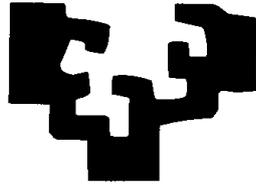


eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

**RESULTADOS A LARGO PLAZO DEL
TRASPLANTE HEPATICO EN PACIENTES CON
TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR BASADO EN
EL USO DE NOVO DE TACROLIMUS DE
LIBERACION PROLONGADA**

Mikel Gastaca Mateo

2022



Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea

Facultad de Medicina y Enfermería

DEPARTAMENTO DE CIRUGIA Y RADIOLOGIA Y

MEDICINA FISICA

Tesis doctoral

**RESULTADOS A LARGO PLAZO DEL
TRASPLANTE HEPATICO EN PACIENTES CON
TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR BASADO EN
EL USO DE NOVO DE TACROLIMUS DE
LIBERACION PROLONGADA**

Presentada por

Mikel Gastaca Mateo

Licenciado en Medicina y Cirugía

Para optar al grado de Doctor por la Universidad del País Vasco/
Euskal Herriko Unibertsitatea

Director

Andrés Valdivieso López

Bilbao, 2022

**En el arte todo se puede aprender
y nada o casi nada se puede enseñar**

Eduardo Chillida

En el arte, en la cirugía, en la vida.....

AGRADECIMIENTOS

A Maite, mi mujer, por quererme y apoyar mi pasión por mi profesión, con la esperanza de que su amor y su paciencia no se agoten nunca.

A mis hijas, Laia y Julia, porque en muchas ocasiones reciben menos atención de la que merecen. Deseo que encuentren también la pasión en sus vidas.

A mis padres, Javier e Isabel, por su esfuerzo para darme las oportunidades que necesité y por su amor constante. Espero que sigan estando orgullosos. A mi hermana, Isabel.

A Jorge Ortiz de Urbina, de quien aprendí mis primeros gestos quirúrgicos y con quien me adentré en el apasionante mundo de la cirugía hepática y el trasplante. Su pasión y dedicación siempre fueron un ejemplo.

A mi director de tesis, Andrés Valdivieso, por su ayuda y apoyo.

A todos aquellos colegas de quienes he aprendido algo, ya fuera un detalle quirúrgico o humano.

A mis compañeros de trabajo por su paciencia.

GUIA DE ABREVIATURAS

ALG: Inmunoglobulina policlonal antilinfocítica

ATG: Inmunoglobulina antitimocítica

CMV: Citomegalovirus

CsA: Ciclosporina

DM: Diabetes Mellitus

ERC: Enfermedad renal crónica

EC-MPS: Acido micofenólico en forma de micofenolato sódico

FGE: Filtrado glomerular estimado

HCC- Hepatocarcinoma

HTA: Hipertensión arterial

ICN: Inhibidores de la calcineurina

IL-2RI: Inhibidores de los receptores de la Interleukina 2

MDRD4: Modification of Diet in Renal Disease 4

MELD: Model for end-stage liver disease

MMF: Micofenolato mofetil

mTOR: Mammalian target of rapamycin

OKT3: Muromunab-CD

RCA: Rechazo celular agudo

RIC: Rango intercuartílico

Tac-ext: Tacrolimus de liberación prolongada

TH: Trasplante hepático

VHC: Virus de la hepatitis C

INDICE

	Pág.
1. INTRODUCCION	9
1.1 Breve historia del trasplante hepático	11
1.2. Inmunosupresión en el trasplante hepático	13
1.2.1. Historia de la inmunosupresión en el trasplante hepático	14
1.2.2 Inmunosupresores en el trasplante hepático	17
1.2.2.1. Anticalcineurínicos o inhibidores de la calcineurina (ICN)	17
1.2.2.2. Micofenolato mofetil (MMF)	20
1.2.2.3. Azatioprina	21
1.2.2.4. Esteroides	22
1.2.2.5. Inhibidores de los receptores de la Interleukina 2 (IL-2RI) o Anti CD 25...23	
1.2.2.6. Inhibidores de los receptores m-TOR	24
1.2.2.7. Anticuerpos policlonales. Globulinas anti-timocito (ATG)	26
1.2.2.8. Anticuerpos monoclonales	27
1.2.2.9. Alemtuzumab (Campath 1H)	27
1.2.2.10. Belatacept	28
1.3. Protocolos de inmunosupresión	30
1.3.1. Fase inicial	30
1.3.2. Fase de mantenimiento	35
1.3.2.1. Inmunosupresión de mantenimiento en pacientes sin problemas clínicos ...36	
1.3.2.2. Inmunosupresión en pacientes que desarrollan disfunción renal durante el seguimiento	41
1.3.2.3. Inmunosupresión en pacientes que desarrollan neurotoxicidad	44
1.3.2.4. Inmunosupresión en pacientes que desarrollan síndrome metabólico	45
1.3.3. Inmunosupresión en situaciones clínicas especiales	46
1.3.3.1. Pacientes con disfunción renal pretrasplante o durante el postrasplante inmediato	47
1.3.3.2. Pacientes con hepatocarcinoma	50

