Tesis doctoral

Eficacia del esquema inmunosupresor con mTORi en la preservación de la función renal en el paciente trasplantado hepático

Tesis Presentada Por:

Jize Wang

Dirección De La Tesis:

Francisco Javier Padillo Ruiz
José María Álamo Martínez
Juan Carlos Gómez Rosado

SEVILLA, 2016

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Cirugía

Eficacia del esquema inmunosupresor con mTORi en la preservación de la función renal en el paciente trasplantado hepático

Tesis Presentada por Jize Wang,
para acceder al grado de Doctor en Medicina y Cirugía
por la Universidad de Sevilla

Directores:

Francisco Javier Padillo Ruiz,
José María Álamo Martínez y
Juan Carlos Gómez Rosado

SEVILLA, 2016

AGRADECIMIENTOS

A *Dr. Francisco Javier Padillo Ruiz*, director de esta tesis, por haberme brindado la oportunidad de este estudio, por su apoyo incondicional y motivación.

A *Dr. José María Álamo Martínez*, director de esta tesis, por su gran paciencia y enorme capacidad de esfuerzo, por sus ganas de aprender y enseñar al mismo tiempo. Su apoyo no solamente en el desarrollo del trabajo, sino también en mi formación en Trasplante Hepático.

A *Dr. Juan Carlos Gómez Rosado*, director de esta tesis, por su apoyo y su implicación en mi formación médica e investigadora.

A *Dr. Jordi Muntané Relat*, y los compañeros de Instituto de Biomedicina de Sevilla: *Sheila Pereira, Maria angeles Rodríguez, Elena Navarro*, por sus apoyo incondicional en el ámbito del laboratorio, por sus paciencia e interés demostrado, constribuyendo a mi formación investigación biomedicina.

A *Dres. Migeul Ángel Gomez, Luis Miguel Marín, Ganzalo Suarez, Carmen Bernal, Carmen cepeda*, integrantes de la Unidad de Cirugía Hepatobiliopancreática y Trasplante. Por sus introducción y enseñanza en la cirugia hepatobiliopancreática, por su confianza y apoyo.

A mi familia.

Abreviaturas

AZA	azatioprina
AMF	ácido micofenólico
AUC	área bajo de curva
CsA	ciclosporina A
Cr	creatinina
CMV	citomegalovirus
Cmax	concentración plasmática máxima
DPI	disfunción primaria del injerto
DM	diabetes mellitus
EST	esteroides
EVE	everolimus
FDA	food drug administration
FG	filtrado glomerular
FK 506	tacrolimus
FHF	fallo hepático fulminante
GGT	gamma-glutamil transpeptidasa
TOH	trasplante ortotópico hepático
HCC	hepatocarcinoma
HTA	hipertensión arterial
ICN	inhibidor de calcineurina
IL	Interleuquina
IMPDH	inosina monofosfato deshidrogenasa
IgG	inmunoglobulina G
ISP	inhibidores de la señal de proliferación
mTOR	la diana de la rapamicina de mamífero
mTORi	inhibidor de la diana de la rapamicina de mamífero
MELD	modelo de la enfermedad hepática terminal
MMF	mofetil micofenolato
RETH	registro europeo de trasplante hepático
RAC	rechazo agudo celular
RC	rechazo crónico
SRL	sirolimus
TAC	tacrolimus
TIPS	shunt porto-sistémico transyugular intrahepático
VHB	virus hepatitis B
VHC	virus hepatitis C
VIH	virus de inmunodeficiencia humano
VCI	vena cava inferior

ÍNDICE

1. Introducción 3

1.1. Historia de trasplante hepático 4

1.2. Indicación y contraindicación de trasplante hepático 8

1.2.1. Indicación de trasplante hepático 8
1.2.2. Procedimiento trasplante hepático 15
1.2.3. Contraindicación de trasplante hepático 18

1.3. Técnica quirúrgica 19

1.3.1. Técnica de donación 19
1.3.1.1. Extracción Clásica 19
1.3.1.2. Extracción En Bloque (Nakazato) 22
1.3.2. Técnica en el receptor 23
1.3.2.1. Hepatectomía total 24
1.3.2.2 .Reconstrucción vascular y biliar 27
1.3.3. Los avances en trasplante hepático 30

1.4. Complicaciones de trasplante hepático 34

1.4.1. Complicación postoperatorio inmediato 34
1.4.2. Complicación a largo plazo 39

1.5. Inmunosupresión en el trasplante hepático 42

1.5.1. Inhibidores de la calcineurina 45
1.5.1.1. Ciclosporina A 46
1.5.1.2. Tacrolimus 49
1.5.1.3. Toxicidad de los inhibidores de la calcineurina 50
1.5.2. Micofenolato-mofetilo 53
1.5.3. AntiCD25 57
1.5.4. MTORi 58
1.5.4.1. Farmacocinética del Sirolimus 60
1.5.4.2. Farmacocinética del Everolimus 62
1.5.4.3. Vía metabólica de mTORi 65
1.5.4.4. Efecto secundario del grupo mTORi 68
1.5.4.5. MTORi y función renal 70
1.5.4.6. MTORi en ámbito de la oncología 71

2. HIPÓTESIS 75

3. OBJETIVOS 77

4. MATERIAL Y MÉTODOS 79

4.1. Bloque de estudio clínico 81
4.1.1. Diseño del estudio clínico 81
4.1.2. Pacientes 81
4.1.3. Variables de estudio clínico 84
4.1.4. Análisis estadístico de estudio clínico 85
4.2. Bloque de estudio exprimental 86
4.2.1. Material y cuidado del animal 86
4.2.2. Grupos experimentales 87
4.2.3. Anestesia y preparación prequirúrgica 88
4.2.4. Sacrificio y obtención de muestras 88
4.2.5. Preparación de muestra 89
4.2.6. Variables de estudio exprimental 89
4.2.7. Análisis estadistico de estudio exprimental 92

5. RESULTADOS 93

5.1. Seguridad de mTORi en paciente del trasplante hepático 94
5.1.1. Efectos adversos 94
5.1.2. Infecciones 102
5.1.3. Rechazo 103
5.1.4. Suspensión y mortalidad de mTORi 105
5.2. Parametros evolutivos de función renal 109
5.3. Análisis de factores asociados a la disfunción renal 115
5.4. MTORi y la susperviviencia 126
5.5. Resultados deestudio experimental 129
5.5.1. Resultado de histológico 129
5.5.2. Resultado de inmunohistoquímica 135

6. Discusión 138

6.1. ¿Es la conversión a mTORi segura en el paciente trasplantado hepático? 139
6.2. ¿Es eficaz la conversión a mTORi en mejorar la función renal? 145
6.3. ¿Existen diferencias en el daño renal a nivel histológico entre mTORi e ICN? 150

7. Concluciones 153

8. Bibliográfia 155

1. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1.1 HISTORIA DEL TRASPLANTE HEPATICO

Se considera transplante hepático (TH) al tratamiento utilizado en pacientes con hepatopatías agudas o crónicas cuando se hayan agotado otras alternativas terapéuticas y cuando la esperanza de vida estimada sea inferior al año, a la que se prevea con el trasplante.

La investigación sobre la posibilidad de TH se inició antes de la década de 1960. Welch *et al* [(1)] fue el primero en describir el transplante de hígado como un tratamiento y propuso el trasplante hepático ectópico en la cavidad abdominal. Sin embargo, el trasplante hepático moderno es el Trasplante Ortotópico Hepático (TOH), el cual consiste en la exéresis del hígado enfermo seguida de la colocación en el mismo lugar anatómico de un hígado sano procedente de un donante de órganos, constituido por injerto la totalidad o una parte de un hígado [(2)]. Las técnicas iniciales de TOH fueron investigadas en los animales, Cannon *et al* [(3)] realizaron el primer TOH en modelo perro en el año 1956. Poco más tarde, en el año 1963, Starzl *et al* [(4)] intentó el primer TOH humano en el mundo, el receptor fue un niño de 3 años de edad, que falleció durante la cirugía debido al trastorno de la coagulación y la hemorragia descontrolada .

No fue hasta el año 1967 que Starzl *et al* [(5)] realizó satisfactoriamente el primer TOH, permitiendo la supervivencia del paciente durante más de un año. Después de este éxito, Starzl *et al* [(6)] publicó un total de 170 casos de TOH entre el año 1968 y 1979, y el régimen inmunosupresor se basaba en la azatioprina (AZA), corticosteroides y globulina anti-linfocítica. Sin embargo, la tasa de supervivencia a un año era del 32%; la mortalidad por infecciones y/o a rechazos descontrolados era muy elevada y los receptores sufrieron múltiples efectos secundarios debido a las elevadas dosis de esteroides (EST) requeridas [(7)]. Utilizando el mismo régimen inmunosupresor, en La Universidad de Cambridge, Reino Unido, 138 casos de TOH fueron realizados entre el año 1968 y 1984, y los resultados fueron tantos decepcionantes [(8)].

En el año 1979, Calne *et al* introdujo por primera vez un nuevo inmunosupresor para el TOH, la ciclosporina A (CsA), un inhibidor de calcineurina (ICN). La tasa de supervivencia a un año fue aumentando hasta el 74% de los receptores del TOH con tratamiento de CsA [(9)]. La introducción de la CsA permitió estandarizar el TOH. La CsA aporta beneficios significativos en los resultados de TOH, como por ejemplo, control rechazo de órganos más fiable, reducción la dosis de esteroides, reducción del tiempo en la curación de cicatrización de heridas y control las complicaciones infecciosas.

Como lo dicho anteriormente, la CsA abrió una nueva era del trasplante de órganos sólidos y, por tanto, del TOH. Junto a las mejoras en la técnica quirúrgica, en el manejo anestésico y en la selección de los pacientes, la CsA fue una de las piezas claves para la mejoría de los resultados de TOH. En el año1983, *The National Institutes of Health*, *USA*, aprobada TOH como una terapia válida para el tratamiento de las hepatopatías en fase terminal [(10)]. Por otro lado, en el año 1988, la Universidad de Wisconsin desarrolló la primera solución de preservación (Solución de Wisconsin), la cual es una solución medio-intracelular, diseñada específicamente para el transporte y preservación de órganos donantes, activación de mayores tiempos de isquemia fría y aumento en el número de órganos donantes disponibles. Desde la década de 1980, el trasplante hepático se desarrolló desde un estado de experimental hasta llegar a ser un tratamiento establecido.

Durante la década de 1990, los resultados de TOH continúan mejorando con otro ICN inmunosupresor, Tacrolimus (TAC), el cual es similar a la CsA aunque con mayor potencia. Starzl *et al* [(11)] informaron por primera vez acerca del uso de Tacrolimus en TOH. El éxito de la sustitución de CsA por TAC se debió a la muestra de la seguridad y la eficacia de control al rechazo. Hasta ese momento, los ICNs (CsA y TAC) habían sido la base de los inmunosupresores en TOH. Al final de la década de 1990 se introdujo un nuevo inhibidor de la síntesis de purinas, el micofenolato de mofetilo (MMF), el cual se presentaba como una alternativa más selectiva y con mayor capacidad inmunosupresora que la AZA.

En realidad, los ICNs presentan efectos nefrotóxicos, los cuales son una fuente importante

de la mortalidad en TOH. Casi el 20% de los receptores de TOH tienen insuficiencia renal crónica (IRC) después de 5 años del trasplante [12]. El Everolimus (EVE) y el Sirolimus (SRL), dos nuevos inmunosupresores de Inhibidor De La Diana De La Rapamicina De Mamífero (mTORi), podrían satisfacer potencialmente este efecto adverso. En el año 2010, el EVE fue aprobada por la *Food Drug Administration* (FDA), USA, usándose junto con TAC con dosis reducidas de TAC y esteroides en los receptores de TOH para reducir la nefrotoxicidad de los ICNs. En el año 1999, el SRL fue aprobada por la FDA para el trasplante renal, debido a su capacidad de proteger la función renal. En el año 2002, la FDA notificó un incremento del riesgo de trombosis en la arteria hepática con el uso de SRL en los pacientes TOH *de novo*, aunque este hecho no se ha observado en series más recientes [13]. El SRL se ha utilizado en varios centros de TOH en el mundo para profilaxis y reducir la nefrotoxicidad de los ICNs.

Los considerables avances en la técnica quirúrgica de TOH aparecieron en el año 1988, los cuales llevaron al primer éxito en TOH separado. En el mismo año, el primer informe de éxito en TOH de donantes vivos fue publicado por Raia et *al*[14]. Otros avances técnicos fueron descritos por Broelsch *et al* [15], el cual desarrolló TOH pediátrico con órganos de donantes de tamaño reducido.

En Europa, el TOH fue aplicado ampliamente en la década de 1980, donde se sucedieron los países que realizaban su primer TOH.(Figura 1.1) Según la información del Registro Europeo De Trasplante Hepático (RETH), hasta el dicembre del año 2013, Europa contiene 155 institutos de 28 paises en los que se han realizado TOH, y realizaron 118441 actividades del TOH.

En España se realizó el primer TOH con éxito en el año 1984 en Barcelona. El número anual de TOH realizados ha aumentado progresivamente, llegando a 1.000 casos anuales en los últimos 10 años.(Figura 1.2) La elevada actividad de TOH se asocia a un alto índice de donación de higado. España presenta un índice de 14 donantes por millón de habitantes, el cual es el más elevado, no solamente de Europa, sino del mundo.

En la actualidad, casi 50 años después del primer TOH, las tasas de supervivencia de 1 y 5 años son del 85% y 73%, respectivamente [16]. Este éxito está asociado a los avances de la técnica quirúrgica, el progreso de la inmunosupresión, el avance en la conservación del injerto y la técnica anestésica, y con los adelantos en los cuidados perioperatorios.

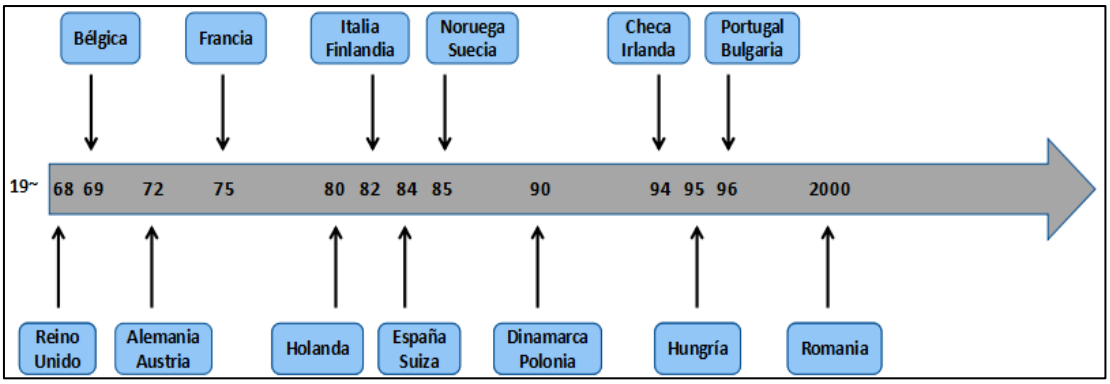


Figura 1.1 Año del primer TOH en los países de Europa.

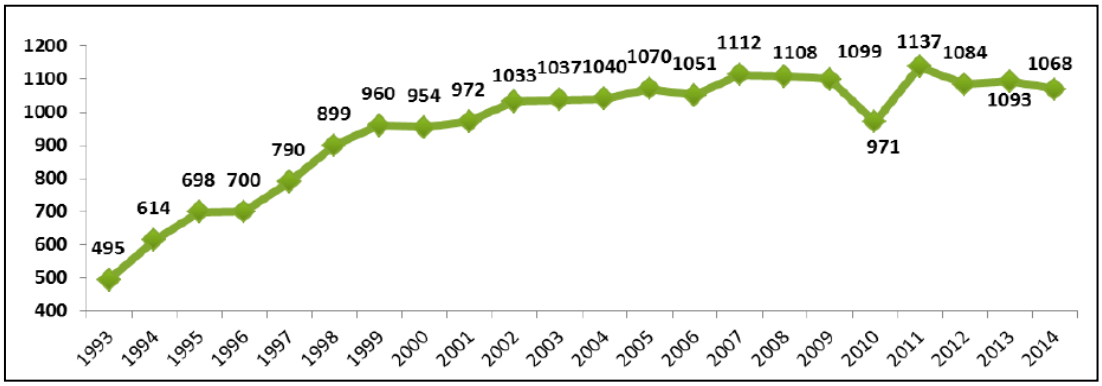


Figura 1.2 Actividad de TOH en España. 1993-2014

Tabla 1.1 Eventos seleccionados en la historia de trasplante hepático

AÑO	EVENTO
1955	El primer trasplante hepático ectópico experimental en animal (Welch)
1956	El primer experimental animal trasplante ortotópico hepático experimental en animal (Cannon)
1963	El primer trasplante ortotópico hepático en humano (Starzl)
1967	El primer trasplante ortotópico hepático en humano con supervivencia mayor a 1 año (Starzl)
1979	Introducción de CyA como inmunosupresor (Calne)
1983	Los Institutos Nacionales de Salud (USA) aprueban TOH como tratamiento de las hepatopatías en fase terminal
1988	Utilización de la Solución Wisconsin para la preservación de los órganos
1989	El primer trasplante hepático separado (Pichlmayr) El primer trasplante ortotópico hepático con donante vivo (Raia)
1990	Introducción del Tacrolimus como inmunosupresor(Starzl)
2010	La *Food Drug Administration* (USA) aprueba el Everolimus como tratamiento en el trasplante ortotópico hepático

1.2. INDICACIÓN Y CONTRAINDICACIÓN DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

1.2.1. Indicación de trasplante hepático

Los objetivos generales del TOH son prolongar la supervivencia y mejorar la calidad de vida del paciente, a la vez que optimizar el uso de los organos disponibles [17]. En general, se recomienda realizar TOH en aquellos pacientes en los que se prevea una posibilidad de supervivencia sin el TOH menor o igual al 90% al año, con independencia de la etiología de la enfermedad que motive el TOH.

Los candidatos de receptores deben cumplir tres condiciones:

- Tener enfermedad incurable y mortal a corto plazo.
- No tener contraindicación.
- Ser capaz de comprender y aceptar lo que representa el trasplante así como la servidumbre que conlleva.

Se entiende por enfermedad incurable y mortal a corto plazo aquella que es progresiva e irreversible, con escasa o nula respuesta al tratamiento, con una mala calidad de vida y que presenta un bajo porcentaje de supervivencia al año.

Lista de las enfermedades tratamiento a trasplante hepático.

1. Enfermedades hepáticas crónicas
    - Colestáticas

      Cirrosis Biliar Primaria
      Cirrosis Biliar Secundaria
      Colangitis Esclerosante Primaria
      Atresia de Vías Biliares
      Enfermedad de Caroli
      Síndromes Colestáticos Familiares
    - Parenquimatosas

      Cirrosis Hepática de etiología viral (B,C,D,…)
      Cirrosis Hepática Alcohólica
      Cirrosis Hepática inducida por Drogas
      Cirrosis Hepática Autoinmune
      Cirrosis Criptogenética
    - Vasculares

      Enfermedad Veno-Oclusiva
      Síndrome de Budd-Chiari
      Fibrosis Hepática Congénita
2. Enfermedades neoplásicas hepáticas

      Hepatocarcinoma
      Metástasis de Tumores Neuroendocrinos
      Colangiocarcinoma
      Otras Neoplasias Hepáticas

3. Fallo hepático agudo ó subagudo

Insuficiencia hepática aguda grave secundaria a virus (A,B,C,D,…)
Insuficiencia hepática aguda grave por drogas
Síndrome de Reye
Criptogenética

4. Enfermedades metabólicas y geneticas

Aciduria Orgánica
Amiloidosis familiar hereditaria
Déficit de Alfa -1 Antitripsina
Deficiencias enzimáticas en el ciclo de la Urea
Deficiencias de factores de la coagulación
Enfermedad de Wilson
Galactosemia
Glucogenosis Tipo I y IV
Hemocromatosis
Hemofilia A y B
Hiperlipoproteinemia Homocigótica del tipo II
Protoporfiria
Tirosinemia
Síndrome de Cligger-Najjar tipo I
Síndrome de Sanfilippo

Enfermedades hepáticas crónicas

Cirrosis biliar primaria: se considera cantidado a TOH cuando se superan niveles de bilirrubina de 6 mg/dl, o bien cuando existe prurito intratable, astenia invalidante u osteopenia grave.

Colangitis esclerosante primaria: el TOH debe realizarse en similares circunstancias a las indicadas en la CBP, se debe excluir la presencia de un colangiocarcinoma por su alta recidiva tras el trasplante, añadiendo además como indicaciones sin reservas las colangitis de repetición, la osteodistrofia y la malnutrición. En los pacientes con colitis ulcerosa asociada, descartar la presencia de cáncer colorrectal mediante colonoscopia.

Cirrosis por virus de la hepatitis B (VHB): el riesgo de reinfección de VHB relaciona

con el estado de replicación del VHB antes del trasplante, por lo tanto, los casos de VHB deben iniciarse un tratamiento antiviral con análogos de nucleótidos (lamivudina, adefovir, entecavir y telbivudina), para negativizar el ADN del VHB. Una vez realizado el TOH, la administración profiláctica de gammaglobulina hiperinmune antihepatitis B (GGHIB) consigue reducir significativamente la tasa de recidiva de VHB.

Cirrosis por virus de la hepatitis C (VHC): a pesar de demostrar alta recidiva de VHC tras de TOH, no se considera que este contraindicado su trasplante. La cirrosis por VHC es la segunda indicación más frecuente en España. No obstante, las publicaciones recientes demuestran que los resultados de TOH en pacientes con VHC eran inferiores a muchas otras indicaciones, en gran parte debido al impacto de la recidiva del VHC. La Asociación Europea para el Estudio del Hígado (AEEH) recomienda que a los pacientes en lista de espera de TOH con VHC se les debe ofrecer tratamiento antiviral (sofosbuvir, daclatasavir, ribavrin) de iniciarse tan pronto como sea posible para permitir a un curso de tratamiento, que puede mejorar la función hepática, reducir el riesgo y la consecuencia de VHC que infecta el injerto.

Cirrosis Hepática Alcohólica: esta enfermedad es la primera indicación en orden de frecuencia en España. El TOH estaría indicado en todo paciente con cirrosis alcohólica en estadio avanzado cuya función hepática no mejora tras un período mínimo de abstinencia de 6 meses, aunque no hay evidencia científica para establecer un período mínimo obligatorio. La reincidencia sigue siendo una preocupación importante aún la pérdida del injerto por la reincidencia es menor que para muchas indicaciones autoinmunes y virales. La hepatitis alcohólica aguda grave no acepta la indicación de TOH, por los resultados de TOH son menores que otras indicaciones.

Cirrosis Hepática Autoinmune: TOH es el tratamiento de elección en aquellos pacientes sin respuesta al tratamiento inmunosupresor y que desarrollan cirrosis hepática avanzada descompensada, se indica mediante el modelo de La Enfermedad Hepática Terminal (MELD) puntuación (> 16 puntos), o la detección de cáncer de hígado [18]. Los resultados tras TOH son buenos, con una supervivencia superior al 70% a los 10 años [19]. Apesar de la alta tasa de

recurrencia de la enfermedad en el injerto, la enfermedad recurrente puede progresar a cirrosis, 13% a 50% de los adultos con enfermedad recurrente desarrollan un fracaso del injerto [20], el riesgo de hepatitis autoinmune recurrente después de TOH no debe afectar a la decisión de trasplante, la tasa de supervivencia a 5 años de los pacientes y los injertos de la hepatitis autoinmune recurrente ha sido del 100% y el 87% [21].

Enfermedades neoplásicas hepáticas

Hepatocarcinoma (HCC): las mayoría centros del TOH coinciden en usar Criterios de Milán, que consisten en que los pacientes con tumor único menor o igual a 5 cm, o que tengan como máximo 3 nódulos, todos ellos de tamaño inferior o igual a 3 cm de diámetro; con independencia del estadio de Child-Pugh, excluyendo formalmente a los pacientes con extensión extrahepática, tumores multicéntricos y/o invasión vascular macroscópica.

Colangiocarcinoma: debido a la elevada tasa de recurrencia tras el TOH, tradicionalmente no se considera indicación de TOH, sin embargo, unos investigadores han sugerido que un protocolo estándar con la participación de rayo externo y la radiación endoluminal y la quimioterapia sistémica, con la linfadenectomía pueden ser candidatos adecuados para TOH [22].

Carcinoma fibrolamelar y metástasis hepáticas de tumores neuroendocrinos (los gastrinomas, insulinomas, glucagonomas, somatostatinomas y tumores carcinoides): se suelen asentar sobre el hígado sano. Si estos tumores son muy extensos y la capacidad funcional del hígado queda maltrecha tras la resección se indicará TOH. Los receptores deben ser bien seleccionados: jóvenes con metástasis hepáticas masivas y tumor primario resecado, en los que los síntomas producidos por las metástasis no se controlen con tratamiento médico; el TOH en estos casos es más un tratamiento paliativo que curativo, por la alta tasa de recurrencias.

Fallo hepático agudo o subagudo

Fallo hepática fulminante (FHF) de cualquier etiología (la viral o la tóxica) prensenta una supervivencia muy baja. La mortalidad en estos casos alcanza el 80% sin TOH, debido fundamentalmente a edema cerebral, sepsis o hipoglucemia. FHF representa el 8% de las indicaciones de TOH en Europa y el 7% en USA [16,23]. A nivel mundial, las infecciones por hepatitis virales son probablemente responsables de la mayoría de los casos de FHF. Sin embargo, en los paises desarrollodo, aproximadamente el 15% de los casos de este grupo siguen siendo de etiología indeterminada, el 50% siendo de etiología tóxica relacionado con droga, incluyendo el 42% de la toxicidad del paracetamol [24]. Los criterios del King's College Hospital (Tabla 1.2) son aceptados ampliamente para indicación del TOH, no sólo para identificar a quiénes tienen el mayor riesgo de la mortalidad por insuficiencia hepático fulminante (IHF), sino también para seleccionar quiénes son adecuados para el trasplante.

Tabla 1.2 Criterios del King's College Hospital

1. IHF inducida por paracetamol	
	• pH arterial <7,3 (independiente del grado de encefalopatía)
	• Encefalopatía grado III o IV
	• Tiempo de protrombina >100 segundos
	• Creatinina sérica >3,4mg/dl (301 µmol/L)
2. IHF inducida por otro etiología	
	Tiempo de protrombina >100 segundos (independiente del grado de encefalopatía)
	Y cualquiera tres de las siguientes variables (independiente del grado de encefalopatía)
	• Edad <10 años o >40 años
	• Etiología: hepatitis no A no B, hepatitis por halotano, reacciones idiosincrática a drogas.
	• Duración de la ictericia antes del comienzo de la encefalopatía >7 días
	• Tiempo de protrombina >50 segundos
	• Bilirrubina sérica >18 mg/dl (308 µmol/L)

Síndrome de Budd-Chiari

Esta enfermedad se indica TOH cuando la descompensación ascítica no ha tenido respuesta

al tratamiento médico ni el quirúrgico como Shunt Porto-Sistémico Transyugular Intrahepático (TIPS). Al final, si fallan todas las posibilidades terapéuticas, se procede al TOH.

Enfermedades metabólicas y genéticas

La corrección de las deficiencias enzimáticas congénitas y otros erroes innatos del metabolismo pueden ser indicación de TOH. El TOH es el tratamiento de elección para la hemocromatosis, cuando estos pacientes han desarrollado cirrosis descompensada o un CHC. En enfermedad de Wilson, el TOH está indicado siempre que exista insuficiencia hepatocelular y/o complicaciones de la hipertensión portal. Para La enfermedad amiloidosis familiar hereditaria, también se conoce como la polineuropatía amiloidótica familiar (PAF), el TOH es el único tratamiento eficaz. Se debe indicar lo más precozmente posible (antes de que se desarrolle malnutrición o afectación cardíaca o neurológica importantes), pudiendo así revertir las lesiones neurológicas más recientes[25].

Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)

VIH, coinfectados con el VHC o VHB, no se considera una contraindicación para el TOH en el dia de hoy, excepto si han desarrollado el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Sin embargo, la superviviencia de los receptores coinfectado con VHC/VIH fue peor que los receptores monoinfectado con VHC [26]. Para la indicación de TOH, se requiere una ausencia de viremia de VIH, con el tratamiento antirretroviral hasta un recuento de células CD4 encima de 100 células/ml, en algunas condiciones espaciales se limitaron minima de 200 células/ml, por ejemplo, presencia historia previa de infecciones oportunistas, ausencia la hipertensión portal, y presencia cirrosis compensada clínicamente [26].

Retrasplante hepático

Si el injerto falla de manera irreversible, independientemente de la causa, la única solución es el retrasplante. Este ha supuesto una mejoría significativa en la supervivencia de los pacientes con disfunción grave del injerto, aunque los resultados de un segundo TOH son peores en términos de supervivencia, en comparación con los del primer TOH [27]. Hay que evaluar de nuevo al paciente, sobre todo desde el punto de vista cardiovascular, para descartar la existencia de complicaciones secundarias a hipertensión arterial, diabetes o hiperglucemia, que con frecuencia desarrollan los pacientes trasplantados.

1.2.2. Procedimiento trasplante hepático

En los pacientes con enfermedad hepática crónica se evalúa principalmente con los modelos que predicen la supervivencia en ausencia de trasplante.

Existen dos modelos pronósticos para evaluar la supervivencia de los pacientes con hepatopatías crónicas terminales: **el índice de Child-Pugh** y **el score MELD** (Model for Endstage Liver Disease).

El índice de Child-Pugh

Este índice pronóstico más utilizado y consta de 5 variables de las que 3 reflejan la función hepática (albúmina, bilirrubina y tiempo de protrombina) y 2 se refieren a complicaciones de la enfermedad (ascitis y encefalopatía). (Tabla 1.3)

Tabla 1.3 Clasificación Child-Pugh de Severidad de Enfermedad Hepática

Parámetros	Puntos asignados		
	1	2	3
Ascitis	Ausente	Leve	Moderada
Bilirrubina, mg/dL	</= 2	2-3	>3
Albúmina, g/dL	>3,5	2,8-3,5	<2,8
Tiempo de protrombina			
*** Segundos sobre el control**	1-3	4-6	>6
*** RIN**	<1,8	1,8-2,3	>2,3
Encefalopatía	NO	Grado 1-2	Grado 3-4
Grado	Puntos	Sobrevida del paciente al año (%)	Sobrevida del paciente a los 2 años (%)
A: enfermedad bien compensada	5-6	100	85
B: compromiso funcional significativo	7-9	80	60
C: enfermedad descompensada	10-15	45	35

Una puntuación total de 5-6 es considerada grado A (enfermedad bien compensada); 7-9 es grado B (compromiso funcional significativo); y 10-15 es grado C (enfermedad descompensada). Estos grados se correlacionan con una sobrevida del paciente al año y a los 2 años.

El índice de Child Pugh es muy fácil de determinar, pero exixten inconvenientes. Tales son que no se ha obtenido en análisis multivariante; la valoración del grado de ascitis y encefalopatía es subjetiva; no discrimina cuando la enfermedad esta muy avanzada ya que tiene límites fijos para cada variable. A pesar de sus inconvenientes se sigue utilizando para valorar la indicación de trasplante hepático, que se considera indicado en los pacientes Child B y C.

Score MELD

El MELD se basa en fórmulas estadísticas de predicción del riesgo de muerte en un período de corto plazo (3 meses).

El MELD se calcula a partir de unos parámetros de laboratorio:

- Bilirrubina.
- INR (international normalized ratio) de la protrombina.
- Creatinina.

El valor de MELD se calcula con una formula basada en logaritmos neperianos de los parámetros mencionados:

Valor MELD = 0,957 X Loge creatinina (mg/dl) + 0,378 X Loge bilirrubina (mg/dl) + 1,120 X Loge INR + 0,643

El resultado se multiplica por 10 y se redondea al número entero más cercano. El valor va de 6 a 40, en proporción directa a la gravedad de la enfermedad.

El modelo MELD incluye el impacto de las variaciones de la evaluación del análisis de componentes en el laboratorio, una falta de reconocimiento de las diferencias entre la creatinina en macho y hembra y un potencial de desventaja en ciertos grupos de receptores, tales como aquellos con hiponatremia o aquellos con colangitis esclerosante primaria [28, 30]. La encefalopatía, los tumores y las enfermedades metabólicas son factores de riesgo no incluidos en el MELD [29]. El MELD se utiliza en pacientes mayores de 12 años.

La mejor utilidad del MELD en el TOH es como indice para priorizar a los pacientes de la lista de espera y obtener una justa distribución de los órganos obtenidos. Una puntuación de Child-Pugh superior a 7 (estadios B y C), o bien un índice MELD superior a 15 sientan la indicación de trasplante.

No obstante, existen circunstancias en algunos pacientes en los que la supervivencia disminuye drásticamente, cuales son bien por deterioro de la calidad de vida (como el prurito intratable), o bien por presentar una complicación mayor (como la ascitis, la encefalopatía, la hemorragia digestiva refractaria por hipertensión portal, el sindrome hepatorrenal, la

peritonitis bacteriana espontánea).

En realidad, el número de hígados donantes no es suficiente para los candidatos del receptor, y el número de pacientes en lista de espera cada vez es mayor, con el consiguiente incremento de la mortalidad en lista de espera. Algunas investigadores sugieren que la asignación de los recursos de órganos debe basarse principalmente en el acceso de los órganos de donantes cadáver a aquellos receptores cuyas calidad de vida es inaceptable pero sin la enfermedad en etapa terminal, tales como aquellos con prurito intratable, la poliquistosis hepática o encefalopatía intratable [30]. Es necesario elegir bien tanto a los donantes como a los receptores, optimizar los candidatos y determinar el momento adecuado para el trasplante, con el fin de obtener el mejor rendimiento posible de los órganos trasplantados.

1.2.3. Contraindicación de trasplante hepático

Existen contraindicaciones absolutas y contraindicaciones relativas. Las contraindicaciones absolutas engloban situaciones que impiden técnicamente la intervención quirúrgica o disminuyen de forma muy importante la supervivencia.

Las contraindicaciones absolutas son:

- SIDA
- Adicción activa a drogas o alcohol
- Enfermedad cardíaca, pulmonar o neurológica grave
- Sepsis no controlada fuera del conducto biliar
- Trombosis extensa eje esplenomesentérico

Las contraindicaciones relativas son:

- Infección por VIH +,
- Edad > 70 años
- Insuficiencia renal crónica

- Replicación activa del VHB
- Peritonitis bacteriana espontánea o colangitis tratadas menos de 48 horas
- La enfermedad psiquiátrica

Algunas contraindicaciones que antes se consideraban absolutas ahora son relativas, y algunas contraindicaciones relativas ahora son simplemente percibidas como inconvenientes.

1.3. TÉCNICA QUIRÚRGICA DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

1.3.1. Técnica de donación

Los hígados donantes para el TOH siempre se extraen de los donantes fallecidos por disfunción cardiorrespiratoria (muerte por parada cardiorrespiratoria) o por disfunción encefálica (muerte del cerebro).

1.3.1.1. Extracción Clásica

Los donantes por muerte del cerebro es la principal fuente de órganos para el TOH. La estándar cirugía de donación que se establece en este tipo de donantes consiste en una operación de extracción del hígado del donante, incluida la disección de la irrigación arterial hepática, la vena suprahepática, la vena porta y el conducto biliar, perfusión in situ y enfriamiento, y cirugía de banco.

Se abre el abdomen con una incisión de estereotomía mediana con una laparotomía media. Habrá que realizar una exploración y evaluación de los órganos abdominales para excluir tumores malignos, valorar el tamaño, color y consistencia del hígado. Una vez comprobada la

viabilidad de los órganos abdominales, mediante disección del hilio hepático, se identifica el colédoco, que se liga distalmente muy próximo a su porción retropancreática, y se secciona. Se realiza una incisión abierta en el fondo de la vesícula con el fin de extraer la bilis almacenada y realizar un lavado a través del extremo proximal del colédoco con suero fisiológico (Figura 1.3).

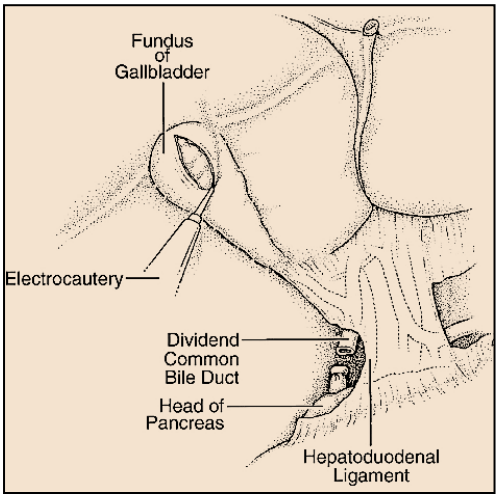


Figura 1.3 Incisión abierta por fondo de la vesícula, y valado lavado a través el extremo proximal del colédoco.

A continuación, se identifica la arteria hepática común, alejándose del hilio hepático en dirección al tronco celíaco. Se disecan las arterias pilóricas, gastroduodenal, gástrica izquierda y esplénica. Se ligan las arterias pilóricas y gastroduodenal, y se dejan referenciadas las arterias gástricas izquierda y esplénica. En este paso, se obliga a identificar bien la anatomía arterial, sin presencia de anomalías arteriales, como la arteria hepática izquierda que procede de la arteria gástrica izquierda o la arteria hepática que procede de la arteria mesentérica superior, la sección involuntaria conduce al fracaso del injerto en el receptor. [31]

En el siguiente paso, se liga la arteria mesentérica inferior y la arteria mesentérica superior. Se procede a la apertura transversal de la raíz del mesenterio para la disección de la vena mesentérica superior, por donde se realizará la canulación del sistema portal para la perfusión del hígado. Opcionalmente, se puede realizar canulación en la vena mesentérica inferior, la vena esplénica o incluso en la propia vena porta. Se diseccionará la aorta y vena cava inferior

(VCI), con una ligadura de la aorta a un nivel por encima de la bifurcación, y una ligadura VCI a un nivel por debajo de las venas renales.

La segunda canulación se crea en la aorta, donde se realizará después una ligadura del extremo distal de la aorta abdominal por encima de la bifurcación y, haciendo una sección transversal en la cara anterior de la aorta, se introduce una cánula arterial que se fija mediante la ligadura proximal. (Figura 1.4). Una vez concluida la canulación de la aorta y de la porta, se procede a insertar la aguja-catéter en la raíz de la aorta para perfundir la solución cardioplégica.

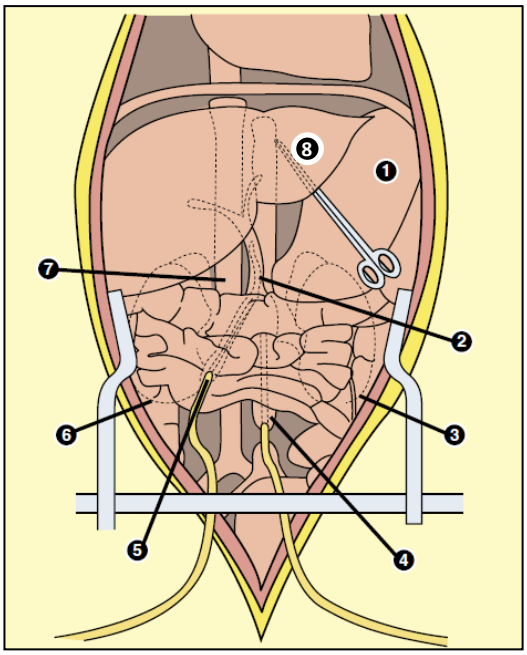


Figura 1.4 Canulación y perfusión *in situ* 1. Estomago 2. Vena portal 3. Riñon izquierdo 4. Canulación en Aorta 5. Canulación en Vena mesenterica superior 6. Riñon derecho 7. Vena cava inferior 8.Clamp aorta

A continuación, se realizará una perfusión *in situ* y un enfriamiento del hígado. El primer paso es la anticoagulación, se administra heparina sódica endovenosa en bolo, en una dosis de 3 mg/kg de peso. Al mismo tiempo, se bloquea la aorta con un clamp vascular en el nivel del hiato diafragmático. La perfusión se realiza con 4 litros de solución de Wisconsin, dos litros por aorta y dos litros por porta. Se procura acoplar el ritmo de ambas perfusiones, para que acaben de modo sincrónico.

Una vez enfriados los órganos, se procede a su extracción. La extracción clásica es la combinación de hígado-páncreas. El hígado está totalmente liberado de los elementos de fijación ligamentosos, y quedan por seccionar la vena cava infrahepática, por encima de las renales, la aorta abdominal con el tronco celíaco e, incluso, el ostium de la arteria mesentérica superior. El tronco celíaco debe ir con el hígado. En el páncreas, ambas arterias pancreaticoduodenales deben preservarse, mediante la disección del cuerpo y de la cola del páncreas. Se extrae el bloque hígado-páncreas para su posterior separación en banco. El tiempo de isquemia fría con la solución de Wisconsin es de 12-24 horas [32].

La cirugía de banco se debe realizar en unas condiciones de hipotermia (4 ºC) con la solución de Wisconsin. Esta fase contiene esqueletizar las estructuras vasculares hepáticas (vena cava inferior, vena porta y tronco celíaco), una resección del resto de tejidos adheridos (glándula suprarrenal, tejido linfograso y plexos) y reconstrucciones arteriales, para dejar el órgano en condiciones de ser implantado. Esta fase será realizada con lentitud y minuciosidad, para evitar lesiones yatrógenas y comprobar la ausencia de posibles fugas en los vasos que se habrán de anastomosar en el receptor.

Finalmente, el hígado se debe conservar y transportar en dos bolsas de plástico hermético y estéril que contiene la solución de preservación a 4 ºC, y se colocará dentro de una nevera portátil, llena de hielo.

1.3.1.2 Extracción En Bloque (Nakazato)

Esta técnica se descrita por Nakazato *et al* [33], se puede reducir al tiempo de la intervención quirúrgica en el donante, sobre todo en los donantes hemodinámicamente inestables. No requiere la disección *in situ* de los pedículos vasculares de los órganos intraabdominales, reduciéndose a la colocación de las cánulas aórtica, porta, de VCI y al lavado de la vesícula y vía biliar, ya que se realiza, posteriormente, en la cirugía de banco.

Mediante la incisión habitual descrita anteriormente, disección de la aorta e VCI por encima de la bifurcación, se introduce las cánulas a sus interiores en sentido ascendente para crear perfusión sistémica. Se secciona la arteria y vena mesentérica superior, por donde entrará la cánula en la distal de vena mesentérica superior para crear la perfusión de la porta. La ligadura de la aorta proximal se realiza a nivel torácico, por encima del hiato diafragmático, para lo que se secciona el hemidiafragma izquierdo y la pleura parietal. La perfusión se realiza de igual modo al descrito previamente.

Para la extracción de los órganos, se debe realizar la liberación de los ligamentos colo-hepático y colesplénico, exéresis del intestino delgado desde el ángulo de Treitz, mediante un aparato de autosutura, y desplazamiento del colon de la cavidad peritoneal. Se produce la evisceración del paquete intestinal, e identificación y sección de los dos uréteres a su entrada en la vejiga. A continuación, movilización "en bloque" de riñón, bazo y cola de páncreas a la izquierda, y de riñón e hígado a la derecha, seccionando el diafragma derecho alejado del hígado. Se secciona el esófago a nivel del hiato con un aparato de autosutura, y se secciona la aorta a nivel diafragmático, por encima de su ligadura, y de este modo se obtiene el bloque multivisceral, que incluye esófago distal, estómago, hígado, páncreas, bazo, duodeno, ambos riñones, grandes vasos y porciones de diafragma.

Mediante la separación de las vísceras en el banco, se inicia la disección para separar los riñones, así como el estómago, duodeno y bazo (en caso de no utilizar el páncreas) del resto del bloque para dejar los órganos en condiciones de ser implantado.

1.3.2. Técnica en el receptor

La quirúrgica del receptor de TOH contiene tres fases: 1. fase de hepatectomía total; 2. fase de implante hígado (reconstrucción vascular y biliar); 3. fase de hemostasia y cierre

abdominal. La técnica tradicional realizado con " *veno-venous bypass* " , se reemplazado por la técnica " *piggyback* ", no necesaria reemplazo la vena cava, con hepatctomia sin resección de cava con anastomosis directamente de las venas suprahepáticas.

1.3.2.1. Hepatectomía total

En la hepatectomía del receptor no existe una táctica quirúrgica única, sino que cualquiera es buena si consigue minimizar el sangrado. Se coloca al paciente en decúbito dorsal, con los brazos en abducción a 90 grados. La laparotomía más utilizada es la subcostal bilateral, excepcionalmente con prolongación vertical en la línea media (incisión en Mercedes). La incisión se extiende desde la línea axilar media o posterior del lado derecho hasta el borde externo del músculo recto izquierdo. Alternativamente se puede emplear la incisión en " J ".

Los elementos del hilio hepático deben seccionar lo más cerca posible del hígado con el objetivo de preservar suficiente tejido para la confección de las anastomosis. La disección y sección de la arteria hepática debe ser muy cuidadosa para no lesionar la íntima. Se identifica el colédoco, se rodea ampliamente para no correr el riesgo de lesionar las frágiles venas gruesas que lo rodean y se secciona. Una vez separadas las dos estructuras previas, queda expuesta la vena porta, que se disecciona y secciona cerca del parénquima hepático.

