citotóxicos, como se ha demostrado *in vitro* ⁵¹⁻⁵³. Otros estudios ⁵⁵, en enfermedades como la hepatitis crónica tras infección por virus B y cirrosis de variadas etiologías, en las que también hay aumento de la expresión de antígenos de clase I por parte del hepatocito, y lisis celular, contribuyen a mantener la hipótesis ⁵⁴.

Los antígenos de clase II se expresan a nivel de las células de los conductos biliares en situaciones patológicas como pueden ser la cirrosis biliar primaria y el rechazo después de un trasplante ⁴⁸.

Las expresiones de los antígenos de histocompatibilidad de clase I y II sufren continuas variaciones en el hígado trasplantado, tras una crisis de rechazo o bien en el curso de una infección ⁵⁰. Si el curso es satisfactorio, se mantiene todo parecido a un hígado normal, es decir los hepatocitos expresan antígenos de clase I y a diferencia de lo que se observa en condiciones normales también de clase II ⁵⁶ y las células biliares de clase I y clase II. Sin embargo se aprecia la disminución progresiva a lo largo de meses del número de células de Kupffer y de células intersticiales, comprobándose su sustitución por macrófagos del receptor ⁵⁷. En casos de rechazo severo o bien infección, se observa un aumento en la desaparición de las células de Kupffer, y la aparición en los hepatocitos de un significativo aumento en la expresión de antígenos de clase I ⁵⁸ y II ^{56,59,60}. El tiempo que las células de Kupfer tardan en ser sustituidas por las células del receptor representa el mayor insulto para la capacidad funcional del injerto.

En biopsias realizadas en pacientes en los que no hubo ningún tipo de rechazo no se encontró expresión de antígenos de clase II en los conductos biliares ⁵⁰.

1.2.4. INMUNOSUPRESION.

Hace ya unos cuarenta años, Hitchings y cols.⁶¹, desarrollaron una serie de antimetabolitos a partir de derivados pirimidínicos y purínicos para el tratamiento de enfermedades malignas. Una de estas sustancias, la 6-Mercaptopurina, fue la primera utilizada en experimentación por Schwartz y Damashek⁶². Estos autores comprobaron que animales de experimentación tratados con 6-Mercaptopurina no producían anticuerpos contra la albúmina humana, pero eran capaces de responder normalmente a otras proteínas. Este tipo de tolerancia no podía reproducirse en animales que recibían un trasplante; sin embargo perros tratados así, mantenían los trasplantes renales de otros donantes no relacionados, durante un tiempo superior⁶³. Más tarde un derivado de la 6-Mercaptopurina, la Azatioprina, pareció poseer mayor eficacia. Por otra parte Dempster⁶⁴, encontró que los corticoides, no conseguían alargar la supervivencia del órgano trasplantado en conejos, pero por el contrario disminuía de forma importante la respuesta inflamatoria. Luego Goodwin demostró el efecto inmunosupresor de los corticoides⁶⁵. Murray y cols combinaron la azatioprina con los corticoides en un programa de trasplante renal, y por primera vez en la historia del trasplante de órganos, se obtuvo una expectativa de vida razonable con riñones procedentes de cadáveres⁶⁶. Estos dos agentes han sido la clave de la inmunosupresión desde 1961. La mayoría de los centros de trasplante utilizaron una pauta similar, con Azatioprina a dosis de 1-1.5 mg/Kg/día y Metilprednisolona o Prednisona a dosis de 200 mg/día que se iba reduciendo progresivamente hasta llegar al cabo de un mes a una cifra de alrededor de 20 mg/ día. El efecto secundario más importante que posee la Azatioprina es sobre la médula ósea, con la inducción de una aplasia medular importante. Los efectos secundarios de los

corticoides, bien conocidos, abarcan el síndrome de Cushing yatrogénico, la inducción de una diabetes o agravamiento de la misma si existía previamente, la alteración del ritmo de crecimiento en los niños, o la necrosis ósea con aparición de lesiones articulares irreversibles, sobre todo a nivel de la articulación coxo-femoral.

En el curso de investigaciones rutinarias sobre las propiedades inmunosupresoras de un producto potencialmente usado como antibiótico, Borel en 1976, comunica la aparición de un péptido cíclico con 11 aminoácidos, denominado Cyclosporina A que posee unas marcadas propiedades inmunosupresoras ⁶⁷. El descubrimiento de la CyA, constituye el dato más significativo en la historia de los trasplantes en general en los últimos años. El mecanismo de acción de esta droga, parece estar en relación con la interferencia que logra, en la acción de las células T sin destruirlas. Es probable que inhiba la liberación o la acción de la interleukina II que es el estimulador natural de las células T ⁶⁸. Es una sustancia liposoluble, que necesita de la presencia de bilis en el duodeno para que sea absorbida por vía oral. Posteriormente es metabolizada y excretada de manera prioritaria en el hígado donde puede llegar a provocar hepatotoxicidad ⁶⁹. Pese a que en el animal de experimentación no se había comprobado la existencia de efectos indeseables, es conocida en el hombre, la posibilidad de causar neoplasias ^{70,71}, nefrotoxicidad, favorecer el hirsutismo y la hipertensión, causar temblor o hipertrofia gingival ⁶⁹. Después del trabajo de Borel que relataba la eficacia "in vitro" e "in vivo" del agente, se produjeron trabajos experimentales, en perros ⁷² y conejos con trasplante renal ⁷³, y en cerdos con trasplante de corazón ortotópico ⁷⁴. Todos los trabajos demostraban la efectividad de la droga, en garantizar la supervivencia del órgano trasplantado. Este acontecimiento, en el que destacó poderosamente el grupo de trabajo de Cambridge con su Director R.

Calne al frente, marcó un hito de capital importancia en la supervivencia de los órganos trasplantados. Si bien los primeros intentos de utilización de la droga en el hombre, chocaban, con la aparición de molestos efectos secundarios, como la nefrotoxicidad y la aparición de neoplasias inmunogénicas, fue evidente el beneficio que se obtuvo al aumentar espectacularmente la supervivencia actuarial de los riñones trasplantados ⁷⁰. En 1979, el grupo de Cambridge, comunica sus primeros resultados ⁷⁰, con este nuevo fármaco inmunosupresor. Los resultados obtenidos con su aplicación han permitido diferenciar perfectamente dos épocas bien definidas en la historia del trasplante hepático: antes y después de 1980. Starzl logra una supervivencia del 70% en el primer año en los primeros 67 pacientes tratados entre 1980 y 1982 ⁷⁵, y Calne consigue que el 60% de los pacientes tratados con la nueva droga vivan entre 3 y 31 meses ⁷⁶.

Por último, deben ser citados los trabajos desarrollados con preparaciones antilinfocíticas ⁷⁷. La idea era utilizar anticuerpos dirigidos contra linfocitos, para así alterar la respuesta inmunitaria contra el órgano trasplantado. Linfocitos, timocitos u otras células linfoideas de los animales que se tenían que inmunodeprimir, eran inyectados a animales de otras especies. El suero obtenido, después de eliminar los anticuerpos dirigidos contra plaquetas y otras células, provoca al ser inyectado en el animal una profunda depresión del número de células T circulantes. Estas Globulinas (Globulina Antitimocítica y Globulina Antilinfocítica) han sido utilizadas, como tratamiento inmunosupresor, añadido al tratamiento clásico. Más recientemente su uso se ha restringido al tratamiento de los episodios de rechazo renal o cardíaco. En Europa la mayoría de los Centros no las utilizan por su elevado coste y su dudosa eficacia ⁷⁷. Posteriormente la descripción de los anticuerpos monoclonales⁷⁸ a partir de hibridomas utilizando la técnica de Kohler y Milstein ⁷⁹, ha levantado

nuevas esperanzas ante la posibilidad de conseguir de esta manera, anticuerpos específicos contra los linfocitos T o algunas de sus formas. Se evitaría así, el espectro excesivamente amplio que poseen las globulinas antitimocíticas y antilinfocíticas, la variabilidad de un suero a otro, y la gran cantidad de anticuerpos no necesarios que tienen las globulinas. Con el desarrollo de este tipo de anticuerpos monoclonales dirigidos contra las células T o algunas de las subpoblaciones, sería posible por un lado establecer las diferentes subpoblaciones, en situación normal y con tratamiento inmunosupresor, y por otro lado deprimir selectivamente un tipo específico de célula T. En la actualidad se utilizan en la clínica diferentes tipos de anticuerpos monoclonales que han permitido establecer las diferentes subpoblaciones de células linfocitarias que participan en la inmunidad celular. Cuando el anticuerpo reconoce todas las células T las células así reconocidas son las CD3+ . El que reconoce a las células ayudantes-inductoras es el CD4+ y el que reconoce a las células supresoras-citotóxicas es el CD8+. Chatenoud y cols ⁸⁰ establecieron las limitaciones que posee este tipo de control, puesto que han podido ver que si bien en situación normal el número de células positivas a CD3+ es igual al número de células positivas a CD4+ más CD8+, en pacientes con tratamiento inmunosupresor, en algunas ocasiones esta relación no es exacta existiendo células CD4+ CD3- o bien CD4- CD3- o células CD4+ CD8+ con lo que parece perder fiabilidad el establecimiento de una relación CD4+/CD8+ como control del tratamiento inmunosupresor. Sin embargo otros autores sugieren que cuando este índice asciende a expensas de un mayor número de células CD4+, esto implica la aparición de una crisis de rechazo y si por el contrario, este índice desciende por un aumento de CD8+, significa o bien una inmunosupresión correcta o la existencia de una infección vírica (citomegalovirus o Ebstein-Barr).

La descripción de Ac monoclonales contra células T como el OKT3 ha permitido el tratamiento específico de las crisis de rechazo mediante la infusión de este tipo de anticuerpos con una gran eficacia ⁸¹⁻⁸³.

1.2.5. CONTROVERSIAS INMUNOLOGICAS QUE AFECTAN AL RECHAZO EN EL TRASPLANTE DE HIGADO.

1.2.5.1. Rechazo hiperagudo y relación con la existencia de Anticuerpos linfocitotóxicos preformados. Papel de la prueba cruzada o cross-match.

El rechazo hiperagudo, llamado así por la rapidez con que se desarrolla, se produce como consecuencia de la acción de anticuerpos linfocitotóxicos preformados en el receptor, después de transfusiones, embarazos o trasplantes previos, que atacan los antígenos expresados en el órgano del donante. Estos anticuerpos pueden ser determinados mediante cross-match o prueba cruzada, entre el suero del receptor y linfocitos del donante, en presencia de complemento de conejo ⁸⁴. Del mismo modo, el suero del receptor puede enfrentarse a un amplio número de células con un HLA conocido. Es lo que se conoce como prueba PRA (por Panel Reactive Antibody). El porcentaje de células contra el que reacciona el suero, indica el grado de sensibilización humoral del receptor.

La rápida destrucción de un trasplante renal en un paciente con anticuerpos específicos contra el donante fue descrita por primera vez en 1965 ⁸⁵, asignándole el término de rechazo hiperagudo poco después ¹⁶. Desde el punto de vista histológico se caracteriza por depósitos de

inmunoglobulinas, componentes del complemento y fibrinógeno a nivel de los vasos de pequeño calibre, junto a agregados plaquetarios y leucocitos polimorfonucleares. Se produce por liberación de mediadores de la inflamación (PAF por Platelet Activating Factor) y la activación del proceso de la coagulación, que causa trombosis y vasoconstricción a nivel de los pequeños vasos. El endotelio vascular es el órgano diana, porque los anticuerpos reconocen en él a los antígenos HLA de clase I y los antígenos sanguíneos ABO.

Los antígenos HLA de clase II, no parecen jugar un papel determinante en el rechazo hiperagudo ⁸⁶.

Sin embargo, a lo largo de la reciente historia del trasplante, no se han podido extrapolar, los datos del trasplante renal ^{16,17,87}, al trasplante de hígado ⁸⁸, acentuándose el concepto de que este órgano es resistente al ataque de los anticuerpos preformados ³. Los trabajos realizados por el grupo de Pittsburgh ⁴¹ demuestran similar supervivencia con cross-match positivo o negativo. Asimismo, la existencia de una alta respuesta al PRA, no se ha seguido de un descenso en la supervivencia del órgano trasplantado. Incluso en receptores en los que se ha realizado un trasplante combinado de hígado y riñón, se ha observado una especial protección del riñón, frente a los anticuerpos preformados, por parte del hígado. ⁸⁹⁻⁹¹.

La explicación a esta aparente resistencia del hígado al ataque de los anticuerpos permanece todavía desconocida. Se ha sugerido ⁹² que la razón cabe buscarla en la doble circulación que posee, a través de la arteria hepática y de la vena porta. Los anticuerpos centran su ataque a nivel de las células del endotelio vascular que expresan antígenos HLA de tipo I. El compromiso de una parte de la circulación hepática se compensa con un aumento de flujo de la otra, lo que previene de la isquemia. Además la microcirculación hepática constituida por el

sinusoide está tapizado por un tejido endotelial fenestrado, sin membrana basal. Esta falta de membrana basal es fundamental, dado que es allí, donde se van a producir los microagregados plaquetarios sobre el endotelio lesionado. La única zona del hígado con una microcirculación única a partir de la arteria hepática se sitúa a nivel del árbol biliar. La lesión de estas estructuras provoca una forma atenuada de lesión del injerto, a nivel del canalículo biliar. Otros órganos que poseen la estructura capilar al final de la irrigación arterial, como el riñón o corazón, sufren una necrosis isquémica al obstruirse el sistema capilar.

Pese a todo, en la actualidad, está aceptado que el hígado puede sufrir un rechazo hiperagudo ⁸⁶. No sólo estudios experimentales ⁹³ realizados con ratas y monos ⁹⁴, han probado este tipo de rechazo, sino que recientemente Starzl, ha comunicado su experiencia con dos trasplantes simultáneos de riñón e hígado ⁹⁵. Hasta ahora los únicos casos de rechazo hiperagudo, se habían comunicado en relación a la incompatibilidad con los antígenos del sistema ABO sanguíneo ⁹⁶⁻⁹⁸. Estos casos venían a incrementar los riesgos inherentes a realizar trasplantes hepáticos con grupos no idénticos ya fueran compatibles o incompatibles ⁹⁹⁻¹⁰⁴.

Pocas horas después del trasplante aparecen, signos de disfunción grave del órgano. El aspecto macroscópico del hígado, es congestivo, de color oscuro y consistencia aumentada, la cápsula está fisurada y en la superficie hay zonas hemorrágicas.

La comunicación del grupo de Pittsburgh ⁹⁵, refiere que los dos riñones trasplantados sufrieron un rechazo hiperagudo y ambos pacientes desarrollaron una coagulopatía a los pocos minutos de la revascularización hepática. En el primer paciente, el hígado trasplantado inicialmente y el siguiente a los tres días del primero, desarrollaron una necrosis masiva. Se encontraron depósitos de Ig M y Cl q tanto en el hígado como en el riñón. En el segundo paciente el hígado sufrió una

lesión masiva aunque reversible, mientras que el riñón nunca llegó a funcionar. En este segundo caso existía previamente un cross-match intensamente positivo con el donante, pero en el primero la prueba fue negativa.

Hay algunos anticuerpos que no son detectados por la prueba cruzada rutinaria. Algunos casos en los que se ha producido la pérdida inmediata de riñones trasplantados, no demostraron anticuerpos contra los linfocitos, pero sin embargo existían contra células endoteliales o monocitos ^{105,106}. Del mismo modo se ha comprobado que pueden existir trasplantes renales en los que se produjo un rechazo hiperagudo con un HLA idéntico y cross-match negativo ¹⁰⁷ o bien resultados satisfactorios con un cross-match positivo ¹⁰⁸. Estas aparentes discrepancias se deben a que, pese a que el cross-match, es por el momento el mejor indicador del resultado funcional del órgano trasplantado, un cross-match positivo no implica un fallo funcional inmediato en cada caso. Los anticuerpos linfocitotóxicos pueden reaccionar contra los linfocitos T y B o bien sólo contra los B. Estas especificidades pueden llevar aparejadas el que unos sean capaces de provocar lesión y otros no. Además si un suero es extraído mucho tiempo antes del trasplante, puede ser distinto del que se obtiene en el momento del mismo. En definitiva, el significado de un cross-match positivo ha cambiado, y no cabe duda que pueden realizarse trasplantes bajo esta premisa, en determinadas circunstancias ¹⁰⁹.

Estos hechos, bien establecidos en el trasplante renal, todavía permanecen dudosos por lo que al trasplante hepático se refiere.

En un reciente estudio ¹¹⁰ se analiza los resultados del cross-match, la respuesta al PRA y el cultivo mixto de linfocitos realizados previamente al trasplante, y se correlacionan con el resultado obtenido en los 110 trasplantes realizados. Los resultados del cross-match y del PRA no

tienen valor predictivo para el rechazo. Tan sólo el cultivo mixto de linfocitos se correlacionó con los episodios de rechazo.

1.2.5.2. Rechazo agudo y compatibilidad HLA.

El rechazo agudo es uno de los factores más importantes que tienen influencia en los resultados del trasplante hepático. El diagnóstico inicial mejora la efectividad del tratamiento, de aquí la necesidad de reconocer con prontitud los episodios de rechazo agudo.

Durante el rechazo hay un incremento en la expresión de antígenos de clase I y clase II en la célula del epitelio biliar y de clase I en el hepatocito. Como es conocido que la célula del epitelio biliar, se convierte en una célula diana para el ataque de los linfocitos durante los episodios de rechazo, esta relación sugiere que los antígenos HLA han de tener un papel destacado en el mecanismo del rechazo, tal como apuntan estudios experimentales en ratas ^{111,112} y cerdos ¹¹³, a pesar de que no se ha comprobado en estudios clínicos ⁴⁰. Esta hipótesis, se ha visto reforzada al comprobar en cultivos de linfocitos desarrollados en tejido hepático procedente de un aloinjerto, que hay crecimiento de linfocitos T frente a los antígenos HLA ¹¹⁴. Sin embargo son llamativos los resultados publicados recientemente por el grupo de Pittsburgh, donde se concluye que la compatibilidad HLA se asocia con una disminución de la supervivencia del órgano trasplantado ¹¹⁵. La supervivencia actuarial de los 574 trasplantes analizados fue del 59.2% en el primer año y de 55.2% a los dos años. Al comparar la supervivencia actuarial de los órganos trasplantados según la compatibilidad HLA que presentaban, se observó que era significativamente menor para 0 "mismatches" que para uno o dos "mismatches" HLA- A. No hubo diferencias para HLA- A con uno, o dos "mismatches". Del mismo modo ocurrió cuando se compararon los

"mismatches" para HLA- DR. Considerados todos los trasplantes, en los que se disponía de información completa para HLA- A, B y DR, hubo una significativa mayor supervivencia para aquellos que tenían algún "mismatch" para uno de los tipos HLA que los que tenían cero "mismatches". Todavía más sorprendentes fueron los hallazgos al analizar las causas de los fallos de los órganos en función del número de "mismatches". En total, para cero "mismatches" DR que requirieron retrasplante, un 76.9% de los mismos estuvo provocado por la suma de rechazo y malfuncionamiento primario del injerto (15.4% y 61.5% respectivamente), frente al 64.5% con 1 HLA- DR "mismatch" (35.5% y 29%) y 68% para 2 HLA- DR "mismatches" (50% y 18.8%). Finalmente el análisis de los órganos que fallaron por otras causas, como por ejemplo trombosis arterial, complicaciones técnicas e infecciones, fue superior en aquellos órganos de donantes con cero "mismatches" para HLA A y B, comparados con órganos con uno o más "mismatches" para HLA- A y B. Estos resultados estaban rozando la significación estadística.

Con estos datos, se sugiere que junto al rechazo inducido por la incompatibilidad HLA deben existir otros mecanismos inmunológicos que hacen que el trasplante no tenga éxito. Estos mecanismos podrían ser específicos para una gran variedad de antígenos, incluidos virus, autoantígenos y componentes específicos de los tejidos. La etiología inmunológica de algunas enfermedades como puede ser la cirrosis biliar primaria, la colangitis esclerosante, la hepatitis crónica autoinmune y la viral y el papel del denominado complejo de histocompatibilidad restringido podrían explicar la recurrencia de la enfermedad en el hígado trasplantado que llevaría al fracaso del órgano. El concepto de HLA restringido ha sido observado en algunas especies animales ¹¹⁶. Bastantes interacciones celulares son del tipo de HLA restringido, es decir se producen sólo, si las células implicadas expresan antígenos de

histocompatibilidad comunes. Ha sido demostrado durante la respuesta inmune a distintos niveles, especialmente en interacciones entre células presentadoras de antígenos y linfocitos T ¹¹⁷ y en el efecto citotóxico de las células T para inducir la lisis de virus u otros antígenos que están lesionando las células. También ha sido demostrado en la inmunidad celular, frente a infecciones virales. Durante la infección, los linfocitos linfocitotóxicos, son más eficientes, si la células diana en el órgano trasplantado expresan antígenos HLA compatibles.

El sistema HLA ha sido directamente implicado en enfermedades hepáticas ¹¹⁸. Se han comunicado asociaciones de hepatitis crónica activa con el antígeno DR3 ¹¹⁹, colangitis esclerosante con el antígeno B8 ¹²⁰ y cirrosis alcohólica con el DR2 ¹²¹.

Por ello se sugiere ¹¹⁵ que puedan existir mecanismos inmunológicos con HLA restringido que hagan recurrir la enfermedad en el hígado trasplantado, especialmente para un donante HLA compatible. Sin embargo, en este trabajo no se estudia el índice de pérdida del injerto en función del diagnóstico previo y la compatibilidad HLA, por lo que deben esperarse más estudios para corroborar esta teoría.

Otras comunicaciones, no han logrado correlacionar la incidencia de rechazo con la compatibilidad HLA. El "mismatch" completo para los antígenos DR se asoció frecuentemente con un rechazo clínico caracterizado por el predominio de la elevación de la temperatura y bilirrubina, apareciendo colangitis en la histología, mientras que pacientes con compatibilidad DR mostraron un rechazo que se manifestó por la elevación de las transaminasas, combinada en ocasiones con una colestasis. Es posible que la expresión de antígenos DR en el epitelio biliar, sea la responsable de los diferentes tipos de rechazo ¹²², asociándose la menor incidencia de colangitis histológica con la mayor compatibilidad.

Recientemente se ha comunicado la experiencia del grupo de Pittsburgh, con el seguimiento de alrededor de 600 trasplantes de hígado ^{123,124}. La especial atención a la compatibilidad HLA, demostró el efecto beneficioso que tiene la compatibilidad HLA de clase I con respecto a una menor incidencia de rechazo agudo. Por el contrario la compatibilidad de clase II no tiene los efectos beneficiosos esperados, sobre todo si se asocia con una incompatibilidad HLA I. Hasta el momento no existe una explicación clara para este fenómeno. En definitiva la compatibilidad HLA se asocia con unos resultados satisfactorios atendiendo al rechazo agudo, pero existe la posibilidad de que la mayor compatibilidad se asocie con una menor supervivencia del órgano trasplantado, no a expensas de un mayor porcentaje de rechazo irreversible, sino a partir de otros procesos en los que puede estar implicado el concepto de HLA restringido, que provoquen la pérdida del órgano.

1.2.5.3. Rechazo crónico y compatibilidad HLA

El papel de la compatibilidad HLA y el rechazo crónico continua sometido a controversia. Frente a estudios ⁴⁰ donde no se observaba el efecto adverso derivado de la incompatibilidad HLA, existen otros ^{49,125,126}, en los que la incompatibilidad ha provocado un mayor porcentaje de VBDS. Probablemente, hasta hace poco tiempo, la dificultad de distinguir el rechazo de otros procesos, como la toxicidad por drogas o la infección viral, la poca precisión a la hora de definir los criterios histológicos y la pobre supervivencia a largo tiempo, han contribuido a mantener este tema en una situación poco clara.

En la actualidad están bien definidos los parámetros que establecen el diagnóstico de rechazo crónico desde el punto de vista histológico. Están constituidos por la pérdida de canalículos biliares y la arteriopatía

obstruktiva ³⁴. La pérdida de los canalículos biliares ha sido directamente relacionada con el ataque de los linfocitos. La arteriopatía obstruktiva se considera un factor coadyuvante en la desaparición del canal biliar, al ser la arteria hepática la que proporciona la irrigación al árbol biliar intrahepático. Parece ser que la intensidad del VBDS está en relación con la gravedad de la afectación arterial ¹²⁷.

La primera revisión de la Clínica Mayo ³⁴, observó una incidencia de VBDS del 10%. Estos pacientes mostraban una incidencia de cross-match positivo del 80%, muy superior a los pacientes sin VBDS. En la Universidad de Pittsburgh, la revisión de 379 trasplantes realizados entre 1981-86, mostró 103 fallos del injerto, lo que representa una incidencia del 27%. De ellos, en 22 casos, (21%), la causa se atribuyó a la presencia de un rechazo crónico. La mayoría de los pacientes tenían un "mismatch" completo para las clases I y II ¹²⁸.

Batts encuentra que la asociación de "mismatch" de clase II y VBDS roza la significación estadística ⁴⁹. Dado que existe un incremento de la expresión de antígenos de clase II durante el fenómeno del rechazo¹²⁹, los autores sugieren que la disparidad de antígenos de clase II pueden resultar en un aumento de la morbilidad. Sin embargo este estudio no muestra que la existencia de disparidad de clase I juegue un papel determinante en el VBDS. Por el contrario, la revisión efectuada por el grupo de Cambridge ¹²⁵, en 62 pacientes trasplantados, muestra resultados encaminados en el mismo sentido pero distintos. Donaldson ¹²⁵ sugirió que el daño inmunológico y la pérdida de los pequeños canalículos biliares que se produce en el hígado trasplantado con rechazo, se observa preferentemente cuando hay compatibilidad donante - receptor por lo que se refiere a los "locus" de los antígenos de clase II. Su hipótesis consiste en que considera que el epitelio biliar humano es capaz de actuar como una célula presentadora de antígeno y de este modo

promover una reacción directa contra un antígeno incompatible de clase I. Sin embargo otros grupos postulan lo contrario, es decir cuando existe incompatibilidad en los "locus" de los antígenos de clase II, se produce con más facilidad la desaparición de canalículos ^{128,130}. Son necesarios más estudios utilizando cultivos de epitelio biliar humano ¹³¹, para tratar de aclarar estos aspectos. Según Donaldson la combinación de un "mismatch" completo para la clase I con una compatibilidad completa o parcial para la clase II, se asoció significativamente con un VBDS. La adición de una infección por citomegalovirus, a esta asociación, se demostró mucho más efectiva, para desarrollar un VBDS ¹³². El 26% de los pacientes con infección por este virus desarrollaron un VBDS, mientras que sólo lo presentaron el 4% de los que no tenían la infección. Al analizar la interrelación de los distintos factores, se apreció que el riesgo relativo para presentar un VBDS más elevado se produjo con la combinación de infección por CMV y compatibilidad de antígenos DR. Estas dos variables son interdependientes ya que analizadas por separado tuvieron un bajo riesgo relativo de asociarse con un VBDS. Más recientemente Payá ¹³³ no ha logrado demostrar la presencia de VBDS en relación con la infección por Citomegalovirus aislada o combinada con la compatibilidad HLA de tipo I o II.

2. HIPOTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS.

HIPOTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS.

La alta supervivencia obtenida con el trasplante hepático después de la mejoría de las técnicas quirúrgicas y de reanimación y de la introducción de fármacos más efectivos para controlar el rechazo, hace que se acepte universalmente que el trasplante hepático es el tratamiento de elección en pacientes con hepatopatías en fase terminal. Esto se ha traducido en un aumento espectacular de su aplicación en países avanzados. En EE.UU. se han realizado más de 9000 trasplantes hepáticos y en Europa alrededor de 7000. De la totalidad, 4272 trasplantes se realizaron durante el último año, lo que da idea de su adopción progresiva. En la actualidad puede ofrecerse con esta terapéutica una supervivencia a los tres años que oscile entre el 60 y el 80%⁵⁻⁷.

En este momento, una vez superados los problemas de técnica quirúrgica y reanimación, los factores que pueden limitar el éxito del trasplante hepático son la presencia de rechazo y la aparición de infecciones.