1.3.3.3. Pacientes con diabetes mellitus	53
1.3.4. Tratamiento del rechazo celular agudo	53
2. HIPÓTESIS	55
3. OBJETIVOS	59
4. MATERIAL Y MÉTODOS	63
4.1 Muestra y metodología	65
4.2. Tratamiento inmunosupresor en la fase inicial	68
4.3. Tratamiento inmunosupresor de mantenimiento.....	68
4.4. Tratamiento inmunosupresor en los pacientes con disfunción renal pre-TH	69
4.5. Rechazo celular agudo	69
4.6. Definiciones	70
4.7. Análisis estadístico	70
5. RESULTADOS	73
5.1. Resultados en la población general	75
5.2. Resultados en la población de pacientes con disfunción renal pretrasplante	89
5.3. Influencia de los niveles iniciales postrasplante en los resultados a largo plazo ...	94
6. DISCUSIÓN	107
6.1 Resultados a largo plazo en la cohorte general	109
6.2. Resultados a largo plazo en la población de pacientes con disfunción renal pretrasplante	113
6.3. Influencia de los niveles iniciales postrasplante en los resultados a largo plazo ...	115
7. CONCLUSIONES	121
8. BIBLIOGRAFIA	125
9. ANEXO	147

INTRODUCCION

1. INTRODUCCION

El trasplante hepático (TH) es el tratamiento de elección para aquellos pacientes con enfermedad hepática terminal secundaria a diferentes situaciones como la infección viral, el consumo de alcohol o la esteatopatía no alcohólica. También es el tratamiento de elección de ciertos pacientes con hepatocarcinoma y otros tumores primarios o secundarios del hígado.

1.1. BREVE HISTORIA DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

El primer TH a un ser humano se realizó en 1963 en la Universidad de Colorado. Desgraciadamente, el niño de 3 años con atresia biliar falleció por exanguinación durante la intervención. Dos trasplantes más, realizados durante los siguientes 4 meses, pudieron llevarse a cabo desde el punto de vista técnico, pero fallecieron tras 22 y 7 días de postoperatorio¹.

Estas primeras experiencias culminaban los múltiples estudios experimentales en modelo canino que se habían venido realizando durante la década anterior. El primer artículo experimental exploraba en 1955 el TH auxiliar; un año después se publicaba la primera experiencia experimental en TH ortotópico^{2,3}. Durante esos primeros años, dos centros, el Peter Bent Brigham Hospital de Boston bajo la dirección de Francis D. Moore y la Northwestern University en Chicago, bajo la dirección de Thomas Starzl, desarrollaron las bases para la realización del TH^{4,5}. En esos estudios experimentales se desarrolló la técnica quirúrgica y se estudiaron las causas de pérdida del injerto que, en aquellos momentos en ausencia de tratamientos inmunosupresores eficaces, era fundamentalmente el rechazo. También se fueron desarrollando las técnicas de preservación del injerto, junto

con las nuevas soluciones que desplazarían al Ringer-Lactato. Se demostró la necesidad de la descompresión del territorio esplácnico mediante técnicas de by-pass veno-venoso que, a su vez, suponía un elemento de riesgo para el paciente por el desarrollo de coágulos y embolismo pulmonar. Solo tras la aparición de la azatioprina como inmunosupresor en combinación con los esteroides en el trasplante renal, la Universidad de Colorado, liderada por Thomas Starzl dio el salto al hígado ⁶.

Los siete primeros intentos de TH terminaron con el fallecimiento de los pacientes: cinco en Colorado, uno en Boston y uno en París. Tras estas primeras experiencias, la Universidad de Colorado inició una moratoria que duraría 3 años. Durante este tiempo se perfeccionó la técnica quirúrgica, se desarrollaron nuevos protocolos de inmunosupresión que incluía el uso de Inmunoglobulina policlonal antilinfocítica (ALG) e introdujeron nuevas soluciones de preservación ^{7,8}. Tras el reinicio de la actividad del TH en humanos en Colorado, los resultados fueron mejorando progresivamente. Aunque se mantenía una mortalidad al año por encima del 50%, un 18% de los pacientes trasplantados hasta 1979 sobrevivieron más de 10 años con la combinación azatioprina, esteroides y ALG ⁹. Esos fueron también los años del desarrollo del TH en Europa liderado por Sir Roy Calne en Cambridge junto con Rudolf Pichmayr en Hanover y Henry Bismuth en París. Sin embargo, no fue hasta el uso clínico de la Ciclosporina cuando la supervivencia tras el TH aumento de forma significativa hasta que, finalmente, fue en 1983 en la Reunión de Bethesda cuando el TH fue reconocido como una modalidad terapéutica que merecía ser aplicada en pacientes con enfermedad hepática avanzada ¹⁰.

1.2. INMUNOSUPRESION EN EL TRASPLANTE HEPATICO

La inmunosupresión es una parte fundamental en el mantenimiento del órgano trasplantado. La finalidad de la inmunosupresión es evitar el rechazo mediado por el sistema inmune del receptor y la consecuente pérdida del injerto. El rechazo del injerto se describe como una respuesta inmune del organismo frente al órgano o tejidos trasplantados de otra persona cuyos antígenos tisulares no son compatibles con los del receptor. Esta respuesta puede ser celular (mediada por linfocitos T citotóxicos) o humoral (mediada por anticuerpos producidos por linfocitos B). A diferencia de otros órganos sólidos como el riñón o el páncreas, el TH se asocia a una menor respuesta inmunológica e incluso a una cierta tendencia a la tolerancia que se hace evidente por la no necesidad de realizar un matching HLA entre donante y receptor y por la disminución de la incidencia del rechazo agudo de otros órganos sólidos cuando se trasplantan simultáneamente con el hígado¹¹⁻¹⁴.