En este momento sería posible la resección del hígado, sin embargo, los receptores se complican frecuentemente por la hipertensión portal y coagulopatía, no toleran totalmente clamp de VCI, lo que reduce el retorno venoso cardíaco y provoca una caída sustancial en el gasto cardíaco. Para solucionar este problema, existen dos técnicas, *veno-venous bypass* o *piggyback.*

En primer lugar, la técnica *Veno-venous bypass,* o shunt veno-venoso. Este dispositivo y la cánula axilar se conectan al circuito extracorpóreo, se liberan los pinzamientos y se pone en

funcionamiento la bomba (Figura 1.5). Para su utilización se pinzan y canulan en la vena safena, la vena axilar y la vena porta. El tronco portal se canula en su origen y luego se secciona al ras de su bifurcación, tras haber ligado sus ramas derecha e izquierda. Se unen los extremos distales de las cánulas de la safena y de la porta con la ayuda de un dispositivo en "Y". La introducción del *veno-venous bypass* produce una estabilización significativa de los parámetros hemodinámicos mediante clamp en la vena porta e VCI, y pueden reducir ambos la hemorragia y los requerimientos de transfusiones, y una mejoría de la función renal [34]. La técnica estándar del TOH implica la resección de VCI por encima de las venas renales hasta el diafragma como parte de la hepatectomía del receptor [35].

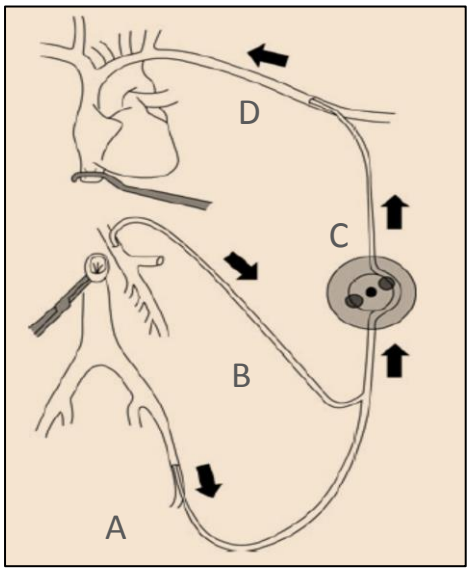


Figura 1.5 *Veno-venous bypass* A. Canulación de la cava inferior (vena safena) B. Canulación de esplenomeso-portal C. Bomba activa D. Canulación de la vena axilar

La técnica *Piggyback* consiste en la disección del hígado enfermo de VCI donde se une solamente por las venas hepáticas, se coloca un clamp parcial de VCI para permitir eliminar el hígado enfermo (Figura 1.6). Se caracteriza por conservar la continuidad de la vena cava del receptor para implantar en ella un segmento de vena cava del injerto que contiene el ostia de las venas hepáticas. Se indica a los pacientes quienes toleran la prueba de pinzamiento de VCI [36]. Esta técnica es descrita primero por Calne y Williams en el año 1968, pero fue popularizada por Tzakis veinte años más tarde [37]. Las ventajas de esta técnica son que

contienen disminución del riesgo de estenosis, fallas técnicas asociadas a la confección de dos anastomosis con VCI, reducción ambos del tiempo de operación y hemorragia [38,39].

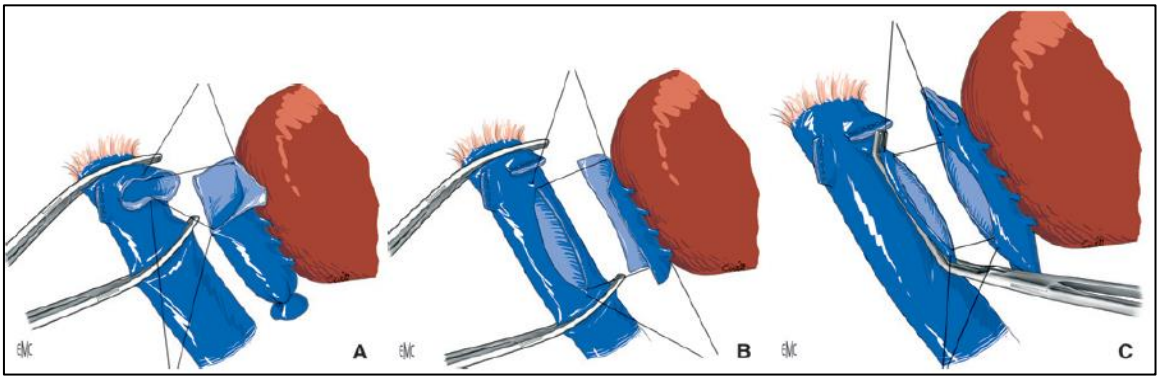


Figura 1.6 Los tres modos de implantación de tipo piggy-back del injerto. A. Término-lateral en los orificios reunidos de las venas hepáticas media e izquierda. B. Cara a cara. La vena cava del injerto se secciona en longitudinal y se sutura a la vena cava inferior del receptor. C. Laterolateral.

En esta técnica, se seccionan las venas suprahepáticas a nivel intrahepático, con el objeto de ganar el mayor segmento posible de vena a anastomosar. Frecuentemente, el tronco común de las venas hepáticas media e izquierda es muy corto, por lo que para facilitar la anastomosis de la cava suprahepática hay que preparar la zona de anastomosis de la vena cava. Se coloca sobre un disector el puente de tejido vascular que las separa de la luz de la cava y luego se secciona en el medio (Figura 1.7). Se asegura la impermeabilidad del muñón de la cava infrahepática obliterando los orificios de implantación de las venas del lóbulo de Spiegel, seccionadas durante la resección del hígado enfermo.

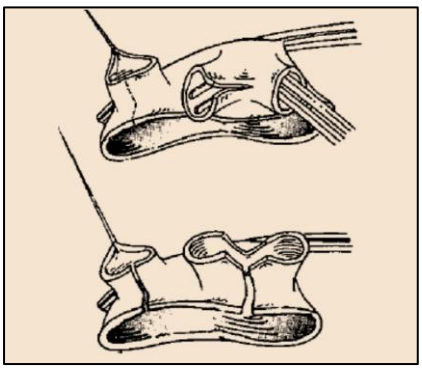


Figura 1.7 Preparación de las zonas de anastomosis de la vena cava. Plastia de ampliación de la cava suprahepática.

1.3.2.2. reconstrucción vascular y biliar

Una vez completada la hepatectomía, se realiza el implante del hígado que ha sido preparado en el banco. Se realizan primero las anastomosis vasculares en el siguiente orden: vena cava suprahepática o VCI si es receptor con *veno-venous bypass*, vena porta y arteria hepática.

En los receptores con *veno-venous bypass*, se realiza una anastomosis cava suprahepática primero y luego la cava infrahepática. Se introduce el injerto en el hipocondrio derecho, se utiliza el hilo de polipropileno 3/O, la sutura empieza en el ángulo izquierdo con los puntos que invierten la pared, poniendo en contacto la íntima de cada borde. Cuando se alcanza la mitad de la cara anterior, se utiliza el otro extremo para finalizar la anastomosis (Figura 1.8). Durante la confección de la sutura continua, se lava el hígado por vía portal, con una solución con albúmina, esto es esencial porque limpia el hígado del potasio contenido en la solución de preservación y vacía el aire que contiene la vena cava inferior.

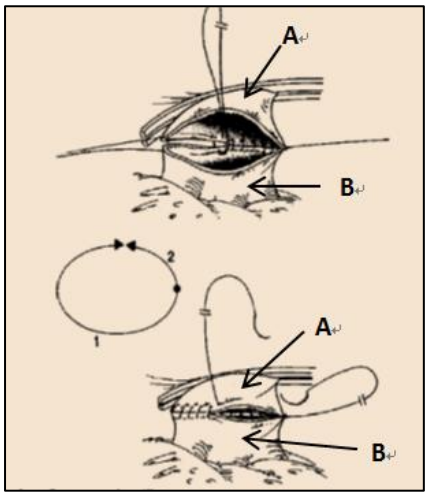


Figura 1.8 Anastomosis cava suprahepática A. Vena cava suprahepática B. Vena cava infrahepática

Para realizar la anastomosis de la vena porta, debe ser liberada la vena porta del receptor de la bomba de circulación. La anastomosis debe quedar recta, incluso con cierto grado de tensión, con el objeto de evitar acodamientos trombógenos. Se realiza la anastomosis

terminal-terminal mediante sutura continua de polipropileno 6/0. El nudo de la sutura se confecciona a distancia de la anastomosis, como dejando "factor de crecimiento" [40] (Figura 1.9). Una vez concluidas las anastomosis venosas, se puede dar la reperfusión del hígado, se libera primero la vena porta, inmediatamente después se libera la vena cava infrahepática y posteriormente la suprahepática. La mayoría de los centros de TOH favorecen la reperfusión del hígado cuando la anastomosis de la vena porta es completa. Sin embargo, otros favorecen reperfundir el hígado después de completar la anastomosis arterial, reperfusión a través de ambos, la arteria y la vena porta de forma simultánea. [41-43]

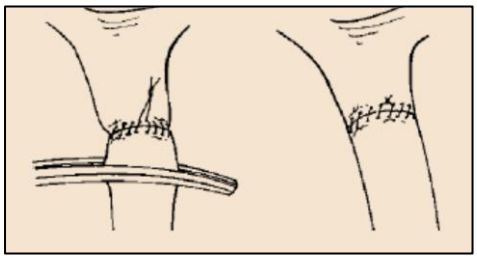


Figura 1.9 Creación del factor de crecimiento.

Si en la hepatectomía del receptor realizada con la técnica Piggyback se anastomosa la vena suprahepática de manera término-lateral con la cara anterior de la vena cava del receptor, la boca de la anastomosis se confecciona seccionando el puente venoso que separa los ostia de las venas hepáticas nativas. La realización de esta anastomosis exige, como en la forma estándar, un doble clampaje de la vena cava y cuando se ha terminado la anastomosis, se purga el injerto y se liga firmemente el extremo infrahepático de su segmento cava retrohepático [44]. La anastomosis de la vena porta se llevará a cabo de la manera descrita previamente.

La anastomosis de la arteria hepática está condiciona por el diámetro de las arterias del receptor y por la anatomía del donante. Normalmente se utilizará la bifurcación de las hepáticas o la bifurcación de la arteria hepática común del donante con la arteria hepática propia del receptor, confeccionando un parche de Carrel (Figura 1.10). Normalmente se utilizará sutura continúa de polipropileno 6/0 o 7/0.

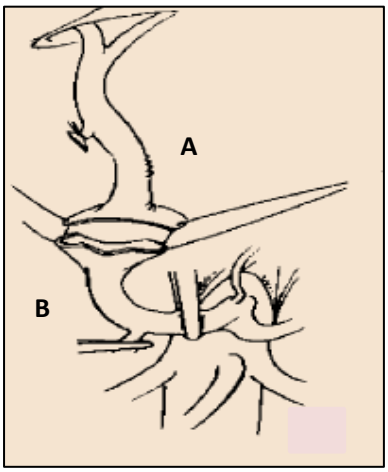


Figura 1.10 Anastomosis arteria, parche aórtica sobre la arteria hepática. A. Arteria hepática de injerto B. Arteria hepática de receptor

En la anastomosis biliar se realizará anastomosis coledococoledoco terminal-terminal, con puntos simples de monofilamento reabsorbible 5/0. Algunos grupos colocan un tubo de kehr como férula de esta anastomosis, para controlar la existencia del flujo biliar en los primeros días postoperatorios y ofrecer la posibilidad de pacificar la vía biliar intrahepática en caso de complicación o de duda respecto al estado de la anastomosis. En los casos en que no puede utilizarse la vía biliar del receptor (retrasplante, colangitis esclerosante...) se lleva a cabo una reconstrucción vía biliar mediante hepático-yeyunostomía anastomosis. Se realiza con un asa de yeyuno en Y de Roux.

En la última fase, se coagulan o ligan todos los puntos sangrantes. Se completará el estudio de las anastomosis con sondas de flujometría o mediante Eco-Doppler, para confirmarse que hay una buena hemostasia hepática. Al final, se dejarán drenajes y se llevará a cabo el cierre abdominal.

1.3.3. Los avances técnicos en trasplante hepático

Debido a que la mayoría de donantes son adultos y que existe una relativa escasez de donantes pediátricos, podemos decir que hay una elevada tasa de mortalidad en la lista de espera de pediatría. Además, los niños fallecidos son por espera de injertos de tamaño adecuado [45].

TOH de tamaño reducido

En esta técnica el hígado injerto se reduce en tamaño en el banco para llevar a cabo un injerto segmental a los receptores pediátricos. Tres son los injertos de tamaño reducido que son utilizados comúnmente: el segmento lateral izquierdo (segmentos II y III), el lóbulo izquierdo (segmentos II, III y IV) y el lóbulo derecho (segmentos V-VIII) (Figura 1.11). Este procedimiento es perjudicial para los receptores adultos debido a que se descarta una parte del hígado del donante, provocando un cambio en los órganos de los adultos que se utilizan en los niños [34].

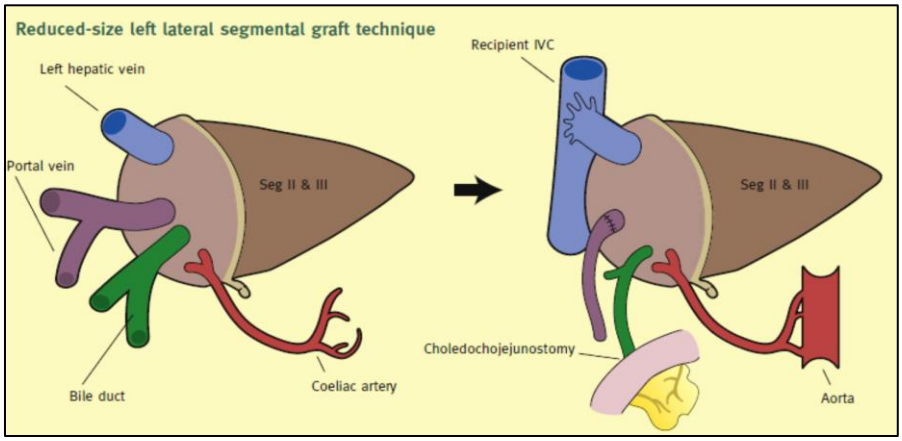


Figura 1.11 Técnica de reducido tamaño. El segmento lateral izquierdo (segmentos II y III)

TOH separado

Esta técnica se desarrollado desde la técnica de reducido tamaño. En el año 1988, Pichlmayr *at al* [46] realizó el primer TOH separado, donde dos receptores se benefician de un donante, y así crece el número de órganos del donante.

El hígado se puede dividir en dos formas: (Figura 1.12)

- Lóbulo derecho extendido (segmento I, IV-VIII) y segmento lateral izquierdo (el segmento II, III).
- Lóbulo derecho (segmento I, V-VIII) y el lóbulo izquierdo completo (segmento II, III, IV).

Normalmente, los receptores pediátricos reciben el lóbulo más pequeño (segmento lateral izquierdo) de un hígado donante de un cadáver adulto, y el lóbulo derecho extendido se puede utilizar para un receptor adulto. Los resultados de después de este procedimiento son similares a un injerto del hígado entero, y están siendo adoptados más ampliamente. Un aspecto del procedimiento de separar el hígado, es que la mayoría de la arteria principal del segmento IV se mantiene con segmento lateral izquierdo, y si se da una resección de esta arteria con segmento lateral izquierdo, es posible que se produzca una insuficiencia de la perfusión del parénquima [47]. Para evitar esta complicación, algunos autores sugieren la preservación de la arteria del segmento IV cuando su diámetro es >2 mm, con la utilización de una interposición del injerto [48].

El TOH separado con dos lóbulos completos para dos adultos o un adulto y un niño grande, se considera todavía un procedimiento técnicamente difícil y complejo. Desde el punto de vista técnico, no solo debe prestarse especial atención para preservar un flujo adecuado de la arteria, sino también preservar suficiente flujo venoso de ambos lóbulos, y un establecimiento de drenaje en segmentos paramediales, cada vez que se identifique una vena cuyo diámetro sea ≥5 mm, utilizando una interposición de injerto venoso cuando sea necesario [49]. A pesar de que se ha intentado separar un hígado de dos lóbulos completos para dos receptores adultos,

no ha habido un consenso respecto a la indicación de la técnica quirúrgica, la selección de los pacientes, y los cuestiones relacionadas con ajusta del tamaño [50].

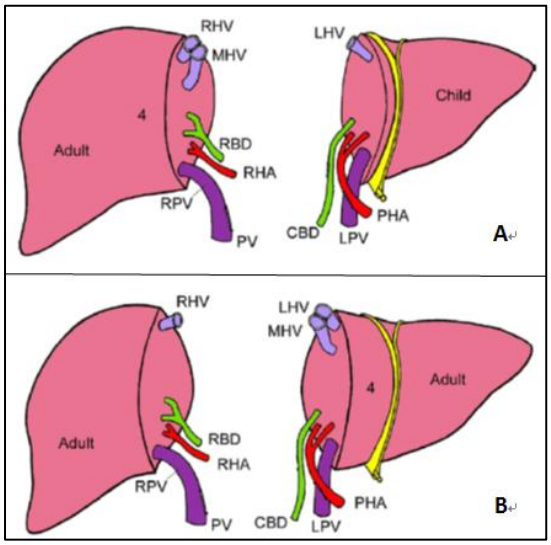


Figura 1.12 Formas de separar hígado donante. A. Separado con lóbulo derecho extendido y segmento lateral izquierdo, para un adulto y un niño. B. Separado con lóbulo derecho completo y lóbulo izquierdo completo, para dos receptores adultos.

TOH de donante vivo

El TOH de donante vivo se introdujo como una extensión de las técnicas de TOH de tamaño reducido y TOH separado. Esta técnica inicialmente se ha utilizado en tratamientos con receptores niños, y luego se ha aplicado en tratamientos con receptores adultos. Las ventajas del TOH de donante vivo incluyen: selección de un donante ideal, capacidad de programar el caso de forma electiva, un máximo de tiempo para preparar el receptor, y un tiempo relativamente corto de isquemia fría [34]. Sin embargo, en la seguridad de los donantes queda una preocupación importante, como es evidentemente que existe un riesgo significativo del donante, porque se somete a una resección hepática mayor [51,52].

Tradicionalmente, se realiza el injerto de segmento lateral izquierdo (segmentos II y III) a un receptor niño, lo que es más seguro para el donante. Como consecuencia de la utilización de este tipo de injerto, las listas de espera pediátricas se han reducido significativamente [53].

Con el objetivo de aumentar el volumen del hígado disponible para el receptor, se han desarrollado varias innovaciones como: el injerto del lóbulo izquierdo (segmentos II, III y IV) , injerto incluido del lóbulo caudado con el lóbulo izquierdo [54], injerto del lóbulo derecho (segmento V, VI, VII, VIII), injerto del sector posterior derecho (segmento VI, VII), e injerto doble (injerto de cualquiera de dos segmentos laterales izquierdos o dos lóbulos izquierdos de la derecha y la izquierda del injerto). Cada tipo de injertos tienen sus ventajas y limitaciones.

Normalmente, se ha considerado elegir para la seguridad del donante vivo, el injerto del lóbulo izquierdo, ya que queda la mayoría del volumen para el donante. No obstante, el injerto del lóbulo izquierdo se asocia al síndrome de tamaño pequeño y existe un riesgo potencial de obstrucción del drenaje venoso hepático en los receptores [55,56]. Para satisfacer suficientemente la metabólica hepática a los receptores adultos, se utiliza el injerto del lóbulo derecho en TH de donante vivo adulto-adulto. Uchiyama H *et al* [57] considera que el límite absoluto mínimo de la seguridad del donante es conservar el 30% del volumen total del hígado. Los resultados de este tipo de injerto es excelente, las tasas de supervivencia de 1, 3, 5 años son del 96,7%, 92,4% y 92,4% respectivamente [58].

Tabla 1.4 Adventage y limitación de cada tipo de injerto de vivo.

Tipo de injerto	Segmento	Adeventage	Limitación
Segmento lateral izquierdo	II, III	Mínimo riesgo para donante Ideal para niño pequeño	Volumen de injerto es menos, sólo para niños pequeños
Lóbulo izquierdo	II, III y IV	Menor riesgo a donante en comparación a donación lóbulo derecho	Adecuado sólo para niños grandes y adultos pequeños
Lóbulo derecho	V, VI, VII, VIII	Adecuado para receptores adultos	Aaumento el riesgo de donante, técnicamente más difícil
Sector posterior derecha	VI, VII	Menor riesgo de donantes	Técnicamente difícil, pocos pacientes adecuados
Doble	Cualquiera 2 segmentos laterales izquierda o 2 lóbulos izquierdos o 1 derecha y 1 izquierda	Minimiza el riesgo para donante	Necesita dos donantes vivos técnicamente más difícil

1.4. COMPLICACIONES DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

El TOH se considera una cirugía mayor y compleja, y a pesar ser un tratamiento consolidado, el seguimiento de los pacientes sometidos a TOH se encuentra frecuentemente asociados a la aparición de varias complicaciones, en el postoperatorio inmediato y a largo plazo. Cualquiera de las complicaciones está relacionado con la mortalidad del TOH.

1.4.1. Complicación postoperatorio inmediato y de la cirugía

Hemorragia postoperatoria

Se presenta fundamentalmente durante las primeras 24-48 h tras la realización del TOH. Se ha considerado una complicación y un problema importante debido a que con frecuencia, y por su gravedad, se ha alcanzado en algunas series hasta un 12 % de las causas de mortalidad postrasplante [59,60], y también se la ha relacionado con la incidencia de complicaciones infecciosas. La supervivencia de los injertos es menor, porque la hemorragia condiciona una hipotensión sistémica con una mala perfusión del injerto, y una isquemia secundaria del órgano [61].

Disfunción primaria del injerto (DPI)

Relacionada generalmente con las complicaciones vasculares, biliares, fenómenos de rechazo, episodios de sepsis, etc. Cuando esta disfunción ocurre desde el momento del trasplante y no se relaciona con causa alguna conocida se califica como DPI. Se constituye entre el 20 y el 30% de las causas de retrasplante. La mortalidad de la DPI sin retrasplante se aproxima al 80% de los pacientes, oscilando entre el 30 y el 50% tras la realización del

retrasplante [62,63]. Los mecanismos precisos que ocasionan la DPI son desconocidos, aunque la calidad del hígado donante y la propia isquemia que se produce durante la preservación y la reperfusión pueden desempeñar un papel fundamental. Los factores relacionados con esta complicación incluyen: el tiempo de isquemia, la edad del donante, la presencia esteatosis hepática del donante, el nivel plasmático de sodio en el donante, y la temperatura de la solución de preservación [64,65].

Complicaciones arteriales

Esta complicación incluye trombosis y estenosis de la arterial hepática, que causan una elevada morbimortalidad cuando provocan una disfunción grave del injerto. La causa más frecuente es por problemas técnicos derivados de las diferencias de tamaño y calibre entre la arteria del donante y la del receptor, o de la presencia de anomalías arteriales que obligan a hacer reconstrucciones arteriales complejas. Otros factores predisponentes son los estados de hipercoagulabilidad relativa por la administración de crioprecipitados, de plasma fresco, y los agentes antifibrinolíticos e incluso una lesión endotelial por daño durante la preservación [66,67]. Se suele manifestar como un deterioro brusco y progresivo de la función hepática, a diferencia de la disfunción primaria del injerto, ocurre tras un periodo variable de función hepática normal.

Complicaciones de veno porta

La complicación de trombosis de la vena porta es poco frecuente. La causa más frecuente son los errores técnicos relacionados con la redundancia venosa y la torsión y/o estenosis de la anastomosis, actuando como factores de riesgo la presencia de cirugía previa sobre el eje venoso portal o esplácnico (shunt portocava, mesentericocava, esplenorrenal, esplenectomía, etc.) o una trombosis portal pretrasplante que obliga a una trombectomía durante el acto operatorio. Clínicamente, se ha clasificado de precoz (en la primera semana del postoperatorio)

y de tardía (a partir de la primera semana). En la forma precoz, predominan los síntomas y signos típicos de una insuficiencia hepática aguda grave, con un deterioro clínico progresivo que conlleva la muerte del paciente. En la forma tardía, el cuadro clínico está en función del grado de circulación portocava colateral existente, generalmente no es tan grave y predomina la hemorragia digestiva alta por varices esofagogástricas y la ascitis; no es habitual el deterioro grave de la función hepática.

Complicaciones de vena cava

Es muy raro presenciar trombosis de la vena cava. Puede producirse por los errores técnicos en la anastomosis de la vena cava suprahepática o en la anastomosis de la vena cava infrahepática y, generalmente, está asociada por una estenosis de la anastomosis. Su manifestación puede ocurrir en dos etapas. La primera suele presentarse mediante disfunción grave del injerto, ascitis, dolor abdominal y hepatomegalia (síndrome de Budd-Chiari) aunque existen casos oligosintomáticos. En la segunda se añade un síndrome de vena cava inferior consistente en disfunción renal, hematuria y edemas de genitales y miembros inferiores.

Complicaciones biliares

Fístula biliar y estenosis biliar son las complicaciones biliares más comunes tras el TOH, y sus incidencias varían entre de 5% a 37% [68,69]. En la mayoría de los casos la fístula procede de la anastomosis coledococoledociana o de la coledocotomía por donde se extrae la rama larga del tubo de Kehr [70]. La estenosis biliar se asocia con más frecuencia a la reconstrucción biliar mediante hepaticoyeyunostomía que a la coledococoledocostomía. Las estenosis no anastomóticas tienen un pronóstico peor y una proporción significativa de los pacientes que requieren re-trasplante.

Rechazo agudo

- El Rechazo Agudo Celular (RAC) es la forma más frecuente de rechazo tras el TOH, y se produce en un 10-40% de los pacientes durante el primer mes [71]. Los altos niveles de pretrasplante de Gamma-glutamil transpeptidasa (GGT) se asociaron con un alto riesgo de rechazo agudo, además de pacientes jóvenes, los menores de 40 años y los pacientes que llegan al trasplante sin disfunción renal tienen mayor probabilidad de desarrollar un RAC. Las lesiones que aparecen durante el rechazo agudo son potencialmente reversibles, pero si se mantienen, determinan una forma de rechazo intermedio que puede evolucionar hacia las formas crónicas de rechazo.

- El Rechazo Hiperagudo es muy infrecuente, incluso se dudó se su existencia. Suele aparecer en las primeras horas después del TOH. Su aparición en trasplante renal o cardiaco sí esta documentada y se debe a la existencia de anticuerpos citotóxicos preformados (isoaglutininas anti-ABO, antiendoteliales o anti-HLA) y complemento. Se observa en situaciones de incompatibilidad ABO, generalmente en TOH de extrema urgencia; estas situaciones son muy poco frecuentes, al realizarse habitualmente el TOH en situación de compatibilidad del grupo sanguíneo entre donante y receptor.

Complicaciones infecciosas

Las infecciones continúan siendo una importante causa de morbilidad y la primera causa de mortalidad durante el primer año en el receptor de TOH [72,73]. Las infecciones bacterianas son más comunes. La infección viral también puede ser problemática con citomegalovirus (CMV). La infección por CMV puede ocurrir como consecuencia de la infección de un donante positivo o por reactivación por la inmunosupresión. Otras infecciones virales incluyen herpes simples, varicela zoster, adenovirus y virus de Epstein-Barr. Las incidencias de las infecciones fúngicas se dan entre el 8.4%–17.7% en pacientes con TOH. Las Especies de Candida y Aspergillus representan las mayorías de las infecciones fúngicas. Los factores de riesgo

asociados con la infección fúngicas determinan una intervención quirúrgica prolongada con elevados requerimientos transfusionales.

Complicaciones Respiratorios

La incidencia de insuficiencia respiratoria aguda en el postoperatorio inmediato de TOH varía del 4,1-35%, y va acompañada de una mortalidad significativamente mayor que si no se presenta. El pulmón es el segundo órgano, en orden de frecuencia, que presenta mayores problemas infecciosos en el postoperatorio inmediato de TOH. El edema pulmonar es una complicación habitual en el postoperatorio precoz. El derrame pulmonar también se presenta frecuentemente, en la mayoría de los casos, causado por manipulación diafragmática intraoperatoria. En otro lado, se considera que los receptores del TOH con altas puntuaciones MELD tienen una mayor incidencia de derrame pleural. Varios factores preTOH combinados con un elevado MELD aumenta la incidencia de insuficiencia respiratoria postTOH, tales factores como: transfusión de sangre perioperatoria, retención de líquido, los patrones pulmonares restrictivos severas, y la atrofia muscular relacionada con el estado nutricional deficiente. [75]

Complicaciones neurológicas

Las complicaciones neurológicas en el TOH son frecuentes, oscilando entre el 30-60% de los casos en los adultos. Se ha relacionado con algunos de los siguientes factores: las complicaciones vasculares cerebrales, la toxicidad del ICN, y las infecciones oportunistas secundarias a la inmunodepresión. Se ha desarrollado de forma rápida, dado que son complicaciones potencialmente graves, que en algunas series alcanzan una mortalidad cercana al 50%. Ocurren de forma inmediata tras la realización del TOH o en los primeros meses tras el mismo, o de forma tardía, apareciendo generalmente tres o cuatro meses después. [76-78]

1.4.2. Complicación a largo plazo

Rechazo Crónico

Normalmente, el rechazo crónico (RC) o ductopénico se desarrolla a partir de episodios de rechazo celular agudo que no responden al tratamiento y que terminan progresando hasta provocar la necrosis del epitelio biliar y, finalmente, la destrucción del conducto biliar afectado. La mejora en las pautas de inmunosupresión, con lo que se ha logrado reducir la frecuencia de episodios de rechazo agudo, así como que el consiguiente efecto beneficioso sobre control el RC. La incidencia del RC en la actualidad está alrededor del 5% en la mayoría de las series. [79,80] Esta forma de rechazo tiende a iniciarse dentro de los primeros 6 meses del TOH, y cuando conduce a la pérdida del injerto suele acontecer en el primer año postTOH.

Disfunción renal

Las insuficiencias renales (agudo o crónico) son complicaciones importantes tras TOH. Las alteraciones de la función renal son frecuentes, y afectan de forma directa a la supervivencia y se asocia con una mayor morbilidad y mortalidad a corto y a largo plazo. Aproximadamente el 10-20% de los pacientes sometidos a TOH tienen cierto grado de disfunción renal a medio o a largo plazo, y que incluso el 20% presenta ya insuficiencia renal crónica y avanzada a los 5-10 años después de TOH [81,82]. Existen muchos factores preoperatorios pueden favorecer la aparición de la lesión renal en TOH, tales como disfunción renal preoperatoria, síndrome hepatorrenal, bajo nivel de sérico albúmina, hipovolemia, ascitis, enfermedades crónicas concomitantes que conducen a la lesión renal (diabetes mellitus, hipertensión), VHC, VHB y el uso de ICN [83]. La insuficiencia renal agudo, támbien se puede complicar en el postoperatorio inmediato, el 80%-90% de aquellos pacientes los pacientes recupera un cierto grado de función renal, mientras que el resto a desarrollar disfunción renal permanente o fallo

renal [84].

Complicaciones Metabólicas

- La Hipertensión Arterial (HTA) es una de las complicaciones más frecuentes después del TOH (30-85%) y se incrementan con el paso del tiempo [85]. Uno de los factores más importantes de la HTA en TH es la administración de los ICNs. La administración de corticoides en dosis más elevadas también desempeña un papel patogénico relevante en la HTA de TOH. La incidencia de la HTA con tratamiento de TAC es menor cuando se utiliza CsA, lo cual sugiere que la intensidad de los mecanismos de acción vasoconstrictora y/o de retención renal de sodio de tacrolimus es menor que la de la ciclosporina. [86,87].

- Diabetes Mellitus *de novo*. Entre el 10-33% pacientes de TOH desarrollan DM *de novo* postTOH. En algunos pacientes, DM *de novo* se resuelve a los pocos meses después del trasplante; en otros, es permanente e incluso puede incrementarse el riesgo de aparición con el paso del tiempo después del trasplante. Su desarrollo proporciona un efecto negativo sobre la supervivencia de los pacientes, especialmente en los pacientes VHC-positivos. Los factores de riesgo que con mayor frecuencia se asocian con el desarrollo de una DM de novo son el tratamiento con dosis altas de esteroides, la obesidad, el uso de ICNs y la infección crónica por el VHC. La mayoría de estudios parece coincidir en que el TAC es más diabetogénico que la CsA.[88]

- Dislipemia. La alteración lipídica postTOH puede consistir en un incremento del colesterol, de los triglicéridos o de ambos, resultando en una hiperlipemia mixta. La incidencia de la dislipemia en el postTOH es menor que en el trasplante renal y mucho menor que en el trasplante cardíaco, y oscila entre el 9-60% según los estudios. La patogenia de la dislipemia postTOH es multifactorial, lo más importante es administración los esteroides. La retirada o reducción significativa de las dosis de

corticoides tiene un efecto beneficioso sobre el perfil lipídico, y los regímens de inmunosupresión en los que no se utilizan los esteroides o en los que se retiran de forma precoz, se asocian con una reducción significativa en la incidencia de dislipemia postTOH [89].

Neoplasias *de novo*

Debido principalmente a la exposición prolongado a inmunosupresión iatrogénica y el envejecimiento de la población trasplantada. Exixten una mayor prevalencia de tumores *de novo* postTOH en comparación con la población no trasplantada, situándose dicha prevalencia entre el 3-16%, porcentaje 3 a 4 veces mayor que el de la población general de la misma edad [90]. Se considera la segunda causa de mortalidad tardía después del TOH. Los tumores *de novo* representan casi el 30% de la muerte a 10 años postTOH. El 50% de las neoplasias se desarrollaron en el segundo y tercer año postTOH. Las neoplasias *de novo* más frecuentes son los linfomas, cáncer de piel no melanótico y el sarcoma de Kaposi, mientras tienen una incidencia significativamente mayor que la población general. [91,92]

Complicaciones cardiovasculares

Las Enfermedades Cardiovasculares se han convertido en la principal causa de mortalidad después del TOH. La incidencia en pacientes que presentaron eventos cardiovasculares fue del 6,9-10,7%. Las complicaciones cardíacas precoces son relativamente frecuentes, y se han relacionado con la existencia de patología cardiológica previa del receptor y las propias alteraciones provocadas por la enfermedad hepática en estado terminal. Los factores de riesgo incluyen la edad avanzada, el uso de ICN, y la enfermedad coronaria no detectada. Las complicaciones cardíacas precoces son relativamente frecuentes [93].

Complicación ósea

La complicación de patología metabólica ósea, cuya manifestación en forma de fracturas esqueléticas representa una importante causa de deterioro en la calidad de vida de los pacientes TOH. La incidencia de fracturas es 22-65%, lo que dependen de la etiología y gravedad de la enfermedad hepática previa al trasplante, y de las pautas inmunosupresoras utilizadas (glucocorticoides).[94]

Compliaciones infecciosas

Las complicaciones infecciosas a largo plazo son poco frecuentes, debido a que, con el tiempo, las dosis y niveles de inmunosupresores se van reduciendo. Las más frecuentes son las infecciones de vías respiratorias superiores y las infecciones neumónicas, por lo general con buena respuesta a la antibioterapia. Respecto a las infecciones virales, la más común a largo plazo es la reactivación del virus Herpes zoster, bien en forma de mucositis facial, bien en forma de herpes zoster metamérico.

1.5. INMUNOSUPRESIÓN EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO

El objetivo de administrar fármacos inmunosupresores a los pacientes receptores de un injerto hepático es evitar el rechazo agudo y crónico del órgano trasplantado. Este rechazo es el resultado natural de la incompatibilidad genética entre donante y receptor que hace reaccionar al sistema inmunitario del receptor contra los antígenos de histocompatibilidad del donante. La inmunosupresión del receptor comporta riesgos importantes al afectar la capacidad de defensa frente a las infecciones y también el desarrollo de tumores. La clave del

éxito del trasplante está en una correcta modulación de la inmunosupresión que mantenga este difícil equilibrio entre rechazo con riesgo de pérdida del injerto e infecciones con riesgo de pérdida del individuo.

Los fármacos que disponemos actualmente son cada vez más potentes pero sobre todo más selectivos. Los grandes avances en el conocimiento de la inmunobiología del rechazo ha permitido conocer los mecanismos de actuación de los fármacos y al mismo tiempo conocer cuáles son los puntos claves de la reacción inmunitaria cuyo bloqueo es más efectivo para evitar el rechazo. (Tabla 1.5).

La inmunosupresión debe adaptarse a las distintas fases posTOH. Así, en la fase inicial o de inducción en que la capacidad de reacción del receptor es máxima se administran dosis altas de varios fármacos: EST, CsA o TAC, MMF en los protocolos triples e incluso anticuerpos monoclonales o policlonales antilinfocitarios en protocolos de cuádruple terapia. Una vez superadas las primeras semanas disminuye la inmunorreactividad y entramos en la fase de mantenimiento, pudiendo disminuir las dosis de inmunosupresión al mínimo necesario.

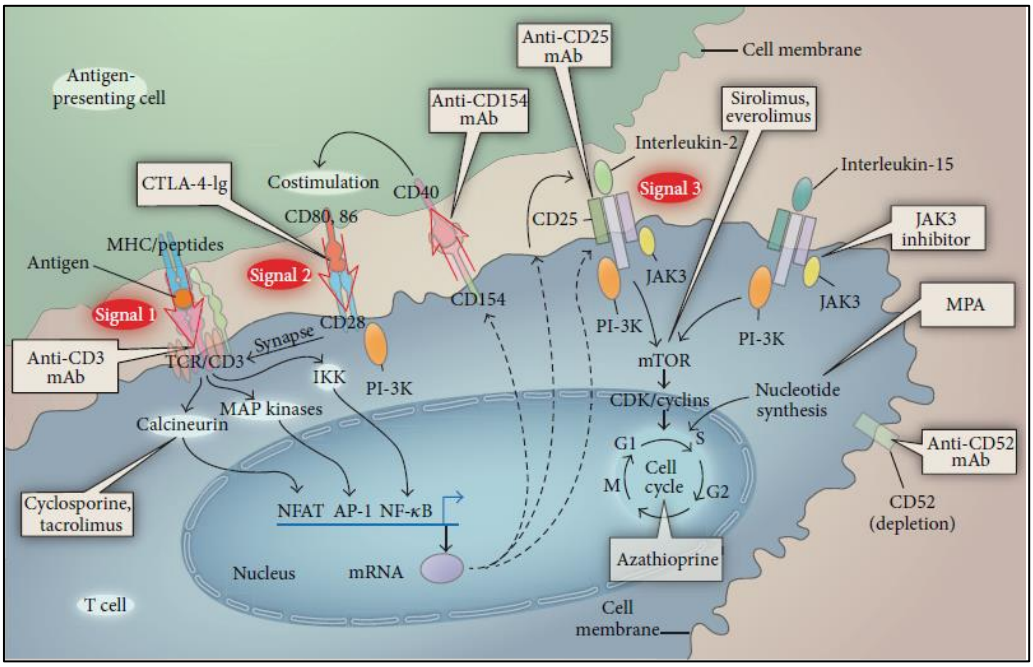
Tabla 1.5 Mecanismo de acción de los inmunosupresores.

Fase	Inmunosupresores
Fase G-0. Función macrófago-monocitaria (APC, MHC-TCR/CD3, IL-1, IL-6)	Esteroides OKT3: antiCD3 monoclonal murino ALG, ATG: anti-T policlonal Deoxyspergualina
Fase G-1. Síntesis de citoquinas Transducción de la señal IL-2. IL2R	CsA (Neoral) Anticalcineurina. Tacrólimus. Anticalcineurina. Anti IL-2R monoclonales. -Quimérico basiliximab (Simulect) -Humano daclizumab (Zenapax) Rapamicina (Sirolimus). P70 S6 kinasa SDZ-RAD
Fase S. Síntesis de DNA Proliferación de las células T	Azatiopirina (Imurel) Mofetil Micofenolato (Cell Cept) Brequinar sódico Mizoribina Leflunomida

En la situación de rechazo agudo, se debe administrar rápidamente dosis altas de EST y

ajustar los niveles de la inmunosupresión basal (CsA o TAC) para asegurar un nivel terapéutico. Si el rechazo no responde a los EST, se puede optar por convertir precozmente a TAC a los pacientes que presentan rechazos córtico-resistentes mientras reciben CsA, o añadir MMF que ha demostrado su efectividad en el trasplante renal y hepático.

La enorme experiencia acumulada en los últimos 20 años hace vislumbrar una nueva época en que la inmunosupresión deberá adaptarse a las circunstancias de cada receptor; la edad, sexo, raza, indicación de trasplante, enfermedades víricas, enfermedades asociadas, situación general del paciente etc. Los objetivos del tratamiento inmunosupresor ya no sólo son el mantenimiento del injerto y, por tanto la vida del individuo, sino que valoran también la calidad de vida del paciente trasplantado y los distintos avatares o situaciones que atraviesa en una vida totalmente activa; maternidad, ejercicio físico, cambios estéticos, obesidad, arterioesclerosis, riesgo cardiovascular, neoplasias *de novo* etc.



Fugura 1.13 Los sitios y los mecanismos de acción de los fármacos inmunosupresores.

Los efectos secundarios y tóxicos de los distintos inmunosupresores (HTA, insuficiencia renal, DM, alteraciones oculares, osteopatía, hipercolesterolemia, efecto antitumorales de algunas drogas etc.), deben valorarse en el momento de decidir el mejor tratamiento

inmunosupresor para un receptor determinado, que puede presentar alguna de estas patologías antes del TOH. Finalmente, la posibilidad de adquirir un estado de tolerancia específico, definido como la ausencia de rechazo del aloinjerto una vez retirada toda la inmunosupresión, sería el gran éxito del trasplante de órganos.

1.5.1. Inhibidores de la calcineurina

Los inhibidores de la calcineurina se unen a la calcineurina, inhibiendo la activación calcio-dependiente de la síntesis y liberación de IL-2, entre otras citoquinas, y produciendo una disminución de la respuesta del linfocito T a la IL-1. (Figura 1.14)

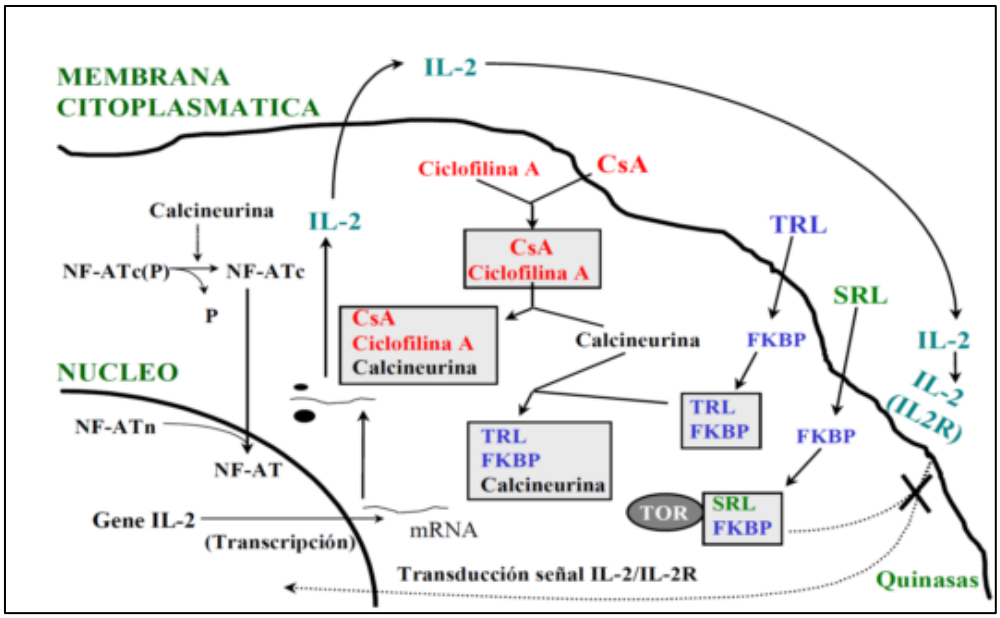


Figura 1.14 Mecanismo de acción de ciclosporina, tacrolimus y sirolimus.

En la actualidad, los ICNs son la base de los protocolos de tratamiento inmunosupresor tras el TOH. Por este motivo, se han realizado diversos estudios para comparar TAC y CsA con la finalidad de decidir el fármaco de elección en base a su eficacia y su seguridad. La mayoría de estudios comparaban el TAC con la CsA en su formulación clásica, por lo que sus conclusiones no podían extrapolarse a la CsA en microemulsión, dadas sus diferencias en

cuanto a la biodisponibilidad, monitorización y eficacia [95]. Otros estudios que compararon TAC y CsA en microemulsión concluyeron que TAC debiera ser el fármaco de elección [96,97], aunque cabe destacar que la monitorización se llevó a cabo según los niveles de C0 [98].

En términos globales, parece ser que el TAC es más potente, una meta-análisis que incluye 16 ensayos clínicos que comparan ambos fármacos, también concluye que el TAC es superior a la CsA en cuanto a su capacidad de prevenir el RAC y mejorar la supervivencia de los pacientes y los injertos, aunque aumenta la diabetes postTOH [99]. Sin enbargo, TAC presenta mayor incidencia de diabetes, temblor y diarreas que la CsA, por lo que en la actualidad no disponemos de datos objetivos para decidir cuál de ellos debiera ser el anticalcineurínico de elección si es que uno de ellos lo fuera para todos los pacientes [100].

Tabla 1.6 Comparativo de los efectos adversos de los inhibidores de la calcineurina [101]

Efecto adverso	CsA	TAC
Vasoconstricción	++	+
Fibrogénesis	++	+
mejor supervivencia del injerto	-	+
Diabetes	+	++
Temblor	+	++
Hirsutismo	++	-
Hiperplasia gingival	++	+
Dislipidemia	++	+

++ efectos secundarios más pronunciados; +, los efectos secundarios menos pronunciados; -, no efecto adverso.