Se han buscado métodos para diagnosticar con prontitud el rechazo, y se ha tratado de encontrar factores que pudieran servir de predicción del rechazo. Con esta finalidad se han realizado estudios con la monitorización sérica o en bilis de los niveles de Neopterin, beta 2-microglobulina, receptores de Interleukina-2 y otras proteínas. Otros estudios han profundizado más en aspectos de compatibilidad inmunológica, y han tratado de relacionar una mayor incidencia de rechazo con la desigualdad de antígenos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad, o con la presencia de un cross-match positivo. La gran variabilidad de los resultados y en otros casos la sofisticación de las técnicas o de la infraestructura necesaria para aplicarlas ha hecho que no se hayan adoptado de manera sistemática para diagnosticar el rechazo.

Por otra parte, la similitud que desde el punto de vista semiológico y bioquímico, presentan otras situaciones clínicas distintas de un rechazo, hace que sea necesario asegurar el diagnóstico. Esto es particularmente importante,

porque el aumento de los niveles de inmunosupresión puede aumentar el riesgo o la susceptibilidad de los pacientes frente a los agentes infecciosos, fundamentalmente víricos. La rapidez con la que se inicia la administración de dosis crecientes de fármacos inmunosupresores puede ser vital a la hora de controlar el rechazo, pero también puede aumentar innecesariamente el riesgo de infección si en realidad el problema que presenta el paciente es otro.

Estos precedentes, han acentuado la necesidad de obtener una biopsia hepática antes de iniciar el tratamiento. Sin embargo el tiempo que puede tardarse en "leer" la biopsia puede significar perder un tiempo precioso durante el cual el rechazo puede progresar.

Sería deseable tener unos parámetros de fácil aplicación que pudieran asegurarnos con unos márgenes de seguridad satisfactorios si estamos frente a un rechazo o no, para no permitir por una parte la progresión del mismo y por otra no aumentar un estado de inmunosupresión innecesario.

Con estas premisas hemos realizado la siguiente hipótesis de trabajo:

*** ¿Existen algunas alteraciones en los parámetros bioquímicos de función hepática o en otras variables que se desprenden del estudio del donante y del receptor que sean un índice seguro de diagnóstico de rechazo?**

*** ¿Existen algunos datos obtenidos del estudio del receptor que puedan servir de predicción de la aparición de un rechazo a lo largo del tiempo?**

*** ¿Existen algunos datos obtenidos del estudio del donante que puedan servir de predicción de la aparición de un rechazo a lo largo del tiempo?**

Si estas suposiciones se vieran confirmadas:

*** ¿ Podría concretarse en una ecuación matemática la probabilidad de que una determinada disfunción hepática, en un determinado receptor al que se le ha trasplantado un determinado hígado fuera un rechazo?**

*** ¿ Sería posible establecer distintos grupos de riesgo de presentar un rechazo a lo largo del tiempo, en función de parámetros obtenidos del estudio del donante y del receptor?**

Para responder a estas preguntas, se han planteado los siguientes objetivos:

* Determinar las características bioquímicas de los pacientes en el primer episodio de disfunción hepática tras el trasplante.

* Analizar si existen diferencias entre los datos bioquímicos de los pacientes en los que la disfunción hepática era debida a un rechazo y en los que no era debida a un rechazo.

* Determinar los parámetros dependientes del donante que se correlacionan significativamente a lo largo del tiempo con el primer episodio de rechazo.

* Determinar los parámetros dependientes del receptor que se correlacionan significativamente a lo largo del tiempo con el primer episodio de rechazo.

3. MATERIAL Y METODO

MATERIAL Y METODO.

Este estudio se basa en los 100 primeros trasplantes ortotópicos de hígado realizados en el Hospital Clinic de Barcelona, desde junio de 1988 a Octubre de 1990.

De estos 100 trasplantes se incluyen en el presente análisis 89. Las razones de exclusión fueron la pérdida del paciente en el período postoperatorio inmediato, o bien el no poder recoger con fiabilidad todos los datos necesarios para el estudio.

En esta serie de 89 trasplantes existen 7 retrasplantes, por lo que el número total de pacientes es de 82. Estos siete retrasplantes por sus especiales connotaciones han sido excluidos del análisis. En definitiva la muestra está constituida por 82 trasplantes ortotópicos de hígado que forman parte del grupo de los 100 primeros realizados. En el momento del estudio (Diciembre de 1990) el seguimiento medio de los pacientes era de 11 ± 8 meses con un máximo de 30 meses y un mínimo de 3 meses. El 50% de los pacientes había superado los 10 meses de seguimiento.

Todos los trasplantes fueron realizados por el mismo equipo quirúrgico, con una técnica operatoria bien establecida y aplicada de forma idéntica en todos los casos. El cuidado postoperatorio de todos los pacientes fue asimismo realizado por un mismo equipo médico-quirúrgico. La estrategia inmunosupresora y de profilaxis antibiótica fue la misma en todos los casos.

3.1. PAUTA DE INMUNOSUPRESION UTILIZADA

Hemos utilizado la combinación de CyA, corticoides y azatioprina con el siguiente régimen:

1-Durante la intervención.

Mientras se realiza la hepatectomía: metilprednisolona 500 mg y azatioprina 50 mg endovenosos. En el momento de la reperfusión hepática: metilprednisolona 1 g endovenoso.

2-En el período postoperatorio.

a) Ciclosporina A.

a1) Mientras el paciente no puede realizar la ingesta oral, hemos administrado 6 mg/Kg/día por vía endovenosa, repartidos en tres dosis, iniciándose en el momento que el médico considera que la función renal es adecuada.

a2) Cuando el paciente puede ingerir alimentación:

-Si el tubo de Kehr sigue abierto al exterior, no llega suficiente bilis al intestino como para permitir una adecuada absorción de CyA. Por tanto administramos 3-5 mg/kg/día por vía endovenosa en tres dosis, junto con la administración oral de 20 mg/Kg/día repartidos en dos dosis.

-Si el tubo de Kehr está pinzado se suprime la administración endovenosa y se mantiene únicamente la vía oral a dosis de 20 mg/kg/día.

b) Corticoides. Ciclo de inducción: Día 1: Metilprednisolona 200 mg endovenosa en cuatro dosis de 50 mg cada seis horas. Día 2: Metilprednisolona 160 mg endovenosa en cuatro dosis de 40 mg cada seis horas. Día 3: Metilprednisolona 120 mg endovenosa en cuatro dosis de 30 mg cada seis horas. Día 4: Metilprednisolona 80 mg endovenosa en dos dosis de 40 mg cada doce horas. Día 5: Metilprednisolona 40 mg endovenosa en dos dosis de 20 mg cada doce horas. Día 6: Metilprednisolona 20 mg endovenosa en una sola dosis por la mañana. A partir del día 6: Metilprednisolona endovenosa o prednisona oral a dosis de 20 mg en una sola dosis por la mañana.

c) Azatioprina. Hemos administrado 1-2 mg/Kg/ día, repartidos en dos o tres dosis al día, por vía oral o endovenosa, durante los primeros 1-2 meses.

d) Otras medidas. En el caso que durante los primeros días no se pueda dar CyA, debido a que exista una nefrotoxicidad o neurotoxicidad importante, hemos administrado suero antilinfocitario, por vía endovenosa, a dosis de 12 mg/Kg/ día, durante un máximo de 14 días. En casos de rechazo poco controlable, hemos utilizado anticuerpos monoclonales OKT3, a dosis de 5 mg/día, por vía endovenosa, durante 14 días.

3.2. CRITERIOS UTILIZADOS EN EL DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO DEL RECHAZO

El diagnóstico y tratamiento precoces del rechazo son imprescindibles para la buena evolución del injerto y del paciente. Aunque clásicamente se ha clasificado en rechazo agudo y crónico, es preferible denominarlo rechazo reversible y rechazo irreversible. Los criterios utilizados han sido de tres tipos, clínicos, bioquímicos e histológicos. Sin embargo el único dato que se ha exigido para la inclusión ha sido el criterio histológico.

3.2.1. DIAGNOSTICO CLINICO

La existencia de rechazo, es una situación clínica difícil de diagnosticar, por la gran similitud que presenta con otros cuadros que pueden presentarse tras el trasplante. El diagnóstico de rechazo puede ser difícil de distinguir de otras situaciones, como son la isquemia del órgano, la sepsis, la hepatitis viral o la toxicidad por parte de ciertas drogas, que juntas o por separado pueden dar cuadros similares ¹²⁵. Una gran variedad de signos y síntomas han sido atribuidos al cuadro de rechazo. La mayoría pueden sugerirlo, pero ninguno es

específico. La fiebre, atribuida según Calne a la necrosis celular ¹³⁴, acompaña a la taquicardia, a las diarreas profusas en ocasiones y a la ictericia y disminución en la producción de bilis. Asimismo suelen aparecer astenia y anorexia muy marcadas, depresión y dolorimiento en el hipocondrio derecho. Estos datos clínicos, exigen realizar exploraciones complementarias para descartar otras complicaciones. En el rechazo irreversible el cuadro clínico es superponible al de una colestasis progresiva con prurito, ictericia, malabsorción y en las fases más avanzadas, signos de hipertensión portal, como las varices esofágicas y la presencia de ascitis. En definitiva, el diagnóstico de sospecha de rechazo, se inicia cuando aparece un deterioro progresivo de la función hepática, en ausencia de datos que puedan explicar esta disfunción.

3.2.2. DIAGNOSTICO BIOQUIMICO.

Aunque la intensidad es variable, pueden observarse las siguientes alteraciones: Aumento de la bilirrubina, fundamentalmente a expensas de la fracción conjugada. Aumento de los enzimas de colestasis como son las fosfatasas alcalinas y la gammaglutamiltranspeptidasa. Aumento de las transaminasas. Hipoproteinemia con hipoalbuminemia. Descenso de la tasa de Protrombina.

3.2.3. DIAGNOSTICO HISTOLOGICO.

Constituye la clave para el diagnóstico de rechazo. En el rechazo reversible o también denominado agudo, son característicos los siguientes datos histológicos ^{9,28-31}:

*Infiltrado inflamatorio mixto de los espacios porta, constituido por linfocitos, macrófagos y leucocitos polimorfonucleares y eosinófilos.

*Infiltración y lesión inflamatoria de los canalículos biliares. También se ha denominado colangitis no supurativa. Cursa con degeneración o/y necrosis del epitelio ductal asociada a infiltración linfocitaria peri e intraepitelial.

*Inflamación endotelial ("endotelialitis") de las ramas de la vena porta y de las venas hepáticas. Es una infiltración linfocitaria que en ocasiones llega a despegar y romper el endotelio venoso.

En los lobulillos pueden encontrarse también alteraciones patológicas, aunque éstas no son específicas de rechazo. Las más frecuentes son las siguientes: Colestasis centrolobulillar, signos de necrosis y/o regeneración en la zona perivenular central indicativas de la fase de isquemia que ha tenido que soportar el hígado tras su extracción en el donante, focos aislados de necrosis hepatocitaria y aumento de la celularidad sinusoidal.

Cada uno de los parámetros histológicos de rechazo ha sido valorado según una escala cuantitativa ^{21,135}, de 0 a 3 con los siguientes grados: 0 ausente, 1 leve, 2 moderado y 3 severo. Con esta escala se obtiene una puntuación entre 0 y 9. Un resultado final entre 0 y 3 lo hemos considerado indicativo de rechazo moderado o grado I. Una puntuación entre 3 y 5 ha sido indicativa de rechazo de grado II o importante y un resultado entre 6 y 9 ha sido considerada como rechazo de grado III o severo. En el rechazo irreversible o crónico existen al principio, en algunos casos, lesiones histológicas propias de un rechazo agudo. Posteriormente aparecen los dos tipos de alteración fundamental en este tipo de rechazo que son la desaparición progresiva de los canalículos biliares (VBDS por Vanishing Bile Duct Syndrome) y la arteriopatía obliterante ^{9,34,36}, que consiste en un depósito de material lipídico en la pared de las ramas arteriales hepáticas a nivel del espacio porta, con disminución progresiva de la luz vascular.

3.3. TRATAMIENTO UTILIZADO

Para el tratamiento del rechazo reversible se ha utilizado la pauta que a continuación detallamos.

*Corticoides. **1.** Metilprednisolona en forma de dosis única de 1 gramo endovenosa, durante tres días consecutivos. **2.** Reciclaje de corticoides, a partir del cuarto día, con metilprednisolona endovenosa, siguiendo la misma pauta que la indicada para los primeros días postrasplante. **3.** Revisar los niveles de CyA. Es recomendable ajustar las dosis de CyA para alcanzar unos niveles valle de 500-800 ng/ml. **4.** Ajustar las dosis de Azatioprina a 2 mg/Kg/ día. **5.** Si con estas medidas no se logra controlar el rechazo hemos utilizado la administración de anticuerpos monoclonales OKT3, a dosis de 5 mg/ día, durante 14 días. **6.** Si al terminar la administración de OKT3 se produce una mejoría, pero no una curación total (normalización clínico-bioquímica), se podrán utilizar de nuevo las dosis únicas de metilprednisolona y el reciclaje de corticoides.

Cualquier cambio en los protocolos asistenciales, previamente establecidos fue causa de exclusión.

3.4. DISEÑO DEL ESTUDIO.

El estudio analiza el primer episodio de disfunción hepática producido hasta el momento de la revisión de cada trasplante hepático incluido. El dato que se ha considerado fundamental para el análisis ha sido la obtención de una biopsia hepática. La realización de una biopsia hepática es una práctica habitual y rutinaria en los pacientes con trasplante hepático. La aparición de alteraciones de la bioquímica hepática hacen sospechar la presencia de rechazo. Sin embargo tal como ya se ha comentado, existen otras situaciones que pueden dar signos clínicos y analíticos parecidos, sin que exista rechazo.

Por tanto esta biopsia fue considerada como el único criterio determinante para el diagnóstico de rechazo, e imprescindible para que el caso pudiera ser incluido en el estudio.

De esta manera quedaron configurados dos grandes grupos. El primero constituido por aquellos trasplantes en los que la biopsia mostró la existencia de un rechazo, y el segundo por los que la biopsia no demostró la presencia de un rechazo.

A partir de este dato se recogió de cada trasplante una serie de variables obtenidas antes, durante o después del trasplante que fueron agrupados en las denominadas Variables Relacionadas con el donante, Variables Relacionadas con el Receptor, Variables relacionadas con el episodio de Rechazo y Variables que correlacionan Donante y Receptor. En total se han analizado en cada trasplante 33 variables, que a continuación se detallan.

3.4.1. VARIABLES RELACIONADAS CON EL DONANTE.

Se incluyó en todos los casos la edad, el sexo y por último la serología para Citomegalovirus (CMV).

3.4.2. VARIABLES RELACIONADAS CON EL RECEPTOR.

Se recogieron la edad, el sexo, la serología para CMV y el diagnóstico que llevó a la necesidad de un trasplante dividido en : Enf. Hepatocelulares de etiología no alcohólica como las cirrosis posthepatítica o criptogenética. Cirrosis de etiología Alcohólica. Enf. Colestásicas como la colangitis esclerosante o la Cirrosis Biliar Primaria . Por último la Insuficiencia Hepática Aguda (IHA).

3.4.3. VARIABLES RELACIONADAS CON EL EPISODIO DE DISFUNCION HEPATICA.

-Diagnóstico de la biopsia. Esta variable expresa el grado de rechazo y fue dividida, siguiendo los parámetros que hemos comentado con anterioridad, en cuatro apartados según se tratara de: A) Ausencia de rechazo B) Rechazo moderado C) Rechazo importante D) Rechazo severo.

Además se recogieron los siguientes parámetros bioquímicos determinados en sangre: **Bilirrubina total, Fosfatasas Alcalinas, Gammaglutamiltraspeptidasa (GGT), Transaminasa Glutámicooxalacética (GOT), Transaminasa Glutámicopirúvico (GPT) y Niveles séricos "valle" de Cyclosporina A (CyA).** Estas variables fueron analizadas el mismo día de la biopsia, es decir cuando la alteración clínica y bioquímica parecía estar en su máximo apogeo. Esto permitía a su vez descartar que el supuesto episodio de rechazo fuera debido a un insuficiente nivel de CyA.

-Tiempo de Aparición. Comprendido desde el momento de la realización del trasplante hasta la obtención del diagnóstico anatómo-patológico.

-Evolución. La normalización clínica y de los parámetros bioquímicos hizo que se considerara la evolución como buena. Por el contrario la permanente alteración sobre todo bioquímica tras el tratamiento hizo que se considerara la evolución como mala.

-Tipo de tratamiento utilizado. De acuerdo con nuestro protocolo asistencial, las posibilidades terapéuticas frente a una crisis de rechazo incluyen: "Bulus" de Metilprednisolona, Aumento de las dosis de CyA, Utilización de Anticuerpos monoclonales (OKT3), Asociación de Metilprednisolona y OKT3, o bien si el rechazo es considerado como poco relevante se decide no realizar tratamiento.

3.4.4. VARIABLES QUE CORRELACIONAN DONANTE Y RECEPTOR.

Entre estas variables se encontraban las siguientes:

-Grado de compatibilidad según el sistema ABO sanguíneo, desglosado en tres apartados ya se tratara de injertos idénticos, injertos con incompatibilidad menor, o sea no idénticos pero con grupos compatibles (ej. injerto grupo O sobre receptor grupo A), y por último injertos con incompatibilidad mayor.

-Cross-match. Realizado tras enfrentar suero del receptor, frente a tejido del donante (generalmente un ganglio linfático), para tratar de identificar una reacción positiva.

-Tipo de perfusión. Todos los injertos fueron preservados con uno de los siguientes tipos de perfusión: A) Perfusión de la Solución de Eurocollins a través de la vena porta y de la arteria aorta. B) Perfusión de la Solución de la Universidad de Wisconsin (UW), también denominada Solución de Beltzer, a través de la vena porta y perfusión de la Solución de Eurocollins a través de la arteria aorta. Este tipo de perfusión es el que hemos denominado sistema Combinado. C) Perfusión de la solución de la Universidad de Wisconsin a través de la vena porta y también a través de la arteria aorta.

-Tiempo de isquemia. Considerado desde el momento en que se inicia la perfusión en el donante hasta que se realiza la revascularización portal en el receptor.

-HLA. Determinación tanto en el donante como en el receptor del sistema antigénico de compatibilidad HLA. Esta determinación ha permitido comprobar la similitud HLA, expresada en forma de desigualdad (mismatch) de los locus A, B, D y Total entre donante y receptor.

-Identidad de sexo: Con cuatro categorías:

* Receptor hombre / Donante hombre.

* Receptor hombre / Donante mujer.

* Receptor mujer / Donante hombre.

* Receptor mujer / Donante mujer.

-Identidad de sexo 1: Con dos categorías:

* Sexos coinciden.

* Sexos no coinciden.

- Serología para Citomegalovirus en el donante y receptor (CMVDR) : Con cuatro categorías:

* Receptor negativo / Donante negativo.

* Receptor positivo / Donante negativo.

* Receptor negativo / Donante positivo.

* Receptor positivo / Donante positivo.

3.5. ESTUDIO ESTADISTICO

La introducción y estudio de los datos se ha realizado mediante el DBASE IV y el paquete de programas estadísticos BMDP (Statistical Software Inc.)

A partir de las variables iniciales han sido creadas además, las siguientes:

- Alcoh.: Con dos categorías:

* Cirrosis alcohólica vs otras.

- Colest: Con dos categorías:

* Enfermedad colestásica vs otras.

- IHA: Con dos categorías:

* Insuficiencia hepática aguda vs otras.

- Rechazo: Con dos categorías:

* Rechazo si.

* Rechazo no.

3.5.1. ETAPAS DEL ESTUDIO ESTADISTICO

1. En una primera fase se ha realizado un análisis descriptivo de los dos grupos. En las variables cuantitativas mediante la media, desviación estándar, valor máximo y mínimo. Para ver si siguen una distribución normal se ha realizado el test de Wilks. Las variables cualitativas o categóricas se describen mediante la distribución de frecuencias de cada una de las categorías.

2. En una segunda fase se estudia si hay diferencias en las **Variables relacionadas con el Rechazo** entre los individuos que lo presentan y en los que no aparece. Debido a que la mayoría de las muestras no sigue una distribución normal, la prueba estadística utilizada ha sido la U de Mann Whitney. Con las variables que han resultado significativamente distintas se ha realizado una regresión logística y a través de una tabla de probabilidades se ha elegido como punto de corte para la variable cuantitativa el de mayor Valor Global (porcentaje de individuos correctamente diagnosticados). Se anotan también la Sensibilidad del Test (porcentaje de individuos con rechazo que tienen un nivel de la variable cuantitativa en cuestión por encima del punto de corte) y la Especificidad (porcentaje de individuos sin rechazo que tienen un nivel de la variable cuantitativa por debajo del punto de corte).

<u>Valor An.Estadístico</u>	<u>RECHAZO</u>	<u>NO RECHAZO</u>	
<u>SI</u>	A	B	<u>A+B</u>
<u>NO</u>	C	D	<u>C+D</u>
	<u>A+C</u>	<u>B+D</u>	

De la tabla de probabilidades se puede extraer la sensibilidad y la especificidad del análisis estadístico.

SENSIBILIDAD= $A/A+C$. De los pacientes que rechazaron ¿qué probabilidad tiene el test de decir que hay rechazo?.

ESPECIFICIDAD= $D/B+D$. De los pacientes que no rechazaron ¿qué probabilidad tiene el test de decir que no rechazaron?.

VALOR PREDICTIVO POSITIVO= $A/A+B$. De los pacientes que el test dice que rechazan ¿Cuántos en realidad rechazaron?

VALOR PREDICTIVO NEGATIVO= $D/C+D$. De los pacientes que el test dice que no rechazan ¿Cuántos en realidad no rechazaron?.

VALOR GLOBAL= $A+D/A+B+C+D$. Porcentaje de individuos correctamente diagnosticados.

También se ha estudiado la asociación de todas las variables cualitativas con el rechazo. Para ello se ha calculado la prueba de la Ji al cuadrado. Cuando en una tabla de contingencia de 2x2 alguno de los esperados es menor de 5 se ha realizado el test exacto de Fisher (contraste bilateral). Se han realizado los Odds Ratios (OR) y su intervalo de confianza al 95% por el método de Cornfield. En el caso de que una variable fuese dicotómica y la otra ordinal se ha realizado la prueba de la Ji al cuadrado para la tendencia.

3. Una vez conocidas las variables que resultan significativas en el análisis bivariable y previamente a la realización de un modelo de regresión logística multivariable, se han estudiado las interrelaciones que existen entre las diferentes variables independientes: U de Mann Whitney para la comparación de dos medias en el caso de que las muestras no siguiesen una distribución normal, ANOVA para la comparación de más de dos medias (previa realización del test de Levene de comparación de varianzas), prueba de la Ji al cuadrado para el estudio de la asociación de dos variables categóricas y test de Fisher en los casos anteriormente mencionados. Para el estudio de la asociación entre dos variables cuantitativas se ha realizado una regresión lineal simple y se ha calculado el coeficiente de correlación "r" de Pearson. La comparación

de variables cuantitativas antes y después del tratamiento se ha realizado mediante el test de Wilcoxon ya que no siguen una distribución normal.

Para el análisis multivariado se han probado diversos modelos de regresión logística múltiple "paso a paso" por el método MLR (Maximum Likelihood Ratio). La selección de las variables se ha realizado por un proceso "forward", es decir, se parte de no tener ninguna variable en el modelo y éstas van entrando según su nivel de significación (de más a menos). Han sido modelos donde siempre la variable dependiente era el rechazo si ó no, y las variables independientes son diferentes combinaciones de las variables previamente asociadas significativamente y otras que, podrían influir desde un punto de vista razonable.

Con la regresión logística podemos predecir la probabilidad de un individuo de tener o no rechazo en función de sus parámetros, con la aplicación de la ecuación siguiente:

$$\text{PROB} = \frac{e^{(n+B_1 \times X_1 + B_2 \times X_2 + B_3 \times X_3 + B_4 \times X_4)}}{1 + e^{(n+B_1 \times X_1 + B_2 \times X_2 + B_3 \times X_3 + B_4 \times X_4)}}$$

Se trata de sustituir en la fórmula las B por el valor de la variable en cuestión y los valores de X por los coeficientes de regresión correspondientes. Hay que tener en cuenta que dado que las variables han sido categorizadas, al sustituir en la fórmula no se hace con el valor real sino con un 1 cuando el valor de la variable es superior al punto de corte y con un 0 cuando es inferior.

Como punto de corte de la Probabilidad se ha elegido el de máximo valor global (porcentaje de individuos correctamente diagnosticados) de tal modo que si como resultado de la aplicación de la fórmula la probabilidad es superior a la del punto de corte del valor global, este individuo tiene más probabilidad de tener rechazo. Si es inferior al punto de corte es más probable que no sea un rechazo.

El nivel de significación estadístico aceptado a lo largo de todo el análisis ha sido del 5% ($p < 0.05$)

4. Sin embargo el hecho de realizar el análisis a partir de la variable Rechazo si ó Rechazo no, confiere un sesgo al estudio, puesto que estamos analizando todas las variables precisamente en el día concreto en el que se ha realizado la biopsia, y este dato ha separado a los individuos. Por tanto se ha realizado un segundo análisis en el que se ha estudiado la probabilidad de presentar un rechazo a lo largo del tiempo, o lo que es lo mismo, ¿cuál es el tiempo medio de supervivencia libre de rechazo que va a tener un individuo incluido en el programa de trasplante y que factores van a ser los de predicción?

En un principio se ha calculado la supervivencia global de todos los individuos por el método actuarial de Kaplan y Meier. La supervivencia global se puede definir tanto con el tiempo medio de supervivencia y su error estándar como con la mediana y su error estándar. Hemos preferido utilizar la mediana con su error estándar, ya que posteriormente se comparan diferentes curvas de supervivencia por métodos no paramétricos.

La comparación de curvas de supervivencia de diferentes categorías se han realizado mediante el test de Breslow y el test de Mantel.

Las variables incluidas en esta segunda parte han sido las siguientes:

Edad Donante y Receptor, Tiempo de isquemia, Identidad de sexo e Identidad de sexo 1, Diagnóstico, Cross-match, Tipo de Perfusión, Desigualdad HLA para "locus" A, B y D, CMVDR y Compatibilidad ABO.

4.RESULTADOS.

RESULTADOS.

Al analizar el primer episodio de disfunción hepática no explicable por otros motivos, mediante una biopsia hepática, permitió separar dos grupos de pacientes:

Grupo I. Constituido por 60 pacientes en el que el primer episodio de disfunción hepática fue debido a un rechazo demostrado por biopsia.

Grupo II. Constituido por 22 pacientes en el que el primer episodio de disfunción hepática no fue debido a un rechazo demostrado por biopsia.

	BIOPSIA	Nº DE CASOS
GRUPO I	RECHAZO	60
GRUPO II	NO RECHAZO	22

Tabla I. Número total de casos analizados en el estudio, con su distribución en los grupos considerados.

4.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL GRUPO I O GRUPO CON DISFUNCION DEBIDA A UN RECHAZO.

*Variables Relacionadas con el Donante.

-Edad del donante. La edad media fue de 25.23 ± 10.19 , con una mediana de 23 años y unos extremos de 5 y 52 años.

-Sexo del donante. Existió una mayor proporción de hombres que de mujeres. 50 hombres frente a 10 mujeres.

-CMV. La serología era positiva en 25 casos (43.1%) y negativa en 33 casos (56.9%).

GRUPO I**VARIABLES RELACIONADAS CON EL DONANTE.**

VARIABLES	MEDIA	MEDIANA	EXTREM.
EDAD DONANTE	25.23±10.19	23	5-52
SEXO DONANTE M/F		50/10	
SEROLOGIA CMV			
DONANTE POS/NEG		25/33	

Tabla II. Variables relacionadas con el donante en el grupo I del estudio.

***Variables Relacionadas con el Receptor**

-Edad del receptor. La edad media fue de 45.05±11.38, con una mediana de 48 años y unos extremos de 20 y 62 años.

-Sexo del receptor. Este grupo estaba constituido por 29 hombres y 31 mujeres.

-Diagnóstico. Entre las enfermedades de predominio Hepatocelular se encontraron 28 casos. Trece correspondían a enfermedades de predominio Colestásico. Dentro de la Insuficiencia Hepática Aguda estaban 12 casos. En siete casos, la enfermedad que motivó el trasplante fue una Cirrosis Alcohólica.

-CMV. La serología realizada en el receptor se mostró positiva en 34 casos (69.3%) y negativa en 15 casos (30.7%).