A pesar de esta mayor tolerancia inmunológica, la inmunosupresión es un factor clave en la obtención de buenos resultados tras el TH. En este sentido, el desarrollo de los nuevos y más potentes inmunosupresores ha permitido reducir la incidencia del rechazo celular agudo tras el TH a cifras de entre el 10 y 20% y mejorar, de forma importante, los resultados de supervivencia¹⁴. Así, actualmente, la preocupación de los profesionales se centra, más que en la prevención del rechazo, en evitar los efectos secundarios que los inmunosupresores pueden producir a corto y largo plazo y que condicionan la calidad de vida y la supervivencia de los trasplantados. Es por esto que la filosofía actual en el manejo de la inmunosupresión se basa en adecuar la inmunosupresión a las necesidades de cada paciente, lo que se conoce como “inmunosupresión a la carta”, mediante la combinación de varios fármacos reduciendo así la dosis de aquellos relacionados con más

efectos adversos con la intención de mantener la función hepática estable, evitar el rechazo y reducir los efectos secundarios.

Los fármacos que podemos usar en la inmunosupresión tras el TH son los siguientes: los inhibidores de la calcineurina (ICN) (tacrolimus y ciclosporina), que son, en general, la base de la inmunosupresión; los antimetabolitos (micofenolato mofetil, ácido micofenólico, azatioprina); los esteroides; los inhibidores mTOR (mammalian target of rapamycin) (sirolimus, everolimus) y los anticuerpos (timoglobulina, alemtuzumab, basiliximab). Debemos también tener en cuenta que la inmunosupresión inicial es diferente a la que se utiliza durante el seguimiento (mantenimiento) ya que el riesgo de rechazo es mayor durante las primeras semanas/meses tras el trasplante^{15,16}.

1.2.1. HISTORIA DE LA INMUNOSUPRESION EN EL TRASPLANTE HEPATICO

En 1951, Billingham y Medawar¹⁷ demostraron el efecto inmunosupresor de los corticoides. Posteriormente, se descubrió que la 6-mercaptopurina, y su derivado la azatioprina, inhibían la reacción inmune¹⁸ de tal forma que la combinación esteroides y azatioprina fue el tratamiento utilizado en las primeras experiencias en trasplante. Pronto, a esta combinación se unió el uso de la ALG⁷. El gran avance en el mundo del trasplante se produjo en la década de los 70 cuando Borel descubrió la ciclosporina (CsA) en 1972¹⁹ y Sir Roy Calne presentó las primeras experiencias clínicas en trasplante renal²⁰. Desde ese momento, se dispuso de un tratamiento inmunosupresor más específico y selectivo que permitió una gran revolución en los resultados del trasplante de órganos y el cambio del concepto del trasplante de una terapia experimental a una alternativa clínica.

Tacrolimus, un fármaco inhibidor de la calcineurina como la ciclosporina, fue descubierto en 1984²¹ y sus primeras experiencias clínicas se publicaron a finales de la misma década²². Tacrolimus supuso una nueva revolución en la inmunosupresión de órganos sólidos por su mayor potencia inmunosupresora y su capacidad de revertir rechazos en curso. A partir de dos estudios paralelos realizados en Europa y Estados Unidos y liderados por el Dr. Thomas Starzl^{23,24}, tacrolimus se posicionó como el inmunosupresor de elección en el TH ya que demostró, comparado con ciclosporina, un incremento en la supervivencia tanto de los injertos como de los pacientes^{25,26}. En la actualidad, tacrolimus es el ICN de elección en más del 90% de los TH²⁷. Sin embargo, aunque tacrolimus podría ser suficiente por si solo para evitar el rechazo celular agudo²⁸, resulta preferible asociarlo a otros fármacos, generalmente, corticoides y/o mofetilmicofenolato para disminuir sus efectos adversos. Por otro lado, en situaciones especiales en las que se requiera mayor inmunosupresión, o en las que no se puedan utilizar desde el principio los ICN, se pueden utilizar los inhibidores de la Interleukina 2 o Anticuerpos Anti CD25, la Timoglobulina, o los inhibidores de los receptores m-TOR.

Las figuras 1.2.1. y 1.2.2. muestran el momento en el que los diferentes inmunosupresores estuvieron disponibles para su uso clínico y como ha ido evolucionando el arsenal de fármacos disponibles en el TH²⁹.