1.5.1.1. Ciclosporina A

Es un polipéptido cíclico, obtenido a partir del hongo Tolypocladium inflatum gans. Es una sustancia neutra, muy lipofílica y por tanto insoluble en agua. El descubrimiento de la CsA y su posterior aplicación en clínica por parte de Calne en 1978 supuso una revolución en el campo de la inmunosupresión en el trasplante de órganos sólidos.

Hasta su introducción en la clínica al inicio de la década de los ochenta, la mayoría de pacientes trasplantados morían de rechazo o de infecciones como consecuencia de las altas dosis de inmunosupresión inespecífica (EST y AZA) a la que eran sometidos y que les suprimía toda capacidad de defensa.

Mecanismo de acción

Produce una inhibición reversible de la activación de los linfocitos T por medio de su unión a un receptor de membrana de éstos, penetrando en la célula, donde actúa como un profármaco, dado que se activa al unirse a su receptor intracelular, una inmunofilina denominada ciclofilina. El complejo CsA-ciclofilina entra en el núcleo, uniéndose a la calcineurina, alterando la transcripción del RNA mensajero codificado para la síntesis de citoquinas calciodependiente, inhibiendo así la producción de IL-2 y disminuyendo la respuesta a la IL-1. De este modo disminuye la proliferación de los linfocitos T activados por la IL-2 y suprime la proliferación de los linfocitos citotóxicos. La CsA detiene el ciclo celular entre la fase G0 y G1. Carece de efectos en la activación calcioindependiente de las células T, como la desencadenada por la molécula CD28. También bloquea la producción del factor inhibitorio de migración de los macrófagos, de interferon y del factor de crecimiento de las células B. [102]

Farmacocinética

La CsA se puede administrar vía oral o endovenosa. Cuando se administra por vía oral, su biodisponibilidad es muy baja (20-50%). Su absorción tiene lugar en el intestino delgado. La formulación inicial requería de la presencia de bilis, y por tanto su absorción se afectaba en procesos como la gastroenteritis aguda, la enfermedad inflamatoria intestinal, la insuficiencia hepática y en postTOH inmediato. En cambio, la formulación utilizada en la actualidad,

introducida en España en el año 1995, en forma de microemulsión y denominada CsA neoral, posee una biodisponibilidad un 15-30% mayor, con una absorción intestinal más regular, menos dependiente de la bilis o de los alimentos, y por tanto, con un perfil farmacocinético más predecible. Su desarrollo ha permitido el uso eficaz en postTOH inmediato, incluso en pacientes con drenajes biliares, en situaciones de colestasis, pudiendo evitar el uso de la vía endovenosa.

El 99% de la CsA se metaboliza en el hígado, a través del sistema del citocromo P-450, lo cual explica la influencia que pueden tener la insuficiencia hepática o la interacción con fármacos inhibidores del sistema enzimático microsomal (eritromicina, andrógenos, metilprednisolona, antagonistas del calcio) o estimuladores (rifampicina, fenobarbital, fenitoína, carbamacepina, ácido valproico). Su vida media oscila entre 12 y 17 horas. Su excreción se realiza fundamentalmente por la bilis, existiendo una circulación entero-hepática. Únicamente un 0,1% se excreta en forma metabólicamente activa vía renal, por lo que la insuficiencia renal no afecta de modo significativo a sus niveles [103].

La monitorización de la CsA se realiza habitualmente utilizando muestras extraídas en el denominado nivel valle, que corresponde al momento antes de administrar la siguiente dosis (Cmin). Al analizar las concentraciones de los pacientes que presentaban toxicidad y la concentración mínima eficaz para establecer el intérvalo terapéutico tomando muestras siempre en el mismo momento, se denominó a ésta C0. Se estableció un nivel valle de 250 ng/ml como límite superior del supuesto intérvalo terapéutico, estableciéndose como límite inferior la cifra de 100 ng/ml. Utilizando la monitorización según la C0, pronto se observó que no existía una correlación clara con la ausencia de rechazo o la toxicidad, debido a que la C0 no parece reflejar la biodisponibilidad del fármaco. A pesar de ello, la determinación basal (C0), continúa siendo la estrategia rutinaria en muchos grupos. Diversos trabajos han mostrado convincentemente que mientras la exposición a la CsA determina la eficacia de la inmunosupresión y la toxicidad, dicha exposición no se correlaciona estrechamente con la C0.[104-106]

1.5.1.2. Tacrolimus

TAC o FK 506, es un macrólido aislado del Streptomyces tsubaensis, de naturaleza liposoluble, con un mecanismo de acción similar al de la CsA, a pesar de su distinta estructura química y con una potencia de 50 a 100 veces superior. El primer paciente que recibió TAC lo hizo en la Universidad de Pittsburgh, bajo la decisión y dirección del Starzl. Inicialmente se administró junto a CsA como tratamiento de rescate. [107]

En cuanto a la eficacia comparada con CsA, en la mayoría de los estudios no se han hallado diferencias significativas [108], aunque otros han hallado superioridad del TAC [109]. De todos modos, aunque los resultados a largo plazo no muestran diferencias entre CsA y TAC, a corto plazo parece que el TAC presenta menos incidencia de RAC y riesgo cardiovascular, lo que ha motivado que muchas unidades de trasplantes se indican por su utilización.

Mecanismo de acción

De forma similar a la CsA, actúa como un profármaco, activándose tras unirse a su receptor intracelular, una inmunofilina denominada fugifilina o FK 506 binding protein-12 (FKBP12). El complejo tacrólimus-fugifilina se une a la calcineurina, inhibiendo la síntesis y liberación de calcio dependiente de IL-2 y la expresión del receptor de IL-2. Tal como sucedía con la CsA, el complejo fugilina-tacrólimus no posee efecto en la activación calcio-independiente de las células T, como la desencadenada por la molécula CD28. A diferencia de la CsA, el TAC posee la propiedad adicional de interferir en la expresión de los receptores de IL-4 de los linfocitos B, de inhibir la síntesis de IL-5 (factor de diferenciación de los linfocitos B), de reducir la expresión de las moléculas de adhesión en las células endoteliales y bloquear la respuesta de los leucocitos a la IL-8. Al igual que la CsA, el FK 506 detiene el ciclo celular entre la fase G0 y G1[103].

Farmacocinética

La absorción se produce en duodeno y yeyuno, sin depender de la producción biliar, por lo que tal como sucede con la CsA en microemulsión, también es posible su administración en el postTH inmediato. Su concentración máxima se obtiene entre 1,5 y 2 horas de su administración por vía oral. Su biodisponibilidad es baja (20-25%) y su vida media oscila entre 8,5-17 horas. El 80% del fármaco viaja unido a los hematíes y el 98,9% de su fracción plasmática se une estrechamente a las proteínas plasmáticas, especialmente la albúmina, por lo que no es dializable. La fracción libre es la activa, por lo que el hematocrito o las variaciones en las proteínas pueden modificarla sustancialmente. Se distribuye ampliamente por todo el organismo. Su metabolismo es fundamentalmente hepático, a través del citocromo P-450, eliminándose por la bilis. Por ese motivo, la insuficiencia hepática produce un aumento en sus niveles plasmáticos, de su vida media y disminuye su aclaramiento. Por ello es necesario monitorizar estrechamente sus niveles en esa situación. Menos del 1% se elimina de forma activa por vía renal o fecal, por lo que no precisa modificar su dosis en caso de insuficiencia renal (a no ser que el fallo renal se atribuya al fármaco). De forma análoga a la CsA, aquellos fármacos que utilicen la vía del citocromo P-450 interaccionan con el FK 506 [103]. Dado que su toxicidad, tal como sucede con la CsA, está relacionada con su mecanismo de acción, junto a su estrecha ventana terapéutica, obliga a la monitorización sistemática de sus niveles para optimizar su uso como inmunosupresor.

1.5.1.3. Toxicidad de los inhibidores de la calcineurina

Los ICNs presentan múltiples y relativamente frecuentes efectos secundarios adversos. Los más frecuentes y relevantes son la nefrotoxicidad y la neurotoxicidad, y las neoplasias *de novo*.[103]

Toxicidad renal

Como se describió anteriormente, la nefropatía es una complicación importante del postTOH, el uso de ICN exhibe nefrotoxicidad como una importante causa de la nefropatía. CsA y TAC son fármacos estructuralmente diferentes, pero con un mecanismo de acción muy parecido y su nefrotoxicidad es similar [110]. La incidencia de la nefrotixicidad aguda por ICN, aunque utilizado dosis bajas, es del 20% en pacientes tratado con TAC y del 14,3% en los que recibian CsA [111].

Los ICNs pueden dar lugar a dos cuadros diferentes de nefrotoxicidad. El primero, se denominarse nefrotoxicidad aguda asociado insuficiencia renal aguda (IRA) reversible y se caracteriza por un descenso del filtrado glomerular y del flujo plasmático renal que producen un aumento de la creatinina y la urea. Estos fenómenos se deben a la alteración sobre el flujo sanguíneo renal debido a la vasoconstricción de la arteriola aferente y la disminución de la perfusión renal, siendo en general reversibles al disminuir la dosis. La insuficiencia renal inicial puede tener un origen multifactorial (politransfusión, hipotensión, otros medicamentos nefrotóxicos, etc.), ocurriendo en general con ciclosporinemias normales o bajas.

Por otro lado, el cuadro de nefrotoxicidad crónica que se produce a largo plazo tras 6-12 meses del inicio del tratamiento, se caracteriza por desarrollo de insuficiencia renal crónica (IRC) cuya fisiopatología se caracteriza por desarrollo la presencia de lesiones estructurales, como fibrosis intersticial y la aparición de esclerosis vascular renal, no siendo reversible a pesar de descender la dosis y en algún caso progresando a una insuficiencia renal terminal y diálisis.

En ocasiones se asocia a acidosis e hiperpotasemia. Los ICNs támbien inducen HTA, ambas actúan incrementando la resistencia vascular y sistémica, afectando la arteriola aferente glomerular.

Neoplasias *de novo*

Como que la nefrotoxicidad por ICNs, la neoplasia *de novo* también es un complicación postTOH y asociado relacionalmente con ICN. La incidencia de cáncer postrasplante tiene una clara relación con el tiempo de exposición al tratamiento inmunosupresor. El cáncer es en la actualidad uno de los mayores limitantes de la expectativa y la calidad de vida del paciente portador de trasplante de órgano sólido.

Los ICNs aumentan la expresión del factor del crecimiento transformante beta (*TGF-β*) , lo que favorece la aparición de varios factores de un fenotipo invasivo de las células neoplásicas, la angiogénesis induce el factor del crecimiento endotelial vascular y de la interleucina-6, lo que aumenta el crecimiento de células B inducida por el virus de Epstein-Barr [(112)]. Por otra parte, la ciclosporina interfiere la reparación del ADN de los leucocitos de los receptores de trasplante renal en cultivo *in vitro* [(113)].

Al menos un estudio prospectivo y aleatorizado y diversos estudios retrospectivos han demostrado que dosis mayores de ciclosporina (CsA) se correlacionan con incrementos en la incidencia de cáncer postrasplante. En otros casos, la utilización de regímenes inmunosupresores más potentes, y no sólo la variación de dosis de un único agente, comportan un aumento del riesgo de cáncer. Otra constatación de este fenómeno es que los pacientes receptores de trasplante no renal, generalmente tratados con una inmunosupresión más potente que los trasplantados renales, presentan comparativamente a estos últimos un claro incremento del riesgo neoplásico. Como ejemplo, la incidencia acumulada de cáncer comunicada por el Registro internacional de trasplante cardíaco y pulmonar (ISHLT) es la más elevada de las publicadas por cualquier otro registro, aproximadamente el 35% a los 60 meses postrasplante. Finalmente, hay que mencionar el hecho de que una inmunosupresión más potente se relaciona también con una mayor agresividad tumoral, en términos de un acelerado crecimiento y metástasis, y una menor supervivencia de los pacientes. [(114)]

1.5.2. Micofenolato-mofetilo

El uso en humanos del inmunosupresor MMF, fue aprobado por FDA en el año 1995. Inicialmente, fue aprobado para ser usado como antibiótico y agente anticancerígeno. En los años 1970, se desarrollaron ensayos clínicos para el tratamiento de la psoriasis, que no llegaron a completarse [115,116]. El interés por este fármaco, se reanudó cuando se constató que poseían efectos antiproliferativos y selectivos para los linfocitos, el ácido micofenólico (AMF) tenía estas características.

Mecanismo de acción

MMF y AMF fueron las observaciones que sugirieron que la vía *de novo* de las síntesis de las purinas, y no la vía de recuperación, era crucial para la respuesta proliferativa de los linfocitos T y B humanos.

Por una parte, los niños con déficit de adenosín desaminasa (ADA), enzima que regula la conversión de adenosín monofosfato en inosín monofosfato, y viceversa, ofrecían una disminución selectiva en el número y función de los linfocitos T y B, con recuentos de neutrófilos, eritrocitos y plaquetas normales [117].

Por otra, los jóvenes con déficit de la enzima hipoxantin-guanosín-fosforribosil-transferasa (HGPRT, síndrome de Lesch-Nyhan), que interviene en la síntesis de purinas por la vía de ahorro, no presentaban esta alteración linfocitaria [113]. Posteriormente, por estas propiedades que presenta, el MMF se ha utilizado tanto en la prevención como en el tratamiento del rechazo en el trasplante de órganos, ya que su eficacia ha quedado ampliamente demostrada [95]. A su vez, el tratamiento con MMF fue eficaz en varios modelos experimentales de rechazo crónico, sin embargo, en los pacientes TOH se sigue estudiando este efecto.

Uso clínico

En la actualidad, también es usado fundamentalmente asociado a anticalcineurina o como fármaco a añadir en caso de toxicidad a CsA o TAC dada la necesidad de disminuir la dosis de éstos por los efectos secundarios que causan [103].

También se ha observado, que la utilización de MMF tiene un efecto beneficioso en la prevención de la nefropatía crónica del injerto, que en parte es independiente de la reducción de la tasa de RAC.

Farmacocinética

El MMF es el morfolinoetil éster del ácido micofenólico, también denominado 2-morfolinoetil (E)–6– [1,3–dihidro–4–hidroxi–6–metoxi–7–metil–3–oxo–5–isobenzo furanil] –4–metil–4–hexenoato. Se trata de un ácido débil, de peso molecular 433,5 y fórmula empírica C23H31NO7. Se encuentra en forma de polvo cristalino blanco, ligeramente soluble en agua (43 µg/ ml a pH 7,4), más en medio ácido (4,27 mg/ ml a pH 3,6), y totalmente soluble en acetona y metanol. El MMF es un profármaco hidrosoluble que carece de actividad farmacológica.

Tras su administración oral se absorbe de forma completa en el intestino delgado, y no es detectable en plasma ya que sufre un proceso de desesterificación en la propia pared intestinal, hepática y sanguínea mediante el cual se transforma en AMF, su metabolito activo. Éste alcanza la concentración plasmática máxima unos 50 minutos tras su administración oral.

La biodisponibilidad media del MMF por vía oral, se determinada mediante el área bajo la curva (AUC) del AMF, es del 94% en comparación con la del MMF intravenoso. Los alimentos no tienen ningún efecto en el grado de absorción (AUC del MMF) del MMF administrado a dosis de 1-1,5g/ dos veces al día, en pacientes TOH. Sin embargo, se produce

una disminución aproximadamente del 40% en la Cmax del AMF en presencia de alimentos.

Efectos del MMF

La respuesta inmunológica que conlleva el rechazo del aloinjerto, depende principalmente de la capacidad de proliferación linfocitaria. Las células proliferan por división mitótica, necesitando para ello la síntesis de ADN, que precisa nucleótidos de purina y pirimidina.

En los linfocitos activados existe un aumento de la síntesis de las purinas, siendo su principal vía la de novo, es decir, la mediada por la inosina monofosfato deshidrogenasa (IMPDH). El AMF es un potente inhibidor no competitivo y reversible de una enzima clave para la síntesis de nucleótidos de novo de purina, la inosín 5´monofostato deshidrogenasa necesaria para que las células B y T activadas puedan proliferar. Por tanto, la principal consecuencia de esta inhibición de la IMPDH es la depleción de la guanosina monofosfato intracitoplasmática (y, consecuentemente del GTP y dGTP) por lo que el ciclo celular se detiene en la fase S, lo que producirá un efecto antiproliferativo en los linfocitos más potente que en otros tipos celulares [118-120]. Además, la isoforma tipo II de la IMPDH, presente en linfocitos en estado de proliferación, es cuatro veces más sensible a la inhibición por AMF que la isoforma de tipo I, expresada en la mayoría de las células [121].

El MMF también disminuye la capacidad de adherencia de los linfocitos activados al endotelio mediante la alteración de la expresión de la molécula de adhesión VLA-4, por lo que disminuye su capacidad de ataque y lesión. Además inhibe la proliferación fibroblástica del músculo liso arterial, lo que lo hace interesante como tratamiento en el rechazo tipo vascular y el crónico [103].

Toxicidad por MMF en el TOH

Debido a su mecanismo de acción, altera otros tipos de células en división, por lo que fundamentalmente entre sus efectos secundarios destacan las alteraciones gastrointestinales, la toxicidad medular y en menor medida las infecciones oportunistas y afecciones del tracto respiratorio.

- Trastornos digestivos: demostraron en un 30% de los pacientes, son habituales los casos de diarrea, nauseas, vómitos o dolor abdominal. Éstos suelen implicar la supresión del tratamiento sólo en un 5% de los casos.

- Mielotoxicidad: es tan frecuente como con la AZA, presentándose en la mayoría de casos, durante el primer mes de tratamiento. La anemia es excepcional, mientras que la leucopenia y la trombopenia se hallan en una 11% y 4% de casos respectivamente [122].

- Infecciones oportunistas: Todos los pacientes trasplantados tienen mayor riesgo de padecer infecciones oportunistas, las más comunes en pacientes tratados con MMF (2 ó 3 g/día) en TOH, son fúngicas (principalmente por Candida micocutánea) y víricas (viremia/enfermedad por CMV y Herpes simplex). La que nos encontramos en mayor proporción de pacientes (13,5%) son viremias/síndrome por CMV, durante el primer año del tratamiento.

A diferencia de otros fármacos inmunosupresores utilizados en el TOH, para este no se han encontrado efectos adversos clínicamente significativos como consecuencia directa del uso de MMF tales como nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, o inducción de mutagénesis.

1.5.3. AntiCD25

Existen diversos trabajos [123-125], que han demostrado los efectos beneficiosos de la asociación de anticuerpos monoclonales anti-IL-2 al tratamiento inmunosupresor en el trasplante de órganos sólidos, reduciendo la incidencia de RA sin aumentar los efectos adversos. Se usan normalmente en combinación con CsA en microemulsión o tacrólimus, asociando generalmente EST y/o micofenolato, aunque probablemente su potencia y especificidad permitan evitar el tratamiento EST [126].

El receptor de IL-2 consta de 3 subunidades, la beta y gamma, que se expresan constitutivamente y la subunidad IL-alfa también llamada CD25 que sólo aparece en los linfocitos activados. Por tanto, la acción de estos anticuerpos que bloquean únicamente al CD25 es muy selectiva sobre las células activadas.

Daclizumab

El daclizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado, de naturaleza IgG1, que se une específicamente a la cadena de IL-2R y bloquea la unión de la IL-2 al receptor (antigeno CD25). La vida media del anticuerpo en sangre es de 20 días, el descenso de los linfocitos CD25 sucede a partir de las 10 horas de su administración y se mantiene hasta 4 meses [123].

Presentan una gran ventaja que es la ausencia de efectos secundarios debido a su naturaleza humanizada. Los estudios realizados muestran que la administración de 5 dosis de daclizumab produce una disminución de las tasas de RAC de un 30% [127].

Basiliximab

El basliximab es un anticuerpo monoclonal quimérico (humano/murino), se une

específicamente al antigo CD25 de los linfocitos T activados, impidiendo la union de la IL-2 al receptor y por tanto la proliferación de células T. este anticuerpo no causa liberación de citoquinas ni mielosupresión, por lo que su nivel de tolerancia y seguridad es alto [126].

1.5.4 Los inhibidores de mTOR

El SRL o rapamicina es un antibiótico macrólido producido por la fermentación natural de un hongo actinomiceto (Streptomyces Hygroscopicus) descubierto en muestras de tierra de Rapa Nui (Isla de Pascua), donde recibió su nombre inicial. Presentado por primera vez en el año 1975 como fármaco antifúngico, demostrando posteriormente su actividad inmunosupresora in vitro. Este fármaco, de estructura molecular muy parecida al TAC tiene, sin embargo, un mecanismo de acción completamente diferente, siendo el primer representante de un nuevo grupo terapéutico definido por su mecanismo de acción que es la inhibición de la vía metabólica intracelular denominada mTOR. [128]

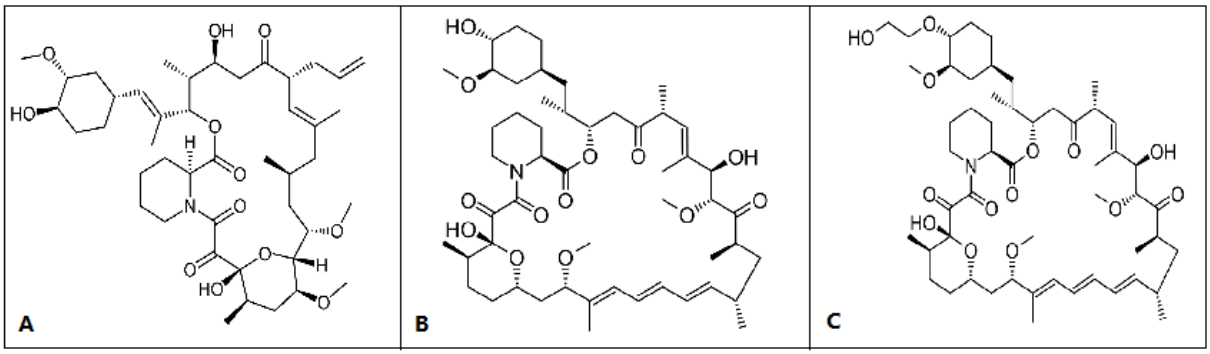


Figura 1.15 Estructura molecular de A:Tacrolimus (FK-506), B: Rapamicina, C:Everolimus.

En los últimos años se ha desarrollado un segundo fármaco con mecanismo de acción prácticamente idéntico, EVE, con algunas ventajas teóricas desde el punto de vista farmacocinético, al menos.

Mecanismo de acción

Este grupo terapéutico también ha sido llamado Inhibidores de la Señal de Proliferación (ISP) y tiene algunas ventajas sobre los inmunosupresores clásicos que han hecho despertar un gran interés. Se unen a la misma inmunofilina que el tacrólimus (la FKBP12 o fugifilina), pero a pesar de que *in vitro* compite con él, no sucede lo mismo *in vivo*. De todos modos, su acción es totalmente diferente a la del TAC, dado que no inhibe la calcineurina [129,130]. En el citoplasma de la célula, el complejo sirolimus-fugifilina se une a unas proteínas mTOR que inhiben la división celular, de este modo bloquea el proceso de transmisión de señales desde la membrana al núcleo. El resultado es una inhibición de la proliferación de los linfocitos T inducida por IL-2, pero sin afectar a la producción de IL-2, impidiendo el paso de la fase G1 a la fase S del ciclo celular. A diferencia de los anticalcineurina, bloquea la expansión de células T mediada por estímulos independientes del calcio [131].

La proteina mTOR forman dos complejos estructural y funcionalmente distintos, mTORC1 y mTORC2, ambos que juegan diferentes papeles en via abajo. mTORC1 es activada por factores de crecimiento, los aminoácidos y los controles de la proliferación celular, la promoción de procesos tales como la traducción del ADN, la transcripción del ARN, la biogénesis ribosomal, y la progresión del ciclo celular[132]. SRL y EVE inhiben selectivamente al mTORC1 pero no al mTORC2.

Su potencia inmunosupresora es similar a la del TAC. Tiene un efecto sinérgico con los anticalcineurinas, con los que se pueden administrar para aumentar su potencia disminuyendo las dosis y, por tanto, la toxicidad.

Dados sus efectos antiproliferativos, es útil en la arteriopatía del RC. Además de bloquear la progresión del ciclo celular inducida por IL-2, facilita la apoptosis, actuando sinérgicamente con el bloqueo de la señal co-estimuladora en la reducción de linfocitos aloreactivos, lo cual también la diferencia de los anticalcineurinas, que bloquean la apoptosis. Esto tiene relevancia porque se ha relacionado la apoptosis con el desarrollo de mecanismos

de tolerancia a los aloinjertos [103,128]. Existe experiencias en humanos que han sugerido incluso una menor incidencia de recurrencia de hepatocarcinoma al asociar SRL al protocolo inmunosupresor [133].

En España, no está aprobada su indicación en TOH salvo como uso compasivo ante la presencia de efectos secundarios a los anticalcineurínicos hasta el año 2015. La conversión de una pauta de inmunosupresión basada en ICN a una basada en el uso de mTORi es eficaz para disminuir la nefrotoxicidad y la neurotoxicidad secundarias a TAC o CsA sin que eso suponga una mayor tasa de rechazo [134]. EVE está aprobado en el TOH en caso de disfunción renal en el año 2015.

1.5.4.1. Farmacocinética del Sirolimus

Absorción

Tras su administración oral SRL se absorbe de manera rápida. La concentración plasmática máxima (Cmax) se alcanza a la hora de la administración de una dosis única y a las 2 horas tiempo máxima (tmax) en pacientes trasplantados renales que han recibido dosis múltiples [135]. La administración conjunta con alimentos grasos retrasa la velocidad de absorción; de esta forma la Cmax disminuye en un 34%, la tmax se incrementa 3,5 veces, y el área bajo la curva de concentraciones plasmáticas vs. Tiempo (AUC) también se incrementa en un 35% al compararlo con los valores obtenidos en ayunas [136].

Por este motivo y para disminuir la variabilidad, se recomienda administrar SRL de manera regular, bien sea con o sin alimentos. Puede administrarse con agua o zumos de fruta, a excepción de zumo de pomelo, ya que este puede alterar el metabolismo intestinal mediado por la isoenzima del citocromo P450 3A4 (CYP 3A4) [137,138]. La biodisponibilidad de sirolimus es aproximadamente del 14%. La baja magnitud de este valor es debida a un

importante metabolismo por parte de la isoenzima CYP 3A4, tanto intestinal como hepática (efecto de primer paso) y por su eliminación contra gradiente por la glicoproteina P intestinal [139].

Distribución

SRL se distribuye ampliamente en los elementos formes de la sangre, la fracción libre en plasma es de alrededor de 8%. En el ser humano se une principalmente con la albúmina sérica (97%), la a1-glicoproteina ácida y lipoproteínas. Después de dosis múltiples en pacientes trasplantados renales, el volumen de distribución estimado (Vd) es de aproximadamente 1,7 l/kg [135].

Metabolismo

SRL sufre un extenso metabolismo oxidativo a nivel hepático, mediante reacciones de desmetilación e hidroxilación. Origina un gran número de metabolitos, y en apariencia estos conservan parcialmente la actividad de la molécula original [140].

Excreción

Su excreción es mayoritariamente fecal (91,1%), siendo la eliminación por vías urinarias baja (2,2%). Tal como se ha podido comprobar tras la administración de una dosis única de SRL marcado radioactivamente a voluntarios sanos [138]. Después de la administración de dosis múltiples a pacientes trasplantados renales, la semivida de eliminación (t1/2) fue de 62 horas y el aclaramiento total (Cl/F) 210 ml/h/kg [140].

Situaciones especiales

En el caso de insuficiencia hepática, el SRL se ha estudiado en pacientes con insuficiencia hepática clase A y B de la clasificación de Child-Pugh. Tras la administración de una sola dosis de 15mg vía oral, ni la Cmax ni la tmax se modificaron, pero el AUC se incrementó 61% y el aclaramiento disminuyó 33%. No hubo diferencias respecto al volumen de distribución en estado de equilibrio entre voluntarios sanos y pacientes con insuficiencia hepática. Por este motivo, la dosis de SRL en estos pacientes debe reducirse un tercio de la posología habitual realizándose una monitorización periódica de las concentraciones sanguíneas del fármaco [(141)].

En el caso de insuficiencia renal, no se conoce el efecto de la insuficiencia renal sobre la farmacocinética del SRL, pero dado que su excreción es mayoritariamente fecal, no parece que se modifique en este grupo de pacientes [(142)]. En un estudio de tolerancia en pacientes pediátricos en diálisis, tras la administración de SRL a dosis crecientes por vía oral, se observó un aumento estadísticamente significativo del aclaramiento total (Cl/F) en el grupo de pacientes de 5 a 11 años. Debido a que los niños más pequeños pueden requerir dosis mayores, la posología debe instaurarse en base a la superficie corporal total del individuo. Es también necesario realizar una monitorización periódica de las concentraciones de SRL [(141)].

Los estudios clínicos realizados con SRL, no incluyeron un número suficiente de pacientes que permitan obtener conclusiones respecto a la influencia de la edad en su farmacocinética. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros farmacocinéticos de individuos de raza negra y caucásica. Los varones tienen un aclaramiento total 12% menor que el de las mujeres, pero una t1/2 significativamente más alta. No obstante, estas diferencias no requieren un ajuste especial de dosis. [(141)]

1.5.4.2. Farmacocinética del Everolimus

Absorción

El EVE alcanza su concentración máxima al cabo de 1 o 2 horas después de la administración oral. En los pacientes trasplantados, las concentraciones sanguíneas de EVE son proporcionales a la dosis en el intervalo de 0,25 a 15 mg. Tomando como base el cociente de áreas bajo la curva de concentraciones/tiempo (cociente de AUC), la biodisponibilidad relativa del comprimido dispersable frente al comprimido convencional es de 0,90 (IC del 90% 0,76 - 1,07) [143, 144].

Efecto de los alimentos: La Cmax. y AUC del EVE se reducen a un 60% y 16% cuando el comprimido se administra con una comida rica en grasas [143].

Distribución

La razón sangre/plasma del EVE depende de la concentración y varía del 17% al 73% en el intervalo de 5 a 5000 ng/ml. La fijación a las proteínas plasmáticas es aproximadamente del 74% en los individuos sanos y en los pacientes con insuficiencia hepática moderada. El volumen de distribución asociado a la fase terminal (Vz/F) en pacientes con trasplante renal en fase de mantenimiento es de 342 ± 107 1. [144]

Metabolismo

El EVE es uno de los sustratos de la CYP3A4 y de la glucoproteína P. Las principales vías metabólicas identificadas en el ser humano son las monohidroxilaciones y las 0-desalquilaciones. Se forman dos metabolitos principales por hidrólisis de la lactona cíclica. El EVE es la forma predominante en la circulación sanguínea. Ninguno de los metabolitos principales contribuye de forma significativa a la actividad inmunodepresora del EVE. [145]

Excreción

Tras la administración de una dosis única de EVE radiactivo a pacientes tratados con ciclosporina tras el trasplante, la mayor parte de la radioactividad (el 80%) se encontró en las heces y sólo una pequeña proporción (el 5%) en la orina [148]. Ni en la orina ni en las heces se detectó el compuesto original.

Situaciones Especiales

La farmacocinética es similar en los pacientes con trasplante de riñón o de corazón tratados simultáneamente con EVE dos veces al día y ciclosporina para microemulsión. Hacia el cuarto día se alcanza el estado estacionario con una acumulación 2 a 3 veces superior de concentraciones sanguíneas si se compara con la exposición tras la primera dosis. El Tmáx. tiene lugar entre 1 y 2 horas después de la administración. La Cmáx. media es igual a 11,1 ± 4,6 y a 20,3 ± 8,0 ng/ml y el AUC medio igual a 75 ± 31 y 131 ± 59 ng-h/ml con las dosis de 0,75 y 1,5 mg administradas dos veces al día, respectivamente. Las concentraciones sanguíneas mínimas antes de la administración (Cmin) fueron en promedio iguales a 4,1 ± 2,1 y a 7,1 ± 4,6 ng/ml con las dosis de 0,75 y 1,5 mg administradas dos veces al día, respectivamente. La exposición al EVE permanece invariable con el tiempo durante el primer año después del trasplante. La Cmin. se correlaciona de forma significativa con el AUC; el valor del coeficiente de correlación es de entre 0,86 y 0,94. El análisis farmacocinético de la población indica que la depuración oral (CL/F) es de 8,8 1/h (un 27 % de variación interindividual) y el volumen de distribución central (Vc/F) es de 110 1 (un 36 % de variación interindividual). La variabilidad residual de las concentraciones sanguíneas es del 31 %. La semivida de eliminación es de 28 ± 7 h. [143,145]

En el caso de insuficiencia hepática, el AUC del EVE en ocho pacientes con insuficiencia hepática moderada (clase B de Child-Pugh) fue en promedio el doble del observado en ocho individuos sanos. El AUC guardaba una correlación positiva con la concentración de

bilirrubina plasmática y con la prolongación del tiempo de protrombina, y una correlación negativa con la concentración de la albúmina plasmática. El AUC del EVE tendía a ser superior al de los individuos sanos si la concentración de la bilirrubina era >34 µmol /l, la RNI >1,3 (tiempo de protrombina >4 segundos de prolongación) y la concentración de albúmina <35 g/1. No se ha evaluado la repercusión de la insuficiencia hepática grave (clase C de Child-Pugh), pero el efecto que ejerce sobre el AUC del EVE probablemente sea tan grande o incluso mayor que el de la insuficiencia moderada (ver Posología y forma de administración).

En el caso de insuficiencia renal posterior al trasplante (Clcrea, 11-107 ml/min) no afectó la farmacocinética del EVE.

En los casos de niños y adolescentes, la depuración aparente del EVE (CL/F) aumenta de forma lineal con la edad del paciente (1 a 16 años), la superficie corporal (0,49-1,92 m2) y el peso (11-77 kg). La CL/F en el estado estacionario es de 10,2 ± 3,0 1/h/m2 y la semivida de eliminación, de 30 ± 11 h. Diecinueve pacientes pediátricos con trasplante renal de novo (de 1 a 10 años) recibieron los comprimidos dispersables de CERTICAN® en dosis de 0,8 mg/m2 (máximo 1,5 mg) dos veces diarias con la ciclosporina para microemulsión. Se logró un AUC del EVE de 87 ± 27 ng-h/ml, semejante al de los adultos tratados con 0,75 mg dos veces al día. Las concentraciones mínimas (C0) en el estado estacionario fueron de 4,4 ± 1,7 ng/ml.[144]

En el caso de edad avanzada, se estimó que la depuración del EVE por vía oral puede verse reducida un 0,33 % por año en los adultos (la franja de edad estudiada fue de 16 a 70 años). El ajuste de la dosis no se considera necesario.

Respecto al grupo étnico, el análisis farmacocinético de la población indicó que la depuración por vía oral es, en promedio, un 20 % mayor en los pacientes trasplantados de raza negra [145].

1.5.4.3. Vía metabólica de mTORi

La activación del linfocito T comprende dos fases principales. La primera es la que sigue a la activación del receptor del linfocito T y que resulta de la activación de la trascripción de genes de citocinas y conduce al linfocito T desde el estado quiescente, de reposo (G0), al estado competente o activo (G1). La segunda fase comprende la respuesta del linfocito T, incluyendo la secreción de citocinas promotoras del crecimiento, como la interleucina-2 (IL-2) o la 4 (IL-4), de forma autocrina (para actuar sobre la misma célula) o paracrina (sobre las células cercanas). Además, hace que los linfocitos T competentes entren en la fase de proliferación celular (paso de la fase G1 a la fase S, de síntesis de DNA) con la subsiguiente expansión clonal y la adquisición de las funciones efectoras por parte del linfocito T.

El mecanismo de acción del SRL es distinto del de la CsA o del TAC, que inhiben la primera fase de la activación del linfocito T. Estas drogas interrumpen la señal desde el receptor bloqueando la calcineurina, una serin-treonin fosfatasa que es necesaria para la activación transcripcional del gen de la IL-2 en respuesta a la unión del antígeno con el receptor de la célula T. Por tanto inhiben la producción de IL-2 y la subsiguiente estimulación de la célula T. Por el contrario el SRL interfiere con la segunda fase de la estimulación de la célula T. Interrumpe la señal desde el receptor de la IL-2 y los receptores de otras citocinas y factores de crecimiento. Los inhibidores de mTOR bloquean la señal de transducción requerida para la progresión de las células estimuladas por la IL-2 desde la fase G1 a la fase S, por tanto suprimiendo la proliferación de las células T estimuladas por las citocinas. La mayoría de los efectos adversos producidos por los ICNs son consecuencia de la inhibición de la calcineurina (hipertensión arterial, neurotoxicidad, nefrotoxicidad, etc) por lo que los fármacos del grupo mTORi no tienen estos efectos. Es interesante destacar que el TAC y el SRL tienen la misma diana intracelular, la proteína FKBP12, mientras que la CsA se une a otro receptor intracelular, la ciclofilina P.[141]

Por este mecanismo de acción inicialmente se pensaba que el efecto del SRL podría ser

complementario de los ICN y que podría ser más adecuada su combinación con la CsA para evitar la teórica competencia con el TAC por el FKBP12, pero esto se ha demostrado que no es así. Por un lado no parece haber competencia entre ambas drogas y por otro la combinación con CsA ha demostrado una potenciación de la nefrotoxicidad de la misma que en general la han desaconsejado. El bloqueo del mTORi induce por tanto una inhibición de la proliferación de los linfocitos dependiente de citocinas como la IL-2. Además interfieren en el reconocimiento antigénico, a través de la inhibición de la maduración de las células presentadoras de antígenos.

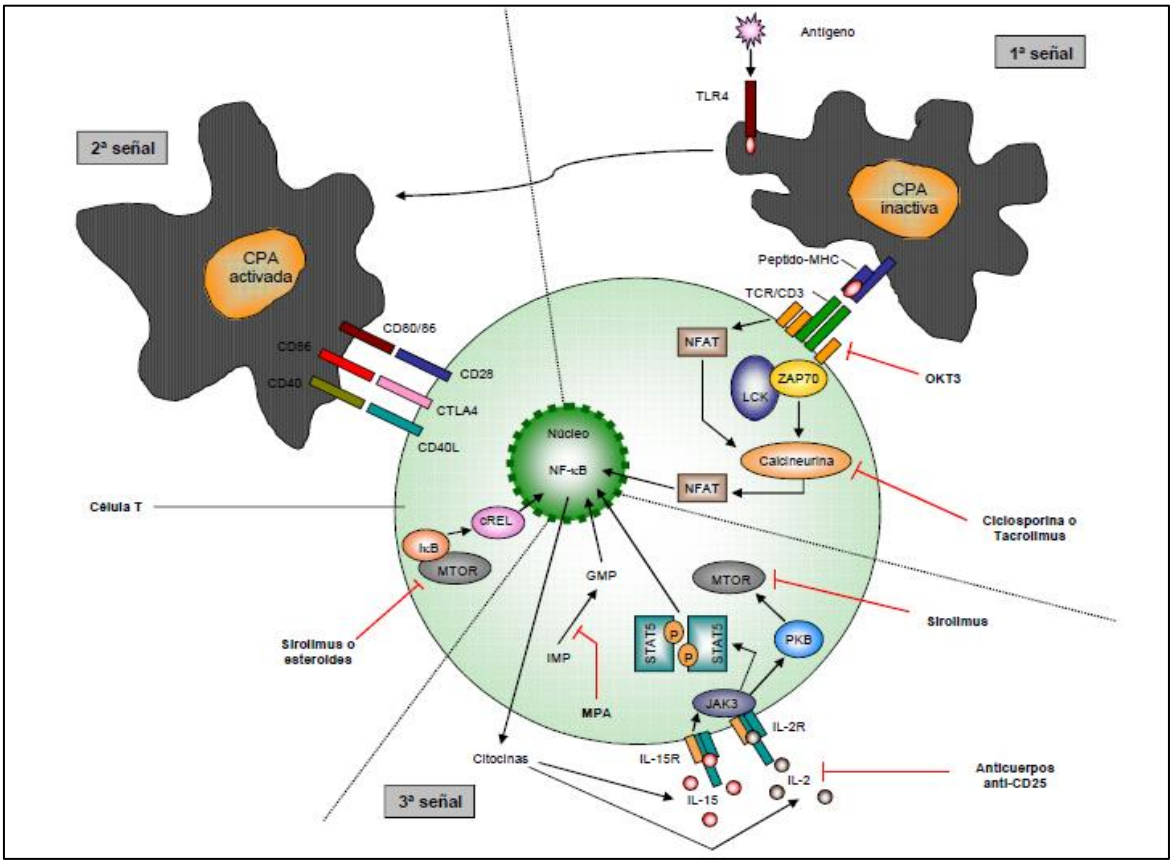


Figura 1.16 El OKT3, la ciclosporina y el tacrolimus actuan sobre la progresión de la fase G0 a G1, requerida por la primera señal de activación. El sirolimus y los esteroides actuan sobre la coestimulación (2ª señal), que tambien interviene en el paso G0-G1. Los anticuerpos monoclonales anti-CD25 impiden la unión de la IL2 con su receptor. El sirolimus actúa sobre la traducción de la señal de las citocinas (3ª señal). Y finalmente el ácido micofenólico inhibe la síntesis de guanosina (fase S). CPA: célula presentadora de antígenos; CTLA4, cytotoxic T lymphocyte antigen 4; GMP, guanosine monophosphate; I B, inhibitory B; IMP, inosine monophosphate; JAK3, Janus kinase 3; L, ligand; MTOR, mammalian target of rapamycin; NFAT, nuclear factor of activated T cells; NF- B, nuclear factor- B; PKB, protein kinase B; R, receptor; STAT5, signal transducer and activator of transcription 5; TCR, Tcell receptor; TLR4, Toll-like receptor 4; ZAP70 chain-associated protein 70.

La vía del mTOR no solo participa en la activación de la respuesta inmune a nivel del linfocito sino que su distribución celular es mucho más amplia, participando en la regulación del crecimiento y proliferación celular de forma generalizada por los diferentes tejidos (líneas celulares mesenquimal y epitelial especialmente). Esto hace que no solo tenga efectos inmunosupresores, sino también otros, entre los que los efectos antiproliferativos (y entre ellos los antifibróticos) y los antineoplásicos cobran particular importancia por los potenciales beneficios que pueden implicar en los pacientes que los reciban. SRL y EVE son potentes inhibidores de la proliferación y emigración de las células del músculo liso.

A nivel del trasplante de órganos sólidos, este efecto antiproliferativo y antifibrótico se ha especulado que podría tener un efecto beneficioso (independiente de la respuesta inmune) dado que la fibrosis es la consecuencia final del daño del injerto, sea cual sea la causa del mismo. Este efecto lo llevan a cabo a través de la estimulación de la expresión de la kinasa inhibidora de la división celular p27Kip1.

1.5.4.4. Efecto secundario de mTORi

Se considerado que el principal efecto secundario es la hiperlipidemia, presente en aproximadamente el 44% de los casos [(146)], un porcentaje mayor que otros fármacos inmunosupresiones. También es muy frecuente la presencia de trombopenia y leucopenia, aunque ambas son reversibles en el 90% de los casos [(147)].

Como ya hemos comentado, los inhibidores de mTOR constituyen un grupo de proteínas kinasas relacionadas con los procesos de proliferación y crecimiento celular. Las drogas capaces de bloquear dicha proteína poseen un potente efecto inmunosupresor con ventajas respecto a los anticalcineuríficos tales con una relativa ausencia de nefrotoxicidad unida a una potente inhibición de la proliferación celular. Están especialmente indicados en pacientes con

insuficiencia renal o cáncer, poseyendo dichas moléculas la ventaja adicional de no inducir diabetes mellitus o hipertensión arterial, describiéndose más recientemente un efecto antiangiogénico en los pacientes tratados con dichos fármacos. Debido a su buena tolerancia y a sus efectos preventivos en la morbimortalidad cardiovascular así como en la prevención tumoral, los inhibidores de mTOR se posicionan para su uso en la inmunosupresión postrasplante. Es más, algunos estudios han mostrado una mayor supervivencia del injerto mientras que otros han descrito una relativa mielosupresión. La mTORi, está regulada en las células eucariotas mediante la vía metabólica PI3K/Akt. Aquellas células con mutación en los genes PTEN y PI3K presentan una liberación del control de esta vía, por lo que la inhibición del mTOR actuaría eficazmente en el control neoplásico. Cabe destacar que existe un trabajo inicial que describe un mayor riesgo de trombosis arterial en los pacientes que recibieron SRL, aunque este hallazgo no se ha reproducido en otros estudios [148].

Existen al menos 4 moléculas dentro de este grupo en pleno desarrollo clínico, incluyendo SRL, EVE, temsirolimus, y AP23537. Uno de los mayores retos ha sido definir la dosis máxima tolerada, aunque, en general estos fármacos son bien tolerados por los pacientes. En la actualidad hay 2 inhibidores de mTOR en el mercado: EVE (Certican, Novartis) y SRL (Rapamune, Wyeth). Por el momento, nos reservamos el uso compasivo de estos fármacos en el trasplante de hígado para casos de neoplasias (carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma, tumores neuroendocrinos metastásicos), tumores malignos *de novo* (carcinomas cutáneos, cáncer gástrico, cáncer de mama, etc), insuficiencia renal asociada a ICN, insuficiencia renal previa que no mejora tras trasplante e inmunosupresión en pacientes con rechazo agudo o crónico corticorresistente.

Los riesgos potenciales de los inhibidores de mTOR, que incluyen hipercolesterolemia, trombosis y problemas en la cicatrización de heridas, también han sido destacados en este segmento de población. Ningún estudio controlado ha examinado estos puntos finales críticos en el entorno del TOH.