GRUPO I**VARIABLES RELACIONADAS CON EL RECEPTOR.**

VARIABLES	MEDIA	MEDIANA	EXTREM.
EDAD RECEPTOR	45±11.38	48	20-62
SEXO RECEPTOR M/F		29/31	
DIAGNOSTICO:			
-HEPATOCELULAR		46.6%(28 CASOS)	
-COLESTASIS		21.6%(13 CASOS)	
-INSUF.HEPATICA AGUDA		20%(12 CASOS)	
-ALCOHOLICA		11.6%(7 CASOS)	
SEROLOGIA CMV			
RECEPTOR POS/NEG			34/15

Tabla III. Variables relacionadas con el receptor en el grupo I del estudio.

***Variables Relacionadas con el episodio de Disfunción Hepática.**

-Bilirrubina. Los valores medios fueron de 12.11±8.4 mg.% con una mediana de 9.03 mg % y unos extremos cifrados entre 0.9 y 46 mg.%.

-Fosfatasas Alcalinas. Los valores medios fueron de 437.52±433.8 u. con una mediana de 286 u.. y unos extremos de 97 y 2339 u..

-GGT. Los valores medios fueron de 217.73±186.17 u.. La mediana se situó en 164.5 u. y los valores extremos fueron de 44 y 1167 u..

-GOT. La media fue de 102 ± 113.14 u. con una media de 56 u. y unos extremos de 17 y 616 u..

-GPT. Los valores medios fueron de 278.43 ± 229.27 u. con una mediana de 205 y unos valores extremos de 25 y 1070 u..

-CyA. La media fue 430.84 ± 273.13 mg. con una mediana de 377 y unos extremos entre 83 y 1600 mg.

-Grado de Rechazo. En 30 casos el rechazo fue catalogado como moderado. En 20 casos el rechazo fue catalogado como importante. En 10 casos el rechazo fue considerado como severo.

-Tiempo de aparición. La media fue de 45.20 ± 96.01 días, entre la fecha de trasplante y la aparición de la crisis de rechazo, con una mediana de 9.50 días y unos extremos de 1 y 531 días.

-Tipo de Tratamiento. Los distintos tratamientos utilizados quedan reflejados en la tabla II.

METILPREDNISOLONA	42
METILPRED.+ OKT3	7
AUMENTO DE CyA	7
OKT3	4

Tabla IV. Relación de los distintos tratamientos utilizados en el Grupo I de pacientes.

-Evolución. En 54 casos hubo regresión o mejoría de los parámetros alterados por lo que cabe cifrar la evolución como buena. En 6 pacientes no se produjo esta mejoría y como consecuencia la evolución ha sido calificada como mala.

GRUPO I**VARIABLES RELACIONADAS CON EL EPISODIO DE DISFUNCION HEPATICA.**

VARIABLES	MEDIA	MEDIANA	EXTREM.
BILIRRUBINA	12.11±8.4	9	0.9-46
F.ALCALINAS	437.5±433.87	286	97-2339
GGT	217.73±186.17	164.5	44-1167
GOT	102±113.14	56	17-616
GPT	278±229.27	205	25-1070
CyA	430.84±273.13	377	83-1600
TºAPARICION(dias)	45.2	9.5	1-531

-GRADO DE RECHAZO

-MODERADO	50%(30 CASOS)
-IMPORTANTE	33.3%(20 CASOS)
-SEVERO	16.6%(10 CASOS)

TIPO DE TRATAMIENTO

-METILPREDNISOLONA	70%(42 CASOS)
-OKT3	6.6%(4 CASOS)
-METILPRED.+ OKT3	11.6%(7 CASOS)
-AUMENTO DE CyA	11.6%(7 CASOS)

Tabla V. Variables relacionadas con el episodio de rechazo en el grupo I del estudio.

***Variables que correlacionan Donante y Receptor.**

-Compatibilidad ABO. La identidad se produjo en 49 casos. En 8 casos existía la denominada incompatibilidad menor. En estos casos el donante y el receptor

no son idénticos de grupo pero son compatibles. En 3 casos se trataba de grupos incompatibles.

-Cross-match. En 55 casos el cross-match fue negativo. Tan sólo en cinco casos se obtuvo un cross-match positivo.

-Tipo de Perfusión. En 17 casos se utilizó para la perfusión solución de Eurocollins. El método combinado se usó en 27 casos. En 16 casos se utilizó solución U.W.

-Tiempo de Isquemia. El tiempo medio de isquemia en este primer grupo fue de 350.27 ± 180 minutos. La mediana fue de 285 minutos con unos extremos de 180 y 1080 minutos.

-HLA. La compatibilidad HLA se analizó en forma de desigualdad o mismatch para los distintos "locus". Por lo que se refiere al locus A hubo una desigualdad media de 1.55 ± 0.60 antígenos con una mediana de 2 y unos extremos de 0 y 2 antígenos. Tres casos (5.4%) compartían los dos antígenos. Diecinueve casos (33.9%) compartían 1 antígeno y 34 casos (60.7%) no compartían ningún antígeno.

En el "locus" B la media de desigualdad fue de 1.82 ± 0.38 antígenos con una mediana de 2 y unos extremos de 1 y 2 antígenos. Diez casos (17.9%) compartía 1 antígeno, mientras que 46 casos (82.1%) no compartían ningún antígeno.

En el "locus" DR la desigualdad tuvo una media de 1.45 ± 0.56 antígenos con una mediana de 1 y unos extremos de 0 y 2 antígenos. Dos casos (3.5%) compartían los dos antígenos. En 27 (47.4%) un antígeno era común, mientras que en 28 casos (49.1%) los dos antígenos eran distintos.

El mismatch total en este primer grupo tuvo una media de 4.83 ± 0.98 antígenos con una mediana de 5 y unos extremos de 2 y 6 antígenos. En 2 casos (3.6%) se compartían 4 antígenos. En dos casos (3.6%) se compartían tres antígenos. En 14 casos (25%) se compartían 2 antígenos. La mayoría sólo compartía 1

antígeno, como sucedió en 23 casos (41.1%) o ninguno como ocurrió en 15 casos (26.8%).

-CMVDR. La distribución en los subgrupos creados fue como sigue: Rec. negativo/ Don. negativo 8 casos. Rec. positivo/ Don. negativo 20 casos. Rec. negativo/ Don. positivo 7 casos y Rec. positivo/ Don. positivo en 13 casos.

-Identidad de Sexo. La distribución en las distintas combinaciones fue la siguiente: Rec. hombre/ Don. hombre 25 casos, Rec.hombre/ Don.mujer 4 casos, Rec. mujer/ Don. hombre 25 casos y Rec. mujer/ Don. mujer 6 casos.

-Identidad de sexo 1. En 29 casos no existía identidad entre el donante y el receptor, mientras que si la hubo en 31 casos.

GRUPO I

VARIABLES QUE CORRELACIONAN DONANTE Y RECEPTOR.

VARIABLES	MEDIA	MEDIANA	EXTREM.
T ^º ISQUEMIA(min.)	350.27±180	285	180-1080
CROSS-MATCH			
-POSITIVO			8.33%(5 CASOS)
-NEGATIVO			91.66%(55 CASOS)
TIPO DE PERFUSION			
-EUROCOLLINS			28.3%(17 CASOS)
-COMBINADO			45%(27 CASOS)
-U. WISCONSIN			26.6%(16 CASOS)
COMPATIBILIDAD ABO			
-IDENTICO			49 CASOS(81.6%)
-COMPATIBLE			8 CASOS(13.3%)
-INCOMPATIBLE			3 CASOS(5%)
MISMATCH A			
0			5.4%(3 CASOS)
1			33.9%(19 CASOS)
2			60.7%(34 CASOS)
MISMATCH B			
0			
1			18%(10 CASOS)
2			82%(46 CASOS)
MISMATCH D			
0			3.5%(2 CASO)
1			47.4%(27 CASOS)
2			49.1%(28 CASOS)
MISMATCH TOTAL			
1			
2			3.6%(2 CASO)
3			3.6%(2 CASO)
4			25%(14 CASOS)
5			23%(23 CASOS)
6			15%(15 CASOS)
IDENTIDAD SEXO 1 S/N			31/29
IDENTIDAD DE SEXO			
RH/DH			25 CASOS
RH/DM			4 CASOS
RM/DH			25 CASOS
RM/DM			6 CASOS
CMVDR			
RN/DN			8 CASOS
RP/DN			20 CASOS
RN/DP			7 CASOS
RP/DP			13 CASOS.

Tabla VI. Variables que relacionan el donante y el receptor en el grupo I del estudio.

4.2. ESTADISTICA DESCRIPTIVA DEL GRUPO II O GRUPO CON DISFUNCION HEPATICA NO DEBIDA A UN RECHAZO.

*Variables Relacionadas con el Donante.

-Edad del donante. La edad media se situó en los 25.3 ± 9.3 años, con una mediana de 24.5 años y unos extremos de 11 y 42 años.

-Sexo del donante. La mayoría estuvo constituida por donantes del género masculino con 16 casos, por tan sólo 6 mujeres.

-CMV. La serología en el donante se distribuyó del siguiente modo: en 7 casos (33.3%) fue positiva, mientras que en 11 casos (61.1%) fue negativa.

GRUPO II

VARIABLES RELACIONADAS CON EL DONANTE.

VARIABLES	MEDIA	MEDIANA	EXTREM.
EDAD DONANTE	25.3 ± 9.3	24.5	11-42
SEXO DONANTE M/F		72.72%/27.27%	
SEROLOGIA CMV			
DONANTE POS/NEG		33.33%/61.11%	

Tabla VII. Variables relacionadas con el donante en el grupo II del estudio.

*Variables Relacionadas con el Receptor

-Edad del receptor. La edad media fue de 48.59 ± 7.7 años con una mediana de 50 años y unos extremos entre 24 y 62 años.

-Sexo del receptor. En 15 casos el receptor fue un hombre, mientras que en 7 casos se trataba de mujeres.

-Diagnóstico. La mitad de los pacientes de este grupo tenían enfermedades de predominio hepatocelular que motivaron la indicación de trasplante, con 11 casos. En 4 casos la enfermedad era de predominio colestásico. En 7 casos se trataba de una cirrosis de tipo alcohólico.

-CMV La serología fue positiva en 14 casos (66.6%) y negativa en 7 (33.3%).

GRUPO II

VARIABLES RELACIONADAS CON EL RECEPTOR.

VARIABLES	MEDIA	MEDIANA	EXTREM.
EDAD RECEPTOR	48.6±7.7	50	24-62
SEXO RECEPTOR M/F		68.18%/31.81%	
DIAGNOSTICO:			
-HEPATOCELULAR		50%(11 CASOS)	
-COLESTASIS		18.2%(4 CASOS)	
-INSUF.HEPATICA AGUDA			
-ALCOHOLICA		31.81%(7 CASOS)	
SEROLOGIA CMV			
RECEPTOR POS/NEG		66.66%/33.33%	

Tabla VIII. Variables relacionadas con el receptor en el grupo II del estudio.

***Variables Relacionadas con el Episodio de Disfunción.**

-Bilirrubina. Los valores medios fueron de 2.84±3.12 mg%, con una mediana de 1.6 mg% y unos extremos entre 0.7 y 13.2 mg%. Es necesario mencionar que el 63.6% de estos casos tenía unas cifras por debajo de 2 mg%, mientras que por encima de 10 mg% tan sólo estaba el 4.5% de los casos encuadrados en este grupo.

-Fosfatasas Alcalinas. La media fue de 300.5 ± 139.8 con una mediana de 278.5 y unos valores extremos entre 60 y 590 u..El 63.6% de los casos tenía unos valores inferiores a 300 u.

-GGT. Los valores medios fueron de 95.8 ± 66.2 u. con una mediana de 77 y unos extremos de 24 y 278.

-GOT. El valor medio se situó en 29.7 ± 20.7 u. con una mediana de 22 y unos extremos entre 6 y 86 u..En el 72.7% de los casos los valores estaban situados por debajo de 40 u.

-GPT. La media fue de 62.77 ± 82.5 u. con una mediana de 43.5 u. y unos valores extremos de 10 y 415 u..Por debajo de 40 u. había un total de 9 pacientes lo que significa el 40.9%.

-CyA. Los valores medios fueron de 379.1 ± 229.5 con una mediana de 322 y unos extremos de 112 y 899.

-Grado de Rechazo. En este grupo las biopsias que se realizaron no lograron demostrar la existencia de rechazo.

GRUPO II

VARIABLES RELACIONADAS CON EL EPISODIO DE DISFUNCION.

VARIABLES	MEDIA	MEDIANA	EXTREM.
BILIRRUBINA	2.84 ± 3.12	1.6	0.7-13.2
F.ALCALINAS	300.5 ± 139.8	278.5	60-590
GGT	95.8 ± 66.2	77	24-278
GOT	29.7 ± 20.7	22	6-86
GPT	62.77 ± 82.5	43.5	10-415
CyA	379.1 ± 229.5	322	112-899
TºAPARICION(dias)	57.77 ± 81.11	42	13-407

Tabla IX. Variables relacionadas con el episodio de rechazo en el grupo II del estudio.

***Variables que correlacionan Donante y Receptor.**

-Compatibilidad ABO. La identidad total se produjo en 18 casos (81.8%). En estos casos el grupo sanguíneo del donante y del receptor eran idénticos. En 4 casos (18.2%) existía incompatibilidad menor, es decir no eran grupos idénticos pero si compatibles. No hubo ningun caso de incompatibilidad mayor, o grupos absolutamente incompatibles.

-Cross-match. Tan sólo existió positividad en un caso (4.5%), mientras que en 21 casos (95.5 %) la prueba cruzada fue negativa.

-Tipo de perfusión. En cuatro casos (18.2%) se utilizó la solución de Eurocollins. En otros cuatro casos la solución fue la de U.W, mientras que la gran mayoría (63.6%) fueron perfundidos mediante el método combinado.

-Tiempo de Isquemia. El tiempo medio de isquemia fue de 356.9 ± 193.5 minutos. La mediana fue de 285 minutos con unos extremos de 150 y 995 minutos.

-Compatibilidad HLA. Los antígenos de histocompatibilidad se lograron obtener en 21 casos.

Para el "locus" A la media de desigualdad fue de 1.61 ± 0.49 antígenos con una mediana de 2 y unos extremos de 1 y 2 antígenos. En 8 casos (38.1%) hubo desigualdad o mismatch de 1 antígeno mientras que en 13 casos (61.9%) existían 2 mismatch.

En el "locus" B la media de desigualdad fue de 1.52 ± 0.60 antígenos con una mediana de 2 y unos extremos de 0 y 2 antígenos. Hubo identidad total de antígenos en un sólo caso (4.8%), mientras que en 8 casos (38.1%) hubo 1 mismatch y en 12 casos (57.1%) se produjeron 2 mismatch.

En el "locus" DR hubo un caso (4.5%) con 0 mismatch, 8 casos (36.4%) con un mismatch y 13 casos (59.1%) con desigualdad total o sea 2 mismatch. La media de desigualdad de este "locus" fue de 1.54 ± 0.59 antígenos con una mediana de 2 y unos extremos de 0 y 2.

El mismatch total tuvo una media de 4.71 ± 0.78 antígenos con una mediana de 5 antígenos y unos extremos de 3 y 6 antígenos. En la tabla III se recoge la compatibilidad HLA global de este segundo grupo.

3 MISMATCH	1 casos (4.7%)
4 MISMATCH	7 casos (33.3%)
5 MISMATCH	10 casos (47.6%)
6 MISMATCH	3 casos (14.2%)

Tabla X. Compatibilidad total HLA expresada según el número de mismatch en el grupo II.

-CMVDR La distribución en los distintos subgrupos fue la siguiente:
 Rec.negativo/ Don. negativo 3 casos. Rec. positivo/ Don. negativo en 8 casos.
 Rec.negativo/ Don. positivo 3 casos y Rec. positivo/ Don. positivo en 3 casos.

-Identidad de sexo. La distribución en los subgrupos creados fue la siguiente:
 Rec. hombre/ Don. hombre 11 casos. Rec. hombre/ Don. mujer 4 casos. Rec.
 mujer/ Don. hombre 5 casos y Rec. mujer/ Don. mujer en 2 casos.

-Identidad de Sexo 1. En 13 casos (59.09%) no hubo diferencia entre el sexo del donante y del receptor, mientras que si existió en 9 casos (40.90%).

GRUPO II**VARIABLES QUE CORRELACIONAN DONANTE Y RECEPTOR**

VARIABLES	MEDIA	MEDIANA	EXTREM.
T°ISQUEMIA(min.)	356.2±193.52	285	150-995
CROSS-MATCH			
-POSITIVO		4.5%(1 CASO)	
-NEGATIVO		95.5%(21 CASOS)	
TIPO DE PERFUSION			
-EUROCOLLINS		18.2%(4 CASOS)	
-COMBINADO		63.6%(14 CASOS)	
-U. WISCONSIN		18.2%(4 CASOS)	
COMPATIBILIDAD ABO			
IDENTICO		81.8%(18 CASOS)	
COMPATIBLE		18.2%(4 CASOS)	
INCOMPATIBLE		0%	
MISMATCH A			
0			
1		38.09%(8 CASOS)	
2		61.90%(13 CASOS)	
MISMATCH B			
0		4.76%(1 CASO)	
1		38.09%(8 CASOS)	
2		57.14%(12 CASOS)	
MISMATCH D			
0		4.54%(1 CASO)	
1		36.36%(8 CASOS)	
2		59.09%(13 CASOS)	
MISMATCH TOTAL			
1			
2			
3		4.76% (1 CASO)	
4		33.33% (7 CASOS)	
5		47.61% (10 CASOS)	
6		14.28% (3 CASOS)	
IDENTIDAD SEXO 1 S/N		59.09%/40.9%	
IDENTIDAD DE SEXO			
RH/DH		11 CASOS	
RH/DM		4 CASOS	
RM/DH		5 CASOS	
RM/DM		2 CASOS	
CMVDR			
RN/DN		3 CASOS	
RP/DN		8 CASOS	
RN/DP		3 CASOS	
RP/DP		3 CASOS.	

Tabla XI. Variables que relacionan el donante y el receptor en el grupo II del estudio.

4.3. COMPARACION DE LOS DATOS DE FUNCION HEPATICA SEGUN EL GRADO DE RECHAZO.

Según los datos aportados por la biopsia y siguiendo la clasificación que previamente se ha detallado, los episodios de rechazo fueron categorizados en moderado importante y severo. Treinta pacientes del grupo 1 estaban encuadrados en el subgrupo de rechazo moderado. Veinte correspondían a un rechazo importante, mientras que diez pertenecían al grupo de rechazo severo. En la tabla que aparece a continuación se detallan las medias y desviación estándar que han correspondido en cada subgrupo, a los valores de Bilirrubina, Fosfatasas Alcalinas, Gammaglutamiltranspeptidasa (GGT), Glutámicoacético transaminasa (GOT), Glutámicoacético transaminasa (GPT) y de niveles "valle" de Ciclosporina A (CyA). Este último parámetro se ha incluido en este análisis para precisar que la mayor o menor intensidad del rechazo no estaba en relación con un nivel insuficiente de fármaco inmunosupresor. Se ha utilizado el test de ANOVA, previa realización del test de Levene de comparación de varianzas.

VARIABLE	RECHAZO			valor F
	LEVE	MODERADO	SEVERO	
BILIRRUBINA	9.36±7.32	13.60±8.25	17.37±12.53	3.66 (0.03)*
F.ALCALINA	311.8±241.5	572.1±451.3	558.9±714.3	2.72(0.07)
GGT	157.83±96.4	284±180.44	264.80±323	3.40(0.04)#
GOT	75.26±71.27	107.75±113.81	170.7±180.31	2.88(0.06)
GPT	258.23±217.53	262.25±253.66	371.40±211.50	0.99(0.37)
CyA	467.07±352.68	413.88±173.91	360.11±146.24	0.56(0.57)

* La bilirrubina aumenta significativamente a medida que el rechazo evoluciona de leve a severo.

La GGT está significativamente más elevada en el rechazo moderado que en el leve.

Tabla XII. Comparación de los datos bioquímicos de función hepática según el grado de rechazo.

Los dos parámetros que mostraron significación estadística fueron la bilirrubina y la GGT. La primera aumentó significativamente, cuando el rechazo evolucionó de leve a severo, de tal manera que podemos afirmar que una vez diagnosticado a un paciente de rechazo agudo, éste será más importante cuanto mayor sea el valor de bilirrubina total. Por otra parte la GGT demostró poseer significación estadística cuando se comparó el rechazo leve con el moderado. No fue así cuando se comparó rechazo moderado y severo. Por último, hay que destacar que pese a que los niveles medios de CyA eran ligeramente inferiores en el grupo de rechazo severo esta diferencia no tuvo significación estadística.

4.4. COMPARACION ENTRE LOS GRUPOS I Y II. (Variables Cuantitativas).

Uno de los objetivos del presente estudio era poder discernir a través de los datos de laboratorio de función hepática, si un paciente era portador de un rechazo o no. Evidentemente esto requiere el haber descartado previamente otras alteraciones, complicaciones vasculares, biliares o infecciones. Una vez que se hayan descartado, la rapidez y la poca sofisticación que requiere la realización de una bioquímica hepática, puede convertirla en un elemento de gran valor para diagnosticar el rechazo, si es que en realidad existieran diferencias significativas entre el grupo de pacientes con rechazo y el grupo que no lo presentaran.

En la tabla siguiente se exponen las medias y desviaciones estándar de las variables cuantitativas estudiadas en los dos grupos de pacientes. Dado que las muestras no siguen una distribución normal se ha utilizado para el análisis el test de U de Mann Whitney.

VARIABLE	RECHAZO SI	RECHAZO NO	VALOR p
Edad Receptor	45.05±11.38	48.59±7.69	0.37
Edad Donante	25.23±10.19	25.31±9.32	0.99
Bilirrubina	12.11±9.03	2.84±3.11	0.001*
F.Alcalina	437.52±433.87	300.54±139.79	0.54
GGT	217.73±186.17	95.81±66.23	0.001*
GOT	102±113.14	29.77±20.66	0.001*
GPT	278.43±229.27	62.77±82.53	0.001*
CyA	430.84±273.13	379.14±229.46	0.30
T. Isquemia	350.27±180	356.95±193.52	0.98
Mismatch HLA-A	1.55±0.60	1.61±0.49	0.79
Mismatch HLA-B	1.82±0.38	1.52±0.60	0.02*
Mismatch HLA-D	1.45±0.56	1.54±0.59	0.47
Mismatch HLA-Total	4.83±0.98	4.71±0.78	0.41

*Variables con valor de p estadísticamente significativo.

Tabla XIII Comparación de las variables cuantitativas en los grupos I y II.

El análisis estadístico de los dos grupos demostró que las variables significativamente distintas eran la **Bilirrubina, GOT, GPT, GGT, y Mismatch B.**

Con las variables Bilirrubina, GOT, GPT y GGT, se ha realizado un análisis de regresión logística donde la variable dependiente ha sido **rechazo si ó no**, actuando áquellas como variables independientes.

En la tabla de probabilidades se ha buscado para cada variable el punto de **mayor sensibilidad y mayor especificidad** que corresponde al **valor global**. Este valor global se correlaciona con un punto de corte que tiene

asignado un valor absoluto de cada variable. Por tanto este punto de corte determina el valor a partir del cual, por encima o debajo del mismo existe o no existe rechazo.

A continuación se detallan la Sensibilidad, Especificidad, Valor Global y Punto de Corte de cada variable cuantitativa que ha resultado ser significativamente distinta en los dos grupos de pacientes.

Variable	Sensibilidad	Especificidad	Valor Global	Punto de Corte
Bilirrubina	85%	77.27%	82.93%	2.5

El 85% de los pacientes que son portadores de un rechazo tienen su cifra de bilirrubina sérica por encima del valor 2.5 mg%.

El 77.27% de los pacientes que no tienen un rechazo presentan una cifra de bilirrubina sérica por debajo del valor 2.5 mg%.

Variable	Sensibilidad	Especificidad	Valor Global	Punto de Corte
GGT	86.67%	68.18	81.71%	90

El 86.67% de los pacientes que tienen un rechazo presentan una cifra de GGT sérica por encima del valor 90 u.i..

El 68.18% de los pacientes que no tienen un rechazo poseen su cifra de GGT sérica por debajo del valor 90 u.i..

Variable	Sensibilidad	Especificidad	Valor Global	Punto de Corte
GOT	93.33%	54.55%	82.93%	25

El 93.33% de los pacientes que tienen un rechazo poseen una cifra de GOT sérica por encima del valor 25 u.i..

El 54.55% de los pacientes que no presentan un rechazo poseen una cifra de GOT sérica inferior al valor 25 u.i..

Variable	Sensibilidad	Especificidad	Valor Global	Punto de Corte
GPT	90%	81.82%	87.80%	70

El 90% de los pacientes que presentan un rechazo tienen una cifra de GPT sérica superior al valor 70 u.i..

El 81.82% de los pacientes que no presentan un rechazo tienen una cifra de GPT sérica inferior al valor 70 u.i..

4.5. COMPARACION ENTRE LOS GRUPOS I Y II. (Variables Cualitativas).

Se ha estudiado la asociación de todas las variables cualitativas al rechazo. Para ello se ha calculado la prueba de la Ji al cuadrado. Cuando en una tabla de contingencia de 2x2 alguno de los esperados es menor de 5 se ha realizado el test exacto de Fisher (contraste bilateral).

El análisis estadístico ha demostrado que sólo dos variables se han asociado significativamente a la presencia de rechazo: La desigualdad o mismatch del "locus" HLA-B y el diagnóstico que motivó el trasplante.

Discordancia del "locus" B.

La distribución de los pacientes con respecto a los antígenos del grupo B fue la siguiente:

1 paciente compartía los dos antígenos.

18 pacientes compartían un antígeno.

58 pacientes no compartía ningún antígeno.

En definitiva el tipaje completo para este "locus" se consiguió en 77 pacientes de los 82 analizados.

En la tabla siguiente se resume la distribución de los pacientes de acuerdo con la presencia o no de rechazo.

MISMATCH B	RECHAZO		TOTAL
	SI	NO	
0	0%	100%	100%
1	55.6%	44.4%	100%
2	79.3%	20.7%	100%
TOTAL	72.7%	27.3%	100%

$p=0.03$.

Tabla XIV. Presencia o no de rechazo (%) en relación a la discordancia de antígenos en el "locus" B del Complejo Mayor de Histocompatibilidad.

De los pacientes que compartían un antígeno el 55.6% presentó rechazo mientras que el 44.4% no lo tuvo.

Cuando no se compartía ningún antígeno B el 79.3% presentó rechazo mientras que sólo el 20.7% no lo tuvo.

Los pacientes que presentan una discordancia con el donante, por lo que se respecta al "locus" B del Complejo Mayor de Histocompatibilidad tienen un riesgo significativamente mayor de presentar un rechazo agudo.

Diagnóstico.

Tal como fue expuesto con anterioridad los pacientes fueron agrupados en cuatro subgrupos según el diagnóstico que motivó el trasplante: Enfermedad de predominio hepatocelular, Enfermedad de predominio colestásico, Insuficiencia hepática aguda y Enfermedad de predominio hepatocelular de causa alcohólica. Las tablas siguientes expresan las distribuciones absolutas y de porcentajes en función de la aparición del rechazo para cada subgrupo:

DIAGNOSTICO	RECHAZO		TOTAL
	SI	NO	
HEPATOCEL.	28	11	39
COLESTASICA	13	4	17
I.H. AGUDA	12	0	12
ALCOHOLICA	7	7	14
TOTAL	60	22	82

Tabla XV. Presencia o no de rechazo (valor absoluto) según el diagnóstico que motivó el trasplante.

DIAGNOSTICO	RECHAZO		TOTAL
	SI	NO	
HEPATOCEL.	71.8%	28.2%	100%
COLESTASICA	76.5%	23.5%	100%
I.H. AGUDA	100%	0	100%
ALCOHOLICA	50%	50%	100%
TOTAL	73.2%	26.8%	100%

p=0.03

Tabla XVI. Presencia o no de rechazo (%) según el diagnóstico que motivó el trasplante.

De acuerdo con el análisis se establece una gradación de menor a mayor incidencia de rechazo de tal manera que los pacientes que presentan menor rechazo son los alcohólicos seguidos por las enfermedades hepatocelulares, las colestásicas y por último las insuficiencias hepáticas agudas.

A partir de las variables iniciales se crearon otras tres por lo que respecta al diagnóstico:

- Alcoh.: Con dos categorías:

* Cirrosis alcohólica vs otras.