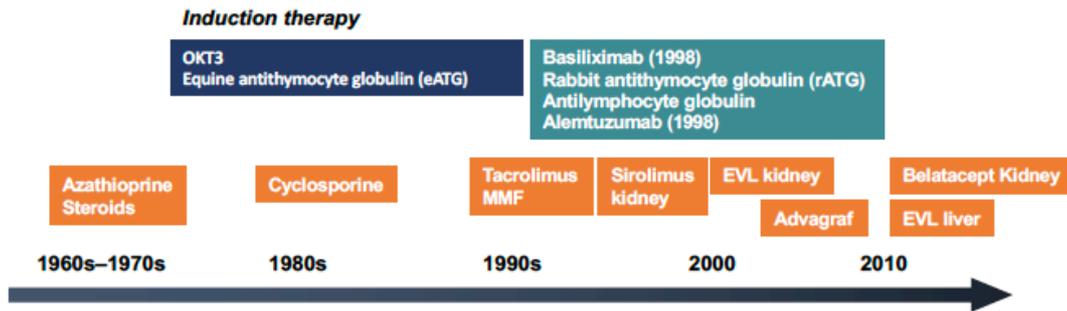


Figura 1.2.1. Momento de comercialización de los diferentes fármacos inmunosupresores

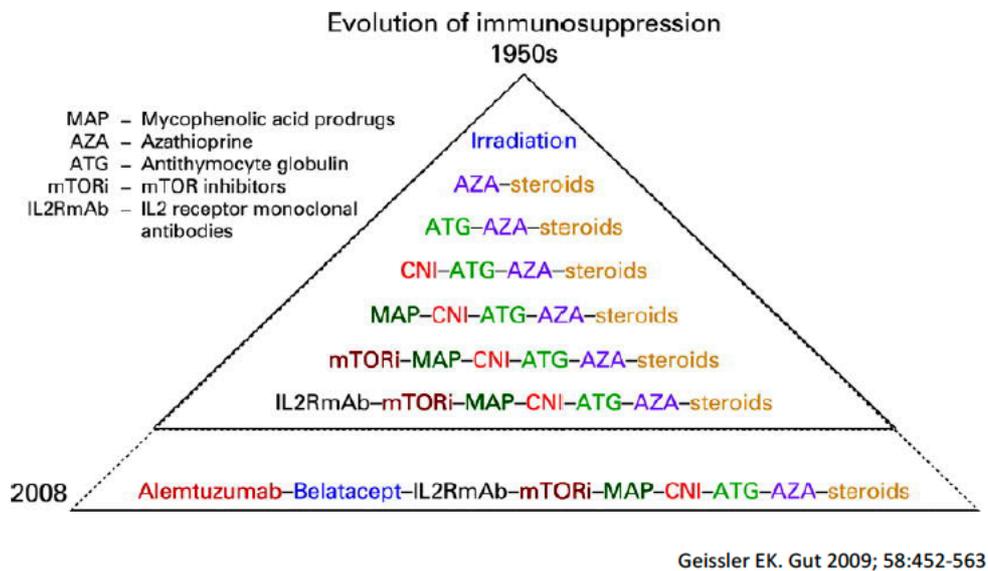


Figura 1.2.2. Evolución del arsenal de fármacos inmunosupresores

1.2.2 INMUNOSUPRESORES EN EL TRASPLANTE HEPATICO

1.2.2.1. Anticalcineurínicos o inhibidores de la calcineurina (ICN)

Estos fármacos actúan bloqueando la vía de la calcineurina impidiendo la activación y proliferación de los linfocitos T, evitando así el rechazo celular agudo. El tacrolimus, pero no la ciclosporina, también bloquea los linfocitos T ya activados, siendo capaz de controlar el rechazo agudo ya iniciado. Se pueden usar por vía iv, oral o a través de sonda nasogástrica, sin embargo, la vía iv prácticamente no se utiliza por su alta toxicidad. Su absorción oral está influida por la presencia de comida por lo que se aconseja administrarlos 1 hora antes o 2 horas después de la ingesta. Se metabolizan en el hígado a través de la vía del citocromo P450 por lo que interaccionan con todos aquellos fármacos que actúan a través del citocromo P-450, requiriéndose ajuste de dosis del ICN. Su eliminación es fundamentalmente biliar, por lo que requieren ajuste de dosis en caso de insuficiencia hepática. Tacrolimus es el ICN de elección en la mayor parte de los centros a nivel mundial por haber demostrado superiores resultados en términos de supervivencia tanto de los pacientes como de los injertos²⁷. En España, el tacrolimus original se denomina comercialmente Prograf® mientras que la ciclosporina original se denomina comercialmente Sadimmun Neoral®, sin embargo, hay múltiples genéricos de ambos fármacos en el mercado.

El tratamiento oral con tacrolimus debe comenzar a una dosis de 0,10-0,20 mg/kg/día, dividida en dos tomas separadas por 12 horas. La administración debe iniciarse aproximadamente 12 horas después de que haya finalizado la cirugía. En caso de que la administración por vía oral (o por sonda nasogástrica) no sea posible debido al estado clínico del paciente, deberá iniciarse el tratamiento intravenoso con 0,01-0,05 mg/kg/día

en forma de infusión continua durante 24 horas. En el caso del trasplante pediátrico, debe administrarse una dosis inicial de 0,30 mg/kg/día, dividida en dos tomas; sin embargo, en caso de usar la vía intravenosa, la dosis inicial será de 0,05 mg/kg/día, en forma de infusión continua durante 24 horas.