1.5.4.5. MTORi y función renal

Cuando inicialmente se estudió el efecto del SRL sobre la función renal, se observó que este no presentaba la nefrotoxicidad asociada a los ICNs, tanto en modelos de animales [150] como en ensayos clínicos de pacientes con psoriasis [151]. Sin embargo, las combinaciones del SRL con la CsA parecían exhibir mayor nefrotoxicidad que esta última sola [152]. Los ensayos que han comparado la terapia con el SRL, tras la suspensión de los ICNs, han encontrado una mejor función renal frente al mantenimiento conjunto de estos con el SRL. En modelos murinos parece que la combinación del SRL con la CsA es más nefrotóxica que con TAC [153]. Este mismo hallazgo se ha repetido en algunas experiencias clínicas en trasplante hepático o renal [154], aunque otros autores no han encontrado este patrón [155]. La información disponible respecto a si la combinación mantenida de la TAC con el SRL es más nefrotóxica que la combinación más estándar con micofenolato, es más escasa debido a la existencia de estudios con menor reclutamiento, pero hay más trabajos que así lo sugieren [156,157], que los que sugieren lo contrario [158].

Por otra parte, las cifras séricas de potasio en tratamiento con SRL tienden a ser inferiores que cuando se les comparan con AZA, placebo o CsA, existiendo una buena respuesta a los suplementos de potasio [159]. En contraposición a lo que ocurre con CsA, SRL parece no afectar los niveles séricos de ácido úrico ni magnesio [160].

Las primeras experimentaciones animales con SRL que evaluaron la función renal no analizaron la proteinuria. Recientemente, Bonegio y Cols., han mostrado que SRL disminuye la inflamación y la fibrosis en un modelo experimental murino de nefritis membranosa con proteinuria [161], y en modelos NZB/WF1 lúpicos disminuye la proteinuria [162].

Los inhibidores de mTOR se han investigado más ampliamente en pacientes con trasplante renal, demostrándose en algunos estudios que la eliminación o sustitución de la CsA por SRL o EVE preserva la función del injerto [163,164]. Pequeñas series de casos no controlados han

sugerido que estos fármacos pueden conducir a la mejora de la función renal al reducir o eliminar la exposición a los inhibidores de la calcineurina ya que éstos añaden cierta nefrotoxicidad [165-167].

1.5.4.6. MTORi en el ámbito de la oncología

La incidencia de neoplasias *de novo* que se producen tras el TOH es significativamente mayor que la de los tumores malignos desarrollados en la población general, y esto se ha atribuido, al menos en parte, a la inmunosupresión que de por vida deben seguir los receptores de dicho TOH [168].

La terapia inmunosupresora disminuye la respuesta inmune contra células malignas y contra una gran variedad de virus con propiedades oncogénicas. Del mismo modo, se ha descrito en un ensayo randomizado, recientemente publicado, que los pacientes cirróticos de origen enólico tenían un riesgo de neoplasia no hepática muy superior en el caso de haber sido trasplantado a diferencia de los que no se trasplantaron y siguieron un tratamiento estándar para su patología (a 5 años, el riesgo de neoplasia fue del 37% frente a 6%). Este aumento del riesgo es especialmente alto en neoplasias relacionadas con infecciones virales, 7, tales como linfoma no Hodgkin, sarcoma de Kaposi y cáncer de cuello de útero. El riesgo de padecer cáncer de piel también está incrementado en gran medida en estos pacientes.[169-171]

La incidencia de otros cánceres comunes parece estar aumentada igualmente, pero este riesgo no es tan alto. Algunas series han demostrado que la incidencia de cáncer colorrectal, de pulmón, cabeza y cuello, urológico, y carcinomas hepatocelulares se incrementa tras recibir terapia inmunosupresora de por vida [169,172-174]. En algunos casos, la causa de este aumento del riesgo puede ser una asociación específica entre determinadas causas propias de la enfermedad hepática y factores de riesgo para el desarrollo de ciertos tipos de neoplasia en la población general: existe una asociación entre la colangitis esclerosante primaria y la colitis

ulcerosa, la cual aumenta notablemente el riesgo de cáncer colorrectal.

En pacientes con enfermedad hepática alcohólica, se asocia un mayor riesgo de cáncer de esófago y cáncer de cabeza y cuello, pudiendo ser debido a la asociación entre el consumo elevado de alcohol y el tabaquismo, el cual es un factor de riesgo muy importante para algunos de los tumores diagnosticados con mayor frecuencia en los pacientes trasplantados.

Por último, el riesgo de padecer otros tipos de neoplasias tan comunes, como el cáncer de próstata, parece ser igualmente más elevado en los receptores de trasplante hepático que en la población general.

La mTOR, proteína del grupo de las quinasas, está implicada en la regulación metabólica celular PI3K/Akt. Su activación, en respuesta a señales de crecimiento, nutrientes y de energía, conduce a un aumento en la síntesis de proteínas necesarias para el desarrollo y crecimiento de tumores. Esta característica convierte a la mTOR en una importante diana para la terapia contra el cáncer.

La primera generación de mTORi, derivados del SRL (rapálogos), han sido ampliamente evaluados en pacientes con cáncer. Tanto EVE como temSRL fueron aprobados para el tratamiento del carcinoma de células renales mientras que el temsirolismus lo fue además para el tratamiento del linfoma de células del manto. Estos fármacos, además del ridaforolimus (anteriormente deforolimus) y SRL, están siendo actualmente probados en ensayos clínicos de diversos tipos de tumores. Por otra parte, los inhibidores de mTOR de segunda generación, pequeñas moléculas con acción en el ámbito de las quinasas, se encuentran igualmente en pleno desarrollo clínico. Los ensayos clínicos están en marcha para identificar patologías malignas adicionales que respondan a mTORi, ya sea en terapia única o combinada. Futuras investigaciones deberán evaluar los regímenes terápeuticos más apropiados así como las poblaciones dianas.

Los efectos antiproliferativos del SRL pueden tener un rol en el tratamiento del cáncer.

Recientemente se demostró que el SRL inhibía la progresión del Sarcoma de Kaposi en pacientes con trasplante renal. Otros inhibidores de mTOR tales como el temsirolimus (CCI-779) o EVE (RAD001) están siendo probados para su uso en canceres como el glioblastoma multiforme y linfoma de células de manto.

Como con todos los medicamentos inmunosupresores, el SRL disminuye la actividad antioncogénica del organismo y permite la proliferación de algunos canceres los cuales serían normalmente destruidos. Los pacientes inmunosuprimidos tienen un riesgo de cáncer de 10 a 100 veces más alto que la población general. Además, los pacientes que actualmente padecen o han sido tratados por cáncer, desarrollan una tasa más elevada de progresión tumoral así como de recurrencia en relación a los pacientes con un sistema inmune intacto.

MTORi y hepatocarcinoma

La hepatocarcinoma es un cáncer común que posee la tercera tasa de mortalidad relacionada con el cáncer más alta en el mundo. Aunque potencialmente curable con trasplante si se detecta a tiempo, la mayoría de los casos se diagnostican en una etapa avanzada por lo que se limitan las opciones de tratamiento disponibles.

La única terapia sistémica probada avanzada para el HCC es el sorafenib, un inhibidor de la multi-quinasa que ha demostrado eficacia modesta y tolerabilidad razonable en pacientes con HCC avanzado. Cinco años después de la aprobación del sorafenib, ningún otro agente ha demostrado ser beneficioso en primera o segunda línea de tratamiento contra el HCC avanzado. Mientras que los estudios moleculares han puesto de relieve varios objetivos potenciales en el HCC, los inhibidores de mTOR se han convertido en un objetivo interesante para la terapia del cáncer, incluido el HCC.

Los datos de laboratorio han vinculado el eje 3-kinase/AKT/mTORi fosfatidilinositol a diversos procesos oncogénicos, incluyendo la supervivencia y la angiogénesis. Históricamente,

los inhibidores de mTOR se han utilizado por sus propiedades inmunosupresoras, pero más recientemente han sido aprobados como agentes anticancerígenos. Estudios retrospectivos sobre el HCC sugieren que la inclusión de los inhibidores de mTOR como parte de un régimen inmunosupresor, después del trasplante, puede reducir la recurrencia de HCC en comparación con otros agentes inmunosupresores, tales como los inhibidores de la calcineurina. Más recientemente, estudios de un solo brazo, en fase I / II han demostrado que los inhibidores de mTOR también tienen actividad en monoterapia en casos de HCC recurrente o *de novo*, avanzados. [175]

2. Hipótesis

HIPÓTESIS

Hipótesis principal:

El régimen inmunosupresor basado en inhibidores de mTOR es eficaz en preservar la función renal en el paciente trasplantado hepático.

Hipótesis secundaria:

Los inhibidores de mTORi son fármacos seguros en el paciente trasplantado hepático.

3. Objetivos

OBJETIVOS

Objetivos:

Principal:

Evaluar la eficacia de los inhibidores de mTOR en preservar la función renal del paciente trasplantado hepático.

Secundario:

Valorar la seguridad de los inhibidores de mTOR en el paciente trasplantado hepático.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio incluye dos bloques: un bloque de estudio clínico y un bloque de estudio experimental.

La metodología del trabajo ha seguido el orden de las hipótesis y objetivos del mismo, dividiendo el método en tres bloques bien diferenciados:

a) Estudio clínico:
   - Análisis observacional para evaluar la eficacia de mTORi en la conservación de la función renal de los pacientes TOH.
   - Análisis observacional para evaluar la seguridad de mTORi en el paciente sometido a TOH inmunosuprimido con mTORi.

b) Estudio exprimental:

   Comparar la lesión histológica renal de mTORi frente ICN en un modelo animal experimental.

Detallamos a continuación el método utilizado en cada bloque.

4.1. BLOQUE DE ESTUDIO CLÍNICO

4.1.1. Diseño del estudio clínico

Se trató de un estudio observacional, retrospectivo de cohorte, utilizando una muestra de pacientes extraída de la totalidad de 1102 pacientes TOH en el Hospital Virgen del Rocío entre el marzo de 1990 y el abril de 2014. De ellos, 135 pacientes fueron convertidos a mTORi.

4.1.2. Pacientes

La indicación de conversión a mTORi se encuentra reflejada en la tabla 4.1

Tabla 4.1 Motivos de conversión desde ICN a mTORi.

Motivo de conversión	SRL	EVE	Total	Porcentaje
Hepatocarcinoma	28	16	44	32.6%
Neoplasia *de novo*	25	7	32	23.7%
Nefropatía	9	30	39	28.9%
Síndrome metabólico	1	4	5	3.7%
Afectación neurologica por ICN	1	4	5	3.7%
Rechazo agudo	0	4	4	3.0%
Rechazo crónico	1	3	4	3.0%
Colangiocarcinoma	1	0	1	0.7%
Cardiovascular	0	1	1	0.7%
Total	66	69	135	100.0%

La mediana de tiempo desde trasplante hasta conversión fue 16.6 meses. Se describen las principales causas de conversión, por orden de frecuencia, hepatocarcinoma (41 pacientes. 30,4%), nefropatía (39 pacientes. 28,9%), y las neoplasias *de novo* (32 pacientes. 23,7%), seguidas de lejos por el síndrome metabólico (5 pacientes. 3,7%), afectación neurológica por ICN (5 pacientes. 3,7%), rachazo agudo (4 pacientes. 3,0%), rechazo crónico (4 pacientes. 3,0%), recidiva hepatocarcinoma (3 pacientes. 2,2%), Colangiocarcinoma (1 pacientes. 0,7%)

y cardiovascular (1 pacientes. 0,7%). El motivo de conversión por nefropatía se define que los pacientes se convertiron a mTORi por diagnóstico clínico de insuficiencia renal o presentaban el nivel de creatinina en suero más de 1,3 mg/dl.

A. Edad

La mediana de edad fue de 57 años (9-67); la mediana de edad de conversión a mTORi fue de 60 años (22-77).

B. Distribución por sexo

La distribución por sexos fue de 19 mujeres (14,1%) y 116 hombres (85,9%).

C. Etiología

La mayor parte de los pacientes fueron trasplantados por cirrosis hepática de origen enólico (68. 50,4%), seguidos por VHB (23. 17,0%) y VHC (23. 17,0%). (Tabla 4.2)

Tabla 4.2 Etiología de TOH que fueron convertido a mTORi.

Etiología de TH	Frecuencia	Porcentaje
Alcohol	68	50.4%
VHC	23	17.0%
VHB	23	17.0%
Colestásicas	5	3.7%
Criptogénica	5	3.7%
FHF	3	2.2%
Sindrome caroli	2	1.5%
Wilson	2	1.5%
Traumatismo	1	0.7%
Colangitis esclerosante	1	0.7%
Hepatoblastoma	1	0.7%
Insolacion	1	0.7%
Total	135	100.0%

D. Esquemas de inmunosupresión utilizados

Existen 2 formas de incluir los inhibidores de mTOR en el régimen de inmunosupresor: en monoterapia o en doble terapia con ICN o MMF. En alguno casos, se precise triple terapia con

mTORi, ICN, MMF. Respecto a la terapia inmunosupresora, 66 (48,9%) de ellos fueron tratados con SRL y 69 (51,1%) con EVE. 90 (66,7%) de ellos fueron tratados con mTORi en monoterapia, y 45 (33,3%) con mTORi más ICN. 50 (37,0%) de ellos fueron tratados con SRL, 16 (11,9%) con SRL más ICN, 40 (29,6%) con EVE, 29 (21,5%) con EVE más ICN.

Tabla 4.3 Distribución de mTORi.

mTORi	Frecuencia	Porcentaje
SRL	66	48.9%
EVE	69	51.1%
Total	135	100.0%

Tabla 4.4 Esquema de inmunosupresión I.

Modo de inmunosupresión	Frecuencia	Porcentaje
mTORi	20	14.8%
mTORi+ICN	39	28.9%
mTORi+MMF	70	51.9%
mTORi+ICN +MMF	6	4.4%
Total	135	100.0%

Tabla 4.5 Esquema de inmunosupresión II.

Modo de inmunosupresión	Frecuencia	Porcentaje
mTORi	90	66.7%
mTORi+ICN	45	33.3%
Total	135	100.0%

Tabla 4.6 Esquema de inmunosupresión III.

Modo de inmunosupresión	Frecuencia	Porcentaje
SRL	50	37.0%
SRL+ICN	16	11.9%
EVE	40	29.6%
EVE+ICN	29	21.5%
Total	135	100.0%

La conversión de ICN (CsA o TAC) a mTORi se realizó gradualmente durante 15 días, en cuyo momento el ICN fue retirado. La dosis de mantenimiento de mTORi necesaria se pautó para obtener un nivel valle en las primeras semanas de 5-10 ng / ml, quedando posteriormente a niveles adecuados al paciente de forma individualizada en base a la estabilidad de la función del injerto.

En el gráfico 4.1, podemos observar como los niveles de mTORi de nuestra serie, se mantienen estables en el tiempo.

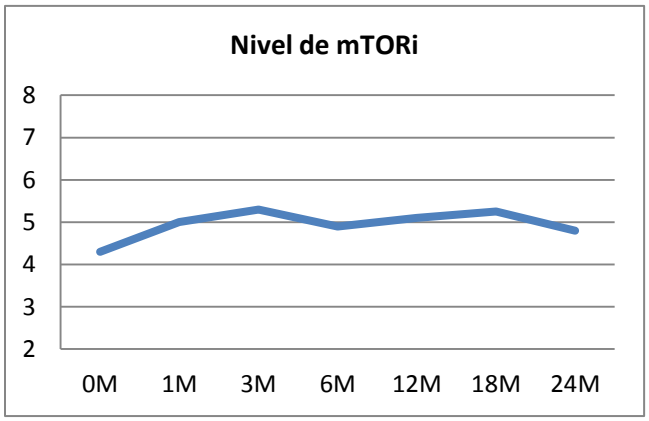


Gráfico 4.1 El nivel de mTORi en suero.

4.1.3. Variables de estudio clínico

Los criterios de valoración de seguridad, y eficacia fueron determinados tras un seguimiento medio de 4.33 años. Registramos los efectos secundarios de mTORi.

A. Las variables de eficacia de la preservación de la función renal:

- Niveles de creatina en suero (Cr), a partir de conversión mTOR, en 0 mes, 1 mes, 3 mes, 6 mes, 12 mes, 18 mes, y 24 mes.

- Niveles de la tasa filtración glomerular (FG), a partir de conversión mTOR, en 0 mes, 1 mes, 3 mes, 6 mes, 12 mes, 18 mes, y 24 mes. La tasa de FG se calculó por fórmula MDRD.

Hemos analizado esta valiable en función de diversas caracteristicas de los pacientes relacionados con nefropatía en TOH, como: nefropatía preTOH, DM preTOH, HTA preTOH, etiología de TOH (VHC, VHB), motivo de conversión mTOR, tiempo tratamiento con ICN.

B. respecto al objetivo secundario del estudio, las variables de seguridad analizadas son:

B.1. Parámetros de toxicidad farmacológica:

- Toxicidad clínica: aparición de aftas bucales, dermatitis, dolor abdominal, edemas faciales o distales, diarrea, síndrome febril, neumonitis tóxica, infección vírica, bacteriana o fúngica, DM, HTA, y suspensión por alguna causa.
- Parámetros hematológicos: Hipercolesterolemia, Hipertrigricelidemia, Anemia, Leucopenia, Trombopenia.

B.2. Parámetros de eficacia fente al rechazo:

- Parámetros de eficacia frenta al rechazo: incidencia de rechazo agudo o crónico.
- Supervivencia.

4.1.4. Análisis estadístico de estudio clínico

A efectos del presente análisis, los datos fueron extraidos de la base de datos en forma de cohortes tanto para SRL como para EVE. A nivel clínico y demográfico, éstos fueros: edad, raza, sexo, etiología de TOH, motivo para conversión a mTORi, fecha del trasplante, historia de diabetes mellitus y/o hipertensión al trasplante, y fecha del conversión. También se obtuvo

una historia completa de la medicación inmunosupresora incluyendo plazos y duración del tratamiento con mTORi. Los datos de laboratorio incluyeron creatinina sérica y filtración glomerular evaluado al momento de la conversión, a los 0, 1, 3, 6, 12, 18 y 24 meses y el último valor mientras se registraba la administración de mTORi.

Los análisis se realizaron con el programa *IBM SPSS Statistics 19.0*. hemos realizado estadística descriptiva de las variables del estudio. Para ello hemos usado frecuencias absolutas y porcentaje en el caso de las variables cualitativas. Las variables cuantitativas se verán resumidas mediante Md(SD) (media, desviación estandar) y rango (mínimo y máximo) o P50 [P25 - P75] (mediana, rango intercuartílico), dependiendo del grado de asimetría de las mismas. La comparación de las variables cualitativas se realizará mediante análisis con la prueba *exacta de Fisher* y *text de Chi*^{2}. Hemos relizado la comprobación de normalidad mediante e *test de Shapiro-Wilk* (n<50) o *Kolmogorov-Smirnof* (n>50) y se analizará la homogeneidad mediante el *test de Levene* y la prueba de esfericidad de *Mauchly*.

Para analizar la variabilidad de las variables cuantitativas con respecto a los diferentes variables categóricas (dicotómicas) se usó la t-Student o la prueba U de *Mann-Whitney*, según sigan o no una distribución normal. En el caso de variables policotómicas se hizo uso de la prueba ANOVA o la prueba H de *Kruskal-Wallis*. El análisis de la variabilidad en las diferentes medidas repetidas de las variables se realizó mediante el Modelo Lineal General de medidas repetidas o la técnica de *Friedman*, según normalidad de las variables. Las comparaciones post-hoc se realizaron teniendo en cuenta la corrección de *Bonferroni*.

El análisis de la superviviencia se ha llevado a cabo con el método no paramétrico de *Kaplan-Meier*.

Establecemos la significativa estadística en $p < 0,05$.

4.2. BLOQUE DE ESTUDIO EXPERIMENTAL

4.2.1. Material y cuidado del animal

Para el desarrollo de este estudio se han empleado 28 ratones machos (6 semanas), Hsd:Atímicos Nude-Foxn1^{nu} (Harlan Laboratorios, Barcelona), con peso aproximada de 100 gr, mantenidos en el animalario del el Institución Biomedicina de Sevilla.(Imagen 4.1) Los animales se colocaron en jaulas individuales y permanecieron en las mismas condiciones de iluminación (12 horas de luz, 12 horas de oscuridad), temperatura (20-23 ^{o}C) y con libre acceso al agua y alimento.

Figura 4.1 Raton de experimental.

4.2.2. Grupos experimentales

Los animales de experimentación (n=28) se dividieron de forma aleatoria en 4 grupos según hubieran recibido solvente (Control), EVE, SRL oTAC:

- Grupo EVE: Se incluyen 6 ratones que reciben everolimus 0.02 µg/g*día. Solución stock: 2 comprimidos de 1.0 mg Certican se homogeniza en 2 ml etanol (1 µg/µl). La solución de trabajo se prepara a partir de 20 µl (solución stock) + 7980 µl 5% glucosa que contiene 0.0025 µg/µl.

- Grupo SRL: Se incluyen 6 ratones que reciben sirolimus 0.04 µg/g*día. Solución stock: 2 comprimidos de 1.0 mg Rapamune se homogeniza en 2 ml etanol (1 µg/µl). La solución de trabajo se prepara a partir de 40 µl (solución stock) + 7980 µl 5% glucosa que contiene 0.005 µg/µl.

- Grupo TAC: Se incluyen 8 ratones que reciben Tacrolimus 0.02 µg/g*día. Solución stock: 1 comprimidos de 5.0 mg Prograf se homogeniza en 2 ml etanol (1 µg/µl). La solución de trabajo se prepara a partir de 80 µl (solución stock) + 7980 µl 5% glucosa = 0.0025 µg/µl.

- Grupo Control: Se incluyen 8 ratones que reciben una cantidad equivalente de etanol cada dia. La solución de trabajo se prepara a partir de 20 µl etanol + 7980 ul 5% glucosa.

El tiempo de administración del fármaco fue durante 30 dias. Los animales recibieron una dosis diaria de los fármacos o solvente, que se realizó mediante cánula que permitió la administración intragrástica.

4.2.3. Anestesia y preparación prequirúrgica

El implante de las células y el sacrificio de los animales de experimentación requirió la anestesis mediante inyección intraperitoneal de ketamina (100 mg/kg) (Ketolar®) por vía intraperitoneal

4.2.4. Sacrificio y obtención de muestras

Se procedió al rasurado del abdomen y desinfección del mismo con polividona yodada al 10%. Se realizó la laparotomia ampliada mediante incisión subcostal bilateral para tener una correcta visualización del abdomen. Se recogieron los riñones que se distribuyeron en

porciones de 2x2 mm aproximadamente que se almacenaron a -80 ºC o se fijaron en paraformaldehido al 4% para su inclusión en parafina. Se valoró el el grado de apoptosis, proliferación celular, fibrogénesis, angiogénesis y la activación de caspasa-3.

4.2.5. Preparación de muestra

Las secciones de tejido (4 µm) se preparon sobre portas de polilisina (Thermo Scientific, Braunschweig, Germany) aptos para tiociones histológicas e inmunohistoquímica mediante el microtomo (Leica©, MR2255). Todas las imágenes se adquirieron con el microscopio de fluorescencia (Olympus©, BX61). (Figura 4.2)

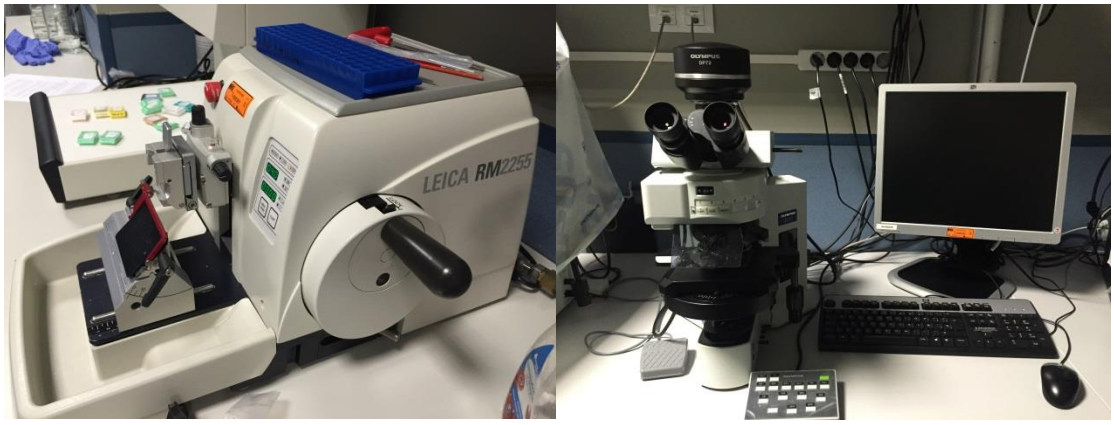


Figura 4.2 Microtomo y microscopia.

4.2.6. Variables de estudio experimental

Las alteraciones histológicas se detectaron mediante la tinción de hematoxilina-eosina (H&E) compuesta por hematoxilina (Sigma©, GHS316) y solución de eosina (Sigma©, HT110116). La fibrosis se valoró con la la tinción del tricrómico de Masson que requirió la solución de *Trichrome Stain (Masson) Kit* (Sigma©, HT15). Mediante las técnicas de inmunohistoquímica se valoraron la expresión de los siguientes marcadores:

- CD31: Grado de angiogenesis.
- Ki67: Grado de proliferación celular.
- α-SMA: Activación de células estrelladas.
- Tunel: Inducción de apoptosis.

La apoptosis celular se valoró mediante la medición de la actividad caspasa-3 en el homogenado de tejido realizado en HEPES 50 mM pH 7.5, EDTA 5 mM, NaCl 150 mM, NP-40 1% y la solución comercial de inhibidores de proteasa. Tras centrifugación a 13000 g, se retiró el sobrenadante que se trató con el sustrato caspase-Glo® 3/7 Assay (Promega©, G811A). La fluorescencia se se midió en el lector de placas Tecan Infinite© M200 PRO (Figura 4.3).

Los anticuerpos utilizado en inmunohistoquímica. (Tabla 4.7)

Marcador	Fluorescéna	Anticuerpo primario	Anticuerpo secundario
CD31	FITC	Anti-CD31 Huésped: Conejo Isotipo: IgG RabMAb©, ab28364, Cambridge, England	Anti-rabbitt IgG Huésped: Cabra Invitrogen©, Alexa 488, A11008
a-SMA	FITC	Anti-α-sma Huésped : Conejo Isotipo: IgG Abcam©, ab5694, Cambridge, England	Anti-rabbitt IgG Huésped: Cabra Invitrogen©, Alexa 488 , A11008
Ki67	FITC/DAPI	Anti-Ki67 Huésped: Ratón Isotipo: IgG1 Dako©, M7240, S.A. Sant Just Desvern, España	Anti-mouse IgG Huésped: Cabra Invitrogen©, Alexa 488, A11001

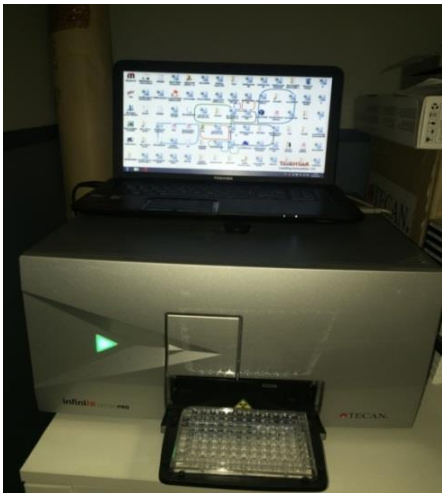


Figura 4.3 Cuantificación la actividad de caspasa-3 en Tecan.

Los estudios de inmunohistoquímica requirieron la desparafinado y rehidratado posterior de las secciones. Las muestras fueron colocadas en cestillos de vidrio y calentadas durante 1 hora a 60 ℃. Esta es la temperatura a la que la parafina se vuelve líquida.

Figura 4.4 Cestillo con muestras parafinadas lista para calentar

Las muestras se bañaron tres veces en Xileno durante 5 minutos que disuelve los restos de parafina.

Figura 4.5 Cubetas para el baño con xileno

Las muestras se hidrataron en orden decreciente de concentración de alcohol. Desde alcohol absoluto (100%) hasta agua destilada. Se meten las muestras 2 minutos en cada uno.

Figura 4.6 Cubetas con alcohol en orden creciente de concentración

Tras la hidratación las secciones se lavan brevemente en agua, y se bloquean los sitios inespecíficos a temperatura ambiente en tampón TBSA-BSAT (Tris 10 mM, NaCl 0.9%, azida sódica 0.02%, BSA 2% y Triton-x100 0.1%). Las secciones se incuban durante toda la noche a temperatura ambiente con el anticuerpo primario correspondiente. A la mañana siguiente las secciones se lavan con tampón TBSA-BSAT, y se incuban durante 5 horas con el anticuerpo secundario correspondiente (Tabla 12).

La apoptosis se evaluó mediante el ensayo DeadEnd™ Fluorometric TUNEL System (G3250, Promega) que identifica las roturas del DNA nuclear mediante la incorporación catalítica de fluoresceina-12-dUTP en el extremo 3´-OH del ADN usando la enzima Terminal Deoxynucleotidyl Transferasa (TdT), la cual, forma una cola polimérica usando el principio de los ensayos de TUNEL (TdT-mediated dUTP Nick-End Labeling). El ADN marcado con fluoresceina-12-dUTP-se visualizó usando el microscopio de fluorescencia Olympus BX61.

4.2.7. Análisis estadistico de estudio experimental

Las imagenes de inmunoflurescencia Se analizó con el programa ImageJ 1.48v, calculación de los resultados en *Microsoft Excel 2010*.

5. Resultados

5.1. SEGURIDAD DE MTORI EN PACIENTE DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

5.1.1. Efectos adversos

Como ya hemos en descrito en la metodología, se analizaron los efectos adversos de mTORi en los pacientes TOH: edema, dermatitis, mucositis oral, diarrea, dolor abdominal, síndrome febril, neumonitis atipica, dislipidemia, anemia, leucopenia, y trombopenia.

A. Edema

Se analizó la incidencia de edema según el tipo de mTORi.

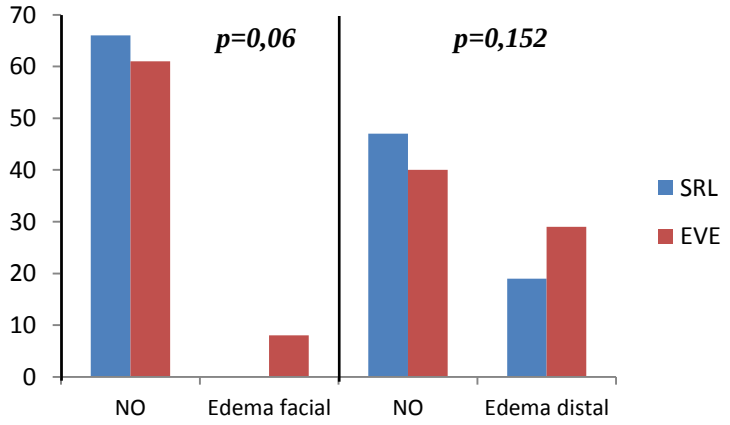


Gráfico 5.1 Distribución de la aprición de edema en los pacientes TOH con mTORi.

Tabla 5.1 Análisis de la aparición de edema en los pacientes TOH con mTORi.

	Edema facial		Edema distal	
	Sí	No	Sí	No
SRL	0	66 (100.0%)	19 (28.8%)	47 (71.2%)
EVE	8 (11.6%)	61 (88.4%)	29 (42.0%)	40 (58.0%)
Total	8 (5.9%)	127 (95.1%)	48 (35.6%)	87 (64.4%)
	P=0.060		***P=0.152***	

Un 5,9% de los pacientes tratados con mTORi presentan edema facial. Todos estos pacientes fueron del grupo EVE (11,6% de grupo EVE). El edema distal es más frecuente (35,6%) que el edema facial en los pacientes TOH con mTORi, siendo mucho más frecuente la incidencia de edema en el grupo EVE, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos

B. Dermatitis

Se analizó la incidencia de dermatitis según el tipo de mTORi.

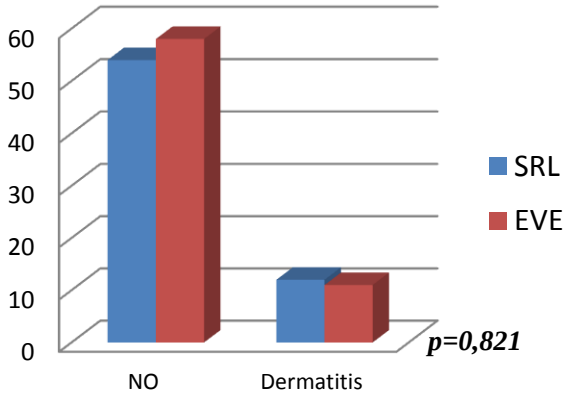


Gráfico 5.2 Distribución de la aparición de dermatitis en los pacientes TOH con mTORi.

Tabla 5.2 Análisis de la aparición de dermatitis en los pacientes TOH con mTORi.

		SRL	EVE	Total
Dermatitis	NO	54 (81.8%)	58 (84.1%)	112 (83.0%)
	SI	12 (18.2%)	11 (15.9%)	23 (17.0%)

P=0,821

Un 17,0% de los pacientes tratado con mTORi presentan dermatitis. La incidencia del grupo EVE y grupo SRL no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (p=0,821).

C. Mucositis oral

Se analizó la incidencia de la mucositis oral según el tipo de mTORi.

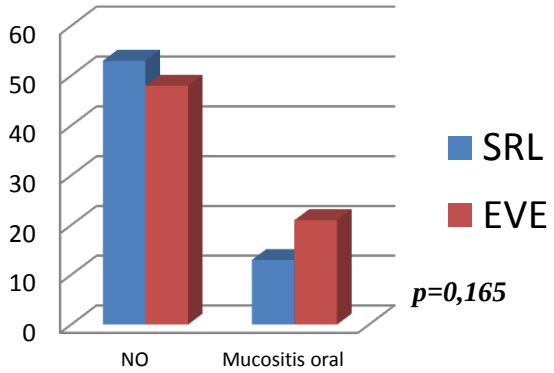


Gráfico 5.3 Distribución de la aparición de mucositis oral en los pacientes TOH con mTORi.

Tabla 5.3 Análisis de la aparición de AFTAS en los pacientes TOH con mTORi.

		SRL	EVE	Total
Mucositis oral	NO	53 (80.3%)	48 (69.6%)	101 (74.8%)
	SI	13 (19.7%)	21 (30.4%)	34 (25.2%)

p=0,165

Un 25,2% de los pacientes tratado con mTORi presentan mucositis oral. Grupo EVE mostraron una mayor tendencia que grupo SRL (30,4% VS 19,7%) en la incidencia de mucositis oral, no existiendo diferencias estadísticamente significativas (p=0,165).

D. Diarrea

Se analizó la incidencia de diarrea según el tipo de mTORi.

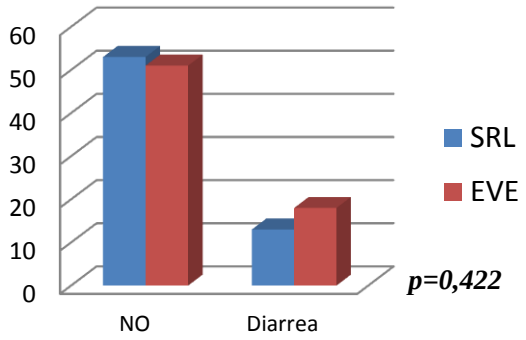


Gráfico 5.4 Distribución de la aparición de diarrea en los pacientes TOH con mTORi.

Tabla 5.4 Análisis de la aparición de diarrea en los pacientes TOH con mTORi.

		SRL	EVE	Total
Diarrea	NO	53 (80.3%)	51 (73.9%)	104 (77.0%)
	SI	13 (19.7%)	18 (26.1%)	31 (23.0%)

P=0,422

Un 23,0% de los pacientes TOH tratado con mTORi presentaron diarre. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos.

E. Dolor abdominal

Se analizó la incidencia de dolor abdominal según el tipo del mTORi. la variable se describe como epigastralgia asociada claramente a la ingesta del fármaco.

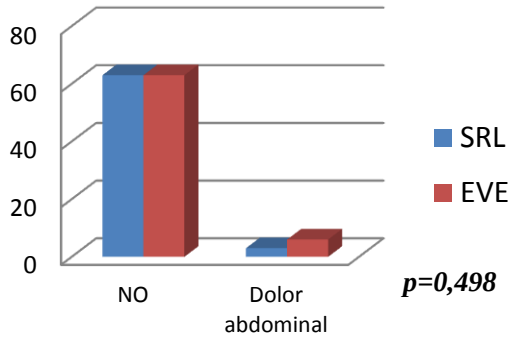


Gráfico 5.5 Distribución de la aparición de dolor abdominl en los pacientes TOH con mTORi.

Tabla 5.5 Análisis de la aparición de dolor abdominal en los pacientes TOH con mTORi.

		SRL	EVE	Total
Dolor abdominal	NO	63 (95.5%)	63 (91.3%)	126 (93.3%)
	SI	3 (4.5%)	6 (8.7%)	9 (6.7%)

p=0,498

La incidencia de dolor abdominal es poco frecuente (6,7%) en los pacientes TOH tratado con mTORi. Entre ambos grupos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la incidencia de dolor abdominal.

F. Síndrome febril

Se analizó la incidencia del síndroma febril sin causa de infección, según el tipo de mTORi.

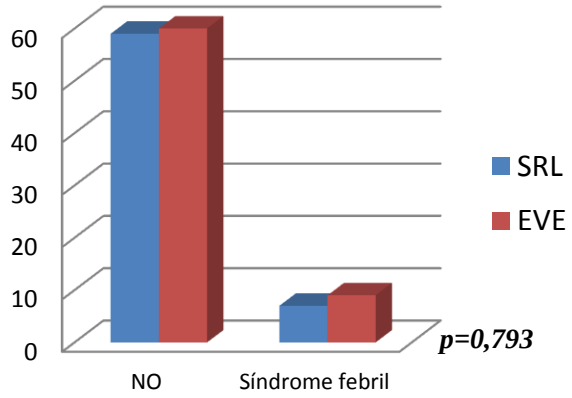


Gráfico 5.6 Ditribución de la aparición de síndrome febril en los pacientes TOH con mTORi.

Tabla 5.6 Análisis de la aparición de síndrome febril en los pacientes TOH con mTORi.

		SRL	EVE	Total
Síndrome febril	NO	59 (89.4%)	60 (87.0%)	119 (88.1%)
	SI	7 (10.6%)	9 (13.0%)	16 (11.9%)

p=0,793

Un 11,9% de los pacientes TOH con mTORi presentan síndrome febril, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

G. Neumonitis atípica

Se analizó la incidencia de neumonitis atípica según el tipo de mTORi.

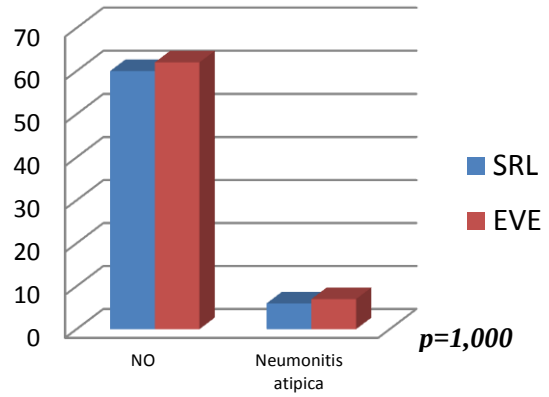


Gráfico 5.7 Distribución de la aparición de neumonitis atipica en los pacientes TOH con mTORi.

Tabla 5.7 Análisis de la aparición de neunonitis tipica en los pacientes TOH con mTORi.

		SRL	EVE	Total
Neumonitis tipica	NO	60 (90.9%)	62 (89.9%)	122 (90.4%)
	SI	6 (9.1%)	7 (10.1%)	13 (9.6%)

p=1,000

Un 9.6% de los pacientes tratado con mTORi presentan neumonitis tipica. La incidencia de la neumonitis atipica en el grupo EVE y el grupo SRL fue similar, no existiendo diferencias estadísticamente significativas (p=1,000).

H. Hiperlipidemia

Se analizó la incidencia de la hipercolesterolemia y la hipertrigliceridemia según el tipo de mTORi.

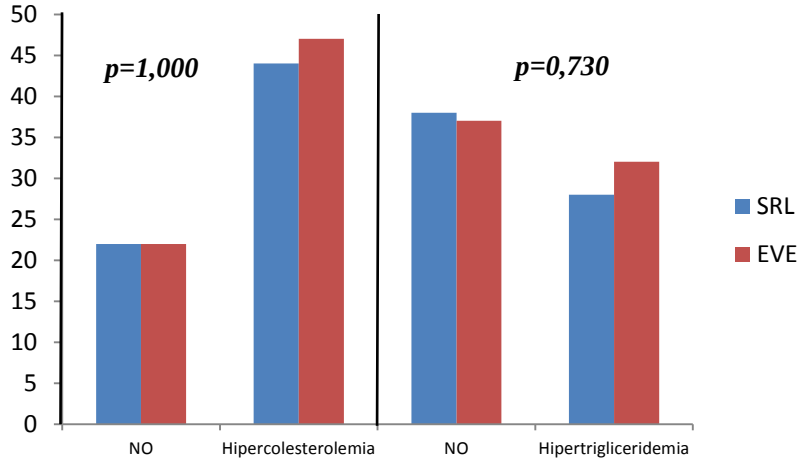


Gráfico 5.8 Distribución de la aparición de hipercolesterolemia y hipertrigliceridemia en los pacientes TOH con mTORi.

Tabla 5.8 Análisis de la aparición de hipercolesterolemia y hipertrigliceridemia en los pacientes TOH con mTORi.

	Hipercolesterolemia		Hipertrigliceridemia	
	Sí	No	Sí	No
SRL	44 (66.7%)	22 (33.3%)	28 (42.4%)	38 (57.6%)
EVE	47 (68.1%)	22 (31.9%)	32 (46.4%)	37 (53.6%)
Total	91 (67.4%)	44 (32.6%)	60 (44.4%)	75 (55.6%)
	P=1,000		***P=0,730***	

La hiperlipidemia es frecuente en los los pacientes TOH tratado con mTORi, tanto hipercolesterolemia como hipertrigliceridemia. La incidencia de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

I. Toxicidad hematológica

Se analizó el efecto de toxicidad hematológica de mTORi. Las manifestaciones de toxicidad hematológica son: anemia, leucopenia, y trombopenia.

Se analizó la aparición de anemia, leucopenia, y trombopenia según el tipo de mTORi.

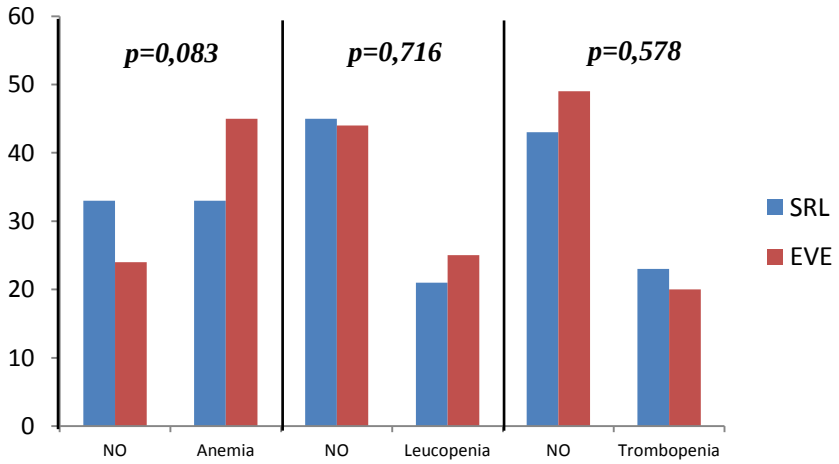


Gráfico 5.9 Distribución de la aparición de anemia, leucopoenia, y trombopenia en los pacientes TOH con mTORi.

Tabla 5.9 Análisis de la aparición de anemia, leucopoenia, y trombopenia en los pacientes TOH con mTORi.

	Anemia		leucopenia		Trombopenia	
	Sí	No	Sí	No	Sí	No
SRL	33 (50.0%)	33 (50.0%)	21 (31.8%)	45 (68.2%)	23 (34.8%)	43 (65.2%)
EVE	45 (65.2%)	24 (34.8%)	25 (36.2%)	44 (63.8%)	20 (29.0%)	49 (71.0%)
Total	78 (57.8%)	57 (42.2%)	46 (34.1%)	89 (65.9%)	43 (31.9%)	92 (68.1%)
	P=0,083		***P=0,716***		***P=0,578***	

Como se observa, la anemia es frecuente en los los pacientes tratados con mTORi (57,8%). El grupo EVE mostró una tendencia más frecuente en la incidencia de la anemia, aunque sin diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo SRL (p=0, 083).

Respecto a la incidencia de la leucopenia no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo EVE y el grupo SRL. (p=0, 716)

Un 29,0% de los pacientes tratado con mTORi mostraron trombopenia. Respecto a la incidencia del trombopenia no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

5.1.2. Infecciones

Se analizó la incidencia de infección de los pacientes TOH con mTORi, clasificandose según las siguientes categorías: infección bacteriana, infección viral e infección fúngica.