- Colest: Con dos categorías:

* Enfermedad colestásica vs otras.

- IHA: Con dos categorías:

* Insuficiencia hepática aguda vs otras.

El análisis realizado demostró que tanto la Cirrosis Alcohólica como la Insuficiencia Hepática Aguda eran significativamente distintas. En las tablas siguientes se muestra la distribución del rechazo en función de estas nuevas variables creadas:

DIAGNOSTICO	RECHAZO		TOTAL
	SI	NO	
ALCOHOLICA	50%	50%	100%
OTRAS	77.9%	22.1%	100%
TOTAL	73.2%	26.8%	100%

test exacto de Fisher $p=0.04$

Tabla XVII. Presencia o no de rechazo (%) según el diagnóstico (alcohólicas vs. otras) que motivó el trasplante.

Los pacientes en los que se indica un trasplante hepático por una cirrosis alcohólica tienen un riesgo de presentar un rechazo agudo significativamente menor que los pacientes en los que el trasplante hepático se indica por otros diagnósticos.

DIAGNOSTICO	RECHAZO		TOTAL
	SI	NO	
I.H. AGUDA	100%	0	100%
OTRAS	68.6%	31.4%	100%
TOTAL	73.2%	26.8%	100%

test exacto de Fisher $p=0.03$

Tabla XVIII. Presencia o no de rechazo (%) según el diagnóstico (Ins.Hepática Aguda vs.Otras) que motivó el trasplante.

Los pacientes en los que se indica un trasplante hepático por una Insuficiencia Hepática Aguda tienen un riesgo de presentar un rechazo agudo significativamente mayor que los pacientes en los que el trasplante hepático se indica por otros diagnósticos.

El análisis entre las Enf. de predominio Colestásico respecto al resto o de las Enf. de predominio Hepatocelular respecto al resto no demostró diferencias significativas en cuanto a la aparición de rechazo.

4.6. RESUMEN DE LAS VARIABLES ASOCIADAS AL RECHAZO EN EL ANALISIS BIVARIABLE.

A continuación se exponen las tablas de porcentajes de cada variable en función de la presencia o no de rechazo. En este análisis a las variables cuantitativas se les ha dado el valor según el punto de corte efectuado que era el que correspondía al de mayor Valor Global.

1. DIAGNOSTICO

DIAGNOSTICO	RECHAZO		TOTAL
	SI	NO	
HEPATOCEL.	71.8%	28.2%	100%
COLESTASICA	76.5%	23.5%	100%
I.H. AGUDA	100%	0	100%
ALCOHOLICA	50%	50%	100%
TOTAL	73.2%	26.8%	100%

p=0.03

2. MISMATCH HLA-B

MISMATCH B	RECHAZO		TOTAL
	SI	NO	
0-1	52.6%	47.4%	100%
2	79.3%	20.7%	100%
TOTAL	72.7%	27.3%	100%

p=0.03.

3. BILIRRUBINA

BILIRRUBINA	RECHAZO		TOTAL
	SI	NO	
< ó = 2.5	37%	63%	100%
>2.5	90.9%	9.1%	100%
TOTAL	73.2%	26.8%	100%

p=0.001

4. GGT.

GGT	RECHAZO		TOTAL
	SI	NO	
< ó = 90	34.8%	65.2%	100%
≥90	88.1%	11.9%	100%
TOTAL	73.2%	26.8%	100%

p=0.001

5.GOT.

GOT	RECHAZO		TOTAL
	SI	NO	
< ó = 25	25%	75%	100%
>25	84.8%	15.2%	100%
TOTAL	73.2%	26.8%	100%

p=0.001

6.GPT.

GPT	RECHAZO		TOTAL
	SI	NO	
< ó = 70	25%	75%	100%
>70	93.1%	6.9%	100%
TOTAL	73.2%	26.8%	100%

p=0.001

Una vez conocidas las variables que resultan significativas en el análisis bivariable y previamente a la realización de un modelo de regresión logística multivariable, es necesario conocer las interrelaciones que existen entre las diferentes variables independientes. De este modo se han estudiado las siguientes asociaciones:

***Sexo del Receptor y Diagnóstico.** Existe significación estadística entre la asociación de Enf. Alcohólica y Hepatocelular con los pacientes varones, mientras que las Enf. Colestásicas están asociadas a las mujeres.

***Variables Bioquímicas y Sexo del Receptor.** No existen diferencias estadísticamente significativas.

***Variables de compatibilidad y Sexo del Receptor.** Se han estudiado las variables Crossmatch, Compatibilidad ABO, Antígenos de Histocompatibilidad y Sexo del Receptor. No existen diferencias estadísticamente significativas.

***Variables de compatibilidad.** Las variables detalladas en el apartado anterior han sido analizadas entre ellas. No existen diferencias estadísticamente significativas.

***Edad del Receptor y Variables Bioquímicas.** Este análisis se ha realizado mediante una regresión lineal simple (Correlación de Pearson). Las variables se han analizado globalmente y después por separado en los individuos con rechazo y sin rechazo. Han resultado significativas las siguientes correlaciones:

- La bilirrubina disminuye al aumentar la edad.
- La GOT aumenta al aumentar la edad en los individuos con rechazo.
- La GPT globalmente y en los individuos sin rechazo disminuye al aumentar la edad, mientras que aumenta al aumentar la edad en los individuos con rechazo.

***Diagnóstico del Receptor y Variables Bioquímicas.** Para este análisis se ha utilizado un test de Anova o análisis de la varianza previa comparación de la igualdad de las varianzas mediante el test de Levene. Sólo ha resultado ser significativa la GPT que ha sido más elevada en los pacientes con Ins. Hepática Aguda que en el resto.

***Diagnóstico y Edad en el Receptor.** También se ha realizado por un test de Anova. Los pacientes con Ins. Hepática Aguda son significativamente más jóvenes que en el resto de diagnósticos.

4.7. ANALISIS MULTIVARIABLE.

Se han probado diversos modelos de regresión logística múltiple en función de los resultados obtenidos hasta este momento. Han sido modelos donde siempre la variable dependiente era rechazo si o no, y las variables independientes han sido combinaciones de las variables previamente asociadas significativamente y otras que aunque no asociadas en el análisis bivariado, podían estar razonablemente implicadas desde el punto de vista médico. Dentro de estas últimas están por ejemplo: edad del receptor, sexo del receptor, coincidencia de sexos y estado serológico CMV del donante y del receptor. Las variables cuantitativas como Bilirrubina, GOT, GPT y GGT en algunos modelos se han utilizado como variables cuantitativas y en otros categorizadas a través del punto de corte previamente hallado. Hemos elegido como modelo final aquel que además de ser coherente desde el punto de vista clínico ha resultado tener una bondad del ajuste mejor (Chi Cuadrado de Goodness of fit=1).

MODELO

Variable Dependiente: Rechazo.

Variables Independientes: Diagnóstico, Edad del receptor, Coincidencia de Sexos, Mismatch B, Bilirrubina, GOT, GPT y GGT.

Han resultado significativas por el siguiente orden:

- * GPT.
- * BILIRRUBINA.
- * EDAD DEL RECEPTOR.
- * MISMATCH HLA-B.

A continuación se describe la tabla final del estudio multivariado con los coeficientes de regresión de cada variable significativa, con capacidad pronóstica independiente.

<u>Variable</u>	<u>Coeficiente</u>	<u>Error Est.</u>	<u>Coef/SE</u>	<u>Exp.Coeff.</u>
EDAD REC.	-0.19868	0.8353E-01	-2.379	0.8198
MISMATCH B	2.7666	1.322	2.093	15.90
BILIRRUBINA	4.5203	1.506	3.002	91.86
GPT	5.6646	1.630	3.475	288.5
CONSTANTE	2.9971	2.959	1.013	20.03

Tabla XIX. Variables con capacidad pronóstica independiente en el diagnóstico de rechazo, tras el estudio multivariado.

Con la regresión logística podemos predecir la probabilidad que tiene un individuo de tener o no rechazo en función de las variables con capacidad pronóstica independiente.

El cálculo de probabilidad de rechazo lo realizamos con la aplicación de la siguiente ecuación:

$$\text{PROB} = \frac{e^{(n+B_1 \times X_1 + B_2 \times X_2 + B_3 \times X_3 + B_4 \times X_4)}}{1 + e^{(n+B_1 \times X_1 + B_2 \times X_2 + B_3 \times X_3 + B_4 \times X_4)}}$$

en la que el número e está perfectamente definido y corresponde al valor 2.718. El valor n corresponde a la constante que obtenemos con el análisis multivariado.

Los valores B_1, B_2, B_3, B_4 etc. deben ser sustituidos por las variables pronósticas independientes, es decir, bilirrubina, GPT, Mismatch B y edad del receptor.

Los valores X_1, X_2, X_3, X_4 deben ser sustituidos por los coeficientes de regresión de cada variable obtenido en el estudio multivariante.

Una vez sustituidos todos los valores, la fórmula queda tal como sigue:

$$\text{PROB} = \frac{e^{(2.9971 + \text{edad} \times (-0.19868) + \text{MM B} \times 2.7666 + \text{Bix} \times 4.5203 + \text{GPT} \times 5.6646)}}{1 + e^{(2.9971 + \text{edad} \times (-0.19868) + \text{MM B} \times 2.7666 + \text{Bix} \times 4.5203 + \text{GPT} \times 5.6646)}}$$

Hay que tener en cuenta que dado que las variables han sido categorizadas, al sustituir en la fórmula, no lo hacemos con su valor real, sino con un **1** cuando es superior al punto de corte y con un **0** cuando es inferior. La edad del receptor la ponemos en su valor real.

Los puntos de corte que habíamos hallado eran los siguientes:

*Bilirrubina **2.5**

*GPT **70**

*MM B **1**

Dado que el punto de corte para el mismatch o desigualdad del "locus" B es de 1, le asignaremos el valor **0** en la fórmula para cuando exista 0 y 1 mismatch, es decir compatibilidad de los dos antígenos o de uno. Para dos mismatch, es decir desigualdad total de los dos antígenos, reservaremos el valor **1** en la ecuación.

Al igual que habíamos hecho con anterioridad hemos elegido de acuerdo con las tablas el máximo Valor Global. Este valor global representa el punto donde van estar el máximo número de individuos perfectamente diagnosticados de acuerdo con la ecuación aplicada.

Este Valor global se corresponde a su vez con un punto de corte. Un valor superior al punto de corte tendrá más probabilidad de corresponder a un **rechazo**, mientras que un valor inferior se corresponderá con un **no rechazo**. El punto de corte para el máximo Valor Global ha sido **0.325**.

Este punto de corte tiene un Valor Global del 92.21% con una Sensibilidad del 98.21% y una Especificidad del 76.19%.

4.8. VALIDACION DE LA ECUACION.

Una vez obtenida la ecuación con los distintos elementos que habían resultado significativos en el análisis multivariante se realizó la validación. El análisis se realizó con biopsias hepáticas practicadas en pacientes trasplantados en nuestra unidad no incluidos en el estudio previo. Todos los trasplantes se habían realizado sin que se hubiera producido ningún cambio en los protocolos asistenciales previamente establecidos. Los resultados de la validación se expresan a continuación siguiendo la tabla de probabilidades general:

ECUACION	BIOPSIA	
	RECHAZO	NO RECHAZO
SI	A	B
NO	C	D

En esta tabla de probabilidades las distintas posibilidades son las siguientes:

A: Elementos **positivos diagnosticados correctamente** con la prueba.

B: Elementos considerados **falsos positivos** de la prueba.

C: Elementos considerados **falsos negativos** de la prueba.

D: Elementos **negativos diagnosticados correctamente** con la prueba.

4.8.1. Validación en Primeros episodios de Disfunción Hepática.

El número total de biopsias analizado ha sido de treinta y dos, distribuidas en los diferentes apartados que muestra la tabla:

ECUACION	BIOPSIA	
	RECHAZO	NO RECHAZO
SI	18	8
NO	1	5

De estos datos podemos extraer la bondad de la prueba con las características que expresamos a continuación:

SENSIBILIDAD= $A/A+C = 19/18 = 94.7\%$ IC(74-99.9%)

ESPECIFICIDAD= $D/D+B = 5/13 = 38\%$ IC(13.9-68.4%)

VALOR PREDICTIVO += $A/A+B = 69.2\%$ IC(48.2-85.7%)

VALOR PREDICTIVO -= $D/C+D = 83.3\%$ IC(35.9-99.6%)

VALOR GLOBAL= $A+D/A+B+C+D = 23/32 = 71.8\%$

4.8.2. Validación en Segundos episodios de Disfunción Hepática.

El número total de biopsias analizado ha sido de treinta, distribuidas en los diferentes apartados que muestra la tabla:

ECUACION	BIOPSIA	
	RECHAZO	NO RECHAZO
SI	16	6
NO	1	7

De estos datos podemos extraer la bondad de la prueba expresada a continuación:

SENSIBILIDAD= $A/A+C = 16/17 = 94\%$ **IC(71.3-99.8%)**

ESPECIFICIDAD= $D/D+B = 7/13 = 53\%$ **IC(25.1-80.8%)**

VALOR PREDICTIVO += $A/A+B = 72.7\%$ **IC(49.8-89.3%)**

VALOR PREDICTIVO -= $D/C+D = 87.5\%$ **IC(47.3-99.7%)**

VALOR GLOBAL= $A+D/A+B+C+D = 23/30 = 76\%$

4.9. SUPERVIVENCIA LIBRE DE RECHAZO.

En esta última parte del estudio se intenta averiguar la probabilidad de presentar un rechazo. Hasta este momento los pacientes habían sido estudiados a partir del momento en que se produce la biopsia. Por tanto los pacientes fueron divididos en este instante en dos grupos, con presencia o ausencia de rechazo. Sin embargo nos pareció interesante conocer la probabilidad de que un paciente presente un rechazo o quede libre de él desde el momento en que es incluido en la lista de potencial receptor de un trasplante de hígado. Asimismo se ha intentado analizar si existe algún factor pronóstico o que sea capaz de predecir la presencia de rechazo en el paciente que va a ser trasplantado. La pregunta que nos planteábamos en la hipótesis era ¿Qué tiempo medio de supervivencia libre de rechazo va a tener un individuo incluido en nuestro programa de Trasplante hepático?.

Para conseguir este estudio se ha realizado un análisis de la supervivencia según el método de Kaplan-Meier. El tiempo medio libre de rechazo fue de 225.77 ± 36.9 días, con una mediana de 16 días. A los treinta días, cifra elegida de manera arbitraria, pero que representa en la mayoría de los casos el momento en el que se empieza a plantear la posibilidad del alta clínica, tan sólo el 42% de los pacientes está libre de rechazo, mientras que el 58% ya lo habrá presentado.

La proporción de pacientes libres de rechazo va disminuyendo progresivamente a lo largo del tiempo. Así, el 75% de los pacientes permanece libre de rechazo a los 7 días. El 50% lo está a los 16 días, mientras que el 25% de los pacientes permanece sin rechazo a los 531 días.

el 42% de los pacientes está libre de rechazo, mientras que el 58% ya lo habrá presentado.

La proporción de pacientes libres de rechazo va disminuyendo progresivamente a lo largo del tiempo. Así, el 75% de los pacientes permanece libre de rechazo a los 7 días. El 50% lo está a los 16 días, mientras que el 25% de los pacientes permanece sin rechazo a los 531 días.

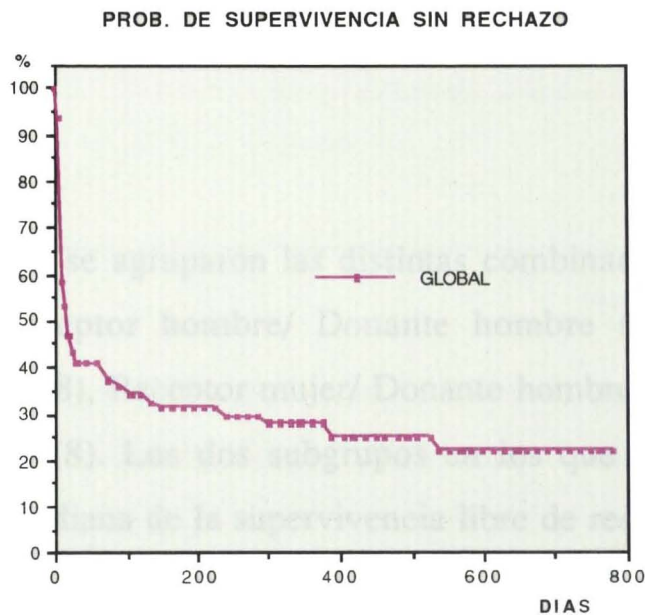


Fig. 1. Probabilidad de permanecer libre de rechazo. Serie global de pacientes.

Hemos comparado las curvas de supervivencia de las diferentes variables analizadas. Hemos elegido, lógicamente, variables fijas. Las variables seleccionadas han sido: **Missex-1**, **Missex**, **Diagnóstico**, **Cross-match**, **Tipo de Perfusión**, **Mismatch A**, **Mismatch B**, **Mismatch D**, **CMVDR** y **compatibilidad ABO**.

La supervivencia libre de rechazo se ha expresado en días mediante el tiempo medio y la mediana. Sin embargo a continuación expresaremos los resultados

*** Missex-1.**

Con esta denominación hemos querido expresar la coincidencia o no de sexo entre el donante y el receptor. En 44 casos coincidían los sexos entre el donante y el receptor mientras que en 38 casos no era así. En el primer grupo el tiempo medio libre de rechazo fue de 19 ± 33 días frente a los 15 ± 6.16 días del segundo grupo. No hubo diferencia significativa entre los dos grupos.

*** Missex.**

En esta variable se agruparon las distintas combinaciones posibles en cuatro subgrupos: Receptor hombre/ Donante hombre (36), Receptor hombre/ Donante mujer (8), Receptor mujer/ Donante hombre (30), y Receptor mujer/ Donante mujer (8). Los dos subgrupos en los que el donante fue del sexo masculino la mediana de la supervivencia libre de rechazo fue de 16 ± 7 días si el receptor era un hombre y 10 ± 3 días si el receptor era una mujer. Por el contrario cuando el donante fue del sexo femenino las medianas de supervivencia libre de rechazo fueron de 242 días cuando el receptor fue un hombre y de 125 días si el receptor fue una mujer. La comparación de los distintos subgrupos no mostró diferencias estadísticamente significativas.

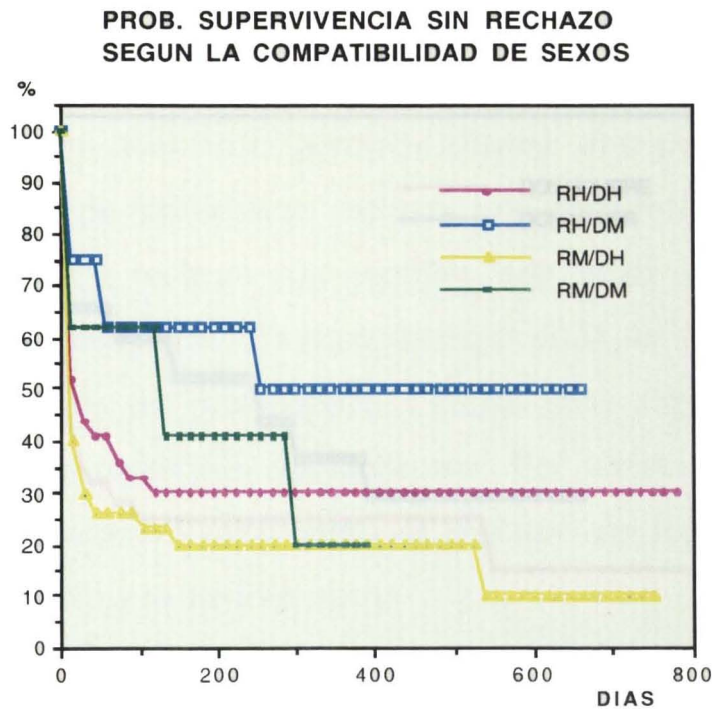


Fig. 2. Probabilidad de supervivencia libre de rechazo en función de la compatibilidad de sexos. R:Receptor D:Donante H:Hombre M:Mujer

Sin embargo se pudo apreciar que los donantes del sexo femenino tenían un tiempo medio libre de rechazo mucho más largo que los trasplantes con donantes del sexo masculino. Por este motivo se realizó la subdivisión de los donantes en un grupo de sexo masculino y otro de sexo femenino. Los trasplantes realizados con los 66 donantes del sexo masculino tenían una mediana de supervivencia libre de rechazo de 14 días. Por el contrario los trasplantes realizados con donantes del sexo femenino fue de 242 días. En este caso las diferencias entre los dos grupos fueron estadísticamente significativas (Test de Breslow $p=0.04$).

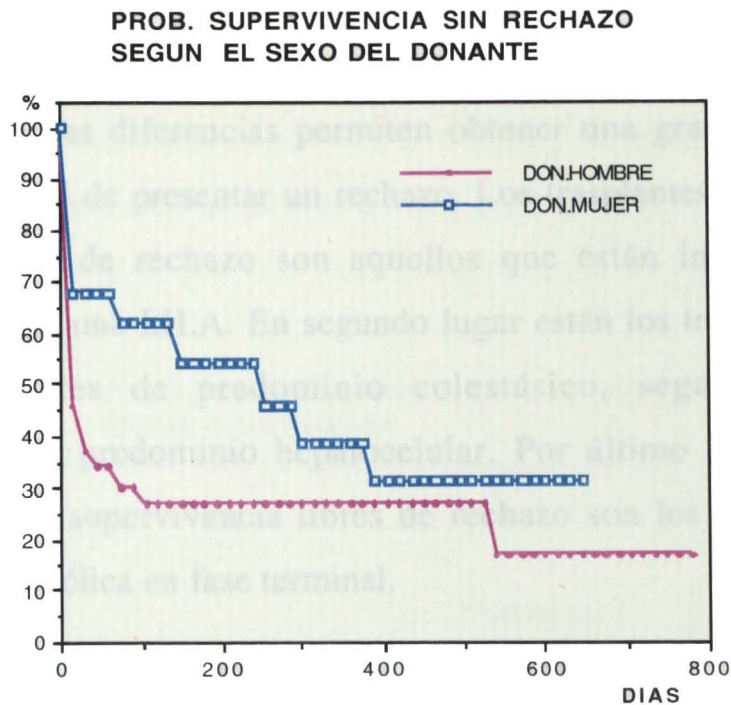


Fig.3 Probabilidad de supervivencia libre de rechazo según el sexo del donante.

*** Diagnóstico.**

El diagnóstico que motivó el trasplante fue dividido en cuatro grupos:

- Insuficiencia Hepática Aguda. Estaba constituido por 12 trasplantes. La mediana de supervivencia libre de rechazo fue de 7 ± 1.7 días.
- Enfermedades de predominio Colestásico. En este grupo había 17 trasplantes que presentaron una mediana de supervivencia libre de rechazo de 15 ± 33.9 días.
- Enfermedades de predominio Hepatocelular. Constituido por 39 trasplantes, con una mediana de supervivencia sin rechazo de 21 ± 14 días.
- Hepatopatía alcohólica. En este grupo había 14 trasplantes que presentaron una mediana de supervivencia sin aparición de rechazo de 64 días.

La comparación de los distintos subgrupos demostró diferencia significativas con una $p=0.01$ mediante el test de Breslow y una $p=0.008$ mediante el test de Mantel y Cox. Las diferencias permiten obtener una gradación de mayor a menor posibilidad de presentar un rechazo. Los trasplantes que presentan una mayor presencia de rechazo son aquellos que están indicados porque el paciente presenta una I.H.A. En segundo lugar están los trasplantes indicados por enfermedades de predominio colestásico, seguidos por los de enfermedades de predominio hepatocelular. Por último los trasplantes que presentan mayor supervivencia libres de rechazo son los realizados por una hepatopatía alcohólica en fase terminal.

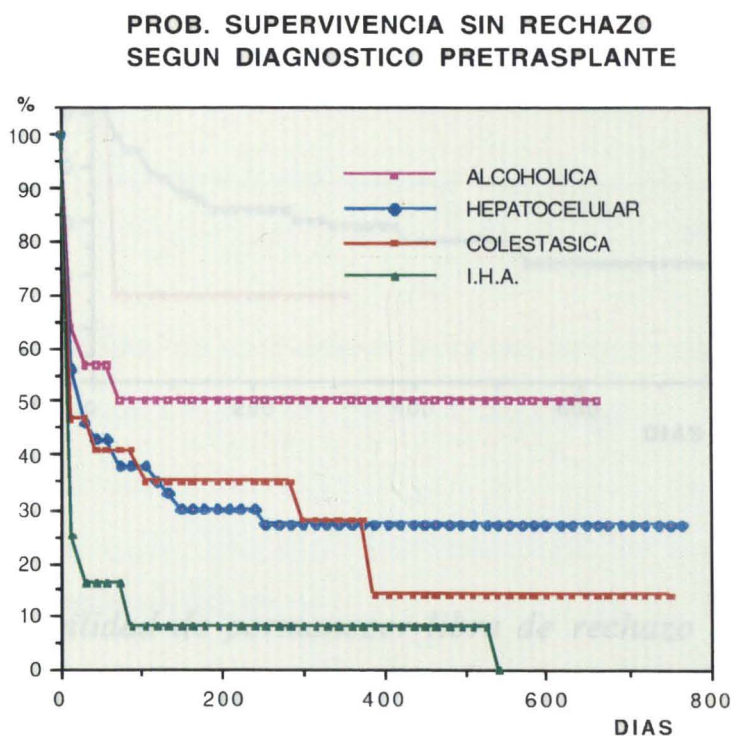


Fig.4 Probabilidad de permanecer libre de rechazo según el diagnóstico por el que se indicó el trasplante hepático.

* Cross-match.

Se produjo un prueba cruzada positiva en 6 casos, mientras que fue negativa en 76 casos. La mediana en ambos casos fue parecida con 19 ± 2.45 días para el cross-match positivo y 15 ± 12.4 días para el negativo. No hubo diferencias significativas.

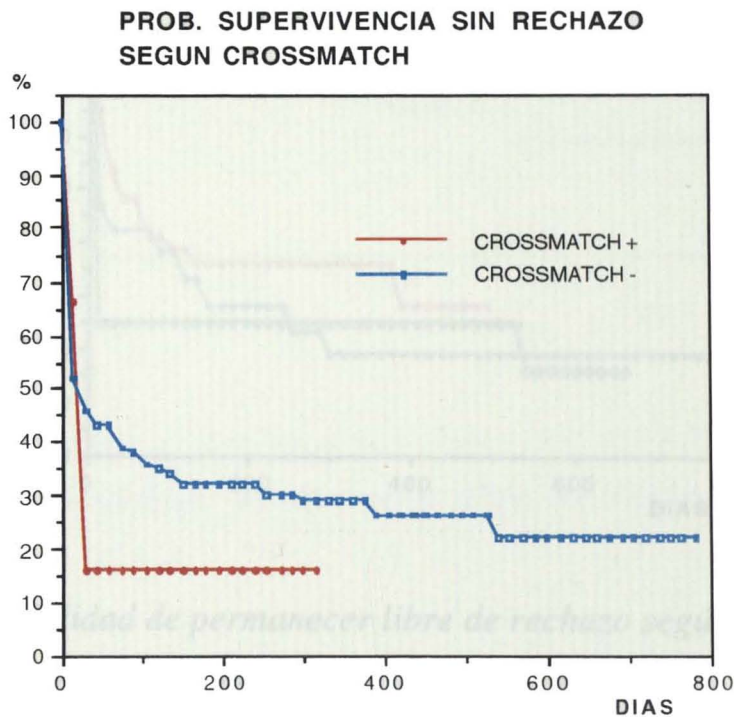


Fig.5 Probabilidad de permanecer libre de rechazo según la positividad o negatividad de la prueba cruzada o crossmatch.

* Solución de Perfusión.

Se utilizaron tres tipos de métodos tal como ya se ha comentado. Cuando se utilizó Eurocollins la mediana de supervivencia libre de rechazo fue de 15 ± 8 días. Con el método combinado la mediana fue de 43 ± 32.8 días y con la

solución U.W el tiempo medio de supervivencia libre de rechazo fue de 8 ± 1.11 días. La p según el test de Breslow fue de 0.05 lo que confirió significancia a favor de la solución combinada.