En 2007, una nueva formulación de tacrolimus fue aprobada para su comercialización en Europa. Esta nueva formulación de liberación prolongada (Tac-ext) permite simplificar la administración del fármaco reduciendo las tomas de una cada 12 horas a una única toma por la mañana, manteniendo un perfil de eficacia y seguridad. A diferencia del tacrolimus estándar que se absorbe mayoritariamente en la parte superior del intestino, Tac-ext se absorbe a lo largo de todo el intestino y, principalmente, en la zona ileocecal. Los estudios farmacocinéticos han demostrado una disminución de la concentración máxima (C_{max}) y un tiempo más prolongado para llegar a la concentración máxima (t_{max}) en la nueva formulación con un área de exposición bajo la curva comparable con el tacrolimus estándar (AUC_{0-24}). Así, los estudios publicados demuestran que la conversión de la formulación estándar a la formulación de liberación prolongada en pacientes estables mantiene los resultados a corto-medio plazo mejorando la adherencia al tratamiento³⁰⁻³⁶. Sin embargo, el uso de Tac-ext *de novo* (inmediatamente tras el TH) no se ha extendido de la misma forma debido a que, con dosis similares, el AUC_{0-24} en las primeras 24 horas es un 50% más bajo con Tac-ext lo que obliga a aumentar la dosis en un 50%³⁷. Esto ha llevado a algunos autores a no recomendar el uso de Tac-ext en los primeros días tras el TH³⁸. Por ello, la información sobre la seguridad y eficacia del uso de Tac-ext *de novo* en el TH es escasa y con periodos de seguimiento que, generalmente, no alcanzan un año³⁹⁻⁴⁴. Los escasos trabajos publicados en relación con los resultados a medio-largo plazo con Tac-ext *de novo* en el TH han demostrado una excelente

supervivencia de los pacientes con el uso de Tac-ext^{14,45}, incluso superior a la obtenida con Tac estándar en un estudio reciente del Registro Europeo de Trasplante Hepático⁴⁶. A nivel comercial existen dos tacrolimus de liberación prolongada en el mercado: Advagraf® y Envarsus®.

Los niveles sanguíneos del ICN deben ser controlados para evitar su toxicidad. Los niveles se miden después de 24 horas y justo antes de recibir la siguiente dosis (C0 o Cmin). La periodicidad de estos controles depende del fármaco utilizado y de las preferencias de los diferentes centros, y varía durante el seguimiento post-trasplante. Es recomendable la realización de controles diarios o cada dos días durante el periodo inmediato post-trasplante y hasta el alta del paciente. Sin embargo, una vez que los niveles se han estabilizado y el paciente es controlado en la consulta externa, estos controles se pueden ir espaciando. En pacientes clínicamente estables, los niveles pueden medirse quincenalmente durante los tres primeros meses, mensualmente hasta cumplir el primer año y posteriormente cada 2-3 meses. Los controles se pueden hacer trimestral o semestralmente en pacientes estables a partir del tercer año del TH. Según la ficha técnica, se recomiendan niveles sanguíneos entre 5 y 20 ng/ml durante el periodo postoperatorio temprano (primeros 3 meses) en pacientes con TH; sin embargo, en la práctica clínica, las concentraciones de Tac pueden mantenerse entre 5 y 10 ng/ml sin que esto conlleve un aumento de la incidencia de rechazo agudo cuando se utiliza en combinación con otros inmunosupresores^{14,47}.

Si se opta por el uso de CsA, la dosis inicial recomendada es 10-15 mg/kg/día dividida en dos dosis. El nivel C0 recomendado durante el periodo postoperatorio temprano es de 250 ng/ml. Sin embargo, cuando se usa la CsA el estudio de los niveles 2 horas después de la toma (C2) se ha relacionado con un mejor control del fármaco; en este caso se recomienda mantener un rango de entre 800 y 1200 ng/ml durante los tres primeros meses.

El efecto adverso más preocupante de los ICN es la nefrotoxicidad que asociada a otros factores del postrasplante inmediato puede llevar al desarrollo de insuficiencia renal aguda. Los ICN producen vasoconstricción de la arteriola renal aferente que puede inducir disfunción renal y también daño tubular⁴⁸. Este efecto vasoconstrictor es dosis-dependiente y reversible en los momentos iniciales postrasplante. A largo plazo, el uso de ICN también se asocia, como un factor más, al desarrollo de enfermedad renal crónica⁴⁹. La neurotoxicidad es un efecto adverso que ocurre más frecuentemente durante el periodo precoz postrasplante en forma de temblor, aunque pueden observarse una amplia variedad de desórdenes neurológicos e incluso alteraciones psiquiátricas⁵⁰. Otros efectos importantes son del desarrollo de diabetes e hipertensión arterial. Parece que el tacrolimus tiene más tendencia que la CsA a desarrollar diabetes mientras que la CsA puede causar hiperplasia gingival a largo plazo e hirsutismo. A largo plazo, el riesgo de desarrollo de tumores de novo parece estar aumentado con el uso crónico de ICN⁵¹. Sin embargo, aunque estos efectos pueden aparecer con niveles normales o bajos, por idiosincrasia individual del paciente, la mayor parte de ellos están relacionados con la dosis y una política de “minimización” se asocia a una disminución de su incidencia.