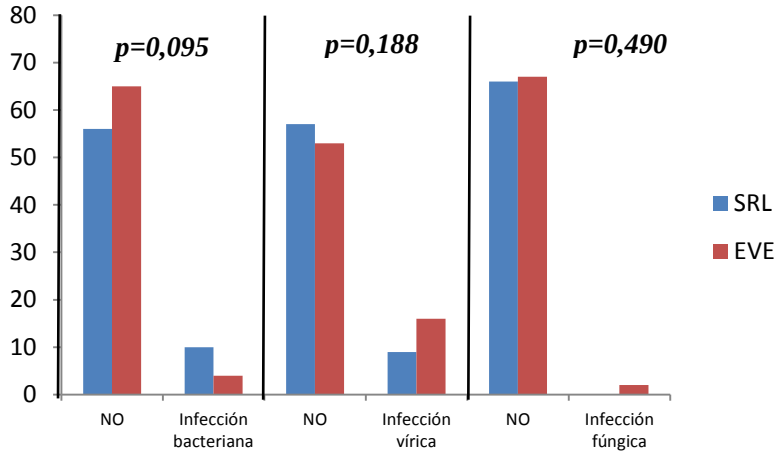


Gráfico 5.10 Distribución de la aparición de las infecciones en los pacientes TOH con mTORi.

Tabla 5.10 Análisis de la aparición de las infecciones en los pacientes TOH con mTORi.

	Infección bacteriana		Infección vírica		Infección fúngica		Episodio total
	Sí	No	Sí	No	Sí	No	
SRL	10 (15.8%)	56 (84.8%)	9 (13.6%)	57 (86.4%)	0 (0%)	66 (100.0%)	19
EVE	4 (5.8%)	65 (94.2%)	16 (23.2%)	53 (76.8%)	2 (2.9%)	67 (97.1%)	22
Total	14 (10.4%)	121(89.6%)	25 (18.5%)	110(81.4%)	2 (1.5%)	133(98.5%)	41
	P=0.095		P=0.188		P=0.490		

Un 10,4% de los pacientes tratado con mTORi presentaron infección bacteriana, siendo la incidencia del grupo SRL más frecuente que grupo EVE (15,8% *VS* 5,8%) desde el punto de vista clínico. No diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (p=0. 095).

Un 18,5% de los pacientes tratado con mTORi presentaron infección vírica, siendo más frecuente en el grupo EVE que el grupo SRL (23,2% *VS* 13,6%), aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (p=0,188).

La incidencia de la infección fúngica es rara en los los pacientes tratado con mTORi. Solo se presentaron 2 casos en el grupo EVE, sin encontrase diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos de mTORi (p=0,490).

5.1.3. Rechazo

Se analizó la aparición de rechazo tras la conversión a mTORi.

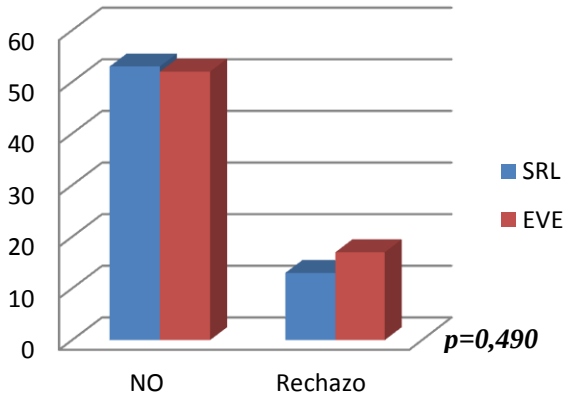


Gráfico 5.11 Distribución de la aparición de rechazo en los pacientes TOH con mTORi.

Tabla 5.11 Análisis de la aparición de rechazo en los pacientes TOH.

		SRL	EVE	Total
Rechazo	NO	53 (80.3%)	52 (75.4%)	105 (77.7%)
	SI	13 (19.7%)	17 (24.6%)	30 (22.2%)

p=***0, 490***

Todos los rechazos fueron subclínicos, se manifestaron como un incremento de fermentos hepáticos en suero, y la mayorias de los rechazos fueron diagnosticado por biopsia. La incidencia del rechazo fueron similar en ambos grupos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (p=0, 490).

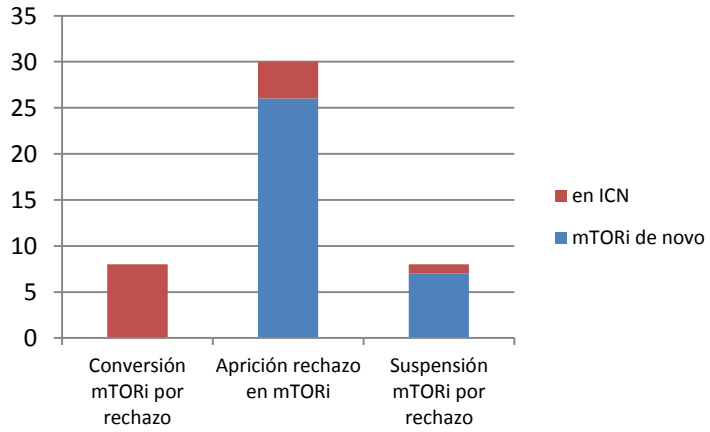


Gráfico 5.12 Presencia de rechazo en diferentes periodo, según el tratamiento con mTORi.

Table 5.12 Análisis el rechazo en diferentes periodos, según el tratamiento con mTORi.

	Conversión mTORi por rechazo	aparición rechazo en mTORi	Suspensión mTORi por rechazo
Rechazo con ICN	8 (6.0%)	4 (3.0%)	1 (0.7%)
Rechazo en mTORi		26 (19.3%)	7 (5.2%)

30 (22,2%) pacientes tratado con mTORi mostraron rechazo, de ellos 4 pacientes se convertieron a mTORi por rechazo no controlado con ICN; 1 de estos 4 pacientes suspendieron tratamiento con mTORi rechazo no controlado. (Gráfico 5.12; Tabla 5.12)

5.1.4. Suspensión y mortalidad de mTORi

A. Suspensión del tratamiento

En algunos pacientes fue necesario suspender el tratamiento con mTORi.

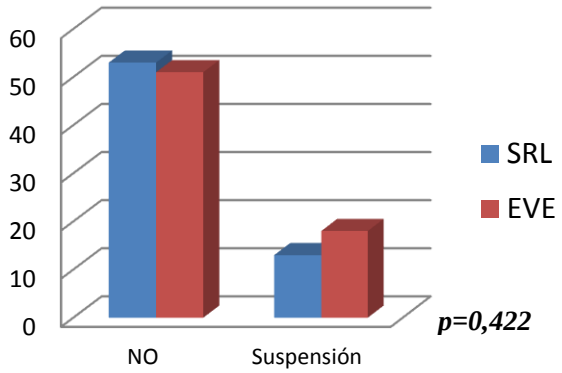


Gráfico 5.13 Distribución de la suspensión tratamiento con mTORi en los pacientes TOH.

Tabla 5.13 Análisis de suspensión de mTORi en los pacientes de TOH.

		SRL	EVE	Total
Suspensión	NO	53 (80.3%)	51 (70.9%)	104 (77.0%)
	SI	13 (19.7%)	18 (26.1%)	31 (23.0%)

p=0.,422

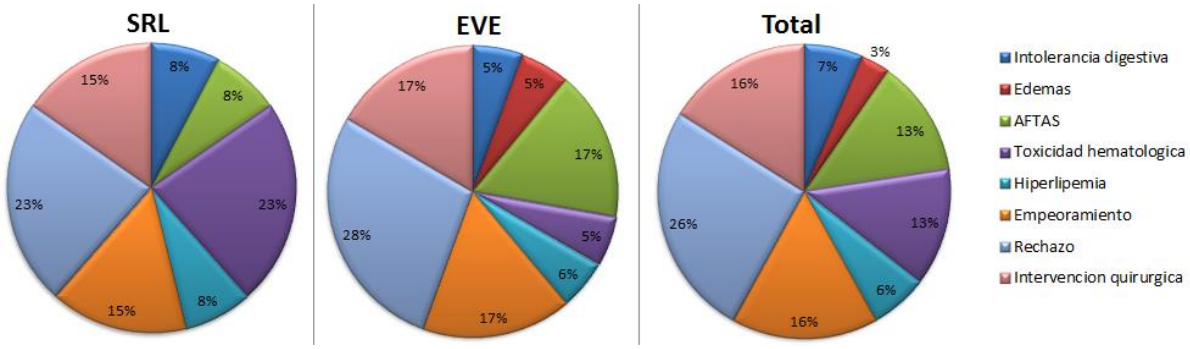


Gráfico 5.14 Distribucion de las causas de suspensión de mTORi en los pacientes TOH.

31 (23,0%) pacientes suspendieron el tratamiento con mTORi. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la aparición de suspensión tratamiento con mTORi en ambos grupos (p=0,422). Las causas de suspensión mTORi se presentan en la tabla 5.14 y gráfico 5.14.

Tabla 5.14 Las causas de suspensión mTORi.

Causa de suspensión	SRL	EVE	Total
Intolerancia digestiva	1	1	2 (6.5%)
Edemas	0	1	1 (3.2%)
AFTAS	1	3	4 (12.9%)
Toxicidad hematológica	3	1	4 (12.9%)
Hiperlipemia	1	1	2 (6.5%)
Empeoramiento	2	3	5 (16.1%)
Rechazo	3	5	8 (25.8%)
Intervención quirurgica	2	3	5 (16.1%)
Total	13	18	31

p=0,728

Dentro de las causas de suspensión de mTORi, el rechazo fue más frecuente (26%), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos en las causas de suspensión.

B. Mortalidad

Se analizó la mortalidad de los pacientes TOH en tratamiento con mTORi.

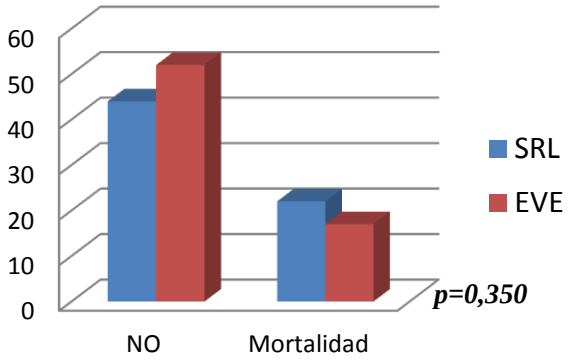


Gráfico 5.15 Distribución de la mortalidad de los pacientes TOH tratamiento con mTORi.

Tabla 5.15 Análisis la mortalidad de los pacientes TOH tratamiento con mTORi.

		SRL	EVE	Total
Éxitus	NO	44 (66.7%)	52 (75.4%)	96 (71.1%)
	SI	22 (33.3%)	17 (24.6%)	39 (28.9%)

P=0,350

La mortalidad en el grupo SRL fue de 33,3% y en el grupo EVE fue 24,6%, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Las causas de mortaridad de ambos grupos presentan en Tabla 5.16 y Gráfico 5.16.

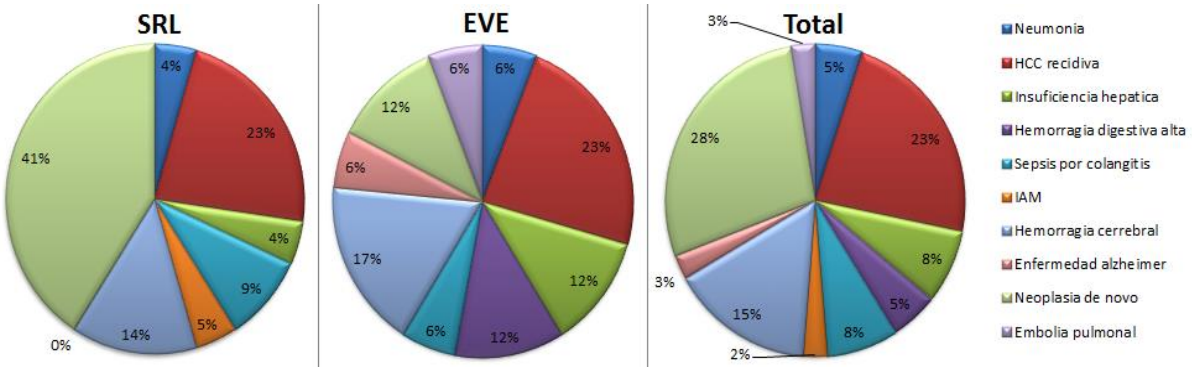


Gráfico 5.16 Distribucion de las causas de exitus de los pacientes TOH con mTORis.

Tabla 5.16 Causas de éxitus de los pacientes TOH con mTORi.

Causa de exitus	SRL	EVE	Total
Neumonia	1	1	2 (5.1%)
HCC recidiva	5	4	9 (23.1%)
Insuficiencia hepatica	1	2	3 (7.7%)
Hemorragia digestiva alta	0	2	2 (5.1%)
Sepsis por colangitis	2	1	3 (7.7%)
IAM	1	0	1 (2.6%)
Hemorragia cerebral	3	3	6 (15.4%)
Enfermedad alzheimer	0	1	1 (2.6%)
Neoplasia *de novo*	9	2	11 (28.2%)
Embolia pulmonal	0	1	1 (2.6%)
Total	22	17	39 (100.0%)

p=0,372

Dentro de las causas de fallecimiento de los pacientes TOH con mTORi, la aparición de neoplasias *de novo* es la más frecuente (28,2%). Recidiva de HCC en el segundo lugar (23,1%). Todos ellos, por causas ajenas al tratamiento con mTORi, excepto 7 (18%) pacientes fallecidos por accidentes cardiovasculares (IAM y hemorragia cerebral). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de mTORi en las causas de éxitus (p=0, 372).

5.2. PARAMETROS EVOLUTIVOS DE FUNCIÓN RENAL

Se analizó los niveles de Creatinina en suero (Cr) y las tasas de Filtración Glomerular (FG), como parámetros de evaluación de la función renal.

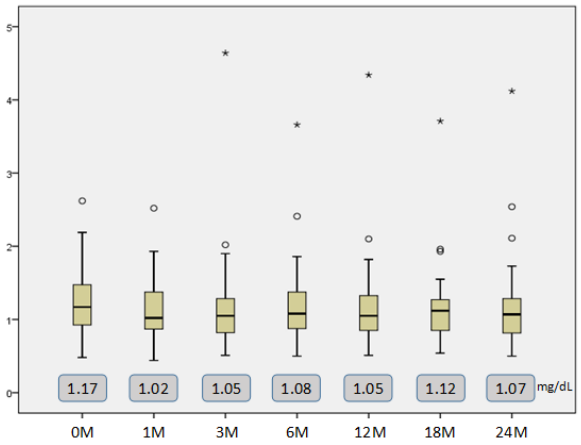


Gráfico 5.17 Mediana de los niveles de Creatinina sérica de los pacientes TOH con mTORi en cada periodo (0-24 m).

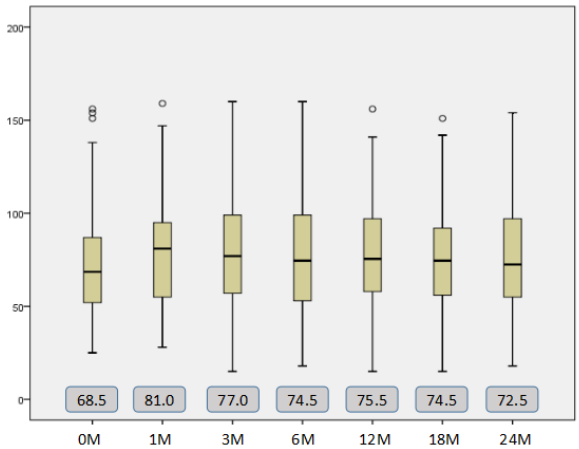


Gráfico 5.18 Mediana de las tasas de FG de los pacientes TOH con mTORis en cada periodo (0-24 m).

La mediana del nivel de Cr sérica inicial de los pacientes en el momento de la conversión (0 mes) fue de 1,17 mg/dl. La mediana de la tasa de FG de los pacientes en el momento de la conversión (0 mes) fue 68,5. Los valores fueron global en todos los pacientes, tanto los

convertidos por disfunción renal como los pacientes convertidos debido a cualquier otra razón. El seguimiento de los niveles de Cr sérica y las tasas de FG tras conversión a mTORi hasta 24 mes.

Como puede observarse, la función renal mejora durante el primer mes desde conversión a mTORi, y después se mantiene estable a lo largo de 2 años.

Por este motivo se analizó el porcentaje de mejoria de la función renal entre 0 mes y 1 mes.

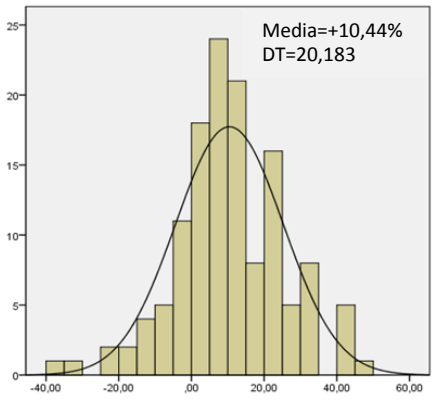


Gráfico 5.19 Porcentaje de mejoría del nivel de Cr entre 0 mes y 1 mes. (DT, Desviación Tipica).

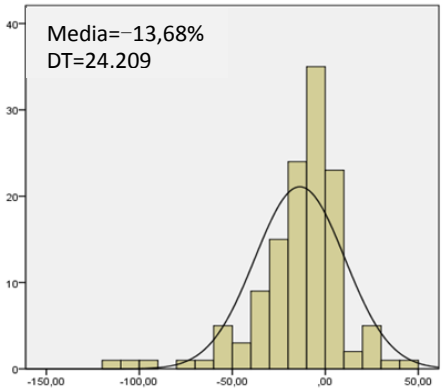


Gráfico 5.20 Porcentaje de mejoría de la tasa de FG entre 0 mes y 1 mes. (DT, Desviación Tipica).

Como puede observarse, la mayoría de pacientes TOH con mTORi mejor la función renal durante el primer mes a partir de la conversión a mTORi. Para más confianza, hemos relizado otros pruebas como: *prueba de Kolomogorov-Smirnov* (Tabla 5.17), *prueba de esfericidad de*

Mauchly en modo lineal general, y comparación por pares en cada periodo en medias marginales estimadas. Todas estas pruebas coincidieron en que la función renal mejora durente el primer mes, y después se mantiene estable. Por este motivo, posteriomente hemos analizado los parametros de la función renal entre 0 mes y 1 mes.

Tabla 5.17 Prueba de Kolomogorov-Smirnov, entre 0 mes y 12 mes.

		Cr	0M	1M	3M	6M	12M
Parámetros normales	Media		1,22	1,08	1,10	1,13	1,14
	Desviación típica		0,42	0,38	0,50	0,45	0,48
Diferencias más extremas	Absoluta		0,10	0,14	0,13	0,14	0,13
	Positiva		0,10	0,14	0,13	0,14	0,13
	Negativa		-0,06	-0,07	-0,11	-0,08	-0,10
Z de Kolmogorov-Smirnov			1,02	1,32	1,26	1,36	1,27
Sig. asintót. (bilateral)			0,25	0,06	0,08	0,05	0,08
		FG	0M	1M	3M	6M	12M
Parámetros normales	Media		74,00	79,74	78,17	76,48	76,98
	Desviación típica		27,91	27,34	27,88	27,37	29,16
Diferencias más extremas	Absoluta		0,08	0,07	0,10	0,07	0,08
	Positiva		0,08	0,07	0,10	0,07	0,08
	Negativa		-0,061	-0,043	-0,058	-0,047	-0,058
Z de Kolmogorov-Smirnov			0,80	0,66	0,93	0,69	0,74
Sig. asintót. (bilateral)			0,55	0,77	0,35	0,72	0,64

Se analizó el porcentaje de mejoría de la función renal entre 0 mes y 1 mes de todos pacientes.

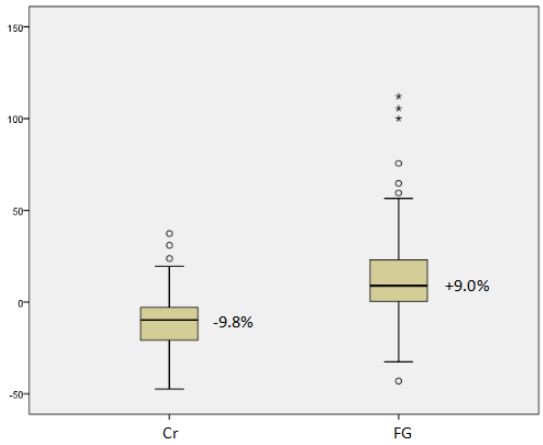


Gráfico 5.21 Porcentaje de reducción del nivel de Cr y porcentaje de aumento de la tasa de FG entre 0 mes y 1 mes.

Durante el primer mes, el nivel de Cr se rebajó el 9,8%, y el FG aumentó el 9,0%.

Hemos analizado la variación de la función renal en relación al porcentaje de mejoria de Cr sérica y FG entre 0 mes y 1 mes según el esquema de inmunosupresión con o sin ICN: mTORi vs mTORi+ICN.

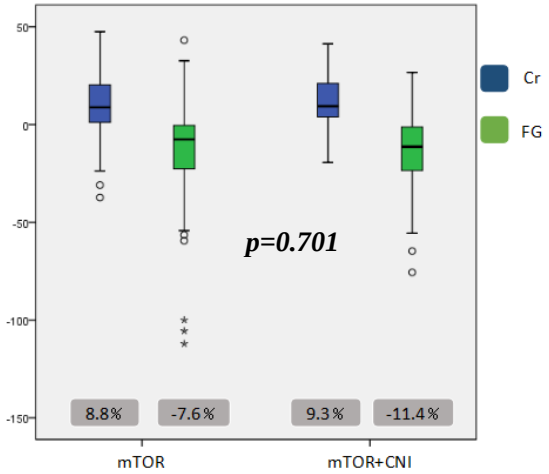


Gráfico 5.22 Porcentaje de mejoría de la función renal entre 0 mes y 1 mes según el esquema de inmunosupresión con/sin ICN).

Como puede observarse, el grupo mTORi+ICN presenta una discreta mayor mejoría de la función renal entre 0 mes y 1 mes, tanto en Cr, como en FG. No obstante, estas diferencias no son estadísticamente significativas.

Hemos analizado asimismo la mejoría de la función renal en relación a porcentaje de variación entre 0 mes y 1 mes, según el esquema de inmunosupresión utilizando SRL o EVE con/sin ICN: SRL, EVE, EVE+ICN, SRL+ICN

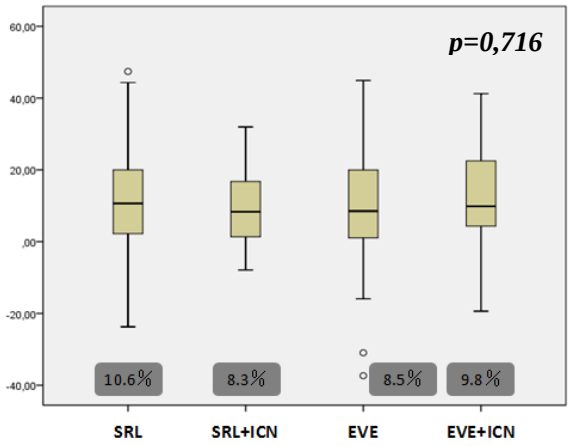


Gráfico 5.23 Porcentaje de mejoría del nivel de Cr entre 0 mes y 1 mes según la esquema de inmunosupresión con SRL o EVE con/sin ICN.

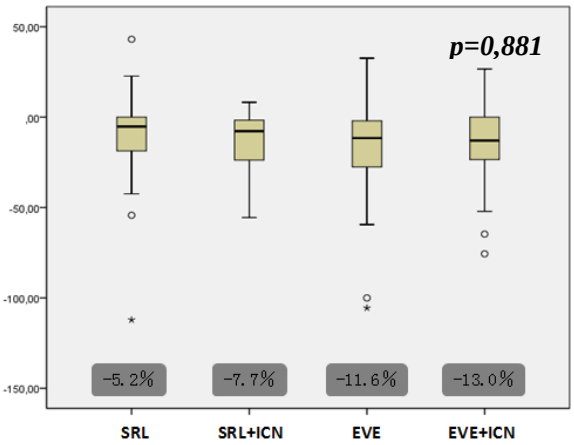


Gráfico 5.24 Porcentaje de mejoria de la tasa de FG entre 0 mes y 1 mes según la esquema de inmunosupresión con SRL o EVE con/sin ICN.

En los gráficos 5.23 y 5.24, se observa que el grupo SRL demostró mayor porcentaje de mejoría en Cr, y el grupo EVE+ICN demostró más mejoría en FG. No obstante, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Ya que no encontramos diferencias entre el uso o no de ICN, hemos querido analizar también el porcentaje de mejoría de Cr y FG entre 0 mes y 1 mes según la esquema de inmunosupresión con SRL vs EVE.

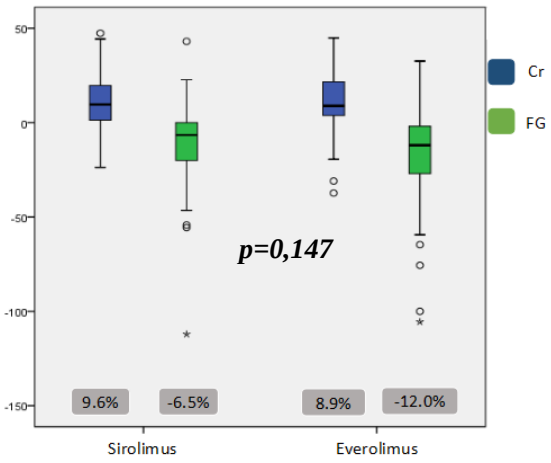


Gráfico 5.25 Porcentaje de mejoria de función renal entre 0 mes y 1 mes según el esquema de inmunosupresión SRL vs EVE.

Ambos grupos demostraron mejoría de la función renal: el grupo SRL mayor mejoría en Cr, y grupo EVE mayor mejoría en FG, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Hemos analizado el nivel de la proteiuria durante 24 meses, desde el momento de la conversión a mTORi.

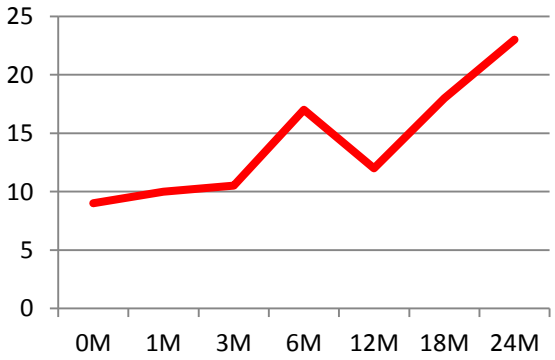


Gráfico 5.26 Nivel de la proteiuria durante 24 meses, a partir de convertido a mTORi.

Se puede observar como, desde la introducción de mTORi el nivel de la proteiuria aumenta a lo largo del tiempo, aunque, a cifras aceptables para el paciente y que nunca supusieron la suspensión del tratamiento con mTORi.

5.3. ANÁLISIS DE FACTORES ASOCIADOS A LA DISFUNCIÓN RENAL

Hemos analizado la eficacia de la conversión a mTORi en función de diferentes factores de riesgo que pudieran afectar a la función renal del paciente trasplantado. Para ello, se ha analizado el porcentaje de mejoría de Cr y FG en el primer mes de conversión, ya que como se ha mostrado previamente, es en este periodo donde se observa la mejoría de la función renal. Hemos analizado asímismo la supervivencia del paciente desde el TOH y desde la conversión a mTORi, para asípoder observar si ésta mejora con la conversión.

A. Nefropatía preTOH

La presencia de nefropatía preTOH es a priori un factor relacionado con la función renal postTOH y la superviviencia de los pacientes TOH, por lo que analizamos la eficacia de los mTORi en la preservación de la función renal de estos pacientes.

La nefropatía preTOH se define como síndrome hepatorenal, insuficiencia renal de otro origen, o bien un nivel de creatinina en suero preTOH superior a 1.3 mg/dl.

Tabla 5.18 Distribución de pacientes con nefropatía preTOH.

Nefropatía preTOH	Frecuencia	Porcentaje
Si	23	17.0%
No	112	83.0%

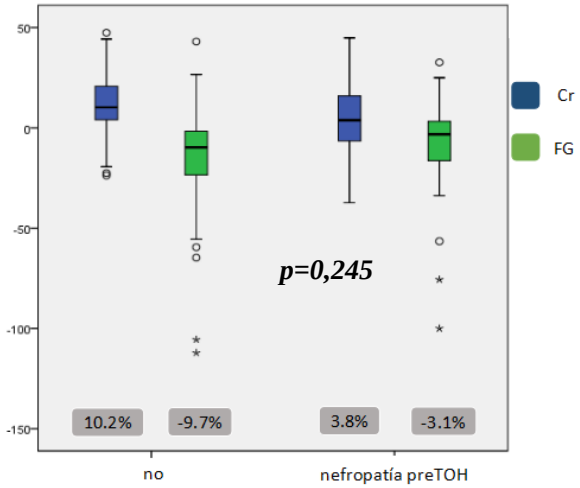


Gráfico 5.27 Porcentaje de mejoría de función renal entre 0 mes y 1 mes, según nefropatía preTOH.

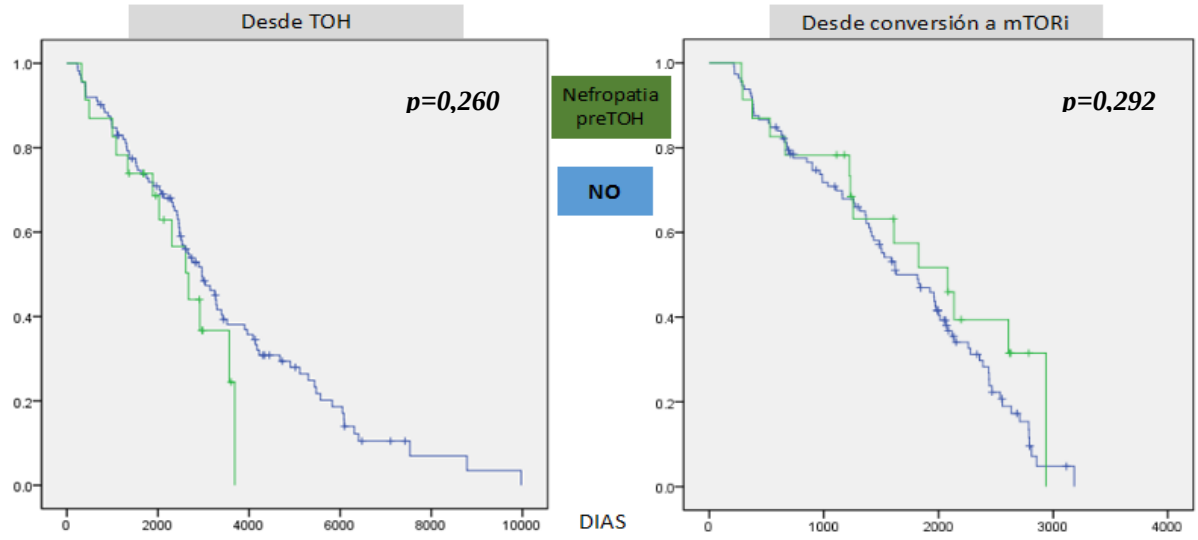


Gráfico 5.28 Supervivencia de los pacientes con mTORi, según nefropatía preTOH.

Como puede observarse, en gráfico 5.28 y 5.29, los pacientes con nefropatía preTOH presentan una mejoría más reducida de Cr y FG tras la conversión a mTORi en comparación con los pacientes que no presentan nefropatía preTOH. En las curvas de supervivencia hemos observado como la supervivencia de los pacientes con nefropatía preTOH mejora tras la conversión a mTORi en comparación con las curvas obtenidas si analizamos la supervivencia desde el TOH (p=0,292).

B. Conversión a mTORi por nefropatía

Se analizó la mejoría de la función renal en función de si la conversión a mTORI se realizó por la aparición de disfunción renal/nefropatía postTOH, en tratamiento de ICN. Se analizaron la mejoría de la función renal y la supervivencia.

Tabla 5.19 Distribución de pacientes conversión a mTORi por nefropatía

Conversión por nefropatía	Frecuencia	Porcentaje
Si	46	34.1%
No	89	69.9%

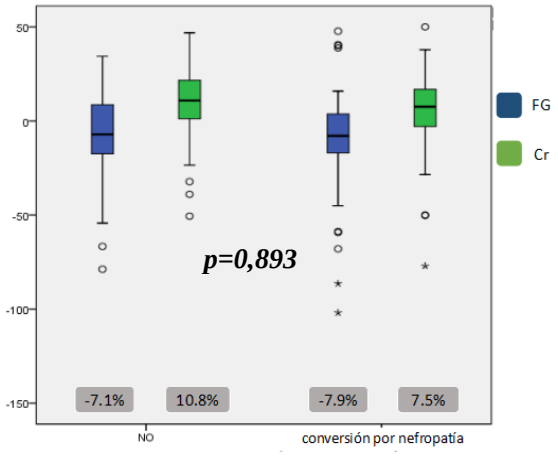


Gráfico 5.30 Porcentaje de mejoría del nivel Cr y la tasa de FG entre 0 mes y 1 mes, según conversión a mTORi por nefropatía postTOH sí/no.

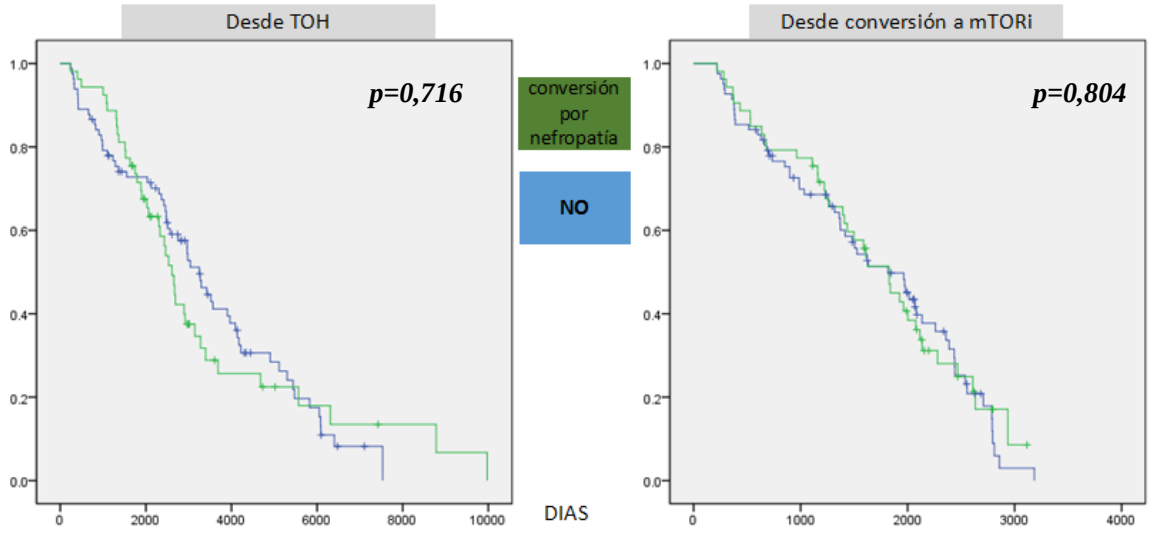


Gráfico 5.31 Supervivencia de los pacientes con mTORi, según conversión por nefropatía.

En gráfico 5.30 y 5.31, podemos observar como la mejoría de la función renal es independiente de la presencia o no de disfunción renal postTOH, no existiendo diferencias en cuanto a porcentaje de mejoría de Cr y FG ni en cuanto a supervivencia.

C. Etiología TOH por hepatitis viral

La hepatitis vírica (VHB, VHC) es una infección que puede presentar daño renal histológico preTOH. Se analizaron de igual manera la mejoría en la función renal y la superviviencia de los pacientes sometidos a TOH por cirrosis de origen vírica VHB/VHCl tras conversión a mTORi.

Tabla 5.20 Distribución de los pacientes con etiología viral.

Etiología viral	Frecuencia	Porcentaje
Si	46	34.1%
No	89	69.9%

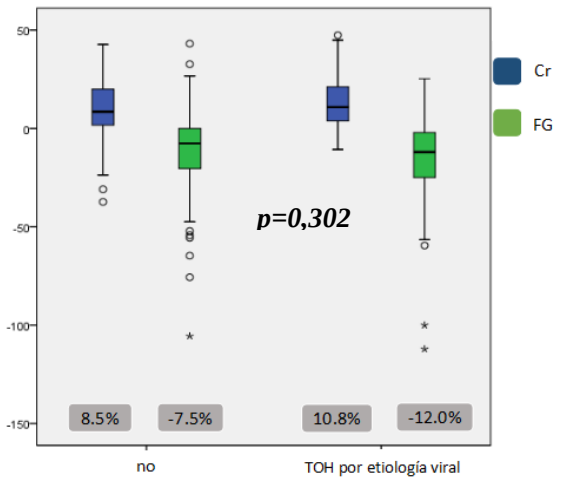


Gráfico 5.32 Porcentaje de mejoría del nivel Cr y la tasa de FG entre 0 mes y 1 mes, según TOH por cirrosis viral.

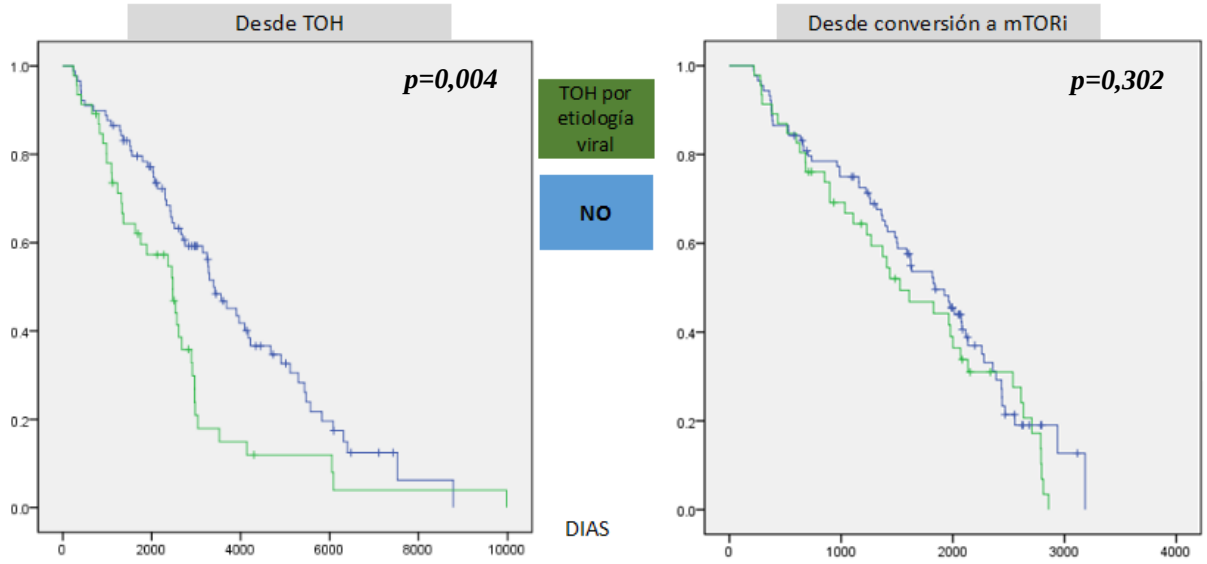


Gráfico 5.33 Supervivencia de los pacientes con mTORi, según TOH por etiología viral.

Podemos observar como la Cr, la FG presentan mayor mejoría tras la conversión a mTOR que cuando la causa de la cirrosis es otra. Asímismo, la supervivencia de estos pacientes se ve mejorada tras la conversión. No obstante, estas diferencias no son estadísticamente significativas.

D. <u>Diabetes Mellitus preTOH</u>

La presencia de DM preTOH es un factor relacionado con el función renal en los pacientes TOH. Se analizaron la mejoría de la función renal y la supervivencia tras la conversión a mTORi.

Tabla 5.21 Dristribución de los pacientes con DM preTOH

DM preTOH	Frecuencia	Porcentaje
Si	40	30.0%
NO	95	70.0%

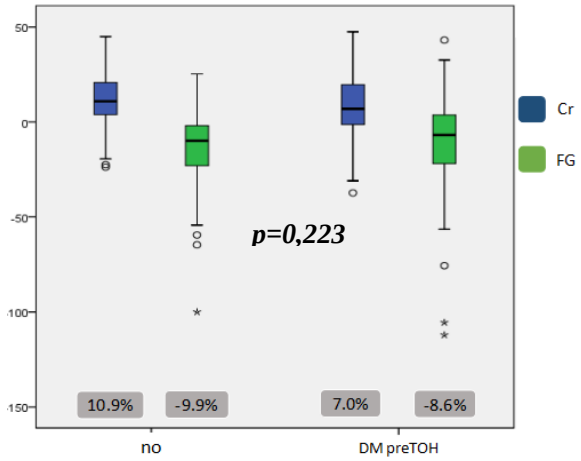


Gráfico 5.34 Porcentaje de mejoría de Cr y FG entre 0 mes y 1 mes, según presencia o no de DM preTOH.

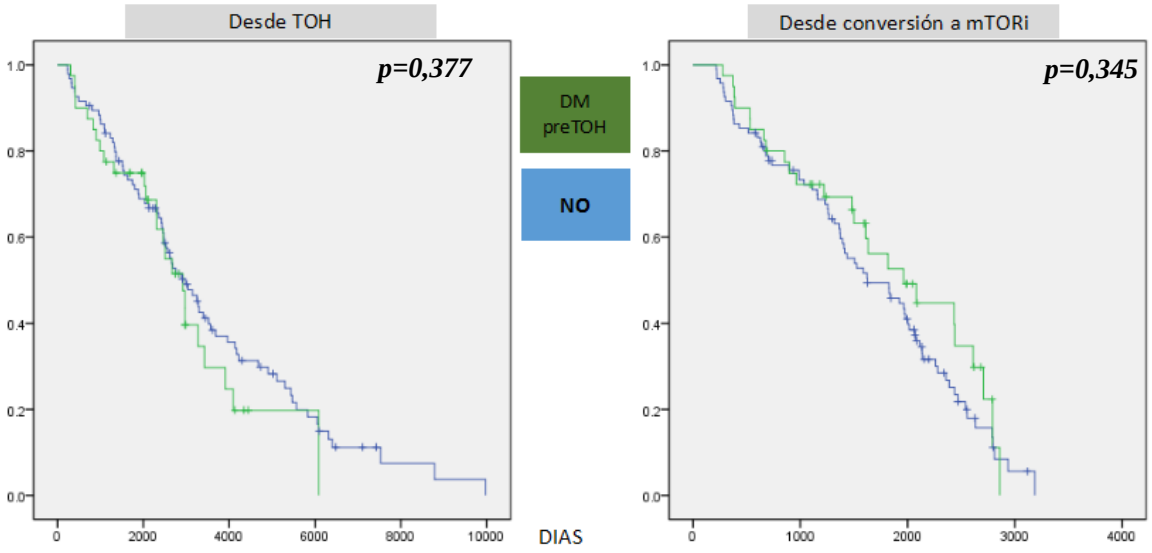


Gráfico 5.35 Supervivencia de los pacientes con mTORi, según DM preTOH.

En gráfico 5.34 y 5.35, podemos observar como los pacientes con DM preTOH presentan un menor mejoría de Cr y FG tras la conversión a mTORi que aquellos pacientes sin DM. Así mismo, en estos pacientes, la conversión a mTORi mejora la supervivencia tras la conversión. No obstante, estas diferencias no son estadísticamente significativas.

E. Hipertención arterial preTOH

La HTA es un factor que predispone a la disfunción renal. Se analizaron el porcentaje de mejoría de Cr y FG, así como la supervivencia comparada desde el TOH tras la conversión a mTORi en los pacientes con HTA preTOH.

Tabla 5.22 Dristribución de los pacientes con HTA preTOH

HTA preTOH	Frecuencia	Porcentaje
Si	38	28.1%
NO	97	71.8%

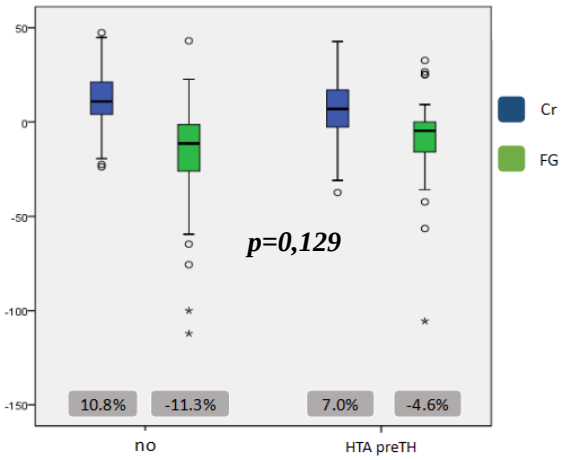


Gráfico 5.36 Porcentaje de mejoría de Cr y FG entre 0 mes y 1 mes, según presencia o no de HTA preTOH.

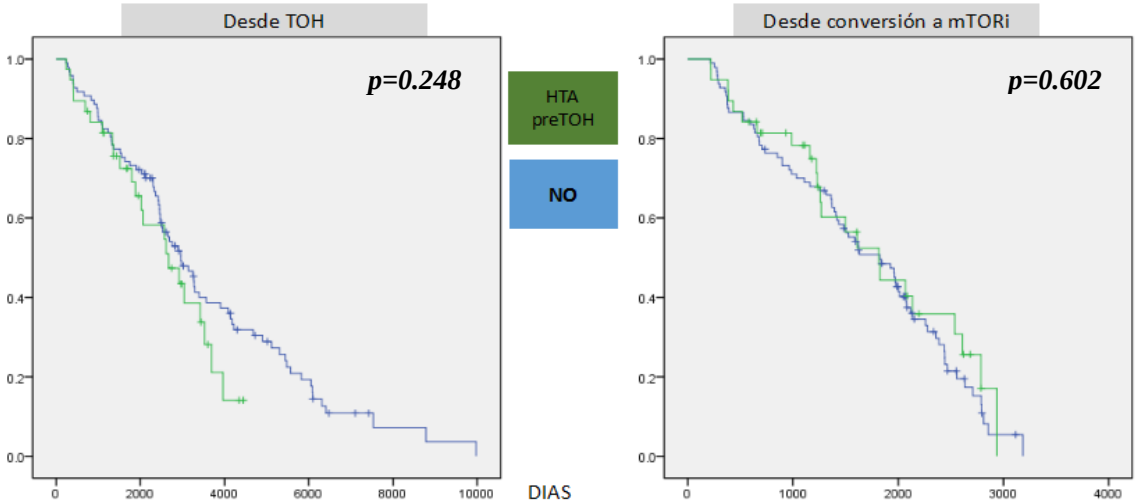


Gráfico 5.37 Superviviencia de los pacientes con mTORi, según HTA preTOH.