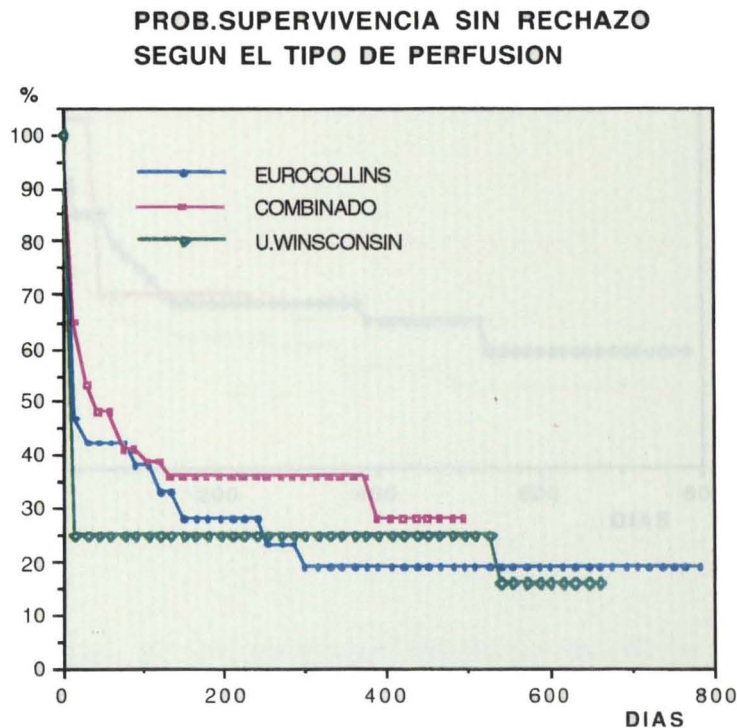


Fig.6 Probabilidad de permanecer libre de rechazo según el tipo de solución de perfusión utilizada durante la obtención del órgano.

* Compatibilidad HLA.

Se analizaron los "mismatch" presentes para los distintos "locus". En el "locus" A para 0, 1 y 2 "mismatch" hubo una mediana de supervivencia sin rechazo de 43, 14 ± 1.2 y 23 ± 38.5 días respectivamente. No hubo diferencia estadísticamente significativa.

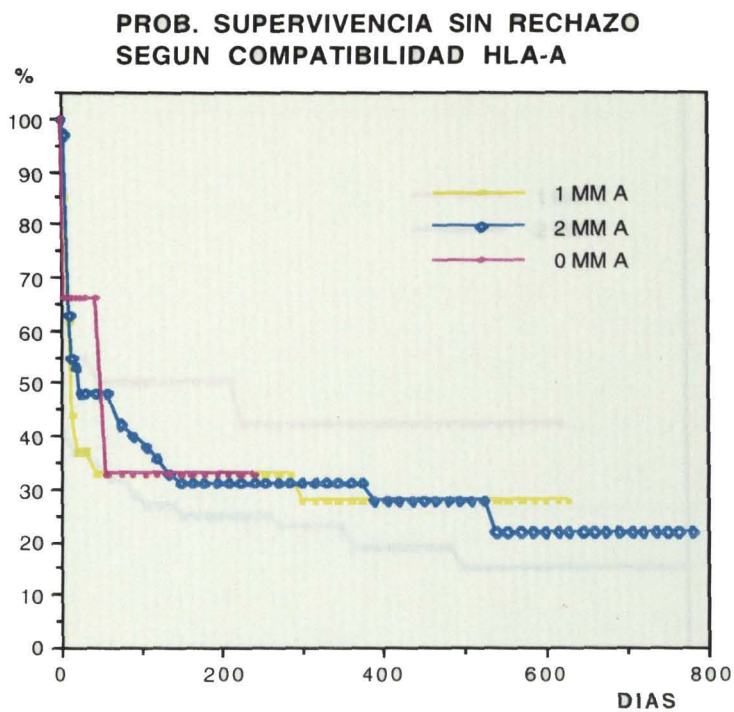


Fig.6 Probabilidad de permanecer libre de rechazo según el tipo de compatibilidad HLA-A.

En el "locus" B tan sólo hubo un caso con 0 "mismatch". Los casos con 1 "mismatch" tuvieron una mediana de supervivencia de 67 ± 288.7 días mientras que los casos con 2 "mismatch" tuvieron 14 ± 6.8 días. Pese a estas diferencias no hubo significación estadística, aunque con ambos test la p fue de 0.08.

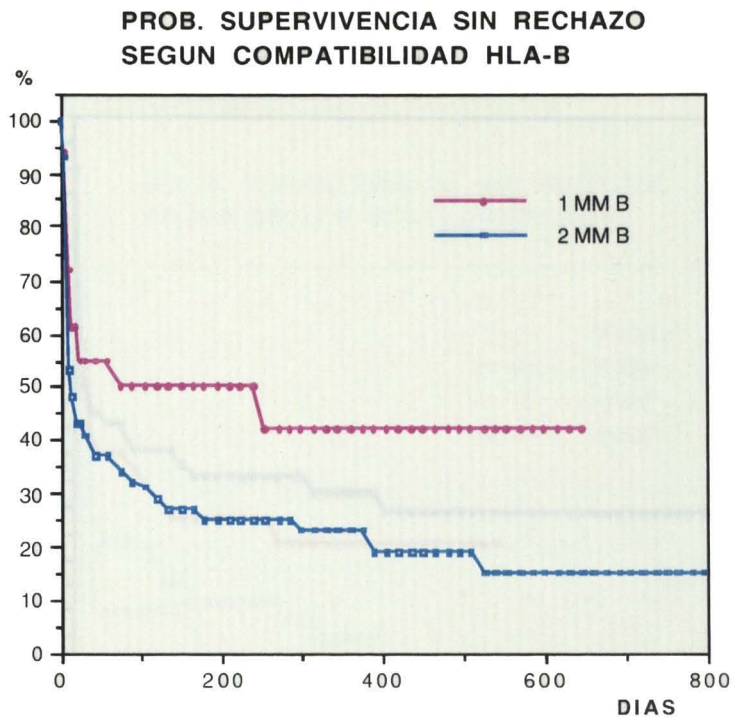


Fig.7 Probabilidad de permanecer libre de rechazo según el tipo de compatibilidad HLA-B.

Para el "locus" D se obtuvo una mediana de supervivencia sin rechazo de 10 días para 0 mismatch. Para 1 mismatch la mediana fue de 16 ± 5.91 días, mientras que para 2 mismatch la mediana se situó en 21 ± 40 días. Tampoco en este caso las diferencias tuvieron significación estadística.

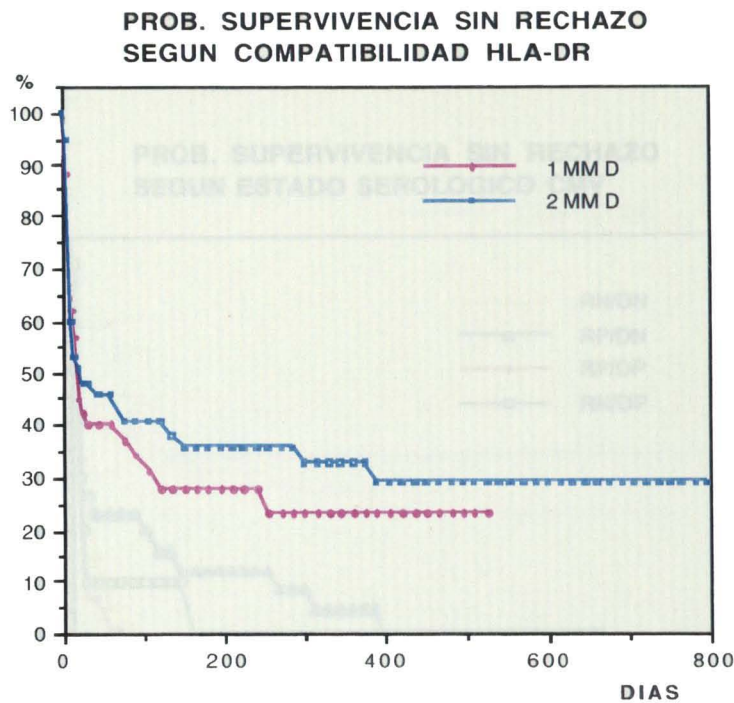


Fig.8 Probabilidad de permanecer libre de rechazo según el tipo de compatibilidad HLA-DR.

*** CMVDR.**

En esta variable se recogieron los diferentes estados del donante y del receptor y las distintas combinaciones entre ellos por lo que respecta a la serología para Citomegalovirus.

Los trasplantes en los que el donante eran CMV negativo tuvieron una mediana de supervivencia sin rechazo mayor. En los casos en los que el receptor era CMV negativo fue de 23 ± 12.3 días. Cuando el receptor era positivo la mediana se situó en los 78 ± 89.9 días.

En los casos de donante CMV positivo la supervivencia sin rechazo fue menor. Cuando se asoció a un receptor negativo la mediana fue de 14 ± 11 días,

mientras que con un receptor positivo la mediana fue de 13 ± 4 días. Estas diferencias no tuvieron significación estadística.

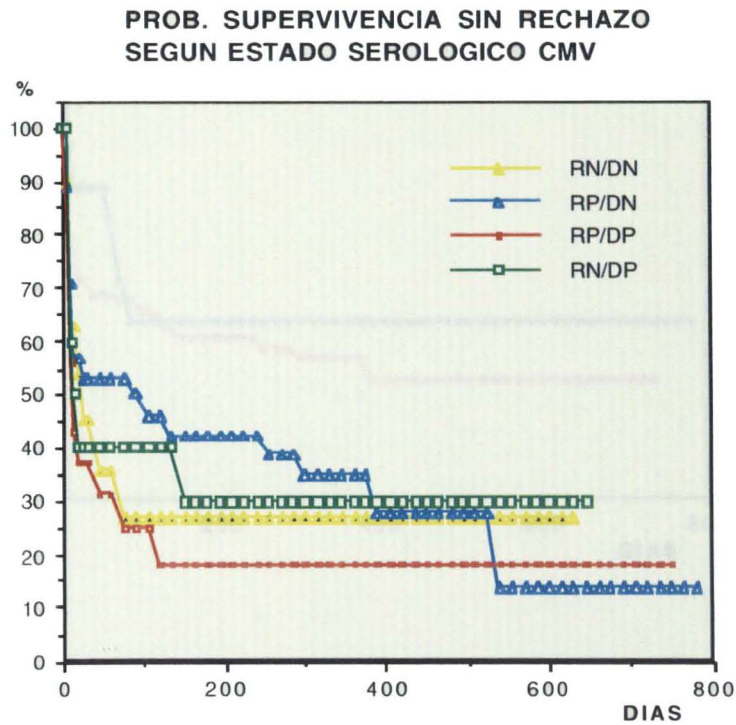


Fig.9 Probabilidad de permanecer libre de rechazo según el estado serológico frente al citomegalovirus del donante o /y el receptor.

* **Compatibilidad ABO.**

La mayoría de los órganos trasplantados fue ABO idéntico o compatible. La mediana de supervivencia sin rechazo fue superior en estos casos que en los trasplantes con grupos ABO incompatibles. En estos últimos la mediana fue de 9 días frente a los 64 días de los compatibles y a los 15 ± 5.4 días de los idénticos. Estas diferencias no tuvieron significación estadística.

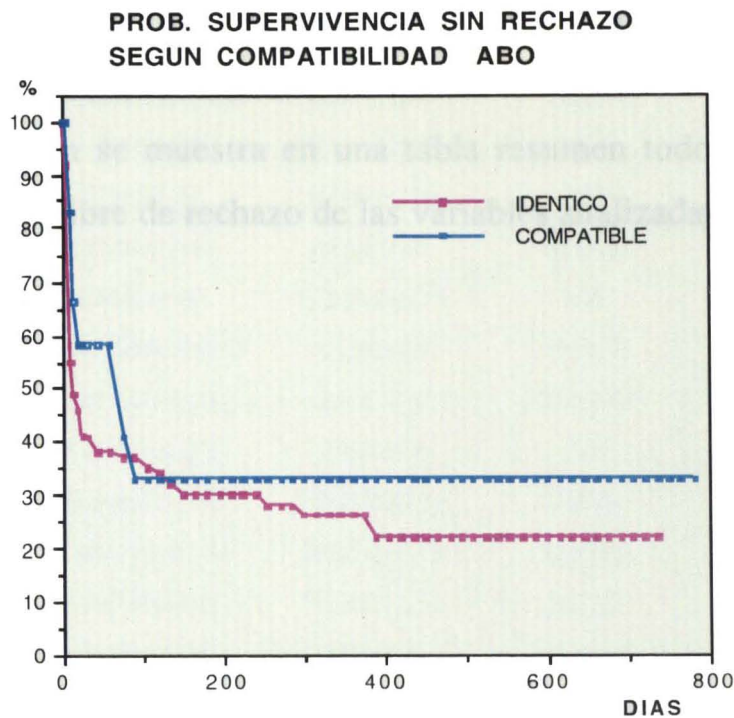


Fig.10 Probabilidad de permanecer libre de rechazo en función del grado de compatibilidad según el sistema ABO.

Además de estas variables se han analizado asimismo la edad del donante y del receptor y también el tiempo de isquemia, como factores cuantitativos. Ninguno de ellos ha demostrado influir en la probabilidad de presentar un rechazo.

Las tres variables que han demostrado tener influencia en el análisis bivalente en cuanto a la probabilidad de permanecer libre de rechazo han sido el **diagnóstico** que motiva el trasplante hepático, **el sexo del donante** y también el **tipo de perfusión** utilizado. Los pacientes con una cirrosis alcohólica a los que se les realiza un trasplante hepático tienen un mayor tiempo libre de rechazo. Del mismo modo los pacientes a los que se les implanta un hígado que ha sido perfundido y conservado con solución de tipo combinado tienen un mayor tiempo libre de rechazo. Por último los trasplantes efectuados

efectuados con hígados procedentes de un donante mujer tienen una mayor supervivencia libre de rechazo.

A continuación se muestra en una tabla resumen todos los resultados de la supervivencia libre de rechazo de las variables analizadas.

Resultados

VARIABLE	CATEGORIA (n)	T.MEDIO	MEDIANA	BRESLOW	MANTEL
Missex-1	Coincide (44)	237.11±52.8	19±33.17		
	No Coincide (38)	208.3±50.9	15±6.16	0.55	0.68
Missex	RH/DH (36)	253.14±59.46	16±7		
	RH/DM (8)	368.62±120	242		
	RM/DH (30)	143.60±49	10±3.64		
	RM/DM (8)	172.54±65.93	125	0.11	0.14
	Don. Hombre (66)	193.6±40.8	14±5.22		
	Don. Mujer (16)	294±74.1	242±147	0.04	0.09
Diagnóstico	Alcohólica (14)	336.4±92	64		
	Hepatocel.(39)	239.87±55.15	21±14		
	Colestásica(17)	193.16±72.9	15±33.9		
	Ins.Hep.Aguda(12)	56.92±43.51	7±1.73	0.01	0.008
Cross-Match	Positivo (6)	63.83±48.8	19±2.45		
	Negativo (76)	232.8±38.68	15±12.45	0.91	0.72
Tipo Perfusión	Eurocollins (21)	195.6±66	15±8.01		
	Combinado (41)	189.6±35.4	43±32.8		
	U.Wisconsin (20)	158.8±61.2	8±1.11	0.05	0.16
Mismatch A	0 (3)	96.67±73.49	43		
	1 (27)	203.5±56.1	14±1.30		
	2 (47)	239±49.15	23±38.55	0.78	0.77
Mismatch B	0 (1)	452			
	1(18)	306.9±77.4	67±288.7		
	2(58)	183.8±39.8	14±6.85	0.08	0.08
Mismatch D	0 (3)	255.6±284.2	10		
	1 (35)	153.3±38.23	16±5.91		
	2 (41)	268.2±55.4	21±40	0.95	0.89
CMVDR	RNDN (11)	189±88.7	23±12.39		
	RPDN (28)	249±61.1	78±89.9		
	RNDP (10)	217.1±98.8	14±11		
	RPDP (16)	159.56±73.90	13±4	0.67	0.20
ABO	IDENTICO (67)	212.4±39.67	15±5.46		
	COMPATIBLE (12)	281.7±108.7	64		
	INCOMPATIBLE (3)	182.6±147.1	9	0.43	0.64

Tabla XX. Supervivencia libre de rechazo expresada en días (tiempo medio y mediana) de todas las variables analizadas.

4.9.1. ANALISIS MULTIVARIANTE.

Este análisis se ha realizado con las variantes que habían resultado significativas en el análisis uni o bivariante. Estas variables eran: Sexo del donante, Solución de Perfusión y Diagnóstico que motiva el Trasplante. Además se han introducido dos variables más como son la edad y el sexo del receptor porque podían estar ligadas al diagnóstico, puesto que las insuficiencias hepáticas agudas se habían producido con mayor frecuencia en pacientes jóvenes, y las enfermedades de predominio colestásico eran mayoritarias en pacientes del sexo femenino.

Tras realizar el estudio la única variable que influye significativamente en la aparición del rechazo es el Diagnóstico que motiva la indicación del Trasplante. Hay una clara gradación en la que se aprecia que los enfermos con diagnóstico de hepatopatía alcohólica tienen un mayor tiempo libre de rechazo cuando se comparan con los pacientes con diagnóstico de Insuficiencia Hepática Aguda.

5. DISCUSSION

Después de haber realizado alrededor de 15.000 trasplantes de hígado en todo el mundo existen dos problemas que todavía limitan la supervivencia de los pacientes. Por un lado la existencia de rechazo y por otra la aparición de infecciones. Ambos están íntimamente relacionados, ya que el tratamiento del rechazo requiere el incrementar las dosis de fármacos inmunosupresores lo que puede facilitar la aparición de infecciones sobre todo de tipo vírico. El diagnóstico precoz del rechazo es fundamental puesto que facilita el control del mismo, antes de que progrese. Por ello todos los grupos han intentado encontrar algunos factores que fueran diagnósticos del rechazo sin necesidad de esperar la biopsia hepática. El estudio histológico es el único criterio diagnóstico universalmente aceptado. Sin embargo en ocasiones, la preparación de las muestras previa a la "lectura" de la biopsia, necesita de un tiempo mínimo de 48 horas. Ante este hecho se pueden adoptar dos actitudes: Aumentar las dosis de drogas inmunosupresoras asumiendo que la disfunción de la biología hepática es debida a una crisis de rechazo, o bien, esperar pacientemente el resultado de la biopsia para iniciar el tratamiento. Si se inicia el tratamiento y posteriormente la biopsia no confirma la existencia de rechazo, habremos conseguido una inmunosupresión innecesaria, colocando al paciente en situación de susceptibilidad frente a las infecciones. En otro sentido si no iniciamos el tratamiento con prontitud, la progresión del rechazo puede hacer que sea más difícil su control.

La búsqueda de marcadores del rechazo, ha llevado no sólo a encontrar parámetros que lo diagnostiquen, sino a otros que en algunos casos puedan adelantarse a la presentación clínica del mismo. Sin embargo, en estos casos, suelen tratarse de marcadores séricos que exijan técnicas laboriosas o sofisticadas en su determinación. Por este motivo no han sido adoptadas como exploración de rutina en casos de sospecha de rechazo.

5.1 ANALISIS DE LOS PACIENTES CON RECHAZO.

Este estudio se marcó una hipótesis de trabajo y unos objetivos que en último término y globalmente pueden sintetizarse en la siguiente pregunta ¿Puede sustituirse la biopsia hepática por algún tipo de exploración o determinación de fácil aplicación, y que sea fiable para diagnosticar el rechazo con prontitud?.

El estudio que se ha realizado nos ha permitido separar dos grupos de pacientes, unos en los que el rechazo estaba presente y otros en los que la disfunción hepática era debida a otros motivos.

En cada trasplante se han investigado datos que correspondían al donante, al receptor, a la propia crisis de rechazo o bien aspectos que relacionaban al donante y al receptor.

Esto nos ha permitido comparar los dos grupos y establecer las características de los pacientes con y sin rechazo.

Ambos grupos no ofrecieron diferencias en cuanto a los donantes. Destaca la alta proporción de donantes del sexo masculino. La mayoría de los donantes provenían de traumatismos craneoencefálicos producidos en accidentes de tráfico en el que la víctima conducía una motocicleta. Probablemente la mayor proporción de hombres responda al hecho de que hay mayor número que conducen vehículos de dos ruedas. Han sido donantes cuya edad media se ha situado alrededor de los 25 años.

Los distribución por sexos de los receptores ha estado más pareja, ya que la muestra global estaba formada por 44 hombres y 38 mujeres, con una edad media global que se situó en los 46 años. Los pacientes del grupo 2 o sin rechazo eran ligeramente mayores con una mediana de 50 años frente a la mediana de 48 años en el grupo con rechazo.

La mayoría de los diagnósticos que motivaron el trasplante estaban agrupados en las que denominamos enfermedades de predominio Hepatocelular, que engloban a las cirrosis hepáticas posthepatíticas y criptogénicas con 39 casos.

En 14 casos la cirrosis era de causa alcohólica, y aunque en realidad pertenece desde el punto de vista genérico al apartado anterior fue considerada de forma independiente. La mayoría de estos dos grupos estaba constituida por pacientes varones. Por el contrario las enfermedades de predominio colestásico (17 casos) estaban constituidas en su gran mayoría por mujeres. Por último hubo 12 casos en el que el motivo del trasplante fue una hepatitis fulminante o subfulminante. La proporción de casos con enfermedad de predominio hepatocelular y colestásica era similar en ambos grupos de pacientes con y sin rechazo. El número de pacientes con cirrosis alcohólica en uno u otro grupo fue idéntico. Todos los pacientes trasplantados por Insuficiencia Hepática Aguda quedaron encuadrados en el grupo con rechazo.

De los 82 trasplantes analizados, en 60, el primer episodio de disfunción hepática se correspondió con un episodio de rechazo, histológicamente demostrado. Estas cifras están en consonancia con las relatadas por otros grupos ⁹, por lo que nuestra incidencia de rechazo es similar. Siguiendo la clasificación para tabular las biopsias hepáticas, en 30 casos, el rechazo fue considerado moderado, lo que representó la mitad de los pacientes. En 20 pacientes correspondió a rechazo clasificado como importante, mientras tan sólo 10 casos pertenecían al grupo de rechazo severo.

El estudio de los dos grupos de trasplantes, ya fuera biopsia con o sin rechazo, nos ha permitido precisar las diferencias que existían entre ambos, de tal manera que hemos podido configurar una serie de características que hemos denominado **características de los pacientes con rechazo**, cuyo objetivo es evaluar las probabilidades de que un trasplante con disfunción hepática tenga o no rechazo en este momento.

5.1.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES CON RECHAZO.

La disfunción hepática debida a una crisis de rechazo se ha caracterizado en nuestro grupo de pacientes por presentar las siguientes alteraciones frente a las disfunciones sin rechazo:

- * Elevación de los valores de bilirrubina.
- * Elevación de los valores de Fosfatasa Alcalina. .
- * Elevación de los valores de GammaglutamilTranspeptidasa.
- * Elevación de los valores de Transaminasa Glutámico-Oxalacética.
- * Elevación de los valores de Transaminasa Glutámico-Pirúvico.

Todas estas alteraciones se produjeron con unos valores de inmunosupresión que no fueron diferentes en uno u otro grupo. Esto es particularmente importante de reseñar porque unos niveles bajos de CyA podrían facilitar el ataque del órgano por parte de los sistemas inmunológicos del receptor.

De las alteraciones que hemos comentado han demostrado poseer significación estadística ($p < 0.001$) los niveles de Bilirrubina, GammaglutamilTranspeptidasa, Transaminasa Glutámico-Oxalacética y Transaminasa Glutámico-Pirúvico.

Con cada variable significativa se ha realizado un cálculo de probabilidades, de tal manera que para cada parámetro se ha buscado el valor en el que existía mayor porcentaje de individuos bien diagnosticados. Este valor es el que se denomina Valor Global y es el que aglutina la mayor Sensibilidad (de los individuos que el test dice que tienen rechazo, ¿qué porcentaje tiene en realidad rechazo?) y la mayor Especificidad (de los individuos que el test dice que no tienen rechazo, ¿qué porcentaje en realidad no tiene rechazo?). Cada valor global tiene a su vez asignado un valor o punto de corte de la variable en cuestión. De esta manera hemos configurado unas características bioquímicas de los pacientes con rechazo que se resumen a continuación:

Variable	Sensibilidad	Especificidad	Valor Global	Punto de Corte
Bilirrubina	85%	77.27%	82.93%	2.5
GGT	86.67%	68.18	81.71%	90
GOT	93.33%	54.55%	82.93%	25
GPT	90%	81.82%	87.80%	70

Estos puntos de corte han garantizado en todos los casos Valores Globales por encima del 80%, es decir la probabilidad de tener los individuos perfectamente diagnosticados en todos los casos es superior al 80%.

La alteración de la función hepática como consecuencia del rechazo ha sido ampliamente descrita en la literatura. Sin embargo siempre se ha hecho de una manera global, sin precisar a partir de que valores podría ser considerado el episodio como compatible con un rechazo.

En nuestra serie un valor de bilirrubina y GGT (los dos parámetros de colestasis) por encima de 2.5 y 90 respectivamente son altamente sospechosos de crisis de rechazo. La colestasis ha sido considerada por diversos autores como la alteración más importante durante los episodios de rechazo. Este hecho se ha intentado explicar a través de la posibilidad de que la célula del epitelio biliar fuera la "célula diana" donde el linfocito desarrollara su máxima agresión. Esto además era consecuente con la evidencia de que la máxima expresión de antígenos de Histocompatibilidad tras el trasplante se producía precisamente en la célula del epitelio biliar. Nuestros resultados concuerdan perfectamente con esta posibilidad.

Sin embargo es infrecuente que después del trasplante los hepatocitos expresen de manera firme antígenos de Histocompatibilidad. Por ello no se ha considerado al hepatocito como una célula especialmente sensible al ataque linfocitario. En nuestra serie, los niveles de GOT y GPT, enzimas que expresan lesión hepatocitaria, han tenido alta significación estadística, cuando se han comparado los grupos con y sin rechazo. En el caso de las GOT la

alteración ha sido mínima, (con un punto de corte dentro de los valores de normalidad de nuestro laboratorio), por lo que pese a que la sensibilidad que se obtiene con valores por encima de 25 u.i. es la más elevada de todos los parámetros bioquímicos con significación estadística, no le hemos concedido ninguna relevancia.

Por tanto en nuestra serie de pacientes la elevación de los niveles de transaminasas no sólo ha sido un parámetro de isquemia del órgano sino también expresión valorable de daño inmunológico.

Con todo, lo fundamental en el rechazo, es la lesión en las células del epitelio biliar. La comparación que hemos realizado en los diferentes estadios evolutivos del rechazo ha demostrado significación estadística en los niveles de Bilirrubina y los valores de GGT. La mayor elevación de los niveles de Bilirrubina es indicativo de mayor gravedad del rechazo. La mayor elevación de los niveles de GGT tiene significación estadística cuando se compara el rechazo importante respecto al moderado. El nivel de transaminasas es independiente del grado de rechazo que exista.

Las variables no bioquímicas que pudieran estar en relación con el rechazo estaban agrupadas ya fueran variables cuantitativas o cualitativas en el grupo 4 (Variables que correlacionaban al donante y al receptor).

***Grado de Compatibilidad según el sistema ABO sanguíneo.**

En nuestra serie no hemos podido demostrar el efecto negativo que tiene la incompatibilidad ABO sobre el rechazo. Probablemente la razón hay que buscarla en el hecho de que tan sólo tres de nuestros injertos fueron ABO incompatibles. Sin embargo el seguimiento tardío realizado en estos trasplantes han permitido comprobar que se ha producido una lesión biliar irreversible que ha hecho necesario un retrasplante, en dos de los tres casos.

*** Prueba cruzada o Cross-match.**

En nuestra serie se produjeron positividades de la prueba en cinco casos del grupo con rechazo y en un caso del grupo sin rechazo. Evidentemente este es un número muy pequeño de casos como para poder extraer conclusiones. El análisis estadístico no demostró influencia del cross-match en el desarrollo de rechazo. Los pacientes con cross-match positivo han sido seguidos hasta la actualidad, para tratar de averiguar si pese a no tener mayor incidencia de rechazo, existía un menor tiempo de supervivencia del injerto. En ningún caso se realizó un retrasplante.