1.2.2.2. Micofenolato mofetil (MMF)

Es un fármaco citotóxico, inhibidor de la proliferación de los linfocitos T y B, pero también de otras células en etapa de proliferación rápida, como las de médula ósea y las del tubo digestivo⁵². Se administra por vía iv y oral y no es necesario controlar sus niveles plasmáticos. Existen dos formulaciones: micofenolato mofetil (Cell-Cept®) y ácido micofenólico en forma de micofenolato sódico (EC-MPS) (Myfortic®). La dosis habitual

es 1 gr/12 h para el MMF y 720 mg/12 h para EC-MPS. Sin embargo, la dosis puede reducirse a 500 mg/8 h o cada 12 h en función del peso del paciente o de la aparición de efectos adversos. Estos efectos adversos son principalmente de origen gastrointestinal y hematológicos. La aparición de diarrea, náuseas y vómitos puede ocurrir con relativa frecuencia en el postrasplante inmediato y suele responder a la disminución de la dosis. El desarrollo de toxicidad medular (anemia, leucopenia, trombopenia) es menos frecuente pero más grave y, aunque inicialmente debe tratarse con la disminución de la dosis, como hemos comentado previamente, puede obligar a la retirada del fármaco. El uso de MMF no está contraindicado *per se* en pacientes trasplantados con plaquetopenia ya que esta es secundaria al hiperesplenismo derivado de la hipertensión portal y no a un problema medular.

Aunque MMF se desarrolló en la década de los 90, su bajo perfil de toxicidad y, principalmente, su ausencia de nefrotoxicidad le ha hecho el fármaco más común en los protocolos combinados para la disminución de los ICN y en aquellos pacientes en los que el uso de esteroides no esté aconsejado. Hasta un 80% de los pacientes trasplantados hepáticos en Estados Unidos son tratados, actualmente, con MMF en el periodo inmediato generalmente en combinación con ICN²⁷.

1.2.2.3. Azatioprina

Fármaco citotóxico similar al MMF, fue, como hemos visto previamente, uno de los primeros fármacos inmunosupresores en ser utilizado, inicialmente en solitario y posteriormente, en combinación con CsA. Sin embargo, la aparición de fármacos más

potentes como tacrolimus y de MMF ha hecho que, desde la década de los 90, sea poco utilizado en TH.

Azatioprina se administra vía oral o iv a 1mg/kg/12h y su perfil de toxicidad es similar a MMF. Parece que podría ser más eficaz que MMF en trasplantados con enfermedades autoinmunes. También puede usarse como alternativa a MMF cuando se pretende una reducción de los costes ya que es más barata que MMF.

1.2.2.4. Esteroides

Como ya se ha comentado, los esteroides fueron, durante muchos años, la base principal de la inmunosupresión en el trasplante. Habitualmente, se administran en forma de bolus intraoperatorio en la fase anhepática a una dosis de 500-1000 mg de metilprednisolona. Su uso durante el periodo inicial postrasplante varía según los centros. La pauta clásica consistía en disminuir la dosis durante la primera semana tras el TH desde 200 mg el primer día hasta una dosis de mantenimiento de 10-20 mg de prednisona/24 h. Actualmente, muchos centros usan 20 mg/24 h desde el primer día postrasplante que se inicia de forma IV y se pasa a oral en cuanto es posible. La dosis se reduce a 10-15 mg durante el primer mes postrasplante. El tiempo de mantenimiento de los esteroides es, también, variable, aunque, en general, se tiende a su retirada durante los primeros 3-6 meses. En las enfermedades autoinmunes, puede mantenerse una dosis baja de 5 mg/24 h de prednisona oral durante el largo plazo.

La mayor preocupación en el uso de los esteroides es su perfil de toxicidad. Su efecto en la alteración del metabolismo de la glucosa puede ser de difícil manejo en los pacientes diabéticos recién trasplantados mientras que su uso a largo plazo se asocia al desarrollo del síndrome metabólico: diabetes, hipertensión, obesidad, hiperlipidemia. Hasta la

llegada de los antivirales de acción directa en el tratamiento del VHC, el papel de los esteroides fue muy discutido. Parecía claro que su uso en forma de bolus para el tratamiento del rechazo se relacionaba con una recidiva más agresiva⁵³. Sin embargo, dado que, en la actualidad, se consigue la curación, prácticamente del 100% de los pacientes tratados, esta preocupación ha dejado de existir^{54,55}.

Dado el perfil de efectos adversos de los esteroides, muchos autores han planteado el uso de protocolos de inmunosupresión libres de esteroides usándolos únicamente como bolus intraoperatorio (no siempre) y para el tratamiento del rechazo agudo. Sin embargo, en una reciente revisión bibliográfica y estudio sistemático solo se pudo demostrar un beneficio en relación con el desarrollo de diabetes mellitus e hipertensión portal a favor de los protocolos sin esteroides. No se encontraron diferencias significativas en relación con la mortalidad, la pérdida del injerto o el desarrollo de infección mientras que la incidencia de rechazo agudo y rechazo cortico-resistente fue mayor en los pacientes sin esteroides. Por ello, se recomienda valorar una inmunosupresión sin esteroides solo en aquellos pacientes con bajo riesgo de rechazo y alto riesgo de desarrollar o empeorar una hipertensión arterial o diabetes mellitus en curso⁵⁶. Además, como se trata más tarde, son el tratamiento de elección en el rechazo celular agudo.