En gráfico 5.37 y 5.38, podemos observar como los pacientes con HTA preTOH presentan una menor mejoría de Cr y FG tras la conversión a mTORi que aquellos pacientes sin HTA. Así mismo, en estos pacientes, la conversión a mTORi mejora la supervivencia tras la conversión. No obstante, estas diferencias no son estadísticamente significativas.

F. <u>Tiempo de administración con ICN</u>

Hemos considerado que el tiempo de administración de ICN pudiera ser un factor relacionado con la mejoría de la función renal en los pacientes del TOH convertidos a mTORi. Se analizaron a los pacientes con mTORi según el tiempo desde TOH hasta conversión a mTORi, esto es, el tiempo de administración ICN, clasificándose a los pacientes en 3 grupos: ≦2años, 2-5años, ≧5años.

Tabla 5.23 Dristribución de los pacientes según el tiempo de administración con ICN.

Tiempo con ICN	Frecuencia	Porcentaje
≦2años	77	57.0%
2-5años	25	18.5%
≧5años	33	24.4%

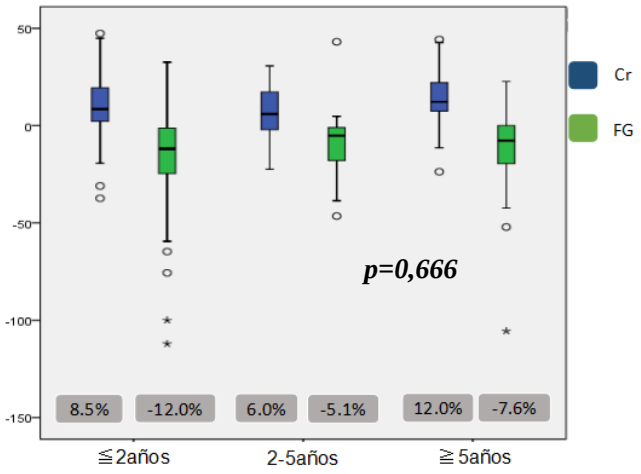


Gráfico 5.38 Porcentaje de mejoría de Cr y de FG entre 0 mes y 1 mes, según el tiempo administración con ICN.

Podemos observar como no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, pudiendo afirmar que el tiempo de administración de ICN no influye en la mejoría de la función renal tras la conversión a mTORi.

G. DM pre-conversión y conversión por nefropatía

Hemos analizado la eficacia de la conversión a mTORi en mejorar el función renal entre 0m y 3m, en los pacientes que presentaron DM pre-conversión (DM preTOH y/o DM de novo) junto al factor de conversión a mTORi por nefropatía.

Tabla 5.24 Distribución de los pacientes DM pre-conversión y conversión a mTORi por nefropatía.

		Conversión a mTOR por nefropatia		Total
		No	Sí	
DM pre-conversión	No	43 (31.9%)	30 (22.2%)	73 (54.1%)
	Sí	39 (28.9%)	23 (17.0%)	62 (45.9%)
Total		82 (60.7%)	53 (39.3%)	135(100 %)

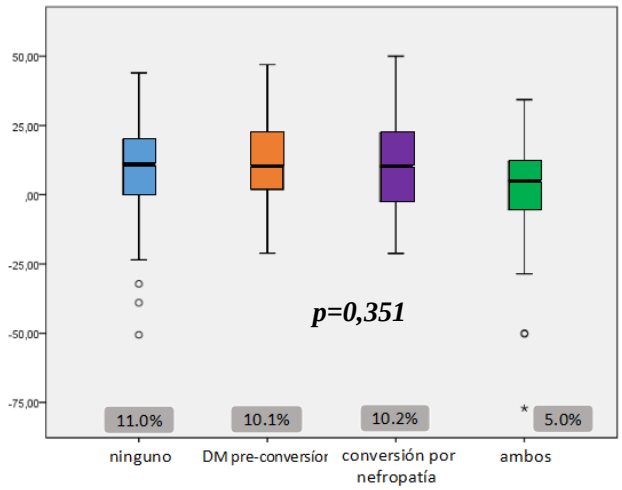


Gráfico 5.39 Porcentaje de mejoría del nivel Cr entre 0 mes y 3 mes, según DM pre-conversión y conversión a mTORi por nefropatía.

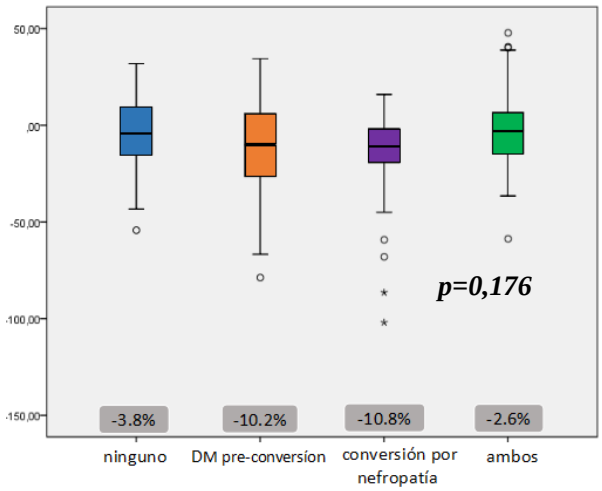


Gráfico 5.40 Porcentaje de mejoria de la tasa de FG entre 0 mes y 3 mes, según DM pre-conversión y conversión a mTORi por nefropatía.

Puede observarse como la presencia de DM y nefropatía son factores que reducen la mejoría de Cr y de FG tras la conversión a mTORi, auqnue estas diferencias no son estadísticamente significativas.

H. <u>HTA pre-conversión y conversión por nefropatía</u>

Se analizó la eficacia de los mTORi en mejorar la función renal en los pacientes que tenían HTA pre-conversión y conversión a mTORi por nefropatía.

Tabla 5.25 Distribución de los pacientes HTA pre-conversión (HTA preTOH y/o HTA de novo) y los pacientes convertidos a mTORi por nefropatía.

		Conversión a mTOR por nefropatia		Total
		No	Sí	
HTA Pre-conversión	No	38 (28.1%)	23 (17.0%)	61 (45.2%)
	Sí	44 (32.6%)	30 (22.2%)	74 (54.8%)
Total		82 (59.3%)	82 (59.3%)	135 (100%)

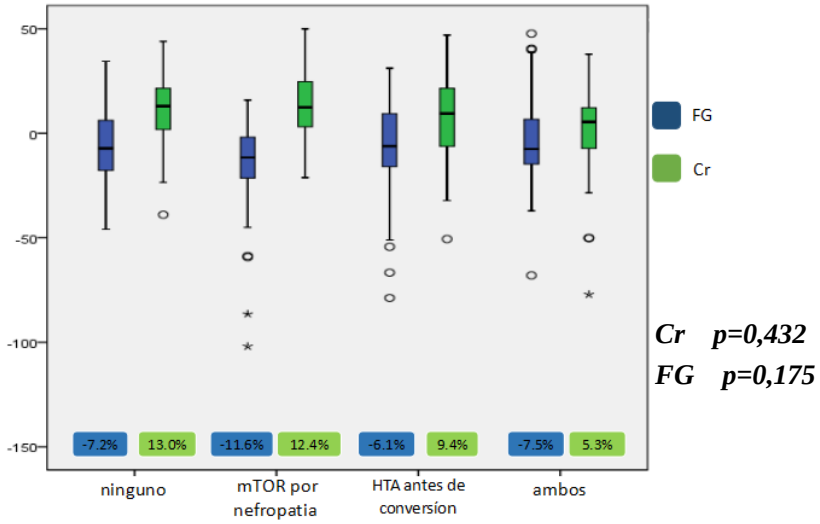


Gráfico 5.41 Porcentaje de mejoría del nivel Cr y la tasa de FG entre 0 mes y 3 mes, según HTA pre-conversión y conversión por nefropatía.

Puede observarse como la presencia de HTA no es un factor negativo en la mejoría de la función renal en aquellos pacientes convertidos por nefropatía.

5.4. ANÁLISIS DE SUSPERVIVIENCIA

A. Según el tipo de mTORi

Hemos analizado la supervivencia en función de diferentes tipos de mTOR utilizados en la conversión.

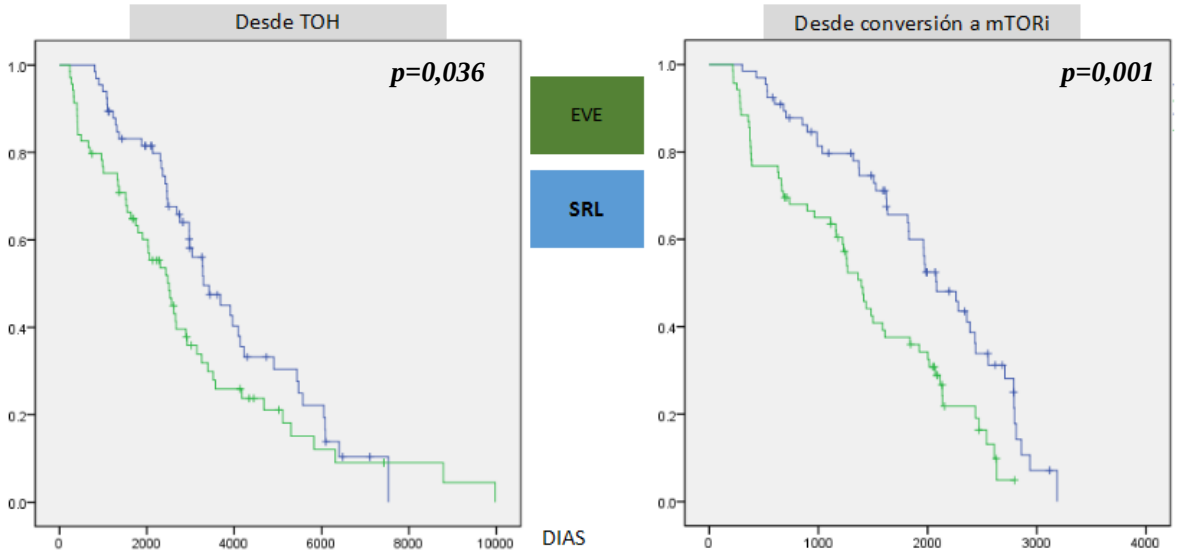


Gráfico 5.42 Superviviencias de los pacientes con mTORi, según tipos de mTORi.

Grupo SRL mostró mejor supervivencia global y supervivencia tras conversión, con diferencias estadísticamente significativas, aunque se puede decir que no existen diferencias debido a que ésta ya existían previamente a la conversión.

B. <u>Según esquema inmunosupresor con/sin ICN y con/sin MMF</u>

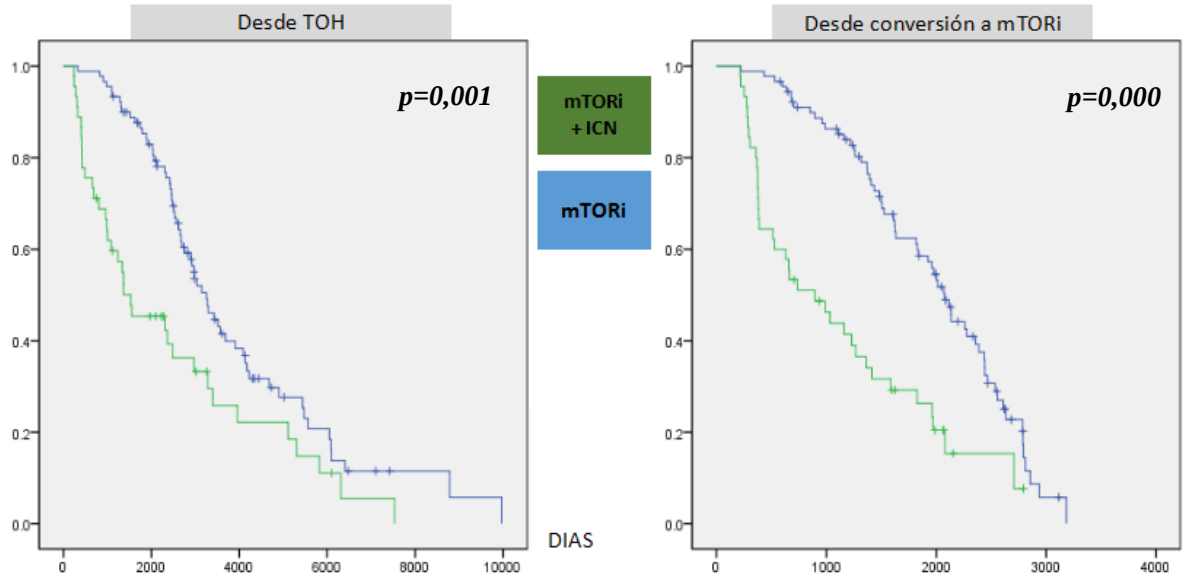


Gráfico 5.43 Supervivencia de los pacientes con mTORi y mTORi+ICN.

La supervivencia de los pacientes mejora en aquellos convertidos a mTORi y se suspendió el ICN en comparación a aquellos en los que se mantuvo el ICN, con diferencia estadísticamente significativa (p=0.000).

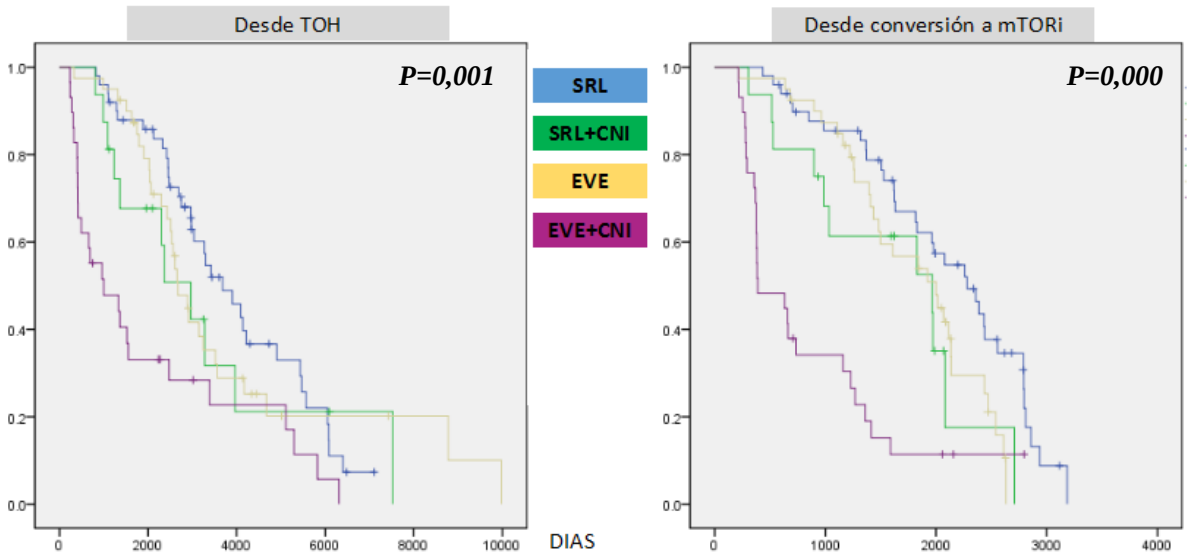


Gráfico 5.44 Supervivencia de los pacientes con mTORi, según esquema de inmunosupresión con sin ICN.

Podemos observar como la supervivencia es peor en los pacientes sometidos a doble terapia con EVE + ICN, siendo mejor en los pacientes en monoterapia con mTORi. Todos con diferencias estadísticamente significativas (p=0,000).

Analizamos a continuación la supervivencia en función del uso de MMF

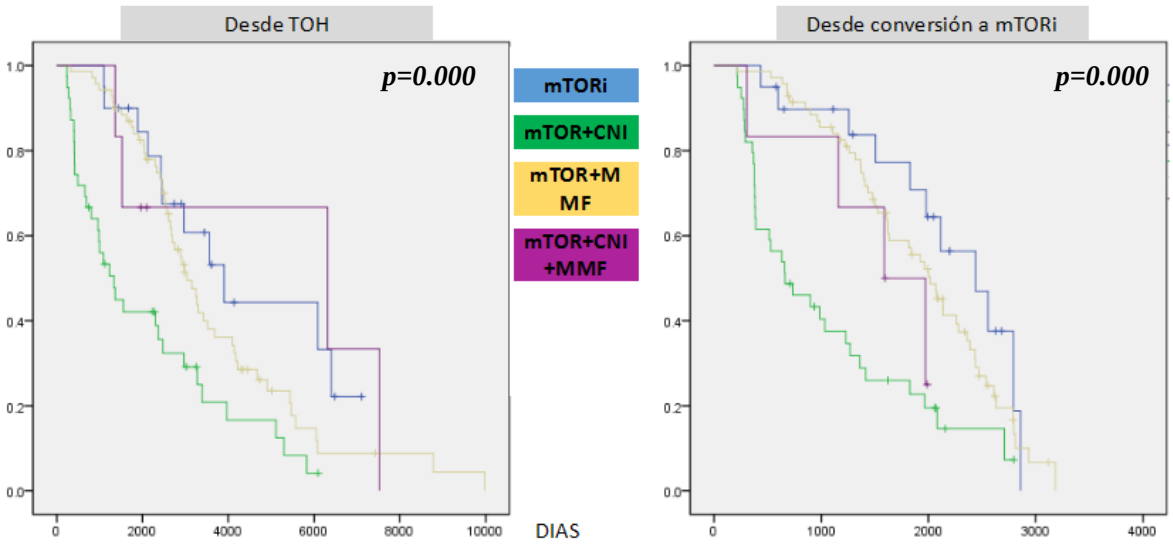


Gráfico 5.45 Las superviviencias de los pacientes con mTORi, según esquema de inmunosupresión.

La supervivencia sigue siendo mejor en los paciente con monoterapia con mTORi, que los paciente con doble terapia con MMF o ICN, siendo la asociación a éste último la que peor supervivencia presenta, con diferencia estadísticamente significativa (p=0,000).

5.5. RESULTADOS DEL ESTUDIO EXPERIMENTAL

5.5.1. Resultado histológicos

Tinción Hematoxilina y Eosina

Hemos evaluado las alteraciones histológicas de tejido riñon desde tres unidades: glomérulo, vaso sanguineo, y túbulo renal. El grupo TAC presenta más alteración histológica que otros grupos. Las imagenes siguiente son representantes de cada grupo.

- Glomérulo

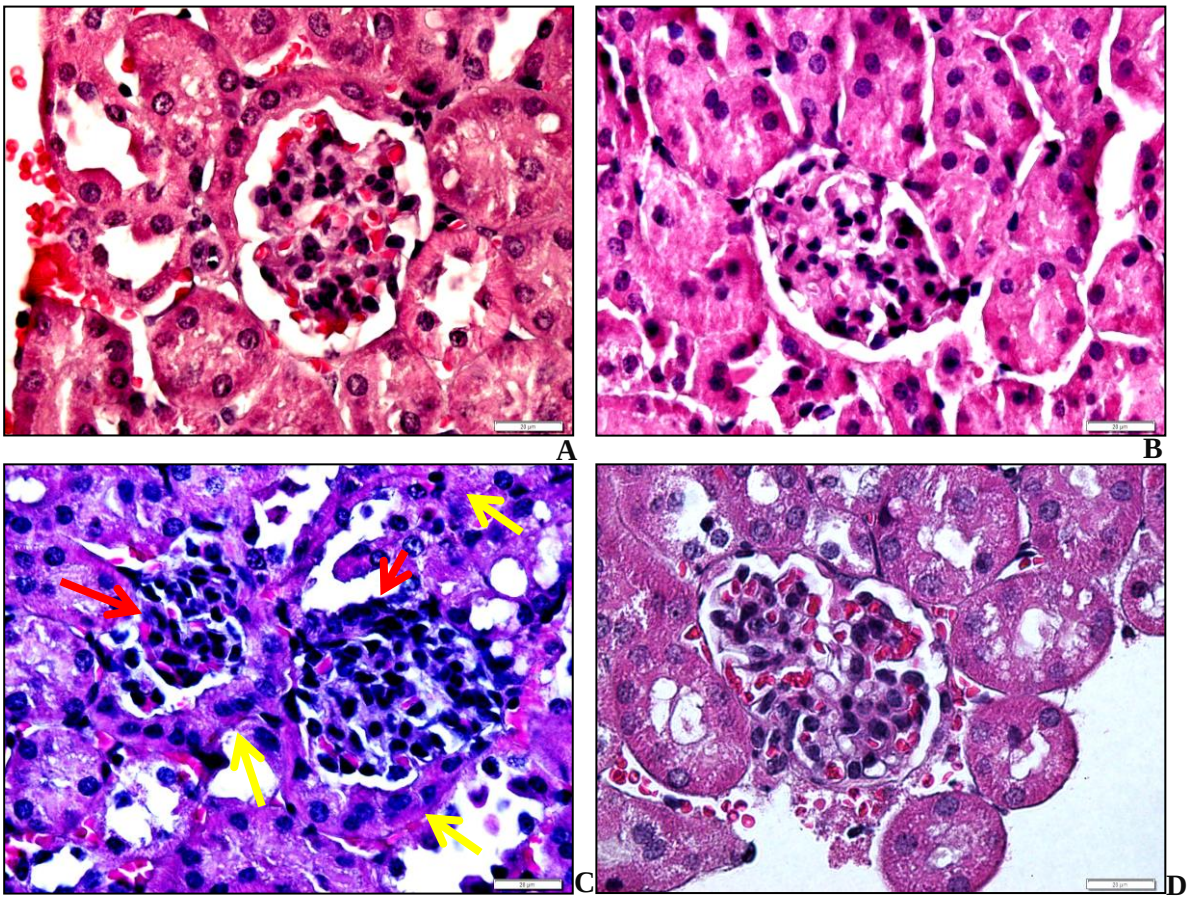


Image 5.1 Imagenes de glomérulo de tinción H&E (60X).

A, grupo EVE; B, grupo SRL; C, grupo TAC; D, grupo control.

En los grupo EVE, SRL, y control no se encoentraron alteración evidentemente. El grupo TAC presentó hiperproliferación de potocito (frecha roja), y hiperplasia de células epiteliales de capsula Bowman (frecha amarilla).

- Vaso sanguíneo

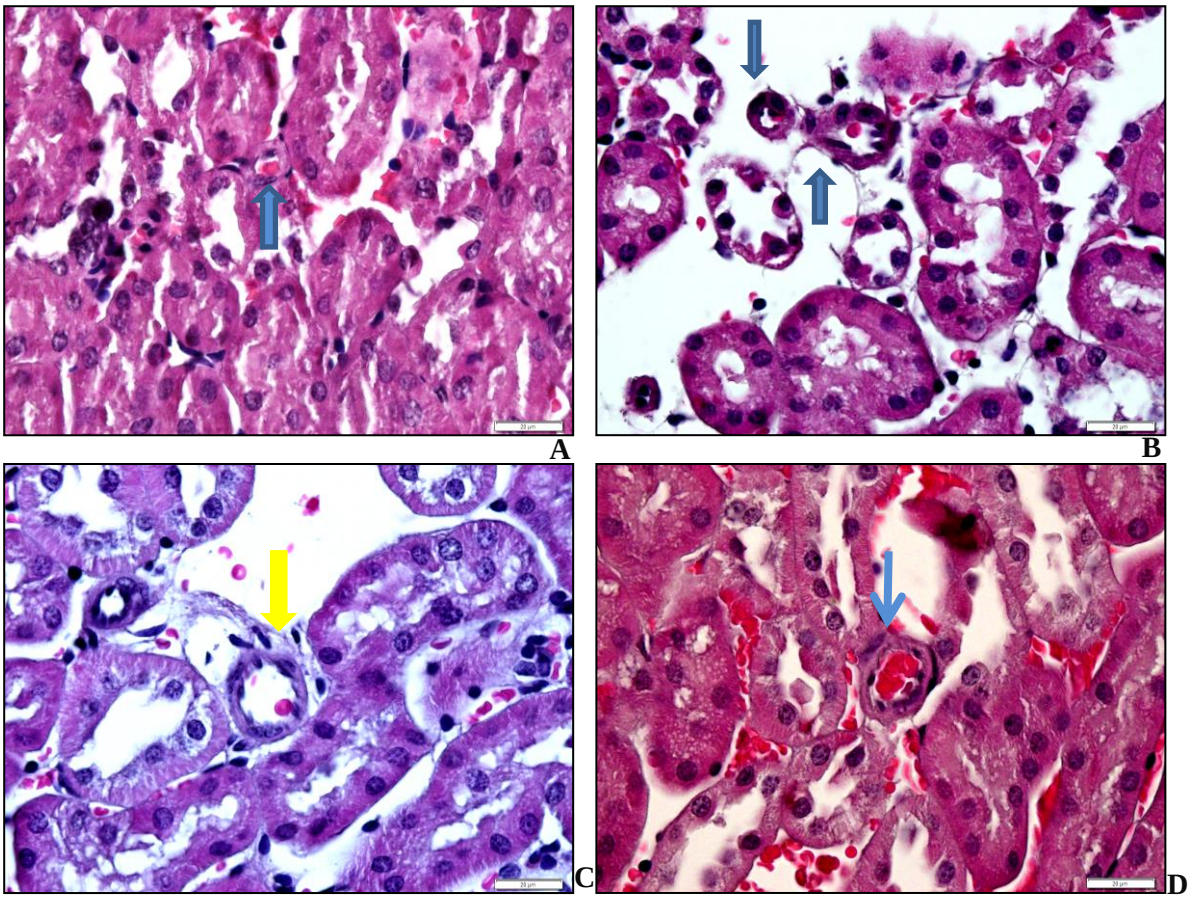


Image 5.2 Inmagenes de vaso sanguíneo de riñon de tinción H&E (100X) .

A, grupo EVE; B, grupo SRL; C, grupo TAC; D, grupo control.

En los grupo EVE, SRL, y control no se encoentraron alteración evidentemente. El grupo TAC presentó hiperproliferación de la célula epitelial de vaso sanguíneo (frecha amarilla).

- Túbulo renal

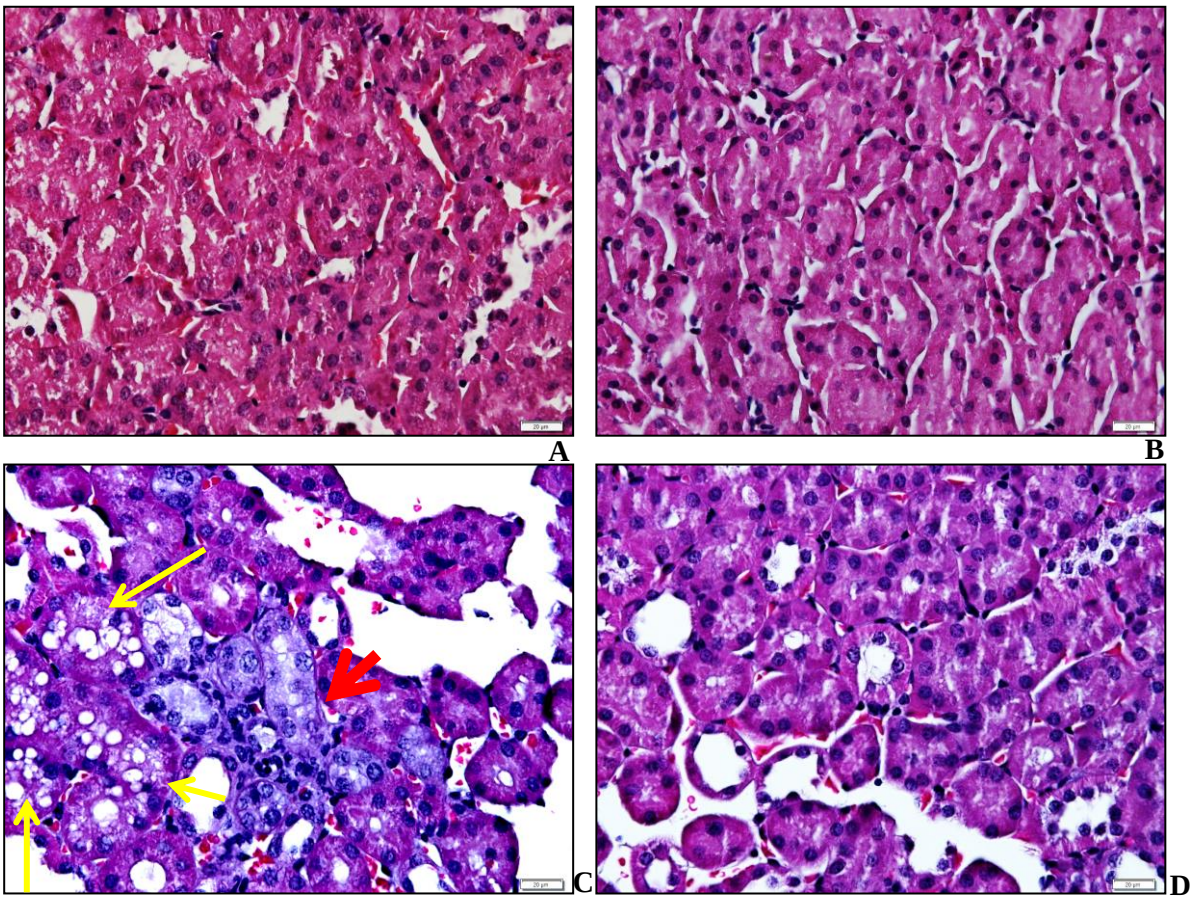


Image 5.3 Imagenes de túbulo renal de tinción H&E (60X) .

A, grupo EVE; B, grupo SRL; C, grupo TAC; D, grupo control.

El grupo TAC demostró vacuolización en túbulo renal (frecha amarilla) y necrosis de túbulo renal (frecha roja). Otros los grupos no se encoentraron alteración evidentemente.

Tinción Tricrómico de Masson

En tíncion tricrómico de Masson, hemos evaluado las fibrosis renal desde tres unidades: glomérulo, vaso sanguineo, y túbulo renal. El grupo TAC presenta más fibrosis que otros grupos, tanto en glomérulo y vaso sanguineo, como en túbulo renal.

- Glomérulo

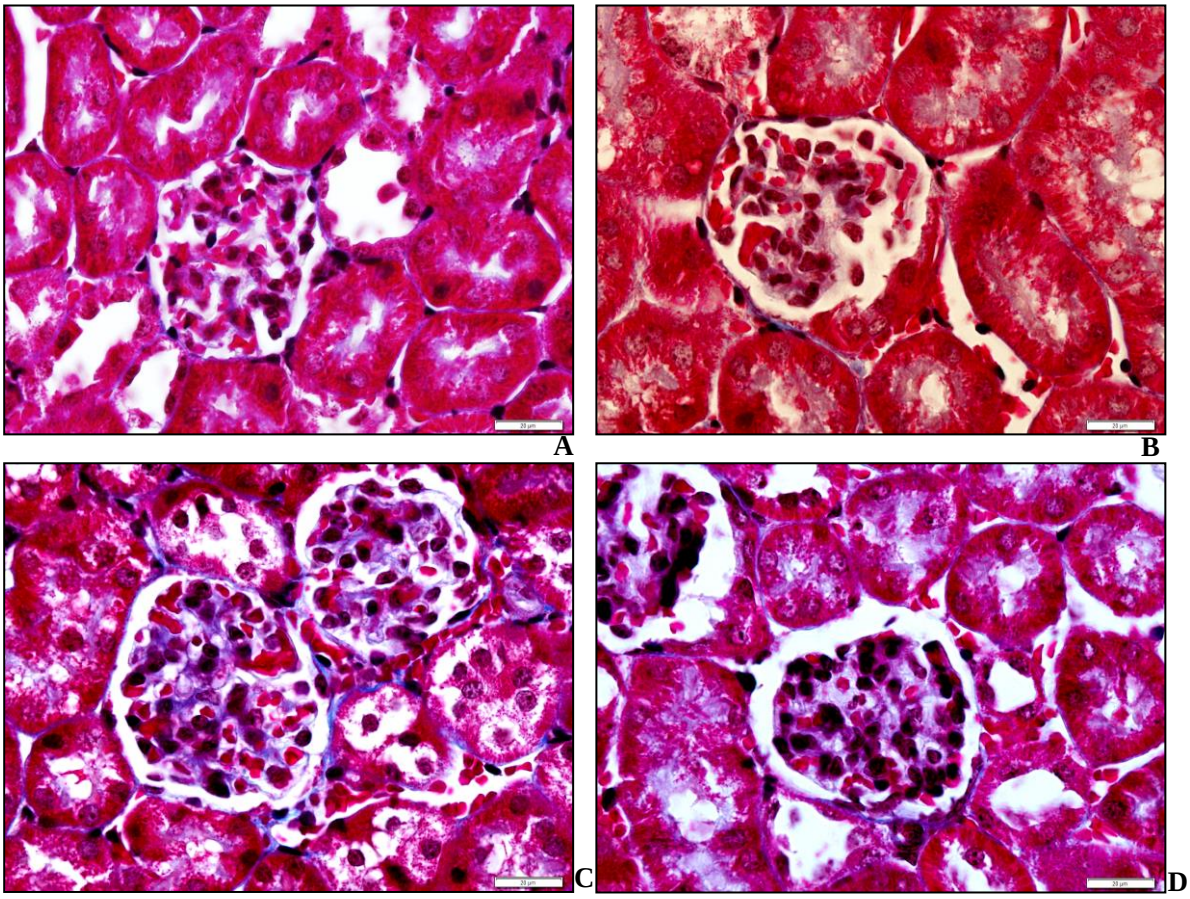


Image 5.4 Imagenes de glomérulo de tinción tricrómico de Masson (60X).

A, grupo EVE; B, grupo SRL; C, grupo TAC; D, grupo control.

En grupo EVE, SRL, cntrol no encoentraron alteración evidentemente. En grupo TAC, presenta patrón de deposición de colágeno (color azul), fibrosis de glomérulo.

- Vaso Vas sangu íneo

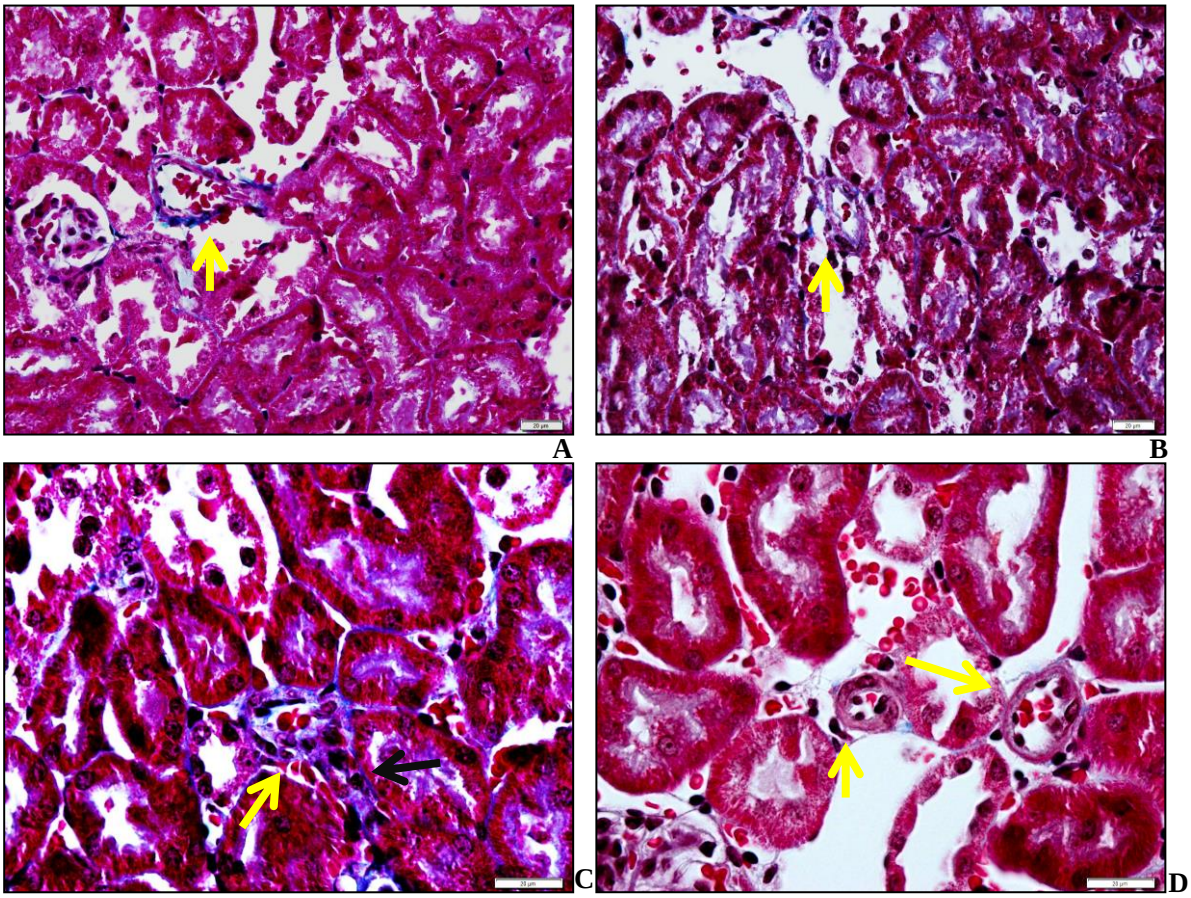


Image 5.5 Imagenes de vaso sangu íneo de ri ñon de tinci ón tricr ómico de Masson (100X) .

A, grupo EVE; B, grupo SRL; C, grupo TAC; D, grupo control. Frecha amarilla, ense ña vasos sangu íneos.

Aunque el grupo EVE y grupo SRL presentan patr ón de deposici ón de col ágeno alrededor de vascular, pero mucho menos que en grupo TAC. En grupo TAC, presenta patr ón de deposici ón de col ágeno alrededor de vascular, y hiperproliferaci ón de la c élula epitelial de vaso sangu íneo (flecha negra).

- Túbulo renal

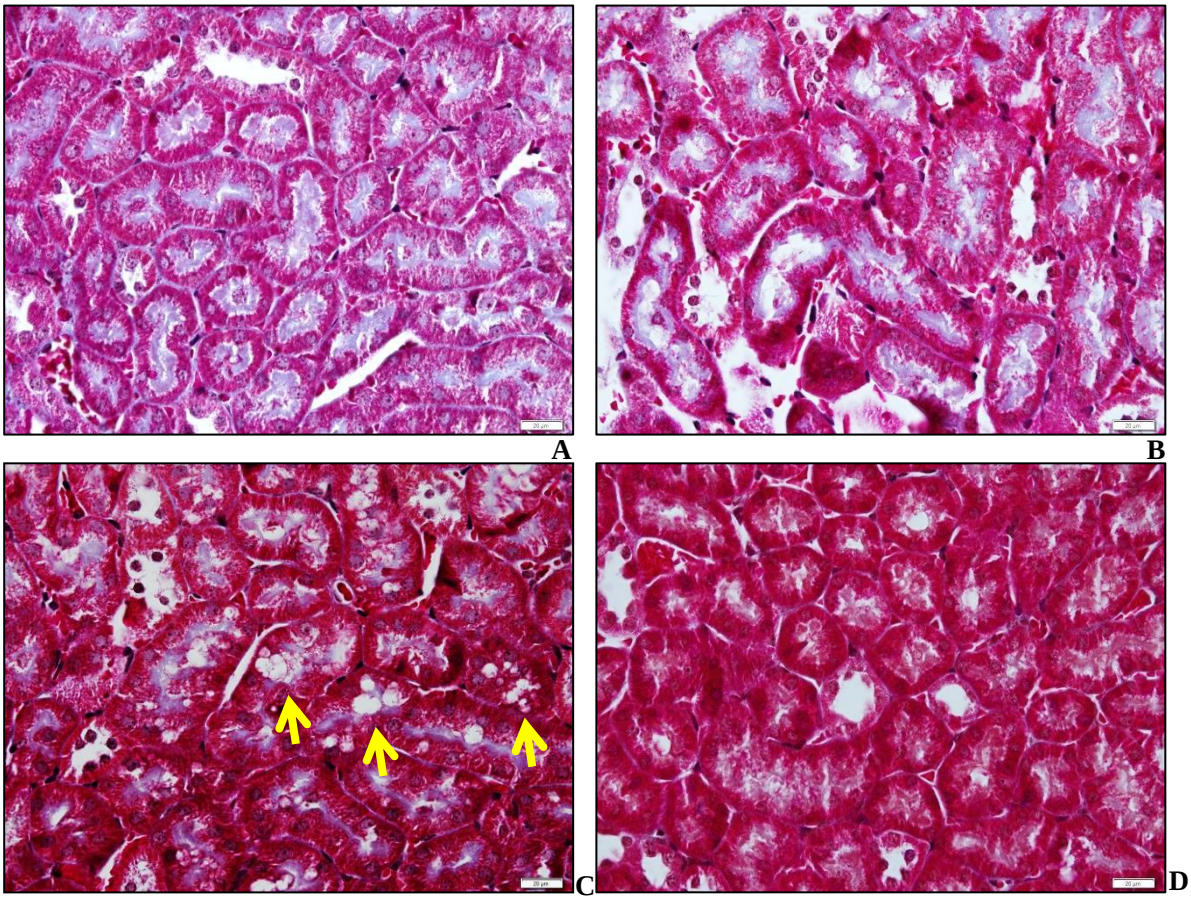


Image 5.6 Imagenes de túbulo de riñon de tinción tricrómico de Masson (100X) .

A, grupo EVE; B, grupo SRL; C, grupo TAC; D, grupo control.

En el grupo EVE y el grupo SRL, presentan más patrón de deposición de colágeno en túbulo en comparación con grupo control. En el grupo TAC, presenta patrón de deposición de colágeno en túbulo, y vacuolización túbulo (flecha amarilla).

5.5.3. Resultados de inmunohistoquímica

Fibrogenesis

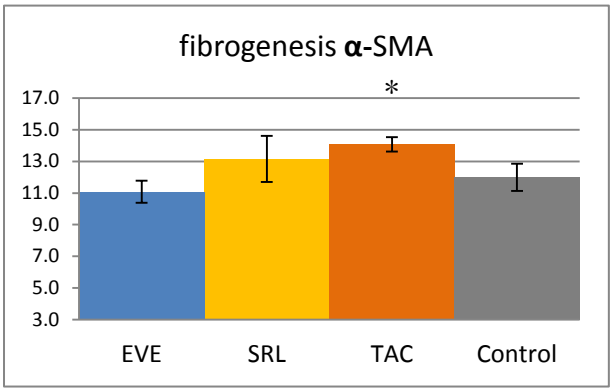


Gráfico 5.46 Resultado de inmunoflurescencia, fibrogenesis, marcador de α-SMA. *: P <0,05. Unidades arbitrarias.

Grupo TAC presenta mayor fibrogenesis que otros grupos, es encontraron diferencias estadísticamente significativas. Aunque el grupo SRL presenta mayor que grupo EVE en fibrogenesis, pero no exixten diferencias estadísticamente significativas.

Angiogenesis

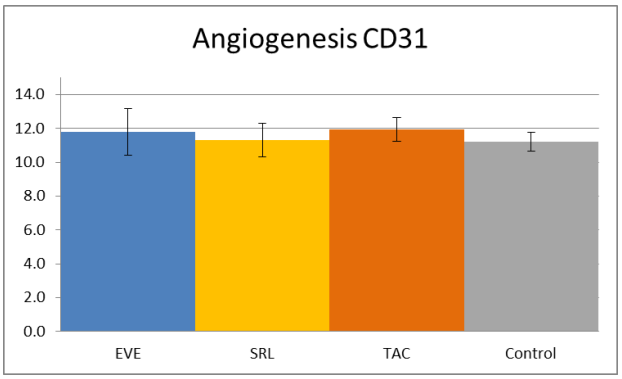


Gráfico 47. Resultado de inmunoflurescencia,angiogenesis, marcador de CD31. Unidades arbitrarias.

No exixten diferencias estadísticamente significativas en angiogenesis entre los grupos.

Proliferación de celular

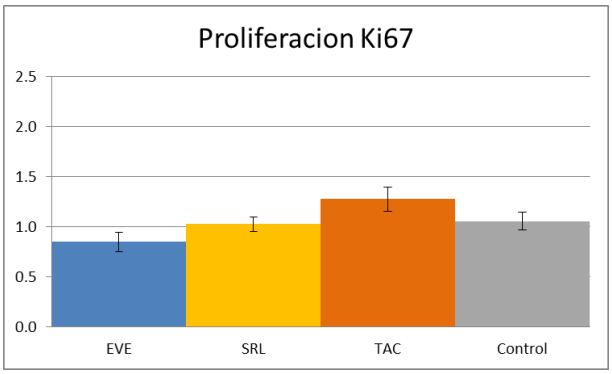


Gráfico 48. Resultado de inmunoflurescencia, proliferación de celular, marcador de Ki67. Unidades arbitrarias.