*** Tiempo de Isquemia.**

En nuestra serie no hemos podido demostrar que el tiempo de isquemia juegue un papel preponderante en el desarrollo del rechazo. Es probable que este factor tenga relevancia en la pérdida del órgano debida a la malfunción primaria del injerto o en la existencia de una inadecuada función inicial reversible del órgano trasplantado ¹³⁶.

En los dos grupos de pacientes estudiados, el tiempo medio de isquemia ha sido similar, con unas medianas idénticas de 285 minutos. Pese a utilizar la solución de Wisconsin no hemos realizado el trasplante de forma electiva, sino que se ha intentado disminuir al máximo el tiempo de isquemia del órgano realizando el trasplante "de urgencia".

*** Tipo de Solución de Preservación.**

Según pusimos de manifiesto en el Material y Método del presente estudio, se utilizaron tres tipos de perfusión para la preservación del órgano. En ambos grupos se utilizó con mayor frecuencia el método combinado. Este tipo de preservación ofrece la ventaja de un menor coste económico sin que existan diferencias significativas en cuanto a la función hepática de los órganos

preservados con solución UW. Por el contrario los órganos preservados con el método combinado parecen poseer una función postoperatoria mejor que los preservados con solución de Eurocollins aislada¹³⁷.

La utilización de la solución UW ha permitido alargar el tiempo de preservación de los órganos a la vez que permitir el desplazamiento de los equipos de extracción a mayor distancia.

Por otra parte, se ha comunicado que la lesión isquémica producida durante la obtención del órgano puede tener influencia sobre la aparición de rechazo¹³⁸, y consecuentemente también se ha comunicado que la utilización de la solución de UW se asocia con una menor incidencia y severidad del rechazo ¹³⁹.

En nuestra serie el tipo de perfusión no ha sido un factor que haya tenido influencia en la aparición de rechazo cuando se han comparado los dos grupos. Sin embargo como ya comentaremos posteriormente, si se demostró como un factor con significación estadística cuando se analizó la probabilidad de permanecer libre de rechazo.

*** Compatibilidad HLA.**

En nuestro estudio hemos encontrado diferencias entre el grupo con rechazo y el grupo sin rechazo por lo que hace referencia al "locus" B del CMH. En el trasplante hepático la tipificación HLA del receptor no se obtiene de forma rutinaria en el momento en que el paciente entra en la lista de espera de trasplante. Sin embargo el hecho que en nuestro estudio este parámetro se ha revelado como significativo para el diagnóstico de rechazo, quizás sería conveniente que en el momento que se realiza el crossmatch, pudiera realizarse el estudio del CMH del receptor. No creemos que fuera una medida muy costosa y se podría disponer del mismo en el primer episodio de disfunción hepática.

Dado que la compatibilidad HLA ha sido implicada por diversos autores en la probabilidad de que se presente el rechazo será discutida conjuntamente con los otros parámetros analizados en la probabilidad de presentar un rechazo en nuestro grupo de estudio.

5.2. VALIDACION DE LA ECUACION.

Pese a que el estudio dejaba definido en su objetivo que el interés se centraba en el primer episodio de disfunción hepática en el que existiera una biopsia hepática, la validación se realizó en un grupo de 32 biopsias que se correspondían con el primer episodio de disfunción hepática y también en 30 biopsias que podían corresponder a cualquier episodio de disfunción hepática exceptuando el primero. A estos últimos les hemos denominado genéricamente segundos episodios de disfunción aunque en sentido estricto pudieran tratarse de terceros o cuartos episodios. La razón por la que se tomó esta decisión fue comprobar si esta ecuación podría ser útil en el diagnóstico de rechazo en aquellos pacientes en los que se produce una alteración de sus pruebas de función hepática durante su período de control ambulatorio, una vez superado su larga fase de ingreso en clínica. En estos casos la sospecha de rechazo motiva el nuevo ingreso en hospitalización para la realización de una biopsia. En no pocos casos, esta eventualidad interfiere el normal ritmo de ingresos que se produce en un Servicio de Cirugía General ya de por sí sobrecargado, y obliga en algunos momentos a demorar el ingreso durante unos días. Es por ello que teníamos interés en poder comprobar si en estos casos se podía sustituir la biopsia con suficiente garantía.

El análisis de la validación realizada nos permite afirmar que la prueba o la ecuación es altamente sensible puesto que en ambas situaciones tiene una sensibilidad de casi el 95%. En realidad lo que se le pide a una prueba es que sea altamente sensible para evitar que se "escapen" diagnósticos positivos. En

otros términos, es muy difícil que a la ecuación se le "escape" un episodio de rechazo sin diagnosticar. Tan sólo hemos tenido un falso negativo en cada uno de los dos grupos de biopsias. Estos datos concuerdan con el análisis multivariante que habíamos realizado y que encontraba una sensibilidad para la prueba del 98%.

La especificidad esperada para la prueba era del 76%. Este parámetro no se ha cumplido ni en las primeras ni en las segundas biopsias. En el grupo de primeras biopsias nos hemos encontrado con 8 casos de falsos positivos y en el segundo grupo con seis casos. Sin embargo hay que precisar que de los casos de primer episodio de disfunción que la prueba había señalado como rechazo sin que la biopsia lo confirmara, se detectó con posterioridad un pequeño problema con la posición del tubo de Kehr o bien con la existencia de alguna pequeña fuga a nivel de la anastomosis biliar. Estas incidencias de poca importancia se manifiestan desde el punto de vista bioquímico con la elevación de la bilirrubina que fue suficiente para dar el falso positivo.

Para este grupo de primeras biopsias el valor predictivo positivo fue de alrededor del 70%, y el valor predictivo negativo del 83%. El valor predictivo depende no tan sólo de la sensibilidad y especificidad de la prueba sino también de la prevalencia de la enfermedad. Por esto es lógico que el valor predictivo negativo sea superior, porque después de un trasplante lo esperable es un rechazo. El no rechazo es una situación menos probable.

En el grupo de las segundas biopsias, la razón de esta poca especificidad cabe buscarla en el hecho de que se aplicó la biopsia en situaciones en las que ya se conocía que el injerto estaba afectado por una hepatitis vírica por recidiva de la enfermedad de base que motivó el trasplante, o en fase de hepatitis crónica. En otros casos al no confirmarse el rechazo por la biopsia, se realizaron pruebas que llevaron al diagnóstico de afectación del injerto por virus B o por virus C. Los valores predictivos positivos y negativos en este segundo grupo de

biopsias son similares a los anteriores con un 72% para el positivo y un 87.5% para el negativo.

Pese a todo es necesario señalar que en el grupo de primeras biopsias hemos obtenido un valor global del 72%, y en el de segundas biopsias del 76%. Este valor corresponde al de individuos correctamente diagnosticados, ya fueran prueba positiva (34) o prueba negativa (12). Este dato quiere decir que podemos diagnosticar certeramente sin necesidad de la biopsia las tres cuartas partes de los episodios de rechazo, lo que considerando las condiciones de la validación puede ser un resultado satisfactorio.

5.3. PROBABILIDAD DE PRESENTAR UN RECHAZO A LO LARGO DEL TIEMPO.

Como ya hemos comentado con anterioridad en esta segunda fase del estudio intentamos encontrar algunas variables que pudieran tener influencia en la aparición del rechazo, pero considerando al paciente, no en el momento de presentar la crisis, sino en el momento en que se realizaba el trasplante. El análisis se ha realizado a través del estudio de las curvas de supervivencia. A continuación comentamos las variables que han tenido significancia estadística o que habían sido mencionadas por algunos autores como relevantes en la aparición del rechazo.

5.3.1. Grado de Compatibilidad según el sistema ABO sanguíneo.

La compatibilidad según el sistema ABO no ha sido un criterio determinante en el trasplante de hígado. Si bien en el trasplante renal la incompatibilidad ABO es un criterio de exclusión del donante, en el hepático se han realizado trasplantes con órganos no idénticos, pero compatibles y en casos de fallos hepáticos fulminantes, se han utilizado hígados incompatibles. Sin embargo los

grupos con más experiencia han podido comprobar que pese al éxito inicial, la supervivencia del injerto es superior cuando se utilizan hígados idénticos ⁴⁰. En algunos casos, la pérdida del injerto se ha producido por un rechazo hiperagudo ⁹⁶. En otros se ha desarrollado un rechazo severo, con lesión muy importante del epitelio biliar debido a un mecanismo combinado, por afectación directa del epitelio biliar y acción de los linfocitos sobre el endotelio arterial que acentuaría la lesión biliar al provocar una isquemia ¹⁴¹.

Pese a que este parámetro no se ha mostrado relevante en nuestro estudio, probablemente por el poco número de pacientes con trasplantes ABO incompatibles, hemos podido comprobar como en el seguimiento, se producía la pérdida del órgano por lesión irreversible sobre el árbol biliar en aproximadamente el 80% de casos. Todos estos casos pertenecían a situaciones de fallo hepático fulminante. Pese a que en estos casos la rapidez con que se desarrollan los acontecimientos obliga a colocar órganos ABO incompatibles, hay que aceptar que en estos casos el trasplante tan sólo cumple la misión de mantener al paciente con vida hasta la colocación posterior de un órgano compatible ¹⁴². Quizá en el futuro este parámetro debe ser valorado para evitar "gastar" más de un órgano que acentue si cabe aún más, la escasez de donantes.

5.3.2. Prueba cruzada o Cross-match.

No existe acuerdo unánime acerca de que la existencia de anticuerpos circulantes anti-HLA preformados, juegue un papel destacado en el desarrollo del rechazo. Algunos autores ³⁴ habían puesto de manifiesto la relación entre un cross-match positivo y una mayor incidencia de VBDS. Por el contrario, otros ⁴¹ no habían encontrado diferencias en la supervivencia del injerto entre cross-match positivo o negativo. Existía el convencimiento de que el hígado poseía una especial resistencia para enfrentarse al ataque de los anticuerpos preformados. Este tipo de rechazo, conocido como rechazo hiperagudo, era

difícil que se presentara en el trasplante hepático. Sin embargo, a lo largo de los últimos años, se han comunicado algunos casos compatibles con un rechazo hiperagudo ⁹⁵. Este síndrome suele asociarse con la presencia de un cross-match positivo, aunque ha sido comunicado un caso de rechazo hiperagudo con un cross-match negativo ⁹⁵. Más recientemente ^{143,144} se ha demostrado el efecto nocivo de utilizar órganos con un cross-match positivo. En los casos de crossmatch positivo la supervivencia del injerto y del paciente fue de 56% y 68%, frente al 82% y 86% en casos con un cross-match negativo. Sin embargo no se realizó ningún retrasplante por un rechazo hiperagudo sino que la mayoría de los órganos que "fallaron" lo hicieron en relación con problemas de tipo vascular o hemorrágico ¹⁴⁴.

En nuestra Unidad de 210 trasplantes realizados hasta la actualidad no hemos tenido ningún episodio de rechazo hiperagudo en los casos de crossmatch positivo. Ninguno de estos trasplantes han necesitado un retrasplante por fallo del órgano.

5.3.3. Compatibilidad HLA.

El fenómeno de la incompatibilidad biológica ante tejidos extraños, con su consiguiente eliminación o rechazo, es el resultado de una reacción entre los antígenos del injerto y los anticuerpos elaborados por el organismo huésped y la respuesta inmunitaria celular del mismo. A lo largo de la historia de los trasplantes, se ha podido comprobar que la mayor similitud entre los antígenos de histocompatibilidad (HLA) del donante y del receptor ha permitido alcanzar un mayor porcentaje de supervivencia en trasplantes de riñón, corazón y córnea ^{38,39}. Sin embargo, en el trasplante hepático no se le ha atribuido al sistema HLA tanta importancia como se ha hecho con otros trasplantes.

En nuestro estudio la compatibilidad HLA-B se ha mostrado estadísticamente significativa cuando hemos comparado los dos grupos con o sin rechazo. Sin

embargo cuando hemos realizado el análisis de la probabilidad de permanecer libre de rechazo a lo largo del tiempo, mediante las curvas de supervivencia este parámetro no ha tenido significación estadística.

La influencia que puede tener un grado elevado de incompatibilidad HLA en la aparición de rechazo parece universalmente aceptada. La incidencia de rechazo agudo es menor cuanta mayor compatibilidad HLA exista ¹⁶⁰. Por otra parte, el rechazo crónico es más frecuente cuando existe marcada incompatibilidad HLA. Para algunos autores, la incidencia de VBDS está en relación con la disparidad de antígenos de clase II ^{49,128,130}, mientras que para otros es más frecuente cuando se asocia a incompatibilidad de clase I ¹²⁵. No obstante, y a pesar de estos hechos hasta ahora parecía cuestionable la importancia que podían tener estos factores en la supervivencia del injerto. Algunos estudios observan incluso una mayor supervivencia del hígado trasplantado cuanta mayor incompatibilidad HLA exista ¹¹⁵. La explicación de esta aparente incongruencia cabe buscarla en el concepto de HLA restringido ^{115,116}, a través del cual algunas enfermedades se harían aparentes y podrían influir en la supervivencia del injerto sólo cuando existiera mucha similitud entre los antígenos HLA del donante y receptor.

Recientemente ha sido analizado por los grupos de Birmingham y Pittsburgh, el efecto que tuvo la compatibilidad HLA en los resultados del trasplante hepático. En la primera serie ¹⁴⁵, se analizaron en cuanto a compatibilidad un total de 383 trasplantes. De ellos, en 29 (9.4%) existía compatibilidad al menos en un antígeno de los "locus" A,B y DR. Estos trasplantes necesitaron de tratamiento antirechazo en el 33% frente al 72% de los trasplantes en los que no existía compatibilidad. De los 84 órganos que "fallaron", 21 (25%) lo hicieron por rechazo (tres de ellos por rechazo agudo). Cuando se analizó la compatibilidad de los hígados se comprobó que sólo 1 de 10 correspondían a los que compartían tres antígenos (10%), mientras que existían 20 de 74 (27%)

en los que no había compatibilidad. En los trasplantes con mayor compatibilidad la severidad del rechazo agudo fue significativamente menor.

En el segundo estudio, que corresponde a la Universidad de Pittsburgh ¹⁴⁶, la compatibilidad de "locus" A y B se asoció con una mayor supervivencia del órgano al año. La proporción de hígados que funcionaron correctamente al año fue de 82% con un antígeno desigual, 78% con dos antígenos distintos, 77% con tres y 71% con los cuatro antígenos distintos. Sin embargo se observó un efecto inverso con la compatibilidad DR. La supervivencia del órgano fue inferior cuando se asoció una buena compatibilidad de antígenos de clase II con una incompatibilidad de clase I. En opinión de los propios autores la explicación para este hecho permanece todavía poco clara.

Lo que parece evidente es que la compatibilidad HLA favorece la mayor supervivencia del órgano. Como consecuencia puede reducir el número de retrasplantes y por último evita la sensibilización de los pacientes. Estos argumentos serían suficientes como para indicar un estudio de compatibilidad HLA previo al trasplante, y elegir el receptor en función del mismo. Sin embargo, esta estrategia consume mucho tiempo y no está al alcance de todos los centros. Por otra parte la menor susceptibilidad que parece tener el hígado al ataque inmunológico y los avances conseguidos con la terapéutica inmunosupresora, hace más rentable realizar el trasplante y tratar posteriormente el rechazo. Esto es particularmente evidente cuando se comprueba que existe un déficit importante de órganos donantes.

En nuestro estudio intentamos analizar si la compatibilidad HLA había tenido alguna influencia en el rechazo. Se logró obtener el "tipaje" tanto del donante como del receptor en los trasplantes analizados. Evidentemente se obtuvo de forma retrospectiva y en ningún caso alteró el normal desarrollo del trasplante.

Analizamos la compatibilidad HLA para los "locus" A,B y D, unidos y por separado. La compatibilidad la expresamos en forma de diferencia de

antígenos o mismatch, de tal forma que obtuvimos en último término un mismatch total.

En el grupo 1 o grupo con rechazo, no obtuvimos ningún paciente con 0 ó 1 mismatch. Sólo cuatro casos tenían dos o tres mismatch. La gran mayoría (63%) estaban en el grupo de 4,5 ó 6 mismatch. La distribución por "locus" demostró que el A tenía un 60% con 2 mismatch. En el B la proporción subía al 80%, mientras que en el D este porcentaje se situó en el 50%.

En el grupo 2, es decir el grupo sin rechazo, el análisis del mismatch total demostró que el 95% tenían 4,5 o 6 mismatch. Respecto a los distintos "locus", el 62% tenía 2 mismatch A, el 57% 2 mismatch B y el 59% dos mismatch D. Salvo para el "locus" B el porcentaje fue similar.

Precisamente este locus B demostró ser uno de los parámetros significativamente distintos entre uno y otro grupo. En el grupo con rechazo la media para el "locus" B fue de 1.82 ± 0.38 mismatch mientras que en el grupo sin rechazo la media se situó en 1.52 ± 0.60 mismatch. ($p=0.02$). Estudiados los pacientes según la presencia de rechazo o no se pudo comprobar que la mayor incompatibilidad HLA-B se asoció significativamente con una mayor presencia de rechazo. De los pacientes que compartían un antígeno el 55% presentó rechazo, mientras que el 44% no lo tuvo. Cuando no se compartía ningún antígeno B casi el 80% de los pacientes presentó rechazo, mientras que sólo el 20% no lo presentó. ($p=0.03$)

La mayor presencia de rechazo asociada a una mayor incompatibilidad HLA había sido puesta de manifiesto sobre todo por el grupo de Pittsburgh 115,147,148. En sus estudios ¹¹⁵ encontraron que la frecuencia de pérdida del órgano causada por rechazo se correlacionaba con el grado de mismatch HLA, especialmente para el "locus" D. Esto parecía estar en consonancia con el hecho de que, durante el rechazo las células del epitelio biliar expresan de manera muy intensa antígenos de clase II, y dado que estas células son las favoritas para el ataque inmunológico, era evidente que la disparidad HLA-D

era la más importante en dicho proceso. En el mismo trabajo los autores apuntaban la posibilidad de que los antígenos de clase I parecían involucrados en las primeras fases del rechazo cuando el endotelio vascular los expresa de manera más importante. Nuestros resultados pueden ser compatibles con esta teoría ya que hemos analizado el primer episodio de rechazo.

Por otra parte, esta diferencia significativa entre el grupo con rechazo y sin rechazo, por lo que hace referencia al HLA-B, podría explicar el hecho de que tanto las GOT como las GPT tuvieran significación estadística al comparar ambos grupos. Efectivamente se ha descrito que el hepatocito no juega un papel fundamental en el desarrollo del rechazo. Sin embargo se ha comprobado que el hepatocito también es víctima del ataque inmunológico⁵¹⁻⁵³ y que durante el rechazo el hepatocito a diferencia de la célula del epitelio biliar expresa antígenos de clase I. No se ha afirmado que el aumento en la expresión de antígenos de clase I en los hepatocitos juegue un papel determinante en la patogénesis del rechazo, porque podría ser un fenómeno concomitante con los cambios inflamatorios que se producen en el rechazo agudo, pero si se ha sugerido, que puede aumentar la susceptibilidad del hepatocito frente al ataque de los linfocitos citotóxicos, como se ha demostrado *in vitro*⁵¹⁻⁵³. Cuando hemos comparado ambos grupos hemos obtenido parámetros que eran significativamente distintos. Entre ellos figuraban la GOT y la GPT, a los que no se les había atribuido demasiada importancia en el rechazo porque éste era un fenómeno prácticamente "colestásico". Por otra parte el mismatch B, como hemos visto también es un parámetro que ha resultado ser significativo. Este "locus" B perteneciente a la clase HLA I es el que tiene una expresión más intensa a nivel de los hepatocitos. Por tanto nuestros resultados parecen bastante lógicos en el sentido de están perfectamente relacionados el "locus" B con la GOT y con la GPT. Recogiendo la idea del grupo de Pittsburgh, de que los antígenos de clase I están más directamente involucrados en las primeras fases del rechazo, podríamos decir,

que dado que hemos analizado el primer episodio de rechazo, no debe sorprendernos el hecho de que las Transaminasas sean un elemento decisivo en el diagnóstico inicial del rechazo.

Estos datos estarían de acuerdo también con el grupo de Minnesota ⁵⁴, que demostró la asociación de rechazo e incremento en la expresión de antígenos HLA de clase I. Esta mayor expresión de antígenos HLA de clase I no se correlacionó con la presencia de un síndrome de colestasis ni con una bilirrubina superior a 10 mg/dl en el día de la biopsia, sino que se asoció con la presencia de necrosis hepatocitaria. En 17 biopsias con necrosis de los hepatocitos, el 76% demostraba un incremento de la expresión de antígenos HLA de clase I.

5.3.4. Diagnóstico por el que se indica el trasplante.

En la actualidad el trasplante de hígado es la opción de elección en los pacientes con enfermedades hepáticas en fase terminal. Hemos elegido para la división de los pacientes según el diagnóstico, la posibilidad de agrupar los pacientes en Enfermedades de predominio Hepatocelular, donde estarían incluidas los diferentes tipos de cirrosis, las Enfermedades de predominio Colestásico que incluye entre otras la Cirrosis Biliar Primaria y la Colangitis Esclerosante Primaria, las Insuficiencias Hepáticas Agudas donde quedan incluidas las Hepatitis Fulminantes y Subfulminantes y por último el grupo de las Cirrosis Alcohólicas. Parecería ilógico separar a estas últimas de su "grupo natural" cual es las Enfermedades de predominio Hepatocelular. Sin embargo queríamos comprobar una impresión clínica que se fue acentuando con la mayor experiencia obtenida con el desarrollo del programa. Los pacientes con cirrosis alcohólicas, una vez superados los primeros días del postoperatorio, parecían evolucionar de manera más satisfactoria sin que presentaran episodios intercurrentes de rechazo que agravaran su estado y retrasaran el alta clínica.

La división de los pacientes por diagnósticos en función de si presentaban o no rechazo, nos estableció una gradación. Los trasplantes que presentaban mayor incidencia de rechazo eran aquellos en los que la indicación venía dada por una Insuficiencia Hepática Aguda(IHA). El 100% de dichos trasplantes estaba en el grupo de Rechazo.

En segundo lugar aparecían las Enfermedades de predominio Colestásico. El 76.5% estaba en el grupo de Rechazo y el 23.5% en el grupo de no rechazo.

En tercer lugar estaban las Enfermedades de predominio Hepatocelular. En éstas el 71.8% quedaba encuadrado en el grupo con rechazo mientras que en el de no rechazo permanecía el 28.2% restante.

Por último encontramos que los trasplantes indicados por una Cirrosis alcohólica se dividían al 50% entre el grupo con rechazo y sin rechazo. Por tanto parecía evidente que un análisis más profundo corroboraba nuestra impresión clínica.

Además el estudio de los diferentes diagnósticos entre sí, demostró, que los trasplantes indicados por una IHA tenían un riesgo de presentar un rechazo agudo significativamente mayor que los indicados por otros diagnósticos. Asimismo quedó demostrado que los trasplantes indicados por una Cirrosis Alcohólica tenían un riesgo significativamente menor de presentar un rechazo agudo que los indicados por otros diagnósticos. El análisis de las Enfermedades Colestásicas y el resto de las Enfermedades Hepatocelulares no demostró ninguna asociación significativa. En definitiva los dos grupos de riesgo en función del rechazo fueron las Cirrosis Alcohólica con una menor probabilidad de presentarlo y las IHA con una mayor incidencia.

La cirrosis alcohólica, como indicación para el trasplante hepático ha sido controvertida ¹⁴⁹⁻¹⁵⁸. La duda de si este tipo de pacientes han de ser incluidos en las listas de espera para trasplante, se plantea por la posibilidad de recurrencia de la enfermedad. En este sentido ha sido comparada a otras enfermedades hepáticas ^{149,150}, como el carcinoma hepatocelular o la hepatitis

vírica, en las que la recurrencia ha obligado a individualizar cada caso antes de sentar la indicación.

En el caso de los pacientes alcohólicos, no sólo se han invocado argumentos médicos para desaconsejar el trasplante, sino que en algunos casos, se han planteado razonamientos éticos y morales en contra de dicho tratamiento. Ante el hecho incontrovertible de la escasez de donantes, hay autores que piensan que los pacientes con hepatopatía alcohólica no deben ser trasplantados ¹⁵⁶. Basan sus planteamientos en el hecho de que la hepatopatía alcohólica no es consecuencia del infortunio o fatalidad del destino como otras hepatopatías, sino que es fruto de una perseverante actitud personal que busca la autodestrucción. En este sentido piensan que se debe dar prioridad para el trasplante a otros pacientes antes que los alcohólicos.

Frente a estas teorías, otros autores consideran injusta esta actitud discriminatoria.¹⁵⁷ Por el mismo razonamiento se deberían dejar de tratar los cánceres de pulmón o enfermedad coronaria desarrollados en fumadores inveterados, las enfermedades de transmisión sexual en la población promiscua, o los graves politraumatismos que se producen en accidentes de circulación como consecuencia de una conducción suicida ¹⁴⁹. Por otra parte en el peor de los casos la supervivencia en los trasplantes por enfermedad alcohólica es superponible a la que se obtiene con otras indicaciones, con una buena reinserción social y laboral en la mayoría de los casos y una baja incidencia de reincidencia alcohólica.^{149,150,152-154}.

Todos estos argumentos han sido fundamentales para que fuera aceptado por la mayoría de los grupos que los pacientes con cirrosis alcohólica tienen tanto derecho como otros a ser candidatos al trasplante. Incluso con más derecho que pacientes con hepatitis posthepatítica o con carcinoma hepatocelular en los que la recidiva de la enfermedad de base se produce en un tanto por ciento elevado de casos.

Sin embargo lo que no se había utilizado es el hecho de que los pacientes con cirrosis alcohólica pueden tener una menor incidencia de rechazo como se desprende de nuestro estudio.

¿Qué razones se pueden aducir para explicar este hecho?. Es probable que el hecho de ser una enfermedad adquirida por el consumo de alcohol sin que exista en principio ninguna carga inmunológica, como puede existir en otras enfermedades hepáticas pueda jugar un papel fundamental.

En el extremo opuesto se encuentran las hepatitis fulminantes. Hemos podido constatar que en estos pacientes hay una probabilidad de presentar un rechazo significativamente superior que en el resto de indicaciones. La explicación que parece más lógica es que en estos casos en los que no se tiene en cuenta ningún criterio de compatibilidad para aceptar el órgano, se produzca con mayor frecuencia incompatibilidad ABO que justifique la mayor incidencia de rechazo. Sin embargo en esta serie tan sólo hemos encontrado tres casos de incompatibilidad ABO, que por supuesto pertenecían al grupo de los fallos hepáticos fulminantes. Al tratarse de un número tan bajo de trasplantes incompatibles, no hemos podido demostrar que este factor tuviera una incidencia estadísticamente significativa en la probabilidad de aparecer un rechazo. Sin embargo pensamos que la incompatibilidad ABO juega un papel determinante en la supervivencia del órgano y que con un mayor número de casos los resultados podrían haber tenido significación estadística. Por otra parte, tal como ya hemos comentado con anterioridad, el seguimiento que hemos realizado de estos tres trasplantes ABO incompatibles, nos ha permitido comprobar que en dos casos ha sido necesario el retrasplante debido a un rechazo incontrolable.

Otras consideraciones que pudieran explicar estos resultados cabe buscarlas en el hecho de que los pacientes con una hepatitis fulminante o subfulminante casi siempre debidas a una infección por virus, deben poseer un sistema inmunitario más competente que los pacientes con una hepatopatía crónica,

sobre todo porque son pacientes en general sanos en los que la evolución de la enfermedad tan sólo es de 4-6 semanas, con un deterioro importante y grave que sólo alcanza a los últimos 7-10 días. Por otra parte existe el convencimiento de que estos pacientes tienen una respuesta inmune exagerada¹⁵⁹. Esta impresión se desprende del hecho de que es bastante difícil en pacientes con hepatitis fulminante por infección por virus B demostrar la presencia del DNA del virus. De modo similar ocurre cuando se quiere demostrar la presencia del RNA del virus D, en los que sólo se puede conseguir en una minoría de pacientes. Estas observaciones favorecen la hipótesis de que las Hepatitis por virus B o D que durante su evolución alcanzan el estado de fallo hepático fulminante, provocan una respuesta inmune muy intensa contra el virus que está infectando el hepatocito, de tal forma que es capaz de provocar una necrosis hepática masiva o submasiva.

Creemos que este estado de alerta inmunitaria que existe en estos pacientes es la responsable de que exista una mayor probabilidad de rechazo.