1.2.2.5. Inhibidores de los receptores de la Interleukina 2 (IL-2RI) o Anti CD 25

Los anti-CD25 son anticuerpos monoclonales humanizados que se unen al receptor de la IL-2 en las células T y suprime su respuesta proliferativa. Aunque hasta el año 2010 había dos moléculas comercializadas, en este momento solo Basiliximab (Simulect®) está en el mercado. Se administra a una dosis de 20 mg IV inmediatamente tras la intervención quirúrgica y en el cuarto día posTH aunque esta segunda dosis puede no administrarse.

No tiene efectos adversos y el problema principal puede ser la aparición de reacciones alérgicas, generalmente reacciones cutáneas leves, aunque también pueden llegar a ser reacciones de anafilaxia.

Los anti-CD25 se usan exclusivamente como tratamiento de inducción, generalmente en pacientes con disfunción renal preTH o intraoperatoria, en combinación con esteroides y/o MMF, con la intención de evitar el uso inicial de ICN. Aunque su efecto in vitro persiste 3-4 semanas, en la clínica resulta necesario introducir algunos de los fármacos más potentes como ICN o mTORi durante los primeros diez días postrasplante. El uso de IL-2RI no se ha asociado a un aumento del riesgo de enfermedad linfoproliferativa, infección CMV o recurrencia VHC⁵⁷.

1.2.2.6. Inhibidores de los receptores m-TOR (m-TORi)

Sirolimus (Rapamicima) y Everolimus (Certican®) son los dos fármacos de este grupo. Se trata de un macrólido que limita la proliferación y la activación de los linfocitos T y B a través de la inhibición de la vía metabólica denominada mTOR. Su perfil de toxicidad se centra en la toxicidad medular, principalmente leucopenia y trombopenia, y la hiperlipidemia. Sin embargo, también se han descrito de forma frecuente otras complicaciones como úlceras mucosas, edemas, derrame pleural, neumonitis y proteinuria. También se ha relacionado los mTORi con problemas de cicatrización y aumento de las complicaciones de la herida quirúrgica por lo que se deben suspender 2 semanas antes de una cirugía y reintroducirlos no antes de 4 semanas después.

Sirolimus fue aprobado por la FDA para su uso en trasplante renal en 1999. Se consideró que, dada su ausencia de nefrotoxicidad y su potencia inmunosupresora podría reemplazar

a los ICN en pacientes con disfunción renal. Sin embargo, un estudio randomizado que comparaba el uso de sirolimus con dosis bajas de tacrolimus frente a tacrolimus convencional tuvo que ser terminado prematuramente por la alta tasa de trombosis arterial, pérdida de los injertos y mortalidad⁵⁸. Esto ocasionó una alerta de la FDA que desaconsejó su uso en TH.

En 2012, Everolimus fue aprobado a nivel europeo para su uso en TH pero solo a partir de la cuarta semana postrasplante. Se administra por vía oral en dos dosis diarias y también necesita control de niveles sanguíneos. La dosis de inicio suele ser de 1 mg/12 h y los niveles diana de 5-8 ng/ml. Se metabolizan por la vía del citocromo P450, por lo que si se dan con ICN debe separarse su administración 2-4 h.

Se ha propuesto el uso de los mTORi en combinación con los ICN a dosis baja para mejorar la función renal a medio y largo plazo de los pacientes con TH. Incluso se ha propuesto su uso en sustitución de los ICN. En un reciente estudio multicéntrico, aleatorizado, la combinación de everolimus y tacrolimus a partir del primer mes se relacionó con un beneficio en la función renal a los 2 años del trasplante⁵⁹. Sin embargo, el grupo de estudio en el que se sustituyó el tacrolimus por everolimus tuvo que ser parado prematuramente por el aumento de la incidencia de rechazo agudo. La mejoría de la función renal a medio y largo plazo con el uso de mTORi se ha reportado por otros autores^{60,61}. Sin embargo, debido a los efectos adversos, en algunos casos se ha observado una frecuencia mayor de rechazo por parte de los pacientes a seguir con el tratamiento en el grupo de mTORi⁶⁰.

Los mTORi también presentan ciertas propiedades antitumorales actuando sobre la señal de angiogénesis y proliferación tumoral por lo que se han propuesto en el tratamiento de

mantenimiento de los pacientes trasplantados con hepatocarcinoma (HCC). Esto se discute más adelante.

1.2.2.7. Anticuerpos policlonales. Globulinas anti-timocito (ATG)

Las inmunoglobulinas anti-timocito son anticuerpos policlonales que destruyen los linfocitos T y B provocando linfopenia intensa y persistente. Los hay de origen equino (eATG, ATGAM®) o derivadas del conejo (rATG, Timoglobulina®). Se administran vía iv, en perfusión salina en 4-6 horas, durante 10 días, a dosis de 0,75-1,5 mg/kg/día. Requiere premedicación 1 hora antes de su administración con paracetamol oral, antihistamínicos orales y corticoides (actocortina 400 mg iv) para reducir la toxicidad que se origina, principalmente, por un síndrome de liberación de citoquinas. Los efectos secundarios más importantes son: leucopenia y trombopenia a las 12h de la administración; SIRS (síndrome de respuesta inflamatoria sistémica) por liberación de citoquinas con fiebre, hipotensión, disnea, etc que desaparecen a partir de la 3ª dosis, y, en casos graves, edema agudo de pulmón y distrés respiratorio; enfermedad del suero con poliartralgias, fiebre, rash cutáneo y disfunción renal, a partir del 7º día y también se han relacionado con el desarrollo de tumores linfoproliferativos a largo plazo.