Aunque el grupo TAC presenta mayor proliferación de celular que otros grupos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Muerte celular

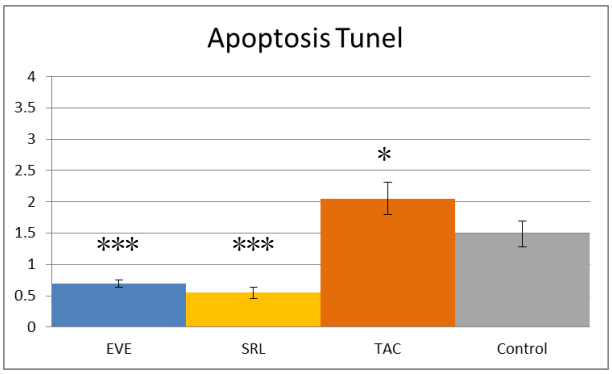


Gráfico 49. Resultado de inmunoflurescencia Tunel, muerte de celular (apoptosis). ***: p <0,001; *: P <0,05. Unidades arbitrarias.

El grupo TAC presenta mayor apoptosis que otros grupos. Grupo EVE y SRl presentan similar efecto en apoptosis, y ambos son menor que grupo control, se encontraron diferencias estadísticamente significativas..

Hemos realizado la cuantificación actividad caspase-3 como una evaluación del nivel de muerte celular.

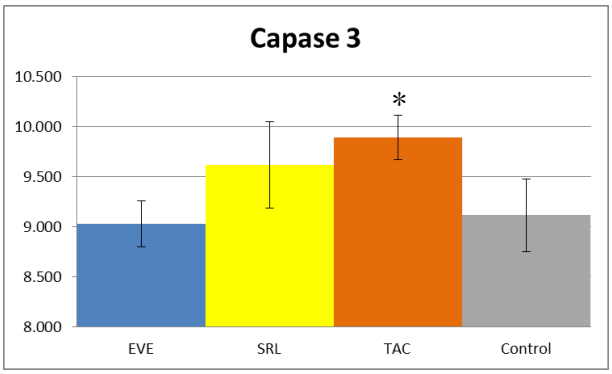


Gráfico 50. Resultado de cuantificación actividad caspase-3, marcador de muerte de celular.
*: P <0,05. Las medidas se expresan en U/ug

Conencidieron con resultado de Tunel, el grupo TAC presenta mayor apoptosis que otros grupos, se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

6. Discusión

6.1 ¿ES LA CONVERSIÓN A mTORi SEGURA EN EL PACIENTE TRASPLANTADO HEPÁTICO?

El uso de los fármacos inmunosupresores que permita evitar con máxima seguridad el rechazo del órgano y al mismo tiempo, carentes de efectos adversos, es el objetivo siempre buscado en el campo del TOH.

Como comentamos en la introducción, los farmacos mTORi contienen diferentes mecanismos de inmunosupresión que los ICNs, por lo tanto, no causan los efectos adversos más frecuentes de ICN tales como nefrotoxicidad, neurotoxicidad, hipertensión o DM *de novo*.

En nuestra serie, todos los pacientes incluidos en este estudio fueron convertidos a mTORi de forma tardía, no hay ningún caso de administracion antes de los tres meses tras el trasplante. Por lo tanto, no hemos analizado algunos efectos adversos de administración del mTORi inmediato tras de trasplante, tales como la complicación de la herida, la complicación de la vía biliar, trombosis de la vena porta, y trombosis de la arteria hepática. Además, la aparición de HTA o DM *de novo* durante el tratamiento de mTORi fue nula.

El edema distal asociado a mTORi ha sido bien publicado, demostrando una incidencia del 7%-33% de los pacientes del TOH con tratamiento mTORi. La mayoría de las publicaciones fueron para comparar el tratamiento con mTORi más ICN frente al tratamiento con ICN, y todas las publicaciones coincidieron que el mTORi causa edema más frecuente que el ICN [176-179]. En nuestro estudio, la incidencia global de edema facial y distal son del 5,9% y 35,6% respectivamente. El grupo EVE mostró una tendencia más frecuente, que el grupo SRL, a la aparición del edema distal (p=0.152), y el grupo SRL no mostró ningún caso de edema facial. La aparición de edema es facilmente observable. Los signos de edema pudieron elimina tras reducción la dosis de fármaco mTORi, o tratamiento con furosemida. Solo en un caso se suspendió el tratamiento de mTORi por no controlado edema.

Los efectos adversos dermatológicos son más comunes en los pacientes TOH con mTORi, cuyas manifestaciones incluyen: erupción cutánea, piel seca, y eczema. En este estudio, la dermatitis manifestada en erupción cutánea es más frecuente. La incidencia de dermatitis en este estudio fue del 17,0% en todos pacientes. Las incidencias del grupo SRL y grupo EVE fueron similares. Rogers C *at al*,[180] compararon la incidencia de dermatitis entre los pacientes TOH con tratamiento SRL frente a un tratamiento con ICN, pero no hubo diferencias significativas. Por el contrario, De Simone *at al*[181], realizó un estudio aleatorizado prospectivo comparado entre los pacientes TOH con tratamiento EVE frente a un tratamiento con los ICNs, demostrando que en el grupo EVE es más frecuente la aparición de dermatitis que en el grupo de los ICNs, con diferencias significativas. Sin embargo, no existen casos de suspensión del mTORi por dermatitis en este estudio, cuyas manifestaciones dermatológicas tienen respuesta con el ajuste del nivel de mTORi en suero, o con un tratamiento con crema de esteroides, y no generan complicaciones severas.

La mucositis oral es el efecto adverso más frecuente del mTORi, no solo en el uso del mTORi como inmusupresión de trasplante, sino en el uso del mTORi como una quimioterapia anticáncer [182]. Los inhibidores de mTOR inducen que la mucositis oral consiste en ulceraciones irregulares, pero rara vez conducen a seudomembranas, ulceraciones confluentes, lesiones o incluso necrosis en tejido sangrante. La fisiopatología es poco conocida, y un estudio ha comparado la incidencia de la mucositis oral mediante administración de EVE con dosis escalada, y mostró que la incidencia de dicha mucositis oral está relaciona con la dosis [183]. Varios estudios previos han informado que la incidencia de la mucositis oral es del 10,6%-26,4% en los pacientes TOH con tratamiento mTORi, y en comparación con el tratamiento con los ICNs, la incidencia de mucositis oral de mTORi fue más frecuente. [177,178,182]. En nuestra serie, la incidencia global de mucositis oral fue del 25,2%. El grupo EVE mostró una tendencia más frecuente que el grupo SRL (30,4% VS 19,7%), aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas (p=0,165). En la práctica clínica, la mucositis oral fue manejada con éxito con un tratamiento de esteroides (fluocinolona oral) o con reducción de la dosis de mTORi. No obstante, la mucositis oral está relacionada con la calidad de vida de los pacientes, lo cual puede llevar a la suspensión del tratamiento con mTORi.

Cuatro pacientes suspendieron el mTORi por tener una mucositis oral persistente.

Es posible que debido a la administración de los fármacos mTORi por vía oral, los efectos adversos respecto a la tolerancia digestiva aparezcan en el momento tras la conversión, tales como: diarrea y dolor abdominal. En nuestra serie, un 23,0% y 6,7% de los pacientes TOH presentaron diarrea y dolor abdominal respectivamente tras el tratamiento con mTORi, y solo dos pacientes suspendieron el tratamiento de mTORi por intolerancia digestiva. Respecto a la incidencia de diarrea y dolor abdominal entre el grupo EVE y el grupo SRL no existen diferencias significativas. Son raros los estudios previos informando sobre diarrea y dolor abdominal causados por el mTORi; Yang J *et al*[184], ha publicado un estudio que demostró que mTORi reduce la actividad de intercambio de Na^+/H^+ en los tejidos intestinales de los pacientes y que en el modelo animal, la pérdida de la regulación de NHE3 por mTORi podría mediar el desarrollo de la diarrea en pacientes con mTORi.

La neumonitis atípica ha sido un efecto adverso importante del mTORi. El diagnóstico es difícil y acostumbra a realizarse por exclusión de otras causas, como infecciones, enfermedades autoinmunes o toxicidad por otros productos. La mejoría clínica al suspender el fármaco puede confirmar el diagnóstico. La fisiopatología de la neumonitis típica asociada al mTORi es poco conocida [185]. Se han propuesto mecanismos de toxicidad directa por los fármacos, de toxicidad inmunológica o de una combinación de ambos mecanismos [185,186]. En biopsias pulmonares de pacientes afectados se ha observado una alveolitis linfocítica, lo cual favorece la hipótesis de toxicidad mediada por el sistema inmune[187]. En un estudio de radiología pulmonar, se presenta infiltración de los tabiques retroalveolares. Además, el síndrome febril sin infección se presentó acompañado con la neumonitis atípica. Sin embargo, la rápida respuesta a la suspensión del fármaco favorece la hipótesis de toxicidad directa. En nuestra serie, un 9,6% de los pacientes con mTORi presentaron neumonitis atípica, y un 11,9% presentaron síndrome febril. Todos estos casos fueron bien controlados por el tratamiento médico, ninguno llevó a la suspensión.

La hiperlipidemia es muy frecuente en los pacientes con tratamiento con mTORi, y la

incidencia de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia en los pacientes con mTORi fueron más altas significativamente en comparación con los pacientes con tratamiento con otros fármacos inmunosupresiones [177,181,188]. Sin embargo, las evidencias acumuladas revelaron que el efecto del mTORi en el estado de lípidos depende de la dosis[189]. En nuestra serie, las incidencias de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia fueron del 67,4% y 44,4% respectivamente, y no presentaron diferencias entre el grupo EVE y SRL. En la práctica clínica, la hiperlipidemia puede ser controlada de forma exhaustiva mediante reducción de la dosis de mTORi o con fármacos hipolipemiantes (Atrovastatina, Fibratos). La dislipimia crónica asociada aumenta el riesgo cardiovascular, y en este estudio, 7 pacientes fallecieron por accidente cardiovascular. De estos 7 casos, cinco de ellos han tenido hiperlipidemia desde la preconversión, un caso ha tenido hiperlipidemia *de novo* antes de conversión, y todos se han mantenido tratados con hipolipemiantes. Hemos considerado que la hiperlipidemia por el mTORi aporta un 3% de la letalidad de todos pacientes. No obstante, el mTORi contiene un efecto cardioprotector[189], que por otro lado, se ha demostrado que retrasar la progresión de la aterosclerosis mediante la inhibición de la acumulación de lípidos, hace que resulte que las placas ateroscleróticas sean más pequeñas[190]. Sin embargo, la hiperlipidemia no debe ser considerada como una barrera para el uso de mTORi, siemple cuando se mantenga un control exhaustiva.

La administración de mTORi está asociada a toxicidad hematológica, debido a que el mTORi contiene el efecto mielotoxicidad, y se puede dar la inhibición de la transducción de las señales compartido por varios receptores de citoquinas, incluyendo los que estimulan la producción de plaquetas, leucocitos, y eritrocitos. Varios estudios han informado que aumenta las tasas de aparición de anemia, leucopenia y trombopenia con la conversión a mTORi desde los ICNs, y las incidencias fueron del 23,8%, 25,7% y 23% respectivamente [181,188,191]. No obstante, estos resultados se dan, en general, en los pacientes convertiendo por nefropatía. Fischer L *at al*[192], informó sobre un estudio aleatorizado de alta calidad comparando EVE e ICN, y se demostró que la lucopenia es más frecuente significativamente en el grupo EVE. En nuestra serie, las incidencias de anemia, leucopenia y trombopenia fueron del 57,8%, 34,1% y 31,9% respectivamente, fueron más altas que los estudios previos, y se consideró que es

posible debido a que un 56,3% de los pacientes administraron MMF con mTORi. Se ha conocido que el MMF tiene efecto de mielotoxicidad, y la indicación MMF en conjunto con mTORi es para evitar rechazo de los pacientes TOH, en situación de suspensión de ICN o reducción de la dosis de ICN. Por otra parte, el 23,7% de los pacientes tuvieron neoplasia *de novo*, la quimioterapia y el efecto de la neoplasia, pueden aumentar la tasa de anemia y leucopenia. Hemos observado que el grupo EVE presentó una tendencia más frecuente en la incidencia de anemia que el grupo SRL (p=0,083), y el grupo SRL presentó una tendencia más frecuente en la incidencia de leucopenia que el grupo EVE, sin poder emitir una explicación razonable a este hecho.

La infección es una complicación frecuente asociada con la terapia inmunosupresora. Varios estudios han informado sobre las incidencias de la infección en los pacientes TOH con mTORi y son similares que los pacientes con ICN[180,188,193]. Sin embargo, en estos estudios previos que han comparado EVE frente a ICN, la incidencia de infección de EVE es más alta que de ICN, 19,6%-31,9% *VS* 13,2%- 21,9% respectivamente [181,194]. No estudio previo comparado la incidencia de infección entre EVE y SRL. En nuestro estudio, la incidencia global de infección fue igual en ambos grupos de los inhibidores mTORi, pero el grupo SRL presentó una tendencia más frecuente en infección bacteriana (15,8% *VS* 5,8%, SRL *VS* EVE, p=0,095). Por el contrario, el grupo EVE presentó una tendencia más frecuente en infección vírica (13,6% *VS* 23,2%, SRL *VS* EVE, p=0,188). La infección vírica más frecuente en los pacientes TOH fue citomegalovirus (CMV), y herpes simple. No obstante, se ha publicado que el mTORi tiene un efecto antiviral y varios estudios demostraron que la administración de SRL a los pacientes TOH puede disminuir la incidencia de la infección por CMV [195-197], pero un estudio mostró que el EVE favorece la prevención de la infección vírica. La infección fúngica fue poco frecuente en los pacientes tratamiento con mTORi en los estudios previos, en comparación con los pacientes con tratamiento con los ICNs, de forma significativo [193]. En nuestro estudio, solo se presentaron 2 casos de infección fúngica.

La incidencia de rechazo en nuestro estudio asociado al cambio en el régimen inmunosupresor fue del 22% en total (30 paceintes), sin encontrar diferencias entre grupo

EVE y grupo SRL. La gran mayoría fueron rechazos subclínicos manifestados como movilización enzimática que se resolvieron sin necesidad de suspensión del tratamiento, salvo en 8 casos que precisaron suspensión del mTORi y regreso al régimen inmunosupresor basado en TAC. De los 8 pacientes que debieron suspender el mTORi, tan sólo 2 se encotraban en monoterapia, el resto, se asociaba ICN. El único factor común a estos pacientes fue que la conversión se realizó antes de los 8 meses. El resto de los pacientes normalizaron el perfil hepático tras la optimización de los nivelesde mTORi. El diagnóstico de rechazo fue en la mayor parte de los casos clínicos, y tan sólo el 50% (15 pacientes) precisaron biopsia hepática percutánea. Muchos estudios coincidieron en que la eficacia de mTORi e ICN fueron similares en la eficacia de control de rechazo [178,179,181,191-193,196,198,], aunque la mayorás de los estudios fueron comparaciones de administración de EVE *de novo* frente al ICN. Consideremos que la tasa de rechazo agudo en nuestra serie es muy similar a la encontrada en series de pacientes con ICN, y que, por tanto, se trata de un medicamento seguro en ese aspecto. Si bien, consideremos que, para minimizar la aparición de rechazo severo, la doble terapia con MMF o ICN debe ser utilizada en pacientes con TOH reciente, al menos el primer año.

La suspensión del tratamiento basado en mTORi debe ser realizada en caso de efectos tóxicos no controlados o de aparición de rechazo que no mejora con la optimización de dosis/niveles o tras añadir ICN. En nuestra serie, la tasa de suspensión mTORi fue de 23,0%, sin hallarse diferencias estadísticamente significativas de suspensión entre el grupo EVE y el grupo SRL. El rechazo fue la causa más común (22,8%) de suspensión. Se ha discutido este hecho en el párrafo anterior. El resto de los pacientes que precisaron suspensión lño hicieron para descontrol de diversas manifestaciones clínicas asociadas al mTORi: diarreas, aftas, etc., y que no comprometieron la vida del paciente ni del injerto. Se trata de un índice de suspensión elevado, pero, analizado como terapia utilizada de forma compasiva, no creemos que se trate de un dato relevante. Por el contrario, en este tipo de tratamientos compasivos, una aceptación del 77% debe considerarse un dato muy positivo.

6.2. ¿ES EFICAZ LA CONVERSIÓN A mTORi EN MEJORAR LA FUNCIÓN RENAL?

Existen en la actualidad diversas intervenciones relacionadas con cambios en la inmunosupresión que se utilizan habitualmente en la práctica clínica frente a la aparición de disfunción renal postTOH. Estas deben apoyarse siempre en las medidas de tipo general comentadas en los apartados previos y, además, complementarse con el uso de la pauta inmunosupresora más adecuada para cada perfil de paciente.

Los fármacos inmunosupresores no nefrotóxicos, tales como SRL, EVE y MMF, se han usado como nuevas pautas inmunosupresoras basadas en la minimización de los ICNs. En general, la reducción de las dosis de ICN, acompañada de la adición de mTORi para garantizar una adecuada cobertura inmunológica, constituye la estrategia inmunosupresora novedosa en la práctica clínica en el paciente trasplantado hepático, a diferencia del uso de MMF, siendo este un fármaco ampliamente estudiado en el TOH.

Este estudio pretende analizar la eficacia de la conversión a mTORi en la mejoría de la función renal de los pacientes TOH, mediante el análisis del nivel de Cr y la tasa de FG, así como su impacto en la supervivencia del paciente.

La nefrotoxicidad por ICN ha sido bien estudiada, estableciéndose la lesión renal en el primer mes tras de trasplante, después mantiene una nefrotoxicidad crónica y deterioro de la función renal progresiva, desarrollando una insuficiencia renal terminal que puede requerir hemodiálisis o trasplante renal[199]. Aunque algunos casos no se manifiesta la insuficiencia renal, la nefrotoxicidad de ICN sigue siendo un riesgo relacionado con la supervivencia. Los inhibidores de mTOR favorecen a la recuperación renal, reduciendo la inflamación intersticial, la fibrosis y la pérdida de la función renal que se asocia con la progresión de la enfermedad renal crónica [200]. En nuestro estudio, hemos observado que la función renal no solo mejora en los pacientes por conversión por nefropatía, sino en todos los pacientes convertidos por

otros motivos (hepatocarcinomas, neoplasias *de novo*, etc.). El porcentaje de mejoría de Cr y FG fue similar al grupo de conversión por nefropatía y al grupo por conversión por otros motivos. La conversión a mTORi puede por tanto proteger la función renal en los pacientes trasplantados hepáticos sin disfunción renal, mientras que se activa la recuperación renal en los pacientes que ya prestan nefropatia postTOH. Probablemente este hecho pueda deberse a la reducción de la dosis y niveles de ICN o su eliminación tras añadir mTORi al régimen inmunosupresor.

Hemos analizado la función renal en un tiempo de seguimiento de 2 años tras de conversión, objetivando que el nivel de Cr plasmática disminuye un 9,8% y la tasa de FG aumentó un 9,0% durante el primera mes; posteriormente, este mejoría se mantiene estable en el tiempo. El beneficio de mTORi en la función renal se ha definido por varios estudios previos, aunque existen varios criterios de conversión a mTORi, tales como conversión *de novo* de TOH (30 días tras el trasplante), una conversión temprana (3 meses tras el trasplante), y una conversión tardía (más de 3 meses tras el trasplante) . Masetti et al[193], ha reportado 78 pacientes *de novo* tratados con CsA y MMF y fueron aleatorizados a los 30 días posTOH para ser convertidos a EVE en monoterapia o para seguir con el tratamiento inicial. Después de 12 meses, los pacientes del grupo EVE presentaron un FG significativamente mejor frente a la terapia con ICN y una menor incidencia de IRC. Sin embargo, no recomendamos tratar a los pacientes del TOH con mTORi *de novo*. Un estudio controlado aleatorio comparó los esquemas de inmunosupresión del TOH entre el grupo EVE *de novo*, el grupo EVE combinado con TAC reducido, y el grupo TAC, e informó que se suspendieron todos del grupo EVE *de novo* debido a que presentaron rechazo [178]. En nuestro estudio hemos comprobado como el rechazo aparece sobre todo relacionado con una conversión precoz, y en algunos casos, ha conllevado la suspensión del tratamiento. Una conversión lenta y más allá de los 6 meses ofrece una mayor seguridad en evitar el rechazo agudo. A los pacientes con mayor riesgo de rechazo, por cercanía del TOH o por aparición de rechazo agudo postTOH, hemos tratado con mTORi más ICN con dosis reducidas para ofrecer un adecuado balance riesgo-beneficio. En nuestro estudio, se observa que el grupo mTORi+ICN presenta una mayor mejoría en la función renal que el grupo mTORi durante el primera mes, tanto en Cr como en FG, aunque

es una mejoría sin significación estadística. Hemos supuesto que esto es debido a que los pacientes convertidos a mTORi en monoterapia son pacientes con mayor tiempo postTOH, y por ello, los daños histológicos renales asociados a ICN han sido mayores, por lo que la recuperación es más difícil.

Respecto a la eficacia en la mejoría de la función renal entre EVE y SRL, EVE proporciona mayor mejoría en FG, y SRL mayor mejoría en Cr. No encontramos explicación a este hallazgo.

Hemos analizado la mejoría de la función renal en función de diversos factores asociados a la disfuncióonn renal, tales como DM, HTA, presencia de disfunción renal preTOH, cirrosis viral, y el tiempo de tratamiento con ICN.

Respecto al tiempo tratamiento con ICN, la mejoría en la función renal después de la conversión fue independiente del periodo de tiempo de tratamiento con ICN, contrario a lo que podría pensarse en función del daño histológico por exposición prolongada. Esto responde al hecho comentado previamente de que parece demostrado que el daño histológico renal se produce en el primer mes de exposición al fármaco ICN.

La nefropatía diabética es una complicación grave de la diabetes tipo 1 y tipo 2, y se caracteriza inicialmente por microalbuminuria y más tarde por esclerosis glomerular. Varios estudios han demostrado que en las primeras etapas de la nefropatía diabética se aumenta la actividad de mTORi y la hipertrofia de los podocitos[(201)]. Además, se va a producir un fenómeno dependiente de la activación de mTORi consistente en el incremento de síntesis de proteínas de matriz que contribuirá al engrosamiento de la membrana basal glomerular y a la acumulación de matriz mesangial, típicos de la nefropatía diabética. La activación de mTORi en la diabetes es, al menos, en parte provocada por la hiperglucemia vía activación de la AKT[(202)]. Los inhibidores de mTOR pueden disminuir los cambios característicos de la nefropatía por diabetes, proteger los podocitos y prevenir la nefropatía diabética progresiva [(203)] y están asociados con una reducción de la albuminuria [(204)].

En práctica clínica, la SRL provoca proteinuria y esclerosis glomerular en algunos pacientes [205]. En los estudios con animales se demostró que un estrecho control de la actividad mTORi fue crucial para mantener la función podocitaria glomerular, mientras que su desregulación facilitó el desarrollo de enfermedades glomerulares. La delección genética del complejo mTOR1 (mTORC1) en los podocitos de ratón indujo proteinuria y glomeruloesclerosis progresiva. Por otra parte, la supresión simultánea de ambos mTORC1 y mTORC2 agravó las lesiones glomerulares, revelando la importancia de ambos complejos de mTOR para la homeostasis podocitaria. En contraste, un aumento de la actividad de mTOR acompaña la nefropatía diabética humana, caracterizada por hipertrofia glomerular temprana e hiperfiltración. La coartación genética de la señal a mTORC1 en ratones mediante la reducción del número de copias mTORC1 en los podocitos impidió el desarrollo de glomeruloesclerosis y mejoró significativamente la progresión de la enfermedad glomerular en la nefropatía diabética. Estos resultados demuestran la importancia de la actividad de mTOR en el buen equilibrio de la homeostasis podocitaria y sugieren que su inhibición puede proteger a éstos y prevenir la nefropatía diabética progresiva [203].

En nuestro estudio, se observó que la función renal mejora después de la conversión en los pacientes con DM, tanto preTOH como DM *de novo*, además de una logran conseguir una tendencia a mejorar la supervivencia tras la connversión. No obstante, la asociación de DM con disfunción renal establecida parece ser una combinación en la que la eficacia en mejorar la función renal disminuye. Se considera así que la DM más la disfunción postTOH, es un factor predictor negativo en la mejoría de la función renal tras la conversión a mTORi.

En cuanto a la nefropatía hipertensiva no hay estudios que relacionen al mTORi con la eficacia en estos pacientes. En nuestra serie, los pacientes con HTA preTOH mejoran en la función renal, aunque el porcentaje de mejoría es menor que en los pacientes con no HTA preTOH. Tampoco la supervivencia mejora después de la conversión a mTORi.

La proteína mTORi es esencial en la proliferación de células mesangiales, como en el caso de la glomerulonefritis mesangioproliferativa. En la práctica clínica, los pacientes con

nefropatía crónica del trasplante tratados con ICN, mejoraron sustancialmente su función renal tras ser convertidos a sirolimus, aunque un 33% desarrollaron una importante proteinuria al tiempo que se ha relacionado la aparición de glomeruloesclerosis focal segmentaria en pacientes tratados con altas dosis de SRL [206,207]. Estos resultados están en concordancia con los informes recientes que demuestran un efecto dependiente de la dosis de mTORi en la excreción urinaria de proteínas y la expresión de la proteína de los podocitos. Los elevados niveles de proteinuria antes de la conversión fueron igualmente correlacionados con proteinuria masiva postconversión. Trimarchi H *et al* [208], sugirieron no recomendar a usar mTORi en los pacientes con proteinuria es superior a aproximadamente 800 mg/día cuando es realizado el trasplante, a pesar del mecanismo de proteinuria en esta configuración, no están relacionados con la proliferación mesangial, que es el principal culpable en mesangioproliferative glomerulonefritis. En nuestra serie, el nivel de proteinuria ha aumentado progresivamente a lo largo del tiempo del tratamiento con mTORi, pero de forma escasa, no precisando una retirada ni reducción del mismo. Por lo tanto, podemos decir que la proteinuria no supone una contraindicación para el uso de mTORi. Destacamos que debido al protocolo de nuestro centro no se indica el seguimiento de la proteinuria, los resultados de proteinuria solo son analizados en los pacientes en los que es necesaria por manifestación clínica, no de todos pacientes.

Se ha considerado que la infección por VHC genera glomerulonefritis membranoproliferativa y se asocia con la insuficiencia renal [209]. En estudios previos, la supervivencia del injerto y del paciente después del TOH han mejorado en todas las indicaciones de TOH, excepto la cirrosis relacionada con el VHC, que continúa siendo un 10-15% más baja que sin VHC [210]. La recurrencia de infección VHC sigue siendo un impacto importante de pérdida del injerto e indicado a retrasplantar. La recurrencia de infección de VHC está relacionada con varios factores: el alto nivel de viremia preTOH, las variables del donante, co-infección por CMV y HIV, mayores niveles de inmunosupresión (esteroides pulso o el uso de anticuerpos de agotamiento de las células T-OKT3 o timoglobulina), y diabetes postTOH. Varias evidencias mostraron que el mTORi beneficia a los pacientes con VHC [211]. Se ha informado de que el SRL disminuye la fibrogenesis

hepática, da una mejor función hepática en los pacientes con cirrosis por recurrir a VHC, y disminuye la tasa de replicación del VHC [211]. Además, el SRL no promueve la muerte celular de los hepatocitos en los pacientes del TOH, en comparación con el tratamiento de ICN y MMF [212]. Bioquímicamente, el SRL inhibe la vía mTOR/p70S6K y puede reducir la fosforilación de fosfopéptidos NS5A *in vivo*, por tanto, inhibición de la replicación viral [213]. Según la teoría anterior, el tratamiento con mTORi en los pacientes con VHC aporta beneficio en el campo de la nefropatía y en la infección por VHC. En nuestro estudio, hemos observado que la conversión a mTORi mejora la supervivencia de los pacientes sometidos a TOH por etiología viral, y mejora mucho más la función renal en comparación con los pacientes de etiología no viral. Los inhibidores de mTORi parecen ser así un tratamiento ideal para los pacientes sometidos a TOH por cirrosis viral con nefropatía asociada.

Hemos comparado que la supervivencia de los pacientes con mTORi. Los pacientes con SRL o tratados con mTORi en monoterapia presentan una mejor supervivencia que otros pacientes tras la conversión, aunque es un dato a tomar con cautela, ya que la supervivencia parece dirigida desde el momento del TOH.

6.3. ¿EXISTEN DIFERENCIAS EN EL DAÑO RENAL A NIVEL HISTOLÓGICO ENTRE mTORi E ICN?

Aunque la histopatológica renal asociada al ICN fue bien estudiada, hemos realizado este trabajo para demostrar una comparación intuitiva de los efectos renales del ICN y mTORi. Hemos usado el fármaco tacrolimusTAC para simular que los fármacos ICNs fueron debido a que, en el día de hoy el TAC ha desplazado progresivamente a la CsA en la práctica clínica, y cubierta la mayoría con ICN en la terapia inmunosupresión del TOH en el mundo. Con un tiempo de administración durante 30 días, es suficiente para la exposición de las lesiones renales en cada grupo, y con una administración de todos los fármacos con jeringa por vía oral

fue bien simulación la trapéudica del paciente. Hemos elegido tinción H&E para observar la alteración en la estructura del tejido renal. Tinción Tricrómico de Masson para observar la fibrosis de tejido renal, también para observar la alteración de la estructura del tejido renal. El estudio inmunohistoquímicas de α-SMA para probar la eficacia de los fármacos en fibrogenesis de tejido renal; Tunel y la cuantificación de la activación de la proteína caspase-3 para comparar la muerte de la célula entre cada grupo; Ki67 para revelar el papel de la proliferación en el tejido renal; además, CD31 para confirmar la capacidad de angiogenesis de cada grupo.

En tinción H&E, y tinción Tricrómico de Masson, se ha observado que el grupo TAC presenta más lesiones que el grupo EVE y el grupo SRL, desde región glomerular, tubulo renal, y vaso sanguíneo renal. La vacuolización tubular es un signo de necrosis tubular agudo, es muy frecuente en el grupo TAC, y se presenta evidentemente tanto en tinción H&E, como en tinción tinción Tricrómico de Masson. Sin embargo, la vacuolización tubular frecuentemente es rara en el grupo EVE, SRL, y grupo control, se podría considerar una evidencia intuitiva de la nefrotoxicidad de TAC. Además, el grupo TAC presentó mayor expresión de apoptosis, tanto en Tunel como en expresión caspasa-3.

En el grupo TAC, los fenómenos de hiperproliferación de potocito, hiperplasia de células epiteliales de capsula Bowman, e hiperproliferación de la célula epitelial de vaso sanguíneo, siendo en general, arterioloesclerosis vascular, fueron más frecuente en los tinciones. Se ha considerado que las lesiones hipertrofias glomerulares podrían reflejar una respuesta compensatoria por la pérdida de nefronas, que es causada por los efectos de vascular y glomerular de TAC. Por lo tanto, se cree que la hipertrofia compensatoria glomerular puede resultar en la hiperfiltración capilar, lesión endotelial, disfunción mesangial, y segmentaria progresiva o glomerulosclerosis global [214]. Los fenómenos de hiperproliferación renal de TAC también se presentó en el resultado de inmunoflurescencia de Ki67. A pasar que el TAC, EVE, SRL son fármacos inmunosupresiones, contienen efecto anti-proliferación, pero el resultado de inmunoflurescencia de Ki67 demostró que grupo el TAC tiene una expresión más proliferación que otros grupos. Hemos considerado que es posible una respuesta

compensatoria de deterioro renal, debido a la mayor apoptosis en el grupo TAC.

La fibrosis intersticial asociada por el TAC se ha considerado como el resultado de un efecto tóxico directo en la medular cortical y medular interior [215]. Hemos observado que el grupo TAC presentó mucho patrón de deposición de colágeno en reginón túbulo en tinción tricrómico de Masson, sin embargo, en el grupo EVE y SRL también presentó patrón de deposición de colágeno en el túbulo. Sino que el resultado de inmunoflurescencia de α-SMA, es que el grupo TAC presentó mayor expresión de fibrogenesis que otros grupos. No obstante, la vía de señal mTORi participa en la activación de los macrófagos [216] y miofibroblastos [217], lo que indica la importancia de mTORi en la regulación de la inflamación renal y fibrosis. Wang B *et al*[217], han estudiado el efecto del SRL en la expresión de los factores claves de inflamatoria renal y fibrosis en el modelo de rata inducida por Aldo. El resultado coincidió en que SRL mejorara la inflamación y la fibrosis de tubulointersticial mediante el bloqueo de la señalización de mTOR. Por otro parte, el SRL reduce la expresión de las proinflamatorias y genes profibróticos, conducta que mejora la enfermedad tubulointersticial, la cual es causada por la proteinuria crónica y una pérdida de la masa renal [218].

En un estudio previo, se ha revelado que el TAC se puede asociar con la toxicidad aguda microvascular renal por afectar al endotelio vascular, y acumularse trombos diseminados en el capilar glomerular y arteriola [219], mientras se asocia a depósitos hialinos eosinófilos dentro de las arteriolas [220]. Hemos observado que presenta hiperproliferación de la célula epitelial del vaso sanguíneo en el grupo TAC, y en el grupo EVE y SRL no hay alteración en vaso sanguíneo. El efecto anti-angiogénesis de mTORi se ha demostrado en varios estudios. En la práctica clínica, los efectos anti-angiogénicos y anti-proliferativos de mTORi se han usado con éxito en el trasplante de corazón para retardar el desarrollo de vasculopatía del injerto cardíaco [221]. El SRL ha demostrado la inhibición en la generación de VEGF (factor de crecimiento endotelio vascular) *in vivo* e *in vitro* [222,223]. Un estudio demostró que el SRL no deterioró el endotelio-dependiente del vasorelajación o el aumento de la sensibilidad a vasoespasmo al tiempo que se reduce los niveles de endotelina-1 y la preservación de la expresión de la proteína eNOS (óxido nítrico sintasa endotelial) en modelo de rata [224].

7.Conclusiones

A. Toxicidad de mTORi

1. Los inhibidores de mTOR son fármacos seguros cuando se usan en el paciente trasplantado hepático. La hiperlipidemia y la toxicidad hematológica son los efectos adversos más frecuente, pero no suponen una barrera para el uso de mTORi. La eficacia en el control del rechazo de los inhibidores de mTOR es importante, con una incidencia similar a los inhibidores de la calcineurina y, en general, reversible con la optimización de los niveles plasmáticos.

2. No existen diferencias en cuanto a mortalidad y supervivencia entre sirolimus y everolimus, así como en cuanto a la incidencia de efectos adversos. Tan sólo la aparición de edemas se ha mostrado más frecuente en everolimus.

B. Función renal y mTORi

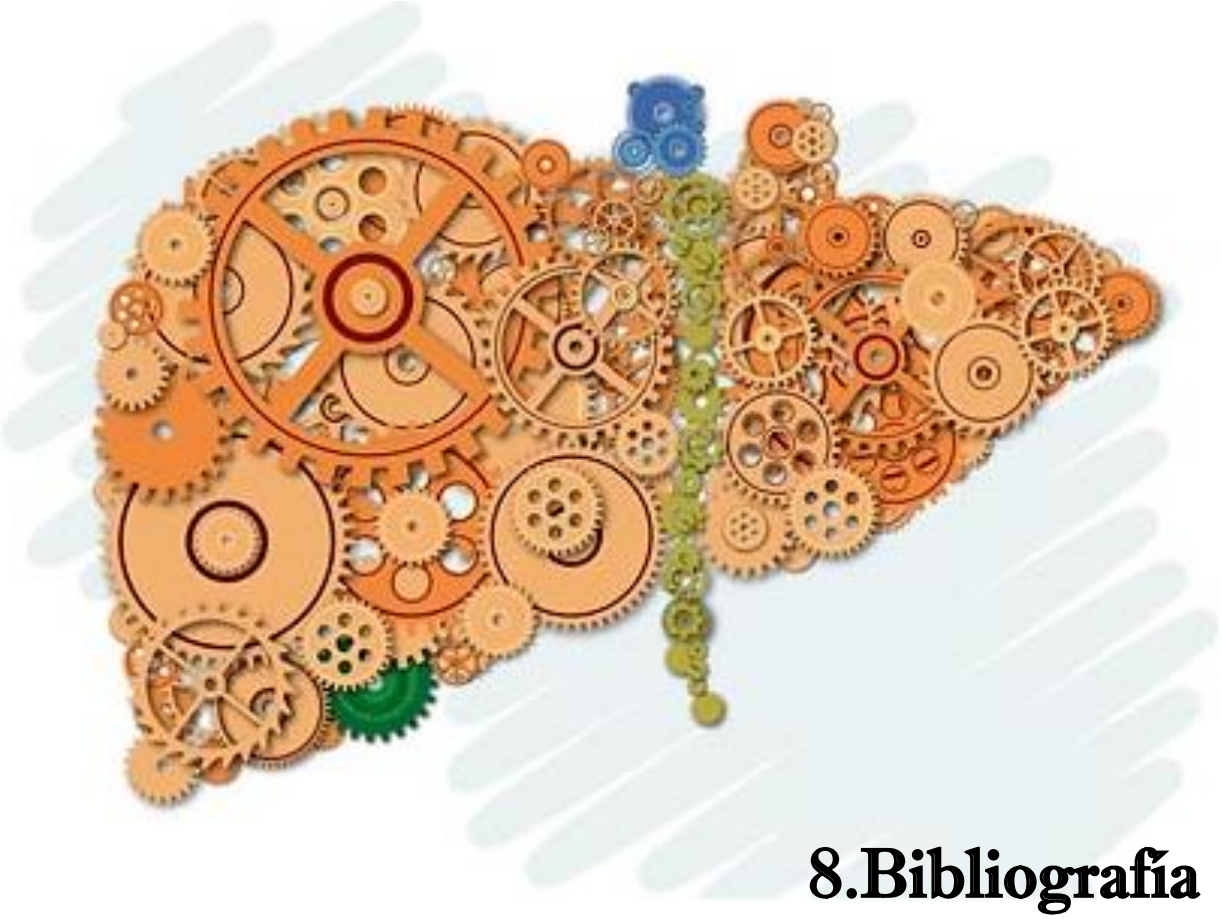
1. La conversión de inhibidores de la calcineurina a inhibidores de mTOR mejora la función renal del paciente del trasplantado hepático durante el primer mes tras la conversión, nunca más allá. No hay diferencias en la eficacia en la prevención la función renal entre everolimus y sirolimus.

2. Respecto a los factores asociados a la conservación de la función renal, la existencia de nefropatía preTOH, DM y HTA suponen una merma en la mejoría de la función renal tras la conversión. Los pacientes trasplantados hepáticos por cirrosis virales, con nefropatía viral previa, presentan una mejor respuesta en cuanto a mejoría de la función renal que el resto de pacientes

C. Hallazgos histológicos

1. En modelo animal, el tacrolimus presenta una mayor afectación glomerular, vascular y tubular que los inhibidores de mTOR.

2. Así mismo, el tacrolimus se asocia a más fibrogénesis, proliferación celular, y apoptosis en tejido renal, en comparación con mTORi.



8.Bibliografía

1. Welch CS. A note on transplantation of the whole liver in dogs. Transplant Bull 1955;2:54–55.

2. Rimola A. [Liver transplantation]. Med Clin (Barc). 1991 Sep 28;97(10):388-94. Spanish. PubMed PMID: 1745089.

3. Cannon JA. Brief report. Transplant Bull 1956;3:7.

4. Starzl TE, Marchioro TL, Vonkaulla KN, Hermann G, Brittain RS, Waddell WR. Homotransplantation of the liver in humans. Surg Gynecol Obstet. 1963;117:659-76.

5. Starzl TE, Groth CG, Brettschneider L, Penn I, Fulginiti VA, Moon JB, et al. Orthotopic homotransplantation of the human liver. Ann Surg. 1968;168(3):392-415.

6. Starzl TE, Iwatsuki S, Van Thiel DH, Gartner JC, Zitelli BJ, Malatack JJ, Schade RR, Shaw BW Jr, Hakala TR, Rosenthal JT, Porter KA. Evolution of liver transplantation. Hepatology 1982; 2:614–636.

7. Starzl TE. History of liver and other splanchnic organ transplantation. In: Busuttil RW, Klintmalm GB, eds. Transplantation of the liver. Philadelphia: Saunders, 1996:3–22.

8. Rolles K, Williams R, Neuberger J, Calne R. The Cambridge and King's College Hospital experience of liver transplantation, 1968-1983. Hepatology. 1984 Jan-Feb;4(1 Suppl): 50S-55S. PubMed PMID: 6363259.

9. Iwatsuki S, Starzl TE, Todo S, et al. Experience in 1,000 Liver Transplants Under Cyclosporine-Steroid Therapy: A Survival Report. Transplantation proceedings. 1988; 20 (1 Suppl 1):498-504.

10. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Liver transplantation-June 20-23, 1983. Hepatology 1984;4(suppl):107S–110S.

11. Starzl TE, Todo S, Fung J, Demetris AJ, Venkataramman R, Jain A. FK506 for liver, kidney, and pancreas transplantation. Lancet 1989;2:1000–1004.

12. Ojo AO, Held PJ, Port FK, Wolfe RA, Leichtman AB, Young EW, Arndorfer J, Christensen L, Merion RM. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. N Engl J Med. 2003 Sep 4;349(10):931-40. PubMed PMID: 12954741.

13. Levy GA, Grant D, Paradis K, Campestrini J, Smith T, Kovarik JM. Pharmacokinetics and tolerability of 40-0-2- hydroxyethylrapamycin in de novo liver transplant recipients. Transplantation. 2001;71:160---3.
14. Raia S, Nery JR, Mies S. Liver transplantation from live donors. Lancet. 1989 Aug 26;2(8661):497.
15. Broelsch CE, Emond JC, Thistlethwaite RJ. Liver transplantation with reduced-size donor organs. Transplantation 1989; 45:519-523.

16. Adam R, Karam V, Delvart V, O'Grady J, Mirza D, Klempnauer J, Castaing D, Neuhaus P, Jamieson N, Salizzoni M, Pollard S, Lerut J, Paul A, Garcia-Valdecasas JC, Rodr ́guez FS, Burroughs A; All contributing centers (www.eltr.org); European Liver and Intestine

Transplant Association (ELITA). Evolution of indications and results of liver transplantation in Europe. A report from the European Liver Transplant Registry (ELTR). J Hepatol. 2012 Sep;57(3):675-88. doi: 10.1016/j.jhep.2012.04.015.

17. Keeffe EB. Liver transplantation: current status and novel approaches to liver replacement. Gastroenterology. 2001 Feb;120(3):749-62. Review. PubMed PMID: 11179248.

18. Tripathi D, Neuberger J. Autoimmune hepatitis and liver transplantation: indications, results, and management of recurrent disease. Semin Liver Dis. 2009 Aug;29(3):286-96. doi: 10.1055/s-0029-1233531. Epub 2009 Aug 12. Review. PubMed PMID: 19676001.

19. Vogel A, Heinrich E, Bahr MJ, Rifai K, Flemming P, Melter M, Klempnauer J, Nashan B, Manns MP, Strassburg CP. Long-term outcome of liver transplantation for autoimmune hepatitis. Clin Transplant. 2004 Feb;18(1):62-9.

20. Reich DJ, Fiel I, Guarrera JV, Emre S, Guy SR, Schwartz ME, Miller CM, Sheiner PA. Liver transplantation for autoimmune hepatitis. Hepatology. 2000 Oct;32(4 Pt1):693-700. PubMed PMID: 11003612.

21. Ratziu V, Samuel D, Sebagh M, Farges O, Saliba F, Ichai P, Farahmand H, Gigou M, Féray C, Reynès M, Bismuth H. Long-term follow-up after liver transplantation for autoimmune hepatitis: evidence of recurrence of primary disease. J Hepatol. 1999 Jan;30(1):131-41.

22. Mansour JC, Aloia TA, Crane CH, Heimbach JK, Nagino M, Vauthey JN. Hilar cholangiocarcinoma: expert consensus statement. HPB (Oxford). 2015 Aug;17(8):691-9. doi: 10.1111/hpb.12450. PubMed PMID: 26172136; PubMed Central PMCID: PMC4527854.

23. Available from: http://optn.transplant.hrsa.gov/ar2009. [Ref list]

24. Mendizabal M, Silva MO. Liver transplantation in acute liver failure: A challenging scenario. World Journal of Gastroenterology. 2016;22(4):1523-1531.

25. Buades Reinés J, Andreu Serra H. Amiloidosis familiar hereditaria. Gastroenterol Hepatol [Internet]. Elsevier; 2000 Mar 1 [cited 2016 Feb 11];23(3):144–8. Available from: http://www.elsevier.es/es-revista-gastroenterologia-hepatologia-14-articulo-amiloidosis-familiar-hereditaria-9807

26. Miro JM, Stock P, Teicher E, Duclos-Vallée JC, Terrault N, Rimola A. Outcome and management of HCV/HIV coinfection pre- and post-liver transplantation. A 2015 update. J Hepatol. 2015 Mar;62(3):701-11. doi: 10.1016/j.jhep.2014.10.032.

27. Zahr Eldeen F, Mabrouk Mourad M, Liossis C, Bramhall SR. Liver retransplant for primary disease recurrence. Exp Clin Transplant. 2014 Jun;12(3):175-83.

28. Durand F, Valla D. Assessment of the prognosis of cirrhosis: Child-Pugh versus MELD. J Hepatol. 2005;42 Suppl(1):S100-7. Epub 2004 Dec 24. Review.

29. Huo TI, Lin HC, Lee SD. Model for end-stage liver disease and organ allocation in liver transplantation: where are we and where should we go? J Chin Med Assoc. 2006 May;69(5):193-8. Review. PubMed PMID: 16835979.