5.3.5. Estado serológico frente al Citomegalovirus (CMV).

La asociación de infección por CMV y presencia de rechazo ha sido puesto de manifiesto por algunos grupos¹³². Para estos autores esta asociación podría ser consecuencia de la alteración de la estrategia inmunosupresora. El incremento de las dosis de inmunosupresión podría provocar la activación de una infección por CMV que hasta este momento permanecía latente, o por el contrario un descenso de los fármacos supresores como consecuencia de una infección por CMV podría provocar una crisis de rechazo. Pese a que el trabajo hace referencia a la presencia de un rechazo de tipo irreversible, analizamos en nuestra serie la presencia de serología positiva para CMV en el donante y el receptor, por si podía tener incidencia en la aparición de rechazo, en nuestro caso de tipo reversible o agudo.

Tanto en el grupo con rechazo como el que no presentaba rechazo la distribución de la serología positiva en los donantes fue similar. La mayor proporción de donantes eran negativos (56% en el grupo con rechazo y 61% en el grupo sin rechazo). La serología positiva se dió en el 43% de los donantes del grupo con rechazo y en el 33% de los donantes del grupo sin rechazo.

Por el contrario los receptores fueron en su mayoría positivos como en buena lógica tenían que ser por su mayor incidencia de transfusiones. En el grupo con rechazo la serología positiva se obtuvo en el 69% de los receptores, mientras que en el grupo sin rechazo fue del 66%. La serología negativa se dió en el 30% y 33% respectivamente.

Posteriormente fueron divididos los trasplantes en función del estado serológico tanto del donante como del receptor. Se analizaron las asociaciones de donantes positivos sobre receptores positivos o negativos y también la asociación de donantes negativos sobre receptores positivos o negativos. Este análisis es particularmente importante cuando se intenta estudiar la incidencia de reactivación de la infección por CMV o bien la infección sintomática ¹⁶⁰, pero no hemos logrado demostrar en nuestra serie que tenga influencia en la aparición del rechazo. Es probable que la mayor influencia se produzca con la presencia de infección por CMV siendo más frecuente en receptores previamente positivos ¹⁶⁰. En nuestra serie, en la que se contaban 44 receptores previamente positivos no hemos demostrado ninguna influencia, probablemente porque la primera crisis de rechazo suele ser muy temprana y la infección por CMV cronológicamente más tardía, por lo que se puede asociar más fácilmente con el rechazo crónico ¹³².

5.3.6. Identidad de sexo.

En nuestro grupo de estudio se produjo una identidad de sexo en 44 casos, mientras que en 38 el sexo fue distinto. No hubo diferencias en cuanto al período de supervivencia libre de rechazo en uno u otro grupo con medianas de 19 días en el subgrupo de coincidencia de sexos y 15 días cuando los sexos fueron distintos.

Repartidos en los distintos subgrupos se pudo apreciar una mayor proporción de donantes de sexo masculino (66 frente a 16), sin que existieran diferencias significativas entre los distintos subgrupos. Un análisis más detenido mostraba un tiempo libre de rechazo más largo en los subgrupos en los que el donante era una mujer ya fuera con un receptor masculino o uno femenino. Así, se pudo apreciar que los hígados que provenían de un donante de sexo femenino injertados en un receptor de sexo masculino tenían un tiempo medio de supervivencia libre de rechazo de 114 ± 59 días con una mediana de 64 días. Aquellos hígados que procedentes de donantes de sexo femenino eran injertados en un receptor de sexo femenino tenía un tiempo medio de supervivencia de 172 ± 65 días con una mediana de 125 días. Al encontrar estas diferencias entre los dos grupos se realizó un análisis considerando el sexo del donante. Cuando el sexo del donante fue masculino el tiempo medio de supervivencia libre de rechazo fue de 78.85 ± 26.5 días con una mediana de 14 días. Cuando el donante fue una mujer los hígados injertados tenían un tiempo medio de supervivencia libre de rechazo de 155.7 ± 46.2 días con una mediana de 125 días. La comparación de los dos grupos mostró una diferencia significativa con una **p de 0.03** mediante el test de Breslow.

De nuestro estudio se desprende que existe una evolución más favorable entendida desde el punto de vista de que hay un mayor tiempo de supervivencia libre de rechazo cuando es un órgano que procede de un donante de sexo femenino con diferencias significativas sobre los injertos procedentes de

donantes del sexo masculino. El mayor tiempo de supervivencia sin rechazo lo hemos obtenido cuando se injerta un hígado de un donante femenino sobre un receptor a su vez de sexo femenino.

Las razones para explicar estas diferencias no son conocidas ni tampoco han sido estudiadas previamente porque no hemos encontrado ninguna referencia sobre este tema en la revisión exhaustiva de la literatura que hemos realizado.

5.3.7. Tipo de Solución de Preservación utilizada.

El tipo de perfusión utilizado ha permitido dividir el grupo de estudio en tres subgrupos. El primero de 21 trasplantes cuyo líquido de preservación fue del tipo Eurocollins. En 41 casos se utilizó el método combinado tal como se ha descrito con anterioridad y en 20 casos se utilizó la solución de la Universidad de Wisconsin. En el primer grupo la mediana de supervivencia sin rechazo fue de 15 ± 8 días. El grupo en el que se utilizó el método combinado tuvo una mediana de supervivencia sin rechazo de 43 ± 32.8 días, mientras que el grupo preservado con solución de Wisconsin tuvo un tiempo medio de supervivencia sin rechazo de 8 ± 1.11 días. Fue el más corto de los tres subgrupos. Estas diferencias tuvieron significación estadística con una p en el test de Breslow de **0.05**.

A pesar de estos datos contradictorios la utilización generalizada de la solución de preservación de la Universidad de Wisconsin ha revolucionado el trasplante hepático. Su uso ha permitido alargar hasta 24 horas el tiempo de isquemia fría, con lo que se ha conseguido realizar las operaciones en el receptor de forma semielectiva, y además desplazarse a mayor distancia del punto de origen para procurar el órgano donante.

En nuestro estudio se ha puesto de manifiesto un mayor tiempo de supervivencia sin rechazo en el grupo de pacientes en el que se utilizó el método combinado. Con este método se utiliza la perfusión de solución de

Wisconsin a través de la vena porta. El efecto protector de la solución de Wisconsin frente al ataque inmunológico ya había sido comunicada por otros grupos de trabajo^{138,161}.

El grado de lesión isquémica producida durante la preservación puede influir en la aparición de rechazo después del trasplante ¹³⁸. En este estudio los pacientes con una lesión isquémica grave producida durante la preservación, definida por un valor de transaminasa ASAT superior a las 2000 u/L a su llegada a la Unidad de Cuidados Intensivos, tenían mayor índice de rechazo, comparado con los trasplantes en los que la lesión isquémica era menos importante (ASAT menor de 600 u/L). Cuando se analizó en cada grupo el tipo de solución utilizada se comprobó que la solución UW había sido utilizada en tan sólo el 16% de los trasplantes con lesión isquémica grave. Por el contrario esta solución había sido utilizada en el 63% de los hígados con lesión isquémica leve. Dado que la lesión isquémica estaba en clara relación con el líquido de preservación utilizado, la conclusión final fue sugerir la existencia de una relación entre la presencia de rechazo y el tipo de solución utilizada.

Otro estudio de reciente aparición han llegado a la misma conclusión ¹⁶¹. En éste la función inicial del injerto fue similar en los dos grupos analizados, uno preservado con Eurocollins y otro con U.W., de tal manera que el grado de malfunción primaria del injerto en uno u otro grupo fue parecido. Sin embargo, hubo notables diferencias en el grado y la intensidad del rechazo en ambos grupos, siendo el número medio de episodios ($p=0.001$) y la necesidad de tratamiento ($p=0.004$) de los mismos menor en el grupo de UW. En el análisis multivariante que realizaron demostraron que el único factor con capacidad pronóstica independiente fue el tipo de solución utilizada para la preservación.

El mecanismo por el cual la solución UW reduce la incidencia de rechazo es desconocida. Se ha intentado relacionar con la mayor expresión de antígenos HLA de clase II que se produce durante el rechazo, sugiriéndose que el

incremento de la expresión de antígenos de clase II, refleja en parte el complejo proceso que sigue la lesión celular y su posterior reparación ⁴⁸. En este sentido la utilización de la solución UW puede asociarse con una menor expresión de antígenos del CMH, al provocar una menor lesión celular ¹⁶¹.

Sin embargo en nuestro estudio esperabamos encontrar que en el grupo en el que se utilizó como solución única la de UW. hubiera un tiempo libre de rechazo significativamente mayor que en el resto. No ha sido así, sino todo lo contrario, ya que ha sido el grupo en el que ha rechazado con mayor rapidez.

5.3.8. Diagnóstico por el que se indica el trasplante.

Al igual que en el análisis que realizamos con anterioridad partiendo del diagnóstico de rechazo, hemos calculado la supervivencia libre de rechazo dividiendo a los pacientes en los mismos subgrupos. El mayor número de pacientes estaba constituido por las enfermedades de predominio hepatocelular con 39 trasplantes, las enfermedades de predominio colestásico tenían 17 pacientes, los pacientes con cirrosis alcohólica fueron el motivo del trasplante en 14 casos y en 12 casos se trataba de I.H.A. Al igual que en el análisis anterior el diagnóstico por el que se realiza el trasplante ofrece diferencias significativas entre los distintos subgrupos, cuando se analiza el tiempo libre de rechazo. Existe una clara gradación de menor a mayor tiempo libre de rechazo, que se inicia con la I.H.A, sigue con las Enfermedades de predominio Colestásico y de predominio Hepatocelular, y por último los trasplantes realizados por enfermedad alcohólica. Las consideraciones realizadas con anterioridad para explicar estos resultados son aplicables también en este apartado. Las I.H.A y las enfermedades de predominio colestásico tienen una importante carga inmunológica en su etiopatogenia que debe jugar un papel preponderante en el fenómeno del rechazo. La hepatopatía alcohólica en principio no está relacionada ni con factores inmunológicos ni tampoco con la

presencia de enfermedad viral, dos factores involucrados de forma iterativa en la supervivencia del hígado trasplantado ^{147,148}.

En el análisis multivariante que se realizó se demostró que de los tres parámetros que se habían encontrado significativos en el bivariante (Coincidencia de sexo, Solución de Preservación y Diagnóstico), tan sólo el Diagnóstico tenía capacidad pronóstica independiente a la hora de predecir la probabilidad de presentar el primer episodio de rechazo agudo, de un paciente incluido como candidato en la lista de espera de trasplante hepático. En este sentido podemos concluir que los pacientes con hepatopatía alcohólica en fase terminal, candidatos a un trasplante hepático deben ser trasplantados no sólo en base a las consideraciones éticas y morales que ya hemos analizado sino también porque tienen una menor posibilidad de presentar una rechazo agudo.

6. RESUMEN Y CONCLUSIONES.

RESUMEN Y CONCLUSIONES.

Para obtener los objetivos planteados en esta tesis se han estudiado los 100 primeros trasplantes hepáticos realizados en el Hospital Clinic de Barcelona.

En este grupo de pacientes se han conseguido definir las características bioquímicas de los pacientes con disfunción hepática debida a un rechazo, demostrado por la biopsia o de los pacientes con disfunción no debida a un rechazo y se ha analizado si existen diferencias desde el punto de vista de los datos bioquímicos entre los pacientes que presentan la disfunción secundaria al rechazo y los que no cumplen esta condición.

Además se han analizado una serie de variables cualitativas y cuantitativas, extraídas del estudio del donante y del receptor, para tratar de ver si tienen influencia en la aparición de rechazo a lo largo del tiempo.

A partir de los resultados obtenidos, se puede dar respuesta a las preguntas planteadas en la hipótesis de trabajo.

*** ¿Existen algunas alteraciones en los parámetros bioquímicos de función hepática o en otras variables que se desprenden del estudio del donante y del receptor que sean un índice seguro de diagnóstico de rechazo?**

Si. El estudio realizado permitió separar dos tipos de pacientes en razón de que la disfunción fuera debida a la presencia o no de rechazo. El análisis entre los dos grupos demostró que existían algunas diferencias entre ellos que eran significativas desde el punto de vista estadístico. Después de realizar el estudio bivariado se han determinado unos puntos de corte de cada variable que con el estudio estadístico ofrecen una sensibilidad y especificidad alta con una probabilidad de diagnosticar correctamente entre el 81% y el 87% de los pacientes. Tras este estudio se realizó un estudio multivariado en el que se

introdujeron las variables que habían resultado significativas en el estudio univariable y otras que razonablemente podían estar implicadas desde el punto de vista médico. En el modelo final resultaron ser significativas cuatro variables, tres de ellas cuantitativas como son el valor de bilirrubina, el valor de Transaminasa Glutámico-pirúvica y la edad del receptor y una cualitativa que fue la compatibilidad entre donante y receptor a nivel del "locus" B del Complejo Mayor de Histocompatibilidad.

*** ¿Existen algunos datos obtenidos del estudio del receptor que puedan servir de predicción de la aparición de un rechazo a lo largo del tiempo?**

Si. El interés de esta tesis se centraba no sólo en el análisis del rechazo a partir del momento de su aparición sino también en considerar si existían factores que sirvieran de predicción de la aparición del rechazo. Estos factores se han definido en este estudio tras la realización de curvas de supervivencia. El único factor dependiente del receptor que tienen capacidad de predicción de la aparición del rechazo en nuestros trasplantes es el Diagnóstico por el que se indica el Trasplante. A través del estudio estadístico realizado se pudo establecer una gradación de mayor a menor rechazo en función del diagnóstico. Los pacientes con un trasplante realizado por una Insuficiencia Hepática Aguda, tienen una mayor incidencia de rechazo agudo. Este hecho no es dependiente de la compatibilidad ABO. La necesidad acuciante de un órgano, hace que en estos pacientes no se respete la compatibilidad sanguínea. Por esta razón se podía suponer que este grupo de pacientes el rechazo agudo era una consecuencia de la trasgresión de la compatibilidad ABO. Esto no es así porque el número de pacientes con ABO incompatible es insignificante.

Por otra parte se ha podido observar que los pacientes con Cirrosis de etiología alcohólica tienen una menor probabilidad de presentar un rechazo a lo largo del tiempo, significativamente menor que el que presentan los pacientes con

Cirrosis de etiología no alcohólica como son las criptogénicas o las posthepatíticas.

*** ¿Existen algunos datos obtenidos del estudio del donante que puedan servir de predicción de la aparición de un rechazo a lo largo del tiempo?**

Si. Al igual que en la pregunta anterior de la hipótesis se han calculado curvas de supervivencia de cada parámetro hasta el momento en que los pacientes han presentado un rechazo. Se han encontrado dos parámetros dependientes del estudio del donante que podrían servir de predicción de la aparición de un rechazo, y que son el sexo del donante y también el tipo de Solución de Preservación utilizado. Los trasplantes realizados con donantes de sexo femenino tienen un tiempo libre de rechazo significativamente mayor que los de sexo masculino. Del mismo modo los órganos preservados con el método que hemos denominado combinado, tienen un mayor tiempo libre de rechazo que los preservados con Solución de Eurocollins o Solución de Wisconsin aisladas.

***¿ Podría concretarse en una ecuación matemática la probabilidad de que una determinada disfunción hepática, en un determinado receptor al que se le ha trasplantado un determinado hígado fuera un rechazo?**

Si. Para contestar a esta pregunta planteada en la hipótesis hemos utilizado las variables que demostraron capacidad pronóstica independiente para diagnosticar el rechazo. Los resultados se han concretado en la siguiente ecuación en la cual se tienen en cuenta estas variables en función de los puntos de corte y de los coeficientes de regresión.

$$\text{PROB} = \frac{e^{(2.9971 + \text{edad} \times (-0.19868) + \text{MM} \times 2.7666 + \text{B} \times 4.5203 + \text{GPT} \times 5.6646)}}{1 + e^{(2.9971 + \text{edad} \times (-0.19868) + \text{MM} \times 2.7666 + \text{B} \times 4.5203 + \text{GPT} \times 5.6646)}}$$

En donde :

e corresponde al valor 2.718

MM B expresa la incompatibilidad del locus HLA B

Bi corresponde al valor de Bilirrubina

GPT corresponde al valor de Transaminasa Glutámico-pirúvica

Esta ecuación ofrece según el cálculo de probabilidades un valor global de alrededor del 90%.

Se ha validado en un grupo de enfermos pertenecientes a la misma Unidad distintos de la serie inicial de 100 Trasplantes. Se han considerado tanto los primeros episodios como, los segundos o terceros episodios de disfunción hepática. Los resultados obtenidos tras la validación demuestran que con esta ecuación es posible diagnosticar correctamente las tres cuartas partes de los episodios de disfunción hepática que aparecen tras el trasplante en el sentido de conocer si la disfunción es secundaria a un episodio de rechazo o no.

***¿ Sería posible establecer distintos grupos de riesgo de presentar un rechazo a lo largo del tiempo, en función de parámetros obtenidos del estudio del donante y del receptor.**

Si. El estudio multivariable que se realizó con todos los factores significativos demostró que existía como único factor pronóstico independiente, el diagnóstico con el que se había realizado la indicación del trasplante. Existía una clara gradación en el sentido de que los pacientes con trasplante por Insuficiencia Hepática Aguda tienen un mayor probabilidad de presentar un rechazo o sea tienen un menor tiempo libre de rechazo. A continuación el grupo de las Enfermedades de predominio Colestásico constituidas en su mayor parte por Cirrosis Biliares Primarias. En tercer lugar se situaron los pacientes con Enfermedades de predominio hepatocelular en el que estaban incluidos los

pacientes con cirrosis de variada etiología. Por último, como grupo en el que existe un mayor tiempo libre de rechazo están los pacientes con una hepatopatía alcohólica. Este hecho es un punto que debe unirse a las consideraciones éticas que se han invocado para que el grupo de los pacientes alcohólicos no sea discriminado a la hora de indicar un trasplante hepático.

6. BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA

1. STARZL T.E, MARCHIORO T.L, VON KAULLA M.D, HERMANN G,BRITTAIN R.S, WADDELL W.R. Homotransplantation of the liver in humans. Surg. Gynecol. Obstet. 117:659-676, 1963.
2. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE STATEMENT: LIVER TRANSPLANTATION, JUNE 20-23, 1983. Hepatology 4:1075-1105, 1984.
3. DUQUESNOY R.J, SAIDMAN S, MARKUS B.H, DEMETRIS A.J, ZEEVI A. Role of HLA in intragraft cellular immunity in human liver transplantation. Transplant. Proc. 20 (1):724-727, 1988.
4. PERA C. Cirugia. Fundamentos, indicaciones y opciones técnicas. Ed. Salvat Barcelona, 1983. Cap.12 pág.184. "La respuesta Inmunitaria a la Agresión".
5. GOLDSTEIN R.M, OLSON L.M, KLINTMALM G.B.G, HUSBERG B.S, NERY J.R, GONWA T.A, RODEN J.S, POLTER D.E. Decreased mortality associated with orthotopic liver transplantation. Transplant Proc. 20:505-507, 1988.
6. IWATSUKI S, STARZL T.E, TODO S, GORDON R.D, ESQUIVEL C.O, TZAKIS A.G, MAKOWKA L, MARSH J.W, KONERU B, STIEBER A, KLINTMALM G.B.G, HUSBERG B. Experience in 1000 liver transplant under cyclosporine-steroid therapy: a survival report. Transplant. Proc. 1: 498-504, 1988.

7. EUROPEAN LIVER TRANSPLANT REGISTRY. Updating 6/1991.
8. BUSUTTLIL R.W, COLONNA J.O, HIATT J.R, BREMS J.J, KHOURY G, GOLDSTEIN L.I, QUINONES-BALDRICH W.J, ABDUL-RASOOL I.H, RAMMING K.P. The first 100 liver transplants at UCLA. *Ann. Surg.* 206 (4):387-402, 1987.
9. SNOVER D.C, FREESE D.K, SHARP H.L, BLOOMER J.R, NAJARIAN J.S, ASCHER N.L. Liver allograft rejection. An analysis of the use of biopsy on determining outcome of rejection. *Am. J. Surg. Pathol.* 11 (1):1-10, 1987.
10. DEMETRIS A.J, LASKY S, VAN THIEL D.H, STARZL T.E, DEKKER A. Pathology of hepatic transplantation. A review of 62 adult allograft recipients immunosuppressed with a cyclosporine/steroid regimen. *Am. J. Pathol.* 118:151-161, 1985.
11. KIRBY R.M, McMASTER P, CLEMENTS D, et al. Orthotopic liver transplantation; postoperative complications and their management. *Br. J. Surg.* 74:3-12, 1987.
12. LUDWIG J, WIESNER R.H, BATTIS K.P, PERKINS J.D, KROM R.A. The acute vanishing bile duct syndrome (acute irreversible rejection) after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 7:476-483, 1987.
13. CUERVAS-MONS V, MARTINEZ A.J, DEKKER A, STARZL T.E, VAN THIEL D.H. Adult liver transplantation: An analysis of the early causes of death in 40 consecutive cases. *Hepatology* 6:495-501, 1986.

14. ASCHER N.L, FREESE D.K, PARADIS K, SNOVER D.C, BLOOMER J.R. Rejection of the transplanted liver. *Transplantation of the liver*. Willis C. Maddrey Chapter 7. Elsevier Science Publishing Co. Inc. 1988.
15. ADAMS D.H, NEUBERGER J.M. Patterns of graft rejection following liver transplantation. *Journal of Hepatology* 10:113-119, 1990.
16. KISSMEYER-NIELSEN F, OLSEN S, PETERSEN V.P, FJELDBORG O. Hyperacute rejection of kidney allograft, associated with preexisting humoral antibodies against donor cells. *Lancet* 2:662-665, 1966.
17. TZAKIS A, HAKALA T, MAKOWKA L, DUQUESNOY R.J, GORDON R.D, AMBROSINO G, STARZL T.E. Renal transplantation in the presence of a positive cytotoxic antibody. *Transplant. Proc.* 20 (1):92-94, 1988.
18. OLDHAFER K.J, SCHAEFER O, WANIGEIT K, RINGE B, PICHLMAYR R. Monitoring of serum Neopterin levels after liver transplantation. *Transplant. Proc.* 20 (1):671-673, 1988.
19. MAURY C P.J, HOCKERSTEDT K, TEPPA A.M, LAUTENSCHLAGER I, SCHEININ T.M. Changes in serum Amyloid A protein and Beta-2 microglobulin in association with liver allograft rejection. *Transplantation* 38:551-553, 1984.
20. NAGAFUCHII Y, THOMAS H.C, HOBBS K.E.F, SCHEVER P.J. Expression of Beta-2 microglobulin on hepatocytes after liver transplantation. *Lancet* 1:551-554, 1985.

21. ADAMS D.H, BURNETT D, STOCKLEY R.A, HUBSCHER S.G, McMASTER P, ELIAS E. Biliary Beta-2 microglobulin in liver allograft rejection. *Hepatology* 8:1565-1570, 1988.
22. LASKY S, DEMETRIS A.J, DEKKER A, GAVALER J.S, WHITESIDE T, VAN THIEL D.H. Gammaglutamyl transpeptidase, a marker for rejection following liver transplantation. *Hepatology* 4:1045, 1984. (abst).
23. PERKINS J.D, NELSON D.L, RAKELA J, GRAMBSCH P.M, KROM R.A.I Soluble interlenkin-2 receptor level as su indicator of liver allograft rejection. *Transplantation* 47:77-81, 1989.
24. ADAMS D.H, HUBSCHER S.G, WANG L, ELIAS E, NEUBERGER J.M. Soluble interlenkin-2 receptors in serum and bile of liver transplant recipients. *Lancet* 1:469-471, 1989.
25. WEIR M.R, HALL-SCAGGS M, SHEN S.Y, POSNER J.N, ALONGI S.V, DAGHER F.J, SADLER J.H. The prognostic value of the eosinophyl in acute renal allograft rejection. *Transplantation* 41:709-712, 1986.
26. FOSTER P.F, SANKARY H, WILLIAMS J.W. Study of eosinophilia and hepatic disfunction as a predictor of rejection in human liver transplantation. *Transplant. Proc.* 20 (1):676-677, 1988
27. FOSTER P.F, SANKARY H, HART M, ASHMANN M, WILLIAMS J.W. Blood and graft eosinophilia as a predictor of rejection in human liver transplantation. *Transplantation* 47:72-74,1989.

28. SNOVER D.C, SIBLEY R.K, FREESE D.K, SHARP H.L, BLOOMER J.R, NAJARIAN J.S, ASCHER N.L. Orthotopic liver transplantation: A pathological study of 63 serial liver biopsies from 17 patients with special reference to the diagnostic features and natural history of rejection. *Hepatology* 4:1212-1222,1984.
29. SNOVER D.C, SIBLEY R.K, FREESE D.K, SHARP H.L, BLOOMER J.R, NAJARIAN J.S, ASCHER N.L. Orthotopic liver transplant rejection: A sequential liver biopsy study. *Transplant Proc.* 17:272-273, 1985.
30. HUBSCHER S.G, CLEMENTS D, ELIAS E, McMASTER P. Biopsy findings in cases of rejection of liver allograft. *J. Clin. Pathol.* 38:1366-1373, 1985.
31. EGGINK H.F, HOFSTEE N, GIPS H, KROM R.A.F, HOUTHOFF H.J. Histopathology of serial grafts biopsies from liver transplant recipients. *Am. J. Pathol.* 114:18-31, 1984.
32. SANKARY H, FOSTER P, HART M, ASHMANN M, SCHWARTZ D, WILLIAMS J.W. An analysis of the determinants of hepatic allograft rejection using stepwise logistic regression. *Transplantation* 47:74-77, 1989.
33. SHAW B.W, GORDON R.D, IWATSUKI S, STARZL T.E. Retransplantation of the liver. *Semin. Liver Dis.* 5 (4):394-401, 1985.
34. LUDWIG J, WIESNER R.H, BATTIS K.P, PERKINS J.D, KROM R.A.F. The acute vanishing bile duct syndrome (acute irreversible rejection) after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 7:476-483, 1987.

35. WIGHT D.G.D, PORTMAN B. Pathology of rejection, in Liver Transplantation, R.Y.Calne (Edit), pag. 385-410, 1987.
36. HUBSCHER S.G, CLEMENTS D, ELIAS E, McMASTER P. Biopsy findings in cases of rejection of liver allograft. J. Clin. Pathol. 38:1366-1373, 1985.
37. PERKINS J.D, RAKELA J, STERIOFF S, BANKS P.M, WIESNER R.H, KROM R.A. Results of treatment in hepatic allograft rejection depend on the immunohistologic pattern of the portal T lymphocyte infiltrate. Transplant. Proc. 20:223:225, 1988.
38. OPELZ G. Correlation of HLA matching with kidney graft survival in patients with or without cyclosporine treatment. Transplantation 40:240-243, 1985.
39. SANFILIPPO F, MACQUEEN M, VANGHIN W, FOULKS G. Reduced graft rejection with good HLA A and B matching in high risk corneal transplantation. N. Engl. J. Med. 315:29-35, 1986.
40. GORDON R.D, FUNG J.J, IWATSUKI S, DUQUESNOY R.J, STARZL T.E. Immunological factors influencing liver graft survival. Gastroenterology Clinics of North America 17 (1):53-59,1988.
41. GORDON R.D, FUNG J.J, MARKUS B, FOX I, IWATSUKI S, ESQUIVEL C.D, TZAKIS A, TODO S, STARZL T.E. The antibody cross-match in liver transplantation. Surgery 100 (4):705-715, 1986.
42. ASCHER N.L, HANTO D.W, SIMMONS R.L. Immunobiology of

allograft rejection. In principles of organ transplantation. W.B.Sawnders Company Philadelphia U.S.A. 1989.

43. HAYRY P, VON WILLEBRAND E. Transplant aspiration cytology in diagnostic evaluation of renal allografts. *Transplant. Proc.* 13:1575-1578, 1981.

44. BURDIK I, BESCHORMER W, SMITH W et al. Lymphocyte in early renal allograft biopsies. *Transplant. Proc.* 17:562-563, 1985.

45. ROITT I, BROSTOFF J, MALE D. *Immunologia*. Gower Medical Publishing Ltd. Londres. pag.4-1, 1986.

46. ROITT I, BROSTOFF J, MALE D. *Immunologia*. Gower Medical Publishing Ltd. Londres. pag. 4-2, 4-3, 1986.

47. ROITT I, BROSTOFF J, MALE D. *Immunologia*. Gower Medical Publishing Ltd. Londres. pag. 4-4, 4-5, 1986.

48. DEMETRIS A.J, LASKY S, VAN THIEL D.H, STARZL T.E, WHITESIDE T. Induction of DR/IA antigens in human liver allografts. *Transplantation* 40 (5):504-509, 1985.