30. Neuberger J. An update on liver transplantation: A critical review. J Autoimmun. England; 2016 Jan;66:51–9.

31. Thomas E. Starzl ,A Flexible Procedure For Multiple Cadaveric Organ Procurement. Surg Gynecol Obstet. 1984 March ; 158(3): 223–230.

32. Sollinger, HW, Vernon, WB, D ‘ Alessandro, AM, Kalayoglu M, Stratta RJ, Belzer FO. Combined liver and pancreas procurement with Belzer-UW solution. Surgery 1989;106:685-691.

33. Nakazato P, Concepcion W, Bry W, Esquivel CO. Total abdominal evisceration: an en-bloc technique for abdominal organ harvesting. Surgery 1992;111:37-47.

34. N.N. Mehta, D.F. Mirza, Liver transplantation, Surgery (Oxford), Volume 25, Issue 1, January 2007, Pages 42-46, ISSN 0263-9319, http:// dx. doi. org/10. 1016/j. mpsur. 2006. 11.008. (http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0263931906001050)

35. Starzl Te, Marchioro Tl, Vonkaulla Kn, Hermann G, Brittain Rs, Waddell Wr. Homotransplantation Of The Liver In Humans. Surg Gynecol Obstet. 1963 Dec; 117: 659-76.

36. Reddy KS, Johnston TD, Putnam LA, Isley M, Ranjan D. Piggyback technique and selective use of veno-venous bypass in adult orthotopic liver transplantation. Clin Transplant. 2000 Aug;14(4 Pt 2):370-4.

37. Tzakis A, Todo S, Starzl TE. Orthotopic liver transplantation with preservation of the inferior vena cava. Ann Surg. 1989;210:649-52.

38. Moreno-Gonz âlez E, Meneu-D íaz JG, Fundora Y, et al. Advantages of the piggy back technique on intraoperative transfusion, fluid consumption and vasoactive drug requirements in liver transplantation: a comparative study. Transplant Proc 2003; 35: 1918-19.

39. Hoffmann K, Weigand MA, Hillebrand N, B üchler MW, Schmidt J, Schemmer P. Is veno-venous bypass still needed during liver transplantation? A review of the literature. Clin Transplant. 2009 Jan-Feb;23(1):1-8.

40. Starzl TE, Iwatsuki S, Shaw BW Jr, et al. A growth factor in fine vascular anastomoses. Surg Gynecol Obstet 1984; 159: 164-5.

41. Polak WG1, Miyamoto S, Nemes BA, Peeters PM, de Jong KP, Porte RJ, Slooff MJ. Sequential and simultaneous revascularization in adult orthotopic piggyback liver transplantation. Liver Transpl. 2005 Aug;11(8):934-40.

42. Adani GL, Rossetto A, Lorenzin D, Lugano M, De Anna D, Della Rocca G, Donini A, Bresadola V, Risaliti A, Baccarani U. Sequential versus contemporaneous portal and

arterial reperfusion during liver transplantation. Transplant Proc. 2011 May;43(4):1107-9.

43. Miyamoto S1, Polak WG, Geuken E, Peeters PM, de Jong KP, Porte RJ Liver transplantation with preservation of the inferior vena cava. A comparison of conventional and piggyback techniques in adults. Clin Transplant. 2004 Dec;18(6):686-93.

44. Lerut JP, Molle G, Donataccio M, et al. Cavocaval liver transplantation without venovenous bypass and without temporary portocaval shunting: the ideal technique for adult liver grafting? Transplan Int 1997; 10: 171-4.

45. Gerling T, Persijn G, Hauss J. Increase in split-liver transplantation by simple adaptations in the allocation algorithm [Abstract]. Transplantation 2004;78:61.

46. Pichlmayr R, Ringe B, Gubernatis G, et al. Transplantation einer Spenderleber auf zwei Empfa ¨ nger (Splitting-Transplantation): Eine neue Methode in der Weiterentwicklung der Lebersegmenttransplantation. Langenbecks Archiv Chirurgie 1989: 373: 127–130.

47. Maggi U, Caccamo L, Reggiani P, Lauro R, Bertoli P, Camagni S, Paterson IM, Rossi G. Hypoperfusion of segment 4 in right in situ split-liver transplantation. Transplant Proc. 2010 May;42(4):1240-3.

48. Nunez A, Goodpastor SE, Goss JA, Washburn WK, Halff GA. Enlargement of the cadaveric-liver donor pool using in-situ split-liver transplantation despite complex hepatic arterial anatomy. Transplantation. 2003 Oct 15;76(7):1134-6.

49. Abradelo M, Sanabria R, Caso O, Álvaro E, Moreno E, Jiménez C. Split liver transplantation: where? when? how? Transplant Proc. 2012 Jul-Aug;44(6):1513-6. doi: 10.1016/j.transproceed.2012.05.002. Review. PubMed PMID: 22841200.

50. Emre S, Umman V. Split liver transplantation: an overview. Transplant Proc. 2011 Apr;43(3):884-7. doi: 10.1016/j.transproceed.2011.02.036. Review. PubMed PMID: 21486620.

51. Ghobrial RM, Freise CE, Trotter JF, Tong L, Ojo AO, Fair JH, Fisher RA, Emond JC, Koffron AJ, Pruett TL, Olthoff KM; A2ALL Study Group. Donor morbidity after living donation for liver transplantation. Gastroenterology. 2008 Aug;135(2):468-76. doi: 10.1053/j.gastro.2008.04.018. Epub 2008 Apr 22.

52. Samstein B, Smith AR, Freise CE, Zimmerman MA, Baker T, Olthoff KM, Fisher RA,Merion RM. Complications and Their Resolution in Recipients of Deceased and Living Donor Liver Transplants: Findings From the A2ALL Cohort Study. Am J Transplant. 2016 Feb;16(2):594-602. doi: 10.1111/ajt.13479.

53. Shukla A, Vadeyar H, Rela M, Shah S. Liver Transplantation: East versus West. J Clin Exp Hepatol. 2013 Sep;3(3):243-53. doi: 10.1016/j.jceh.2013.08.004. Epub 2013 Sep 12. Review.

54. Palma AF, Oberkofler CE, Raptis DA, Eshmuminov D, de Rougemont O, Schnyder A, Dimitroulis D, Lesurtel M, Dutkowski P, Clavien PA. Novel rescue procedure for inferior vena cava reconstruction in living-donor liver transplantation using a vascular graft

recovered 25 h after donors' circulatory death and systematic review. Transpl Int. 2014 Feb;27(2):204-10. doi: 10.1111/tri.12238. Epub 2013 Dec 2. Review.

55. Kurihara T, Yoshizumi T, Yoshida Y, Ikegami T, Itoh S, Harimoto N, Ninomiya M, Uchiyama H, Okabe H, Kimura K, Kawanaka H, Shirabe K, Maehara Y. Graft selection strategy in adult-to-adult living donor liver transplantation: When both hemi-liver grafts meet volumetric criteria. Liver Transpl. 2016 Mar 8. doi: 10.1002/lt.24431.

56. Kitajima T, Kaido T, Iida T, Yagi S, Fujimoto Y, Ogawa K, Mori A, Okajima H, Imamine R, Shibata T, Uemoto S. Left lobe graft poses a potential risk of hepatic venous outflow obstruction in adult living donor liver transplantation. Liver Transpl. 2016 Jan 19.

57. Uchiyama H, Shirabe K, Kimura K, Yoshizumi T, Ikegami T, Harimoto N, Maehara Y. Outcomes of adult-to-adult living donor liver transplantation in 321 recipients. Liver Transpl. 2016 Mar;22(3):305-15. doi: 10.1002/lt.24378. PubMed PMID: 26610068.

58. Zhijun Z, Wei G, Lin W, Zhigui Z, Tao Y, Liying S, Wei Q, Jisan S, Yi L. Middle hepatic vein allocation in adult right lobe living donor liver transplantation. Clin Transplant. 2014 Oct;28(10):1194-201. doi: 10.1111/ctr.12362. Epub 2014 Oct 9. PubMed PMID: 25328058.
59. Friend J, Lim S, Smith M et al. Liver transplantation in the Cambridge/King's College Hospital series. The first 400 patients. Transplant Proc 1989;21: 2397-2398.

60. Seller-Pérez G, Herrera-Gutiérrez ME, Aragonés-Manzanares R, Muñoz-López A, Lebrón-Gallardo M, González-Correa JA. [Postoperative complications of liver transplantation: relationship with mortality]. Med Clin (Barc). 2004 Sep 18;123(9):321-7. Spanish. PubMed PMID: 15388033

61. Mor E, Jennings L, Gonwa TA, Holman MJ, Gibbs J, Solomon H, Goldstein RM, Husberg BS, Watemberg IA, Klintmalm GB. The impact of operative bleeding on outcome in transplantation of the liver. Surg Gynecol Obstet. 1993 Mar;176(3):219-27.

62. Uemura T, Randall HB, Sanchez EQ, Ikegami T, Narasimhan G, McKenna GJ, Chinnakotla S, Levy MF, Goldstein RM, Klintmalm GB. Liver retransplantation for primary nonfunction: analysis of a 20-year single-center experience. Liver Transpl. 2007 Feb;13(2):227-33.

63. Quiroga J, Colina I, Demetris AJ, Starzl TE, Van Thiel HV. Cause and timing of first allograft failure in orthotopic liver transplantation: a study of 177 consecutive patients. Hepatology 1991;14:1054-1062.

64. Mor E, Klintmalm GB, Gonwa TA et al. The use of marginal donors for liver transplantation: a retrospective study of 365 liver donors. Transplantation 1992;53: 383.

65. Kennedy EM, Wood RP, Shaw BW. Primary nonfunction: is there a contribution from the back table bath? Transplantation 1990;49: 739-743.

66. S. Bueno F, Robles R, Ramírez P et al. Hepatic artery complications after liver transplantation. Clin Transplantation 1994;8: 399-404.

67. Sánchez-Bueno F, Robles R, Ramírez P, Acosta F, Rodríguez JM, Luján J, Pons JA, Aguilar J, Parrilla P. Hepatic artery complications after liver transplantation. Clin Transplant. 1994 Aug;8(4):399-404.

68. Kienlein S, Schoening W, Andert A, Kroy D, Neumann UP, Schmeding M. Biliary complications in liver transplantation: Impact of anastomotic technique and ischemic time on short- and long-term outcome. World J Transplant. 2015 Dec 24;5(4):300-9.

69. Memeo R, Piardi T, Sangiuolo F, Sommacale D, Pessaux P. Management of biliary complications after liver transplantation. World J Hepatol. 2015 Dec 18;7(29):2890-5. doi: 10.4254/wjh.v7.i29.2890. Review.

70. Ramírez P, Parrilla P, Bueno F, Robles R, Pons JA, Acosta F. Reoperation for biliary tract complications following orthotopic liver transplantation. Br J Surg 1993;80: 1426-1428.
71. Shaked A, Ghobrial RM, Merion RM, Shearon TH, Emond JC, Fair JH, et al. Incidence and severity of acute cellular rejection in recipients undergoing adult living donor or deceased donor liver transplantation. Am J Transplant 2009;9:301–308.

72. Blair JE, Kusne S. Bacterial, mycobacterial, and protozoal infections after liver transplantation: art I. Liver Transpl 2005;11:1452-1459.

73. Kusne, S. and J. E. Blair. Viral and fungal infections after liver transplantation: part II. Liver transpl 2006;12:2-11.

74. Zhao W, Ge X, Sun K, Agopian VG, Wang Y, Yan M, Busuttil RW, Steadman RH, Xia VW. Acute respiratory distress syndrome after orthotopic liver transplantation. J Crit Care. 2016 Feb;31(1):163-7.

75. Feltracco P, Carollo C, Barbieri S, Pettenuzzo T, Ori C. Early respiratory complications after liver transplantation. World Journal of Gastroenterology : WJG. 2013;19(48):9271-9281. doi:10.3748/wjg.v19.i48.9271.

76. Ghaus N, Bohlega S, Rezeig M. Neurological complications in liver transplantation. J Neurol. 2001 Dec;248(12):1042-8. PubMed PMID: 12013580.

77. Fu KA, DiNorcia J, Sher L, et al. Predictive Factors of Neurological Complications and One-Month Mortality after Liver Transplantation. Frontiers in Neurology. 2014;5:275. doi:10.3389/fneur.2014.00275.

78. Rompianesi G, Montalti R, Cautero N, De Ruvo N, Stafford A, Bronzoni C, Ballarin R, De Pietri L, Di Benedetto F, Gerunda GE. Neurological complications after liver transplantation as a consequence of immunosuppression: univariate and multivariate analysis of risk factors. Transpl Int. 2015 Jul;28(7):864-9.

79. Burton JR, Jr., Rosen HR. Diagnosis and management of allograft failure. Clin Liver Dis 2006;10:407-435.

80. Jain A, Demetris AJ, Kashyap R, Blakomer K, Ruppert K, Khan A, et al. Does tacrolimus offer virtual freedom from chronic rejection after primary liver transplantation? Risk and prognostic factors in 1,048 liver transplantations with a mean follow-up of 6 years. Liver

Transpl 2001;7:623-630.

81. Nair S, Verma S, Thuluvath PJ. Pretransplant renal function predicts survival in patients undergoing orthotopic liver transplantation. Hepatology 2002;35:1179-1185.

82. Ojo AO, Held PJ, Port FK, Wolfe RA, Leichtman AB, Young SW, et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. N Engl J Med 2003;349:931-940

83. Wiesen P, Massion PB, Joris J, Detry O, Damas P. Incidence and risk factors for early renal dysfunction after liver transplantation. World J Transplant. 2016 Mar 24;6(1):220-32. doi: 10.5500/wjt.v6.i1.220.

84. Fallo -Fraley DS, Burr R, Bernardini J, Angus D, Kramer DJ, Johnson JP. Impact of acute renal failure on mortality in end-stage liver disease with or without transplantation. Kidney Int 1998;54: 518-524.

85. Jain A, Reyes J, Kashyap R, et al. What we have learned about primary liver transplantation Ander tacrolimus immunosuppression. Long-term follow up of the first 1000 patients. Ann Surg 1999;230:441-448.

86. Rabkin J, Corless C, Rosen H, Olyaei A. Immunosupression impact on long-term cardiovascular complications after liver transplantation. Am J Surg 2002;183:595-599.

87. Fernández-Miranda C, Sanz M, de la Calle A, et al. Cardiovascular risk factors in 116 patients 5 years or more after liver transplantation. Transpl Int 2002;15:556-562

88. Foxton MR, Quaglia A, Muiesan P, et al. The impact of diabetes mellitus on fibrosis progression in patients transplanted for hepatitis C. Am J Transplant 2006; 8:1922-1929.

89. Hüsing A, Kabar I, Schmidt HH. Lipids in liver transplant recipients. World J Gastroenterol. 2016 Mar 28;22(12):3315-24. doi: 10.3748/wjg.v22.i12.3315. Review. PubMed PMID: 27022213; PubMed Central PMCID: PMC4806189.

90. Burra P, Rodriguez-Castro KI. Neoplastic disease after liver transplantation: Focus on de novo neoplasms. World Journal of Gastroenterology : WJG. 2015;21(29):8753-8768. doi:10.3748/wjg.v21.i29.8753.

91. Watt KD, Pedersen RA, Kremers WK, Heimbach JK, Charlton MR. Evolution of causes and risk factors for mortality post-liver transplant: results of the NIDDK long-term follow-up study. Am J Transplant. 2010;10:1420–1427. transplantation. Gastroenterology. 2009;137:2010–2017.

92. Antinucci F, Anders M, Orozco F, Mella J, Cobos M, McCormack L, Mastai R. [De novo malignant tumors following liver transplantation. A single-center experience in Argentina]. Medicina (B Aires). 2015;75(1):18-22.

93. Madhwal S, AtreiaA, AlbeldawiM, et al. Is liver transplantation a risk factor for cardiovascular disease? Ameta-analysis of observational studies. Liver Transpl 18:1140-1146,2012

94. Leidig-Bruckner G, Hosch S, Dodidou P, Ritschel D, Conradt C, Klose C, et al. Frequency and predictors of osteoporotic fractures after cardiac or liver transplantation: a follow-up study. Lancet 2001;357:342-347.

95. Margarit, C. and I. Bilbao, Evolución de la inmunosupresión en el trasplante hepático. Cir Esp, 2002. 71(Supl 1): p. 34-40.

96. Bilbao, I., I. Pou, and M. C., Tacrolimus en el trasplante hepático, in Tacrolimus, M. Brunet, J.M. Campistol, and A. Rimola, Editors. 2000, Drug Farma: Madrid. p. 133-148.

97. Rafecas, A., et al., Immunosuppression with calcineurin inhibitors and polyclonal antibodies in liver transplantation. Transplant Proc, 2002. 34(1): p. 107.

98. Levy, G., et al., Results of lis2t, a multicenter, randomized study comparing cyclosporine microemulsion with C2 monitoring and tacrolimus with C0 monitoring in de novo liver transplantation. Transplantation, 2004. 77(11): p. 1632-8.

99. McAlister, V.C., et al., Cyclosporin versus tacrolimus as primary immunosuppressant after liver transplantation: a meta-analysis. Am J Transplant, 2006. 6(7): p. 1578-85.

100. Tanaka, K., et al., Comparison of cyclosporine microemulsion and tacrolimus in 39 recipients of living donor liver transplantation. Liver Transpl, 2005. 11(11): p. 1395-402.

101. Azzi JR, Sayegh MH, Mallat SG. Calcineurin inhibitors: 40 years later, can't live without ... J Immunol. 2013 Dec 15;191(12):5785-91. doi: 10.4049/jimmunol.1390055. PubMed PMID: 24319282.

102. Martorell, J., Aspectos Inmunológicos: rechazo e infección en el trasplante, in Infecciones en pacientes trasplantados., J.M. Aguado, Editor. 2000, Harcourt: Madrid. p. 41-53.

103. Cuervas-Mons, V., Medicamentos inmunosupresores e infección. In:. in Infecciones en pacientes trasplantados, J.M. Aguado, Editor. 2000, Harcourt: Madrid. p. 57-75.

104. Levy, G.A., C2 monitoring strategy for optimising cyclosporin immunosuppression from the Neoral formulation. BioDrugs, 2001. 15(5): p. 279-90.

105. Levy, G.A., New strategies to optimize clinical outcomes with cyclosporine in liver transplantation. Gastroenterol Hepatol, 2002. 25(4): p. 289-93.

106. Levy, G., et al., Patient management by Neoral C(2) monitoring: an international consensus statement. Transplantation, 2002. 73(9 Suppl): p. S12-8.

107. Lloveras, J., Tacrolimus: historia de su descubrimiento y desarrollo, in Tacrolimus, M. Brunet, J.M. Campsitol, and A. Roimola, Editors. 2000, Drug Farma: Madrid. p. 9-19.

108. Fisher, R.A., et al., A prospective randomized trial of mycophenolate mofetil with neoral or tacrolimus after orthotopic liver transplantation. Transplantation, 1998. 66(12): p. 1616-21.

109. Mayer, A.D., et al., Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection: a report of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study Group. Transplantation, 1997. 64(3): p. 436-43.

110. Platz KP, Mueller AR, Blumhardt G, Bachmann S, Bechstein WO, Kahl A, Neuhaus P. Nephrotoxicity following orthotopic liver transplantation. A comparison between cyclosporine and FK506. Transplantation. 1994 Jul 27;58(2):170-8.

111. Kokado Y, Takahara S, Kyo M, Ichimaru N, Jing-Ding W, Miki T, Okuyama A. Low-dose tacrolimus (FK506)-based immunosuppressive protocol in living donor renal transplantation. Transpl Int. 1998;11 Suppl 1:S60-4.

112. Guba M, Graeb C, Jauch KW, Geissler EK. Pro- and anti-cancer effects of immunosuppressive agents used in organ transplantation. Transplantation. 2004 Jun 27;77(12):1777-82.

113. Herman M, Weinstein T, Korzets A, Chagnac A, Ori Y, Zevin D, Malachi T, Gafter U. Effect of cyclosporin A on DNA repair and cancer incidence in kidney transplant recipients. J Lab Clin Med 2001; 137: 14-20

114. Burra P, Rodriguez-Castro KI. Neoplastic disease after liver transplantation: Focus on de novo neoplasms. World J Gastroenterol. 2015 Aug 7;21(29):8753-68.doi: 10.3748/ wjg. v21. i29.8753. Review.

115. Epinette, W.W., et al., Mycophenolic acid for psoriasis. A review of pharmacology, long-term efficacy, and safety. J Am Acad Dermatol, 1987. 17(6): p. 962-71.

116. Lynch, W.S. and H.H. Roenigk, Jr., Mycophenolic acid for psoriasis. Arch Dermatol, 1977. 113(9): p. 1203-8.

117. Giblett, E.R., et al., Adenosine-deaminase deficiency in two patients with severely impaired cellular immunity. Lancet, 1972. 2(7786): p. 1067-9.

118. Allison, A.C., et al., Immunological observations on patients with Lesch-Nyhan syndrome, and on the role of de-novo purine synthesis in lymphocyte transformation. Lancet, 1975. 2(7946): p. 1179-83.

119. Allison, A.C. and E.M. Eugui, Immunosuppressive and other effects of mycophenolic acid and an ester prodrug, mycophenolate mofetil. Immunol Rev, 1993. 136: p. 5-28.

120. Allison, A.C. and E.M. Eugui, Inhibitors of de novo purine and pyrimidine synthesis as immunosuppressive drugs. Transplant Proc, 1993. 25(3 Suppl 2): p. 8-18.

121. Carr, S.F., et al., Characterization of human type I and type II IMP dehydrogenases. J Biol Chem, 1993. 268(36): p. 27286-90.

122. Fisher, R.A., et al., A prospective randomized trial of mycophenolate mofetil with neoral or tacrolimus after orthotopic liver transplantation. Transplantation, 1998. 66(12): p. 1616 -21.

123. Figueras, J., et al., Steroid-free regimen with daclizumab, mycophenolate mofetil, and tacrolimus in liver transplant recipients. Transplant Proc, 2002. 34(5): p. 1511-3.

124. Ramirez, C.B. and I.R. Marino, The role of basiliximab induction therapy in organ transplantation. Expert Opin Biol Ther, 2007. 7(1): p. 137-48.

125. Sellers, M.T., et al., Two-dose daclizumab induction therapy in 209 liver transplants: a single-center analysis. Transplantation, 2004. 78(8): p.1212-7.

126. Liu, C.L., et al., Interleukin-2 receptor antibody (basiliximab) for immunosuppressive induction therapy after liver transplantation: a protocol with early elimination of steroids and reduction of tacrolimus dosage. Liver Transpl, 2004. 10(6): p. 728-33.

127. Eckhoff, D., et al., The safety and efficacy of a two dose daclizaumab (Zenapax) induction therapy in liver transplantation, in 18 th AST Annual Meeting, 1999; Abs. Book:101. 1999.

128. Rapamune (sirolimus). Summary of product Characteristics., FDA, Editor. 2000

129. Dumont, F.J., et al., The immunosuppressive macrolides FK-506 and rapamycin act as reciprocal antagonists in murine T cells. J Immunol, 1990. 144(4): p. 1418-24.

130. Vu, M.D., et al., Tacrolimus (FK506) and sirolimus (rapamycin) in combination are not antagonistic but produce extended graft survival in cardiac transplantation in the rat. Transplantation, 1997. 64(12): p. 1853-6.

131. Bercedo, J., Factores que afectan al rechazo agudo corticorresistente en el Trasplante hepático (tesis doctoral). 1993, Madrid: Universidad complutense de Madrid.

132. Sarbassov DD, Ali SM, Sabatini DM. Growing roles for the mTOR pathway. Curr Opin Cell Biol. 2005 Dec;17(6):596-603.

133. Kneteman, N.M., et al., Sirolimus-based immunosuppression for liver transplantation in the presence of extended criteria for hepatocellular carcinoma. Liver Transpl, 2004. 10(10): p. 1301-11.

134. Forgacs, B., et al., Successful conversion to rapamycin for calcineurin inhibitor-related neurotoxicity following liver transplantation. Transplant Proc, 2005. 37(4): p. 1912-4

135. MacDonald A, Scarola J, Burke JT, et al. Clinical pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring of sirolimus. Clin Ther 2000; 22 (Suppl. B): B101-B121.

136. Zimmerman JJ, Ferron GM, Heng-Keang L, et al. The effect of high fat meal on the oral bioavailability of the immunosuppressant sirolimus (Rapamycin). J Clin Pharmacol 1999;39:1155-61.

137. Sattler M, Guenguerich FP, Yun C-H, et al. Cytochrome P-450 3A enzymes are responsible for biotransformation of FK 506 and rapamycin in man and rat. Drug Metab Dispos 1992;20:753-61.

138. Leung LY, Zimmerman J, Lim HK. Rapamycin (sirolimus): Biotransformation in healthy male subjects after a single oral dose of the 14C-radiolabeled drug (nominal 40

mg). Wyeth-Ayerst GTR-29528, 1997.

139. Lampen A, Zhang Y, Hackbarth I, et al. Metabolisn and transport of the macrolide immunosupressant sirolimus in the small intestine. J Pharmacol Exp Ther 1998;285:1104-12.

140. Leung LY, Lim H-K, Hicks D, et al. Sirolimus (rapamycin): Metabolite characterization in rat and human liver microsomal incubations and trough whole blood of renal transplant patients treated with sirolimus, cyclosporine and prednisone. ISSX Proc 1996;10:366.

141. Rapamune Prescribing Information. Wyeth-Ayerst Pharmaceutical, 2000.

142. Zimmerman JJ, Kahan BD. Pharmacokinetics of sirolimus in stable renal transplant patients after multiple oral dose administration. J Clin Pharmacol 1997;37:405-15.

143. Kirchner GI, Meier-Wiedenbach I, Manns MP. Clinical pharmacokinetics of everolimus. Clin Pharmacokinet. 2004;43(2):83-95. Review.

144. Van Damme-Lombaerts R, Webb NA, Hoyer PF, Mahan J; Everolimus Study Group. Single-dose pharmacokinetics and tolerability of everolimus in stable pediatric renal transplant patients. Pediatr Transplant. 2002 Apr;6(2):147-52

145. Kovarik JM, Hsu CH, McMahon L, Berthier S, Rordorf C. Population pharmacokinetics of everolimus in de novo renal transplant patients: impact of ethnicity and comedications. Clin Pharmacol Ther. 2001 Sep;70(3):247-54.

146. Moore, R., D. Hernandez, and H. Valantine, Calcineurin inhibitors and post-transplant hyperlipidaemias. Drug Saf, 2001. 24(10): p. 755-66.

147. Hong, J.C. and B.D. Kahan, Sirolimus-induced thrombocytopenia and leukopenia in renal transplant recipients: risk factors, incidence, progression, and management. Transplantation, 2000. 69(10): p. 2085-90.

148. Fortin, M.C., et al., Increased risk of thrombotic microangiopathy in patients receiving a cyclosporin-sirolimus combination. Am J Transplant, 2004. 4(6): p. 946-52.

149. Neff GW, Montalbano M, Tzakis AG. Ten years of sirolimus therapy in orthotopoic liver transplant recipients. Transplant Proc 2003: 35: 209S.

150. Andoh TF, Burdmann EA, Fransechini N, Houghton DC, Bennett WM:Comparison of acute rapamycin nephrotoxicity with cyclosporine and FK506. Kidney Int 50 (4): 1110 -1117, 1996.

151. Reitamo S, Spuls P, Sassolas B, Lahfa M, Claudy A, Griffiths CE: Efficacy of sirolimus (rapamycin) administered concomitantly with a subtherapeutic dose of cyclosporin in the treatment of severe psoriasis: a randomized controlled trial. Br J Dermatol 145 (3): 438 -445, 2001.

152. Andoh TF, Lindsley J, Franceschini N, Bennett WM: Synergistic effects of cyclosporine and rapamycin in a chronic nephrotoxicity model. Transplantation 62 (3): 311-316, 1996.

153. Lloberas N, Alperovich G, Torras J, Herrero-Fresneda I, Riera M, Franquesa M y cols.: The Association of Rapamycin Either with FK506 or Cyclosporine Produce a Different Functional and Structural Pattern of Nephrotoxicity. En: J Am SocNephrol; 2003; American Society of Nephrology. Renal Week 2003. San Diego, November 12-17, 2003; 2003.

154. Trotter JF, Bak T, Pearson M, Wachs M, Kugelmas M, Kam I y cols.: Nephrotoxicity is more common with cyclosporine A than tacrolimus in liver transplant recipients receiving sirolimus as primary immunosuppression. En: Liver Transpl; 2002, p. C18.

155. Saeed MI, Kumar MSA, Heifets M, Sierka D, Xiao SG, Moritz MJ y cols.: comparison of tacrolimus (tac) and sirolimus (slr) versus cyclosporine (csa) and slr in kidney transplant recipients maintained on steroid free immunosuppression. En: Am J Transplant; 2004 ; American Transplant Congress, May 14-19, 2004, Boston, MA; 2004.

156. Vitko S, Wlodarczyk Z, Kyllonen L, Czajkowski Z, Margreiter R, Backman L y cols.: Tacrolimus Combined with Two Different Dosages of Sirolimus in Kidney Transplantation: Results of a Multicenter Study. American Journal of Transplantation 6 (3): 531-538, 2006.

157. Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, Howard RJ, Fujita S, Kaplan B: Sirolimus in combination with tacrolimus is associated with worse renal allograft survival compared to mycophenolate mofetil combined with tacrolimus. Am J Transplant 5 (9): 2273-2280, 2005.

158. Radovancevic B, Vrtovec B: Sirolimus therapy in cardiac transplantation. Transplant Proc 35 (3 Supl.): S171-S176, 2003.

159. Kreis H, Cisterne JM, Land W, Wramner L, Squifflet JP, Abramowicz D y cols.: Sirolimus in association with mycophenolate mofetil induction for the prevention of acute graft rejection in renal allograft recipients. Transplantation 69 (7): 1252-1260, 2000.

160. Morales JM, Wramner L, Kreis H, Durand D, Campistol JM, Andres A y cols.: Sirolimus does not exhibit nephrotoxicity compared to cyclosporine in renal transplant recipients. Am J Transplant 2 (5): 436-442, 2002.

161. Bonegio RGB, Fuhro R, Wang Z, Valeri CR, Andry C, Salant DJ y cols.: Rapamycin Ameliorates Proteinuria-Associated Tubulointerstitial Inflammation and Fibrosis in Experimental Membranous Nephropathy. J Am Soc Nephrol 16 (7): 2063- 2072, 2005.

162. Alperovich G, Lloberas N, Torras J, Rama I, Rama I, la Franquesa M y cols.: Amelioration of lupus nephritis with rapamycin in a murine model. En: 2005; XLII ERA-EDTA Congress, June 4-7, 2005, Istambul (Turkey); 2005.

163. Diekmann F, Waiser J, Fritsche L, Dragun D,Neumayer HH, Budde K. Conversion to rapamycin in renal allograft recipients with biopsy-proven calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity. Transplant Proc 2001: 33: 3234.

164. Johnson RW, Kreis H, Oberbauer R, Brattstrom C, Claesson K, Eris J. Sirolimus allows early cyclosporine withdrawal in renal transplantation resulting in improved renal

function and lower blood pressure. Transplantation 2001: 72: 777.

165. Kniepeiss D, Iberer F, Grasser B, Schaffellner S, Tscheiliessnigg KH. Sirolimus in patients after liver transplantation. Transplant Proc 2003: 35: 815.

166. Neff GW, Montalbano M, Slapak-Green G et al.Sirolimus therapy in orthotopic liver transplant recipients with calcineurin inhibitor related chronic renal insufficiency. Transplant Proc 2003: 35: 3029.

167. Sanchez EQ, Martin AP, Ikegami T et al. Sirolimus conversion after liver transplantation: improvement in measured glomerular filtration rate after 2 years. Transplant Proc 2005: 37: 4416.

168. Jain AB, Yee LD, Nalesnik MA, et al. Comparative incidence of de novo nonlymphoid malignancies after liver transplantation under tacrolimus using surveillance epidemiologic end result data. Transplantation 1998; 66: 1193–200.

169. Oo YH, Gunson BK, Lancashire RJ, Cheng KK, Neuberger JM. Incidence of cancers following orthotopic liver transplantation in a single center: comparison with national cancer incidence rates for England and Wales. Transplantation 2005;80:759-764.

170. Åberg F, Pukkala E, Höckerstedt K, Sankila R, Isoniemi H. Risk of malignant neoplasms after liver transplantation: apopulation-based study. Liver Transpl 2008;14:1428- 1436.

171. Herrero JI, España A, Quiroga J, Sangro B, Pardo F, Alvárez-Cienfuegos J, Prieto J. Non-melanoma skin cáncer after liver transplantation. Study of risk factors. Liver Transpl 2005;11:1100-1106.

172. Haagsma EB, Hagens VE, Schaapveld M, van den Berg AP, de Vries EG, Klompmaker IJ, et al. Increased cancer risk after liver transplantation: a population-based study. J Hepatol 2001;34:84-91.

173. Herrero JI, Alegre F, Quiroga J, Pardo F, Iñarrairaegui M, Sangro B, et al. Usefulness of a program of neoplasia surveillance in liver transplantation. A preliminary report. Clin Transplant 2009;23:532-538.

174. Hoffmann CJ, Subramanian AK, Cameron AN, Engels EA. Incidence and risk factors for hepatocellular carcinoma after solid organ transplantation. Transplantation 2008; 86:784-790

175. Current and Future Treatment Strategies for Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma: Role of mTOR Inhibition. Liver Cancer. 2012 November;1(3-4):247-256.

176. Klintmalm G B, Nashan B. The role of mTOR inhibitors in liver transplantation: reviewing the evidence. J Transplant. 2014;2014:845438.

177. “Sirolimus conversion regimen versus continued calcineurin inhibitors in liver allograft recipients: a randomized trial,” American Journal of Transplantation, vol. 12, no. 3, pp. 694–705, 2012.

178. De Simone P, Nevens F, De Carlis L, et al. Everolimus With Reduced Tacrolimus Improves Renal Function in De Novo Liver Transplant Recipients: A Randomized Controlled Trial. American Journal of Transplantation. 2012;12(11):3008-3020.

179. Vivarelli M, Dazzi A. Sirolimus in liver transplant recipients: a large single-center experience. Transplant Proc. 2010 Sep;42(7):2579-84.

180. C. C. Rogers, S. R. Johnson, D. A. Mandelbrot et al., "Timing of sirolimus conversion influences recovery of renal function in liver transplant recipients," Clinical Transplantation, vol. 23, no. 6, pp. 887–896, 2009.

181. De Simone. P, Metselaar. HJ, Fischer. L et al., "Conversion from a calcineurin inhibitor to everolimus therapy in maintenance liver transplant recipients: a prospective, randomized, multicenter trial," Liver Transplantation, vol.15,no.10, pp. 1262–1269, 2009

182. Nicolatou-Galitis O, Nikolaidi A, Athanassiadis I, Papadopoulou E, Sonis S. Oral ulcers in patients with advanced breast cancer receiving everolimus: a case series report on clinical presentation and management. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013 Aug;116(2):e110-6.

183. Fert éC, Paci A, Zizi M, Gonzales DB, Goubar A, Gomez-Roca C, Massard C, Sahmoud T, Andr é F, Soria JC. Natural history, management and pharmacokinetics of everolimus-induced -oral ulcers: insights into compliance issues. Eur J Cancer. 2011 Oct;47(15):2249-55.

184. Yang J, Zhao X, Patel A, Potru R, Azizi-Ghannad S, Dolinger M, Cao J, Bartholomew C, Mazurkiewicz J, Conti D, Jones D, Huang Y, Zhu XC. Rapamycin Inhibition of mTOR Reduces Levels of the Na+/H+ Exchanger 3 in Intestines of Mice and Humans, Leading to Diarrhea. Gastroenterology. 2015 Jul;149(1):151-62.

185. Mart ínez M, Gonz ález Roncero FM, L ópez M, Toro J, Valdivia MA, Pereira P, et al. Neumonitis intersticial asociada al uso de sirolimus en un trasplantado renal: un caso cl ínico. Nefrologia 2004;24 Suppl 3:7-10.

186. Filippone EJ, Carson JM, Beckford RA, Jaffe BC, Newman E, Awsare BK, et al. Sirolimus-induced pneumonitis complicated by pentamidine-induced phospholipidosis in a renal transplant recipient: a case report. Transplant Proc 2011;43(7):2792-7.

187. Singh U, Gupta A, Jasuja S. Sirolimus-induced pneumonitis. Indian J Nephrol 2009;19(2):80-1.

188. Abdelmalek MF, Humar A, Stickel F, Andreone P, Pascher A, Barroso E, et al; Sirolimus Liver Conversion Trial Study Group. Sirolimus conversion regimen versus continued calcineurin inhibitors in liver allograft recipients: a randomized trial. Am J Transplant. 2012 Mar;12(3):694-705.

189. Holdaas H, Potena L, Saliba F. mTOR inhibitors and dyslipidemia in transplant recipients: a cause for concern? Transplant Rev (Orlando). 2015 Apr;29(2):93-102. doi: 10.1016/ j.trre. 2014.08.003. Epub 2014 Aug 27. Review.

190. Baetta R, Granata A, Canavesi M, et al. Everolimus inhibits monocyte/macrophage

migration in vitro and their accumulation in carotid lesions of cholesterol-fed rabbits. J Pharmacol Exp Ther, 328 (2009), pp. 419–425

191. Levy G, Schmidli H, Punch J, Tuttle-Newhall E, Mayer D, Neuhaus P, et al. Safety, tolerability, and efficacy of everolimus in de novo liver transplant recipients: 12- and 36-month results. Liver Transpl. 2006 Nov;12(11):1640-8. Erratum in: Liver Transpl. 2006 Nov;12(11):1726.

192. Fischer L, Klempnauer J, Beckebaum S, Metselaar HJ, Neuhaus P, Schemmer P,at al. A randomized, controlled study to assess the conversion from calcineurin-inhibitors to everolimus after liver transplantation--PROTECT. Am J Transplant. 2012 Jul;12 (7): 1855 -65.

193. Masetti M, Montalti R, Rompianesi G, Codeluppi M, Gerring R, Romano A, Begliomini B, Di Benedetto F, Gerunda GE. Early withdrawal of calcineurin inhibitors and everolimus monotherapy in de novo liver transplant recipients preserves renal function. Am J Transplant. 2010 Oct;10(10):2252-62.

194. Ganschow R, Pollok JM, Jankofsky M, Junge G. The role of everolimus in liver transplantation. Clin Exp Gastroenterol. 2014 Sep 2;7:329-43. doi: 10.2147/CEG.S41780. eCollection 2014. Review.

195. Limaye Ap, Bakthavatsalam R, Kim Hw et al. Lateonset cytomegalovirus disease in liver transplant recipients despite antiviral prophylaxis. Transplantation 2004: 78: 1390.

196. Ghassemieh B, Ahya Vn, Baz Ma et al. Decreased incidence of cytomegalovirus infection with sirolimus in a post hoc randomized, multicenter study in lung transplantation. J Heart Lung Transplant 2013: 32: 701.

197. Sheng L, Jun S, Jianfeng L, Lianghui G. The effect of sirolimus-based immunosuppression vs. conventional prophylaxis therapy on cytomegalovirus infection after liver transplantation. Clin Transplant. 2015 Jun;29(6):555-9.

198. Molinari M, Berman K, Meeberg G, Shapiro JA, Bigam D, Trotter JF, Kneteman N. Multicentric outcome analysis of sirolimus-based immunosuppression in 252 liver transplant recipients. Transpl Int. 2010 Feb;23(2):155-68.

199. Fisher NC, Nightingale PG, Gunson BK, Lipkin GW, Neuberger JM. Chronic renal failure following liver transplantation: a retrospective analysis. Transplantation. 1998 Jul 15; 66 (1): 59-66.

200. Rodr ́guez P. El papel de los inhibidores de mTOR en las enfermedades renales. Nefrologia 2011;31(3):251-5. doi:10.3265/Nefrologia.pre2011.Apr.10947

201. Kasinath BS, Mariappan MM, Sataranatarajan K, Lee MJ, Feliers D. mRNA translation: Unexplored territory in renal science. J Am Soc Nephrol 2006;17:3281-92.

202. Lee CH, Inoki K, Guan KL. mTOR pathway as a target in tissue hypertrophy. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2007;47:443-67. 7. Hostetter TH. Hyperfiltration and glomerulosclerosis. Semin Nephrol 2003;23:194-9.

203. Gödel M, Hartleben B, Herbach N, Liu S et al. Role of mTOR in podocyte function and diabetic nephropathy in humans and mice. J Clin Invest. 2011 Jun;121(6):2197-209. doi: 10.1172/JCI44774. Epub 2011 May 23.

204. Lloberas N, Cruzado JM, Franquesa M, Herrero-Fresneda I, Torras J, Alperovich G, et al. Mammalian target of rapamycin pathway blockade slows progression of diabetic kidney disease in rats. J Am Soc Nephrol 2006;17:1395-404.

205. Inoki K, et al. mTORC1 activation in podocytes is a critical step in the development of diabetic nephropathy in mice. J Clin Invest. 2011;121:2181–2196

206. Stallone G, Infante B, Pontrelli P, et al. Sirolimus and proteinuria in renal transplant patients: Evidence for a dose-dependent effect on slit diaphragm-associated proteins. Transplantation 2011; 91: 997.

207. Izzedine H, Brocheriou I, Frances C. Post-transplantation proteinuria and sirolimus. N Engl J Med 2005; 353: 2088.

208. Trimarchi H, Forrester M, Lombi F, Pomeranz V, Iriarte R, Raña MS, Young P. Is There a Role for Mammalian Target of Rapamycin Inhibition in Renal Failure due to Mesangioproliferative Nephrotic Syndrome? Int J Nephrol. 2012;2012:427060. doi: 10.1155 /2012/427060.

209. Fabrizi F, Poordad FF, Martin P. Hepatitis C infection and the patient with end-stage renal disease. Hepatology. 2002 Jul;36(1):3-10. Review.

210. Thuluvath, K. Krok, D. Segev, H. Yoo Trends in post-liver transplant survival in patients with hepatitis C between 1991 and 2001 in the United States Liver Transpl, 13 (2007), pp. 719–724

211. Neef M, Ledermann M, Saegesser H, Schneider V, Reichen J. Low-dose oral rapamycin treatment reduces fibrogenesis, improves liver function, and prolongs survival in rats with established liver cirrhosis. J Hepatol. 2006 Dec;45(6):786-96. Epub 2006 Sep 22. Erratum in: J Hepatol. 2007 Aug;47(2):310.

212. Lim EJ, Chin R, Nachbur U, et al. Effect of Immunosuppressive Agents on Hepatocyte Apoptosis Post-Liver Transplantation. Dehghani F, ed. PLoS ONE. 2015;10(9):e0138522. doi:10.1371/journal.pone.0138522.

213. Peng L, Liang D, Tong W, Li J, Yuan Z. Hepatitis C virus NS5A activates the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway, contributing to cell survival by disrupting the interaction between FK506-binding protein 38 (FKBP38) and mTOR. J Biol Chem. 2010 Jul 2;285(27):20870-81. doi: 10.1074/jbc.M110.112045

214. Brenner BM. Hemodynamically mediated glomerular injury and the Progressive nature of kidney disease. kidney Int. 1983; 23:647–652.

215. Stillman IE, Andoh TF, Burdmann EA, Bennett WM, Rosen S. FK506 nephrotoxicity: morphologic and physiologic characterization of a rat model. Lab invest. 1995; 73:794–

803.

216. Lee DF, Kuo HP, Chen CT, Hsu JM, Chou CK, Wei Y, Sun HL, Li LY, Ping B, Huang WC, He X, Hung JY, Lai CC, Ding Q, Su JL, Yang JY, Sahin AA, Hortobagyi GN, Tsai FJ, Tsai CH, Hung MC: IKK beta suppression of TSC1 links inflammation and tumor angiogenesis via the mTOR pathway. Cell 2007;130:440-455.

217. Wang S, Wilkes MC, Leof EB, Hirschberg R: Noncanonical TGF-beta pathways, mTORC1 and Abl, in renal interstitial fibrogenesis. Am J Physiol Renal Physiol 2010; 298: F142-F149.

218. Bonegio RG1, Fuhro R, Wang Z, Valeri CR, Andry C, Salant DJ, Lieberthal W. Rapamycin ameliorates proteinuria-associated tubulointerstitial inflammation and fibrosis in experimental membranous nephropathy. J Am Soc Nephrol. 2005 Jul;16(7):2063-72. Epub 2005 May 25.

219. Peters DH, Fitton A, Plosker GL, Faulds D. Tacrolimus: a review of its pharmacology, and therapeutic potential in hepatic and renal transplantation. Drugs. 1993; 4:746–794. [PubMed: 7506654]

220. Mihatsch, MJ.; Ryffel, B.; Gudat, F.; Thiel, G. Cyclosporine nephropathy. In: Tisher, CC.; Brenner, BM., editors. Renal pathology with clinical and functional corrections. Philadelphia: JB Lippincott; 1989. p. 1555-1586.

221. Eisen HJ, Tuzcu EM, Dorent R et al. Everolimus for the prevention of allograft rejection and vasculopathy in cardiac-transplant recipients. N Engl J Med 2003; 349: 847–858

222. Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. Nat Med 2002; 8:128–135

223. Letavernier E, Bruneval P, Vandermeersch S et al. Sirolimus interacts with pathways essential for podocyte integrity. Nephrol Dial Transplant 2009; 24: 630–638

224. Ramzy D, Rao V, Tumiati LC, Xu N, Miriuka S, Delgado D, Ross HJ. Role of endothelin-1 and nitric oxide bioavailability in transplant-related vascular injury: comparative effects of rapamycin and cyclosporine. Circulation. 2006 Jul 4;114(1 Suppl):I214-9. PubMed PMID: 16820575.