49. BATTS K.P, MOORE S.B, PERKINS J.D, WIESNER R.H, GRAMBSCH P.M, KROM R.A.F. Influence of positive lymphocyte crossmatch and HLA mismatching on vanishing bile duct syndrome in human liver allografts. *Transplantation* 45:376-379, 1988.

50. STEINHOFF G, WONIGEIT K, RINGE B, LAUCHART W, KEMNITZ J, PICHLMAYR R. Modified patterns of major histocompatibility complex-antigen expression in human liver grafts during rejection. *Transplant. Proc.* 19 (1):2466-2469, 1987.
51. SO S.K.S, HARTY J.J, HOFFMAN R.A, PLATT J.L, BIEL L.W, SIMMONS R.L. Hepatocytes are allospecific targets for cytolytic lymphocyte clones. *Surg. Forum.* 36:331-333, 1985.
52. SO S.K.S, PLATT J.L, WILKES L.M, HOFFMAN R.A, SIMMONS R.L. Cytolytic T lymphocyte mediated injury of cultured hepatocytes is H-2 restricted. *Hepatology* 5:1017, 1985.
53. HARTY J.T, SO S.K.S, KELLER G.A, et al. Immunospecific lymphocyte-mediated injury of isolated hepatocytes. *Transplant Proc.* 57:606, 1985.
54. SO S.K.S, PLATT J.L, ASCHER N.L, SNOVER D.C. Increased expression of class I major histocompatibility complex antigens on hepatocytes in rejecting human liver allografts. *Transplantation* 43 (1):79-85, 1987.
55. THUNG S.N, SCHAFFNER F, GERBER M.A. Expression of HLA antigens on hepatocytes in liver disease. *Transplant. Proc.* 20 (1):722-723, 1988.
56. ZANNIER A, FAURE J.L, NEIDECKER J, MUTIN M, CHAMPETIER P, TAKVORIAN P. Monitoring of liver allografts using fine-needle aspiration biopsy: Value of hepatocyte MHC-DR expression in the diagnosis of acute rejection. *Transplant. Proc.* 19 (5):3810-3811, 1987.

57. STEINHOFF G, WONIGEIT K, HAPPECHT J, JOHNSON J.P, PICHLMAYR R. Expression of donor and recipient class I and class II major histocompatibility complex antigens in human liver grafts. *Transplant. Proc.* 19 (5):3561-3564, 1987.
58. STEINHOFF G, WONIGEIT K, PICHLMAYR R. Polymorphic HLA-A and HLA-B antigens are induced in rejecting liver grafts. *Transplant. Proc.* 20 (1):698-700, 1988.
59. ZANNIER A, FAURE J.L, MUTIN M, MARCEAU M, BROCHIER J, REVILLARD J.P. Increased HLA-DR antigen expression in human hepatocytes after liver transplantation: Kinetic analysis using fine needle aspiration biopsy. *Transplant. Proc.* 20 (2):202-204, 1988.
60. VOGEL W, WOHLFAHRTER T, THEN P, JUDMAIER G, KNAPP W, MARGREITER R. Longitudinal study of major histocompatibility complex antigen expression on hepatocytes in fine-needle aspiration biopsies from human liver grafts. *Transplant. Proc.* 20 (4):648-649, 1988.
61. ELION G.B, HITCHINGS G.H, VANDERWERFF H. Antagonists of nucleic acid derivatives. *J. Biol. Chem.* 192:505-518, 1951.
62. SCHWANTZ R, DAMASHEK W. Drug-induced immunological tolerance. *Nature* 183:1682-1683, 1959.
63. CALNE R.Y. The rejection of renal homografts inhibition in dogs by 6-Mercaptopurina. *Lancet* 1:417-418, 1960.

64. DEMPSTER W.J. Kidney homotransplantation. *Br. J. Surg.* 40:447-465, 1953.
65. GOODWIN W.E, KAUFMAN J.J, MIMS M.M, TURNER R.B, GLASSOCK R, GOLDMAN R, MAXVELL M.M. Human renal transplantation I. Clinical experiences with six cases of renal homotransplantation. *J. Urol.* 89:13-24, 1963.
66. MURRAY J.E, MERRILL J.P, HARRISON J.H, WILSON R.E, DAMMIN G.J. Prolonged survival of human kidney homografts by immunosuppressive drug therapy. *New. Engl. J. Med.* 268:1315-1323, 1963.
67. BOREL J.E. Comparative study of in vitro and in vivo drug effects on cell-mediated cytotoxicity. *Immunology* 31:631-641, 1976.
68. WAGNER O. Cyclosporin A; mechanism of action. *Transplant. Proc.* 15:523-526, 1983.
69. CALNE R.Y. Organ transplantation and cyclosporin A. *Can. J. Surg.* 27:10-13, 1984.
70. CALNE R.Y, ROLLES K, WHITE D.J.G, THIRU S, EVANS D.B, McMASTER P, DUNN D.C, GRADDOCK G.N, HENDERSON R.G, AZIZ S, LEWIS P. Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases, and 2 livers. *The Lancet* 2:1033-1036, 1979.
71. GRENVIK A, GORDON R. Postoperative care and problems in liver transplantation. *Transplant. Proc.* 19 (4):26-33, 1987.

72. DUNN D.C, WHITE D.J.G, HERBERTSON B.M, WADE J. Prolongation of kidney survival during and after cyclosporin A therapy. *Transplantation* 27:359-361, 1979.
73. GREEN C.J, ALLISON A.C. Extensive prolongation of rabbit kidney allograft survival after short-term cyclosporin A treatment. *Lancet* 1:1182-1183, 1978.
74. CALNE R.Y, WHITE D.J.G, ROLLES K, SMITH D.P, HERBERTSON B.M. Prolonged survival of pig orthotopic heart grafts treated with cyclosporin A. *Lancet* 1:1183-1184, 1978.
75. STARZL T.E, IWATSUKI S, VAN THIEL D.H, GARTNER J.G, ZITELLI B.J, MALATAK J.J, SCHADE R.R, SHAW B W, HAKALA T.R, ROSENTHAL J.T, PORTER K.A. Evolution of liver transplantation. *Hepatology* 2:614-636, 1982.
76. WHITE D.I.G. Immunosuppression. In Calne R.Y. (ed). *Liver Transplantation*, London. Grune Stratton, pag.207, 1983.
77. CALNE R.Y. Twenty years experience of immunosuppression in organ transplantation. *Transplant. Proc.* 14:91-97, 1982.
78. KUNG P.E, GOLSTEIN G, REINHERZ E.L, SCHLOSSMAN S.F. Monoclonal antibodies defining distinctive human T cell surface antigens. *Science* 206:347-349, 1979.
79. KOHLER G, MILSTEIN C. Continuous cultures of fused cells

secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256:495-497, 1975.

80. CHATENOND L, CHKOFF N, KREIS H, BACH J.F. Interest in and limitation of monoclonal anti-T cells antibodies for the follow-up of renal transplant patients. *Transplantation* 36:45-50, 1983.

81. FUNG J.J, MARKUS B.H, GORDON R.D, ESQUIVEL C.O, MAKOWKA L, TZAKIS A, STARZL T.E. Impact of orthoclone OKT3 on liver transplantation. *Transplant. Proc.* 19 (1):37-44, 1987.

82. COSIMI A.B, CHO S.I, DELMONICO F.L, KAPLAN M.M, ROHVER R.J, JENKINS R.L. A randomized clinical trial comparing OKT3 and steroids for treatment of hepatic allograft rejection. *Transplantation* 43:91-95, 1987.

83. MARKUS B.H, FUNG J.J, GORDON R.D, IWATSUKI S, ESQUIVEL C.O, MAKOWKA L, STARZL T.E. Effect of OKT3 on survival and rate of retransplantation. *Transplant. Proc.* 19 (3):61-62, 1987.

84. MARTORELL J. Anticuerpos linfocitotóxicos de interés en el trasplante renal. Ed. Toray S.A. Barcelona, 1983.

85. TERASAKI P, MARCHIORO T.L, STARZL T.E. Histocompatibility testing. Washington DC: National Acad. Science National Research Council, pag. 83, 1965.

86. DUQUESNOY R.J. Is there hyperacute rejection of the liver? *Transplant. Proc.* 21:3506-3507, 1989.

87. KOVITHAVONGS T, YACYSHYN V, ROHACHUK K, DOSSETOR J.B. Experience with donor-specific cytotoxic T cell monitoring for kidney transplant rejection and strategy for improvement. *Transplant. Proc.* 20 (1):95-97, 1988.
88. IWATSUKI S, IWAKI Y, KANO T, KLINTMALM G, KOEP L.J, WEIL R, STARZL T.E. Successful liver transplantation from crossmatch positive donors. *Transplant. Proc.* 13 (1):286-288, 1981.
89. FUNG J, MAKOWKA L, TZAKIS A, KLINTMALM G, DUQUESNOY R.J, GORDON R.D, TODO S, GRIFFIN M, STARZL T.E. Combined liver-kidney transplantation: Analysis of patients with preformed lymphocytotoxic antibodies. *Transplant. Proc.* 20(1):88-91, 1988.
90. FUNG J, GRIFFIN M, DUQUESNOY R.J, SHAW B, STARZL T.E. Successful sequential liver-kidney transplantation in a patient with preformed lymphocytotoxic antibodies. *Transplant. Proc.* 19 (1):767-768, 1987.
91. MARGREITER R, KORNBERGER R, KOLLER J, STEINER E, SPIELBERGER M, AIGNER F, SCHMID T, VOGEL W. Can a liver graft from the same donor protect a kidney from rejection ? *Transplant. Proc.* 20 (1) Suppl 1:522-523, 1988.
92. DEMETRIS A.J, MARKUS B. Immunopathology of liver transplantation *Crit. Rev. Immunol.* 9 (2): 67-92,1989.
93. KNECHTLE S.J, KOLBECK P.C, TSUCHIMOTO S, COUNDOURIOTIS

- A, SANFILIPPO F, BOLLINGER R.R. Hepatic transplantation into sensitized recipients. Demonstration of hyperacute rejection. *Transplantation* 43 (1):8-12, 1987.
94. GUBERNATIS G, LAUCHART W, JONKER M, STEINHOFF G, BORNSCHEUER A, NEUHAUS P, VAN ES A.A, KEMNITZ J, WONIGEIT K, PICHLMAYR R. Signs of hyperacute rejection of liver grafts in rhesus monkeys after donor-specific presensitization. *Transplant. Proc.* 19 (1):1082-1083, 1987.
95. STARZL T.E, DEMETRIS A.J, TODO S, KANG Y, TZAKIS A, DUQUESNOY R, MAKOWKA L, BANNER B, CONCEPCION W, PORTER K.A. Evidence for hyperacute rejection of human liver grafts: The case of the canary kidneys. *Clin. Transplantation* 3:37-45, 1989.
96. REGO J, PREVOST F, RUMEAN J.L, MODESTO A, FOURTAINIER G, DURAND D, SUC J.M, OHAYON E, DUCOS J. Hyperacute rejection after ABO- incompatible orthotopic liver transplantation. *Transplant. Proc.* 19:4589-4590, 1987.
97. DEMETRIS A.J, JAFFE R, TZAKIS A, RAMSEY G, TODO S, BELLE S, ESQUIVEL C, SHAPIRO R, ZPAKO A, MARKUS B, MOROZEC E, VAN THIEL D.H, SYRYN G, GORDON R, MAKOWKA L, STARZL T.E. Antibody mediated rejection of human liver allografts: Transplantation across ABO blood group barriers. *Transplant. Proc.* 21:2217-2220. 1989.
98. GUGENHEIM J, SAMUEL D, FABIANI B, SALIBA F, CASTAING D,

REYNES M, BISMUTH H. Rejection of ABO incompatible liver allograft in man. *Transplant. Proc.* 21:2223-2224, 1989.

99. ANGSTAD J, JARRELL B, MADDREY W, MUÑOZ S, YANG S.L, MORITZ M, CARABASI A. Hemolysis in ABO-incompatible liver transplantation. *Transplant. Proc.* 19:4595-4597, 1987.

100. BLOMQUIST B.I, ELEBORG L, LANTZ B, SHANWELL A, ERICZON B.G. Erythrocyte antibodies in liver transplantation. A practical and theoretical problem. *Transplant. Proc.* 19:4598-4599, 1987.

101. GORDON R.D, IWATSUKI S, ESQUIVEL C.O, TODO S, MAKOWKA L, TZAKIS A, MARSCH J.W, STARZL T.E. Experience with primary liver transplantation across ABO blood groups. *Transplant. Proc.* 19:4575-4579, 1987.

102. WENTE D.S.G, GORE S.M, BARROSO E, CALNE R.Y. The significance of ABO blood groups in liver transplant patients. *Transplant. Proc.* 19:4571-4574, 1987.

103. JENKINS R.L, GEORGI B.A, GALLIK-KARLSON C.A, POHVER R.J, KHETTRY V, DZIK W.S. ABO mismatch and liver transplantation. *Transplant. Proc.* 19:4580-4585, 1987.

104. STEININGER R, MUHLTACHER F, HAMILTON G, ZADROBILEK E, HOCKER P, HAJEK A, PIZA F. ABO incompatibility in liver transplantation: A simple center experience. *Transplant. Proc.* 19:4586-4588, 1987.

105. BALDWIN III W.M, SANFILIPPO F. Antibodies and graft rejection. *Transplant. Proc.* 21:605-608, 1989.
106. IANHEZ L, SALDANHA L.B, PAULA F.J, DAVID NETO E, SABBAGA E, ARAP S, MARIN M.L, ROSALES C, GUILHERME L, RODRIGUES H, KALIL J. Humoral rejection with negative crossmatches. *Transplant. Proc.* 21:720-721, 1989.
107. KALIL J, GUILHERME L, NEUMANN J, ROSALES C, MARIN M, SALDANHA L, CHOCAIR P.R, IANHEZ L.E, SABBAGA E. Humoral rejection in two HLA identical living related donor kidney transplants. *Transplant. Proc.* 21:711-713, 1989.
108. WETZSTEON P.J, HEAD M.A, FLETCHER L.A, BARRY J.M, NORMAN D.J. Successful transplantation across positive crossmatches: A result of detailed pretransplant antibody analysis. *Transplant. Proc.* 21:714-715, 1989.
109. TING A. What crossmatches are required in organ transplantation ? *Transplant. Proc.* 21:613-614, 1989.
110. EDWARDS L.C, NIKAEIN A, BRYAN C, GONWA T, KLINTMALM G, HUSBERG B, WHITE M, STONE M.J. The predictive role of immunologic test in liver transplant rejection. *Transplant. Proc.* 21:2282-2283, 1989.
111. KAMADA N. The immunology of experimental liver transplantation in the rat. *Immunology* 55:369, 1985.

112. ANDRZEJEWSKI W, BROLSCH CH. Postoperative reactions of rats after orthotopic liver transplantation; A model for the human response ? *Eur. Surg. Res.* 14:428-439, 1982.
113. BON-VAN NOORLOS A.A, et al. Liver allograft rejection in pigs. Histology of the graft and role of swine lymphocyte antigen D. *J. Surg. Res.* 37:269-276, 1984.
114. MARKUS B.H, FUNG J.J, ZEEVI A, DEMETRIS A.J, DUQUESNOY R.J. Analysis of T lymphocytes infiltrating human hepatic allografts. *Transplant. Proc.* 19 (1):2470-2473, 1987.
115. MARKUS B.H, DUQUESNOY R.J, GORDON R.D, FUNG J.J, VANEK M, KLINTMALM G, BRYAN C, VAN THIEL D, STARZL T.E. Histocompatibility and liver transplant outcome does HLA exert a dualistic effect ? *Transplantation* 46 (3):372-377, 1988.
116. ZINKERNAGEL R.M, DOHERTY P.C. MHC-restricted cytotoxic T cells: Studies on the biological role of polymorphic major transplantation antigens determining T- cell restriction-specificity, function, and responsiveness. *Adv. Immunol.* 27:51-177, 1979.
117. QUIGSTAD E, BRUSERUD O, THOSSBY E. The role of human class II molecules in actuation of T4 lymphocytes. In: Solheim BG, Moller E, Ferrone S, eds: HLA class II antigens. Springer-Verlang. Berlin, pag. 473, 1986.
118. TIWARI J.L, TERASAKI P.I. HLA and disease associations. Springer-Verlang. New York, 1985.

119. OPELZ G, VOGTEN A.J, SUMMERSKILL W.H, et al. HLA determinants in chronic active liver disease: Possible relation of HLA-Dw3 to prognosis. *Tissue Antigens* 9 (1):36-40, 1977.
120. CHAPMAN R.W, VARGHESE Z, GAUL R, PATEL G, KOKINON N, SHERLOCK S. Association of primary sclerosing cholangitis with HLA-B8. *Gut*. 24:38-41, 1983.
121. TAIT B.D, MACKAY I.R. HLA and alcoholic cirrhosis. *Tissue Antigens* 19 (1):6-10, 1982.
122. GUBERNATIS G, KEMNITZ J, TUSCH G, RINGE B, BUNZENDAHL H, RIEDEL T, MULLER R, PICHLMAYR R. Different features of acute liver allograft rejection, their outcome and possible relationship to HLA-compatibility. *Transplant. Proc.* 21:2213-2214, 1989.
123. IWAKI Y, KOBAYHASI M, STARZL T.E. Effect of HLA matching on orthotopic liver transplantation. *Proceedings of 10th CTS Anniversary and 100.000 CTS Transplants.* pág.68. Heidelberg. May 10-13.1992.
124. KOBAYHASI M, IWAKI Y, YAGIHASHI A, NOGUCHI K, KONNO A, TERASAWA K, YOSHIDA Y, STARZL T.E. Effect of HLA matching on orthotopic liver transplantation. *Proceedings of XIVth International Congress of the Transplantation Society*, pág.174. París August 16-21.1992.
125. DONALDSON P.T, O GRADY J, PORTMANN B, DAVIS H, ALEXANDER G.J.M, NEUBERGER J, THICK M, CALNE R.Y. Evidence for an immune response to HLA class I antigens in the vanishing

biledut syndrome after liver transplantation. *Lancet* 1:945-948, 1987.

126. DONALDSON P.T, ALEXANDER G.J.M, O'GRADY J G, NEUBERGER J, PORTMANN B, DAVIES H, THICK M, CALNE R, WILLIAMS R. Reassessing the value of tissue matching in human liver transplantation. *Hepatology* 6 :1119, 1986. (abstract).

127. OGUMA S, ZERBE T, BAUNER B, BELLE S, STARZL T.E, DEMETRIS

A.J. Chronic liver allograft rejection and obliterative arteriopathy: Possible pathogenic mechanisms. *Transplant. Proc.* 21:2203-2207, 1989.

128. DEMETRIS A.J, MARKUS B, BURMHAM J, NALESMIK M, GORDON R.D, MAKOWKA L, STARZL T.E. Antibody deposition in liver allografts with chronic rejection. *Transplant. Proc.* 19 (4) suppl.5:121-125, 1987.

129. STEINHOFF G, WONIGEIT K, PICHLMAYR R. Analysis of sequential changes in major histocompatibility complex expression in human liver grafts after transplantation. *Transplantation* 45 (2):394-401, 1988.

130. GROND J, GOUW A.S.H, POPPEMA S, SLOOFF M.J.H, GIPS C.H. Chronic rejection in liver transplants: A histopathologic analysis of failed grafts and antecedent serial biopsies. *Transplant. Proc.* 18 (5) suppl.4:128-135, 1986.

131. DEMETRIS A.J, MARKUS B.H, SAIDMAN S, FUNG J, MAKOWKA L, DUQUESNOY R.J, STARZL T.E. Establishment of primary cultures

of human biliary epithelium and induction of class II major histocompatibility complex antigens by interferon gamma. *Transplant Proc.* 20 (1):728-730, 1988.

132. O'GRADY J.G, ALEXANDER G.J, SUTHERLAND S, DONALDSON P.T, HARVEY F, PORTMANN B, CALNEY R.Y, WILLIAMS R. Cytomegalovirus infection and donor recipient HLA antigens: Interdependent co-factor in pathogenesis of vanishing bile duct syndrome after liver transplantation. *Lancet* 2:302-305, 1988.

133. PAYA C.V, WIESNER R.H, HERMANS P.E, LARSON-KELLER J.J, ILSTRUP D.M, KROM R.A.F, MOORE S.B, LUDWIG J, SMITH T.F. Lack of association between Cytomegalovirus Infection, HLA matching and the Vanishing Bile Duct Syndrome after liver Transplantation. *Hepatology* 16:66-70, 1992.

134. CALNE R.Y. In *Liver Transplantation* (R.Calne Ed.) Grune & Stratton. 1983. pág. 302.

135. ADAMS D.H, WANG L, HUBSCHER S.G, NEUBERGER J.M. Hepatic endothelial cells targets in liver allograft resection ? *Transplantation* 47:479-482, 1989.

136. GRANDE L, RIMOLA A, GARCIA-VALDECASAS J.C, MAS A, FUSTER J, NAVASA M, LACY A.M, LLACH J, GONZALEZ X, ROBUSTE J, VISA J. Recovery of liver graft after initial poor function. *Transplantation* 53: 228-230, 1992).

137. GARCIA-VALDECASAS J.C, GONZALEZ X, GRANDE L, RIMOLA A, NAVASA M, FUSTER J, LACY A.M, CUGAT E, VISA J. The use of the

University of Wisconsin (UW) and Euro-Collins (EC) solutions either alone or in a combined method. *Transplant Int.* 5: 77-80,1992.

138. HOWARD T.K, KLINTMALM G.B.C, COFER J.B, HUSBERG B.S, GOLSTEIN R.M, GONWA T.A. The Influence of preservation injury on rejection in the hepatic transplant recipient. *Transplantation* 49:103-107,1990. Howard *Transplantation* 49:103,1990),

139. CAMPBELL D, MERION R, HAM J, LUCEY M, HENLEY K, TURCOTTE G. Hepatic preservation with University of Wisconsin Solution is associated with reduced allograft rejection. *Transplant Proc.* 23:1547-1549, 1991.

140. GORDON R.D, IWATSUKI S, ESQUIVEL C.O, TZAKIS A, TODO S, STARZL T.E. Liver transplantation across ABO blood groups. *Surgery*, 100 (2):342-348, 1986.

141. MORENO E.,LANDA I.,CALLEJA I.J.,GOMEZ M.,JOVER J.M., ARIAS J.,BERENHAUSER G.,COLINA F. Necrosis de los conductos biliares como expresión del rechazo incontrolable en el trasplante hepático entre grupos ABO incompatibles. *Rev.Esp.Enf.Ap.Digest.* 75; 6-II:685-689,1989.

142. REDING R, VEYCKEMANS F, DE VILLE J, DE HEMPTINNE B, CARLIER M, VAN OBERGH L, MOULIN D, REYNAERT M, LATINNE D, VRAUX H, JAMART J, RAHIER J, OTTE J.B. ABO-incompatible orthotopic liver allografting in urgent indications. *Surg.Gynecol.Obstet.* 174:59-64, 1992.

143. TAKAYA S, DUQUESNOY R, IWAKI Y, DEMETRIS J, YAGIHASHI A, BRONSTHER O, IWATSUKI S, STARZL T.E.

Positive Crossmatch in Primary Human Liver Allografts Under Cyclosporine or FK 506 Therapy. *Transplant Proc* 23:1547-1549. 1991

144. TAKAYA S, BRONSTHER O, IWAKI Y, NAKAMURA K, ABU-ELMAGD K, YAGIHASHI A, DEMETRIS J, KOBAYASHI M, TODO S, TZAKIS A, FUNG J.J, STARZL T.E. The adverse impact on liver transplantation of using positive cytotoxic crossmatch donors. *Transplantation* 53:400-406,1992.

145. GUNSON B, HATHAWAY M, BUCKELS JAC, MAYER A, ELIAS E, McMASTER P, NEUBERGER JM. HLA matching in liver transplantation. A retrospective analysis. Proceedings of the 10th CTS Anniversary and 100.000 CTS Transplants. pág. 57. Heidelberg. May 10-13, 1992.

146. IWAKI Y, KOBAYASHI M, STARZL TE. Effect of HLA matching on orthotopic liver transplantation. Proceedings of the 10th CTS Anniversary and 100.000 CTS Transplants. pág. 57. Heidelberg. May 10-13, 1992.

147. MARKUS B.H, FUNG J.J, GORDON R.D, VANEK M, STARZL T.E, DUQUESNOY R.J. HLA histocompatibility and liver transplant survival. *Transplant Proc.* 19 (4):63-65, 1987.

148. MARKUS B.H, DUQUESNOY R.J, GORDON R.D, FUNG J.J, VANEK K.M, KLINTMALM G, BRYAN C, VAN THIEL D, STARZL T.E. Association of HLA compatibility and decreased liver transplant survival. *Transplant. Proc.* 20 (1):43-44, 1988.

149. STEVENS L, PIPER J, EMOND J, HEFFRON T, BAKER A, BROELDSCH C. Liver Transplantation for controversial indications: Alcoholic Liver Disease, Hepatic Cancers, and Viral Hepatitis. *Transplant.Proc.* 23: 1915-1916, 1991.
150. VAN THIEL D.H, CARR B, IWATSUKI S, TZAKIS A, FUNG J.J, STARZL T.E. Liver Transplantation for Alcoholic Liver Disease, Viral Hepatitis and Hepatic Neoplasms. *Transplant.Proc.* 23: 1917-1921, 1991.
151. NEUBERGER J.M. Transplantation for Alcoholic Liver Disease. *BMJ* 299:693-694, 1989.
152. BIRD G.L.A, O' GRADY J.G, HARVEY F.A.H, CALNE R.Y, WILLIAMS R. Liver transplantation in patients with alcoholic cirrhosis: selection criteria and rates of survival and relapse. *BMJ* 301:15-17, 1990.
153. STARZL T.E, VAN THIEL D.H, TZAKIS A, IWATSUKI S, TODO S, MARSH J.W, KONERU B, STASCHAK S, STIEBER A, GORDON R.D. Orthotopic Liver Transplantation for Alcoholic Cirrhosis. *JAMA* 260:2542-2544, 1988.
154. KUMAR S, STAUBER R.E, GAVALER J, BASISTA M, DINDZANS V, SCHADE R, RABINOVITZ M, TARTER R, GORDON R, STARZL T.E, VAN THIEL D.H. Orthotopic liver Transplantation for Alcoholic Liver disease. *Hepatology* 11:159-164, 1990.
155. OLBRISCH M.E, LEVENSON J.L. Liver Transplantation for Alcoholic Cirrhosis. *JAMA* 261:2958,1989.

156. MOSS A.H, SIEGLER M. Should Alcoholics compete equally for liver transplantation? JAMA 265:1295-1298, 1991

157. COHEN C, BENJAMIN M. AND THE ETHICS AND SOCIAL IMPACT COMMITTEE OF THE TRANSPLANT AND HEALTH POLICY CENTER. Alcoholics and Liver Transplantation. JAMA 265:1299-1301,1991.

158. BIRD G.L.A, WILLIAMS R. Treatment of advanced alcoholic disease. Alcohol & Alcoholism 25:197-206, 1990.

159. MAS A, BUTI M, ESTEBAN R, SANCHEZ-TAPIAS J.M, COSTA J, JARDI R, BRUGUERA M, GUARDIA J, RODES J. Hepatitis B Virus and Hepatitis D Virus Replication in HBsAg-positive Fulminant Hepatitis. Hepatology 11:1062-1065,1990.

160. CUERVAS-MONS V, GARRIDO A, BARRIOS C, PORTERO F, DE LA LOMA A, ALBILLOS A, ARDAIZ J, TURRION V, MORA N, HERRERA J, PEREIRA F, DE VICENTE E. Analysis of Cytomegalovirus reactivation after Liver Transplantation in Cytomegalovirus immunoglobulin G antibody seropositive patients prior to Transplantation. Transplant.Proc. 22:1798-1799,1990.

161. CAMPBELL D.A, MERION R.M, HAM J.M, LUCEY M.R, HENLEY K.S, TURCOTTE G.

Hepatic preservation with University of Wisconsin solution is associated with reduced allograft rejection. Transplant.Proc. 23:1547-1549,1991.