Se utiliza como fármaco de inducción durante la fase inicial postTH en lugar de los anti-CD25 en triple o cuádruple terapia, aunque tienen mayor toxicidad. También se han usado en casos de rechazo corticoresistente. Parece que rATG se asocia a menos rechazo agudo y menos efectos adversos comparado con eATG cuando se usa en inducción⁶².

1.2.2.8. Anticuerpos monoclonales

Muromunab-CD· (OKT3) Anticuerpo monoclonal anti CD3 que bloquea las funciones inmunológicas de los linfocitos T. Se administran exclusivamente IV, en bolus, a dosis de 5mg/día durante 10 días. Se aconseja premedicación 1 hora antes igual que con timoglobulina.

Es un fármaco con mucha e importante toxicidad en relación con el síndrome de liberación de citoquinas (más intenso que con timoglobulina) que aparece entre 45-60' de la administración, desapareciendo en 2-48h. Esta reacción es menos grave tras la 2ª dosis y prácticamente inexistente después. También se asocia a neurotoxicidad en forma de cefalea (el más frecuente), meningitis aséptica, convulsiones, edema cerebral, etc. que aparecen en las primeras 72h y desaparecen sin secuelas en 24 h tras retirar la medicación o en 3-7 días si se continúa; aumento de infecciones, fundamentalmente CMV y pneumocystis jirovecci, por lo que se suele administrar simultáneamente ganciclovir y cotrimoxazol; anafilaxia por reexposición a OKT3; tumores linfoproliferativos y de piel. Se utilizó como tratamiento de los rechazos corticoresistente pero con el desarrollo de los nuevos inmunosupresores, dejó de producirse en 2010.

1.2.2.9. Alentuzumab (Campath 1H)

Este es un anticuerpo monoclonal humanizado de origen murino Anti CD52 que bloquea linfocitos T y B. Provoca una depleción profunda y duradera de linfocitos T (50% se recuperan a 36 meses) y linfocitos B (3 meses de recuperación). Se administra dosis única de 30 mg por vía iv. Requiere premedicación igual que el OKT3, 1 hora antes de su administración. Efectos secundarios más frecuentes: leucopenia, trombopenia y anemia autoinmune; síndrome de liberación de citoquinas; infecciones víricas; tumores

linfoproliferativos. Se ha utilizado en inducción o en rechazos resistentes a otros fármacos por su alta potencia inmunosupresora. Sin embargo, dada su alta toxicidad, existe poca experiencia clínica en su uso⁶³. También se ha utilizado con el fin de promover la tolerancia tras el TH aunque con resultados no concluyentes⁶⁴.

1.2.2.10. Belatacept

Belatacept bloquea la señal de coestimulación uniéndose a los antígenos CD80 y CD86 inhibiendo la activación de las células T. En un estudio prospectivo fase 2, la incidencia de rechazo, pérdida de injerto y mortalidad se evaluaron en tres grupos de pacientes tratados con basiliximab + belatacept + MMF, belatacept a dosis alta + MMF y belatacept a dosis bajas + MMF frente al tratamiento estándar basado en tacrolimus⁶⁵. Aunque se observó un mejor mantenimiento de la función renal en los grupos con Belatacept, la pérdida del injerto y la mortalidad de los pacientes fue más elevada lo que llevó a que el estudio fuera finalizado antes de tiempo. Belatacept no fue aprobado para su uso en el TH aunque sí para trasplante renal.

En la Tabla 1.2.1. pueden verse los efectos adversos relacionados con cada uno de los fármacos inmunosupresores.

Tabla 1.2.1. Efectos adversos de los inmunosupresores.

Toxicidad	Ciclosporina	Tacrolimus	Inh mTOR	Mofetil micofenolato	Azatioprina	Esteroides
Nefrotoxicidad	++	++	No	No	No	No
Hipertensión	++	+ / ++	No	No	No	+++
Hiperlipidemia	++	+	+++	No	No	++ / +++
Diabetes	+	++	No	No	No	++ / +++
Neurotoxicidad	+	+	No	No	No	No
Tox. Hematológica	No	No	++	+	++	No
Tox. Gastrointestinal	+	+	No	++ / +++	++	No
Hirsutismo	++	No	No	No	No	No
Alopecia	No	+	No	No	++	No
Acné	+	No	No	No	No	++
Osteoporosis	++	+	No	No	No	+++

1.3. PROTOCOLOS DE INMUNOSUPRESION

Existen dos momentos fundamentales en el tratamiento inmunosupresor: la fase inicial posTH y la fase de mantenimiento.

1.3.1. FASE INICIAL

La fase inicial es la fase inmediata tras el TH en el que el sistema inmune del receptor debe manejarse frente a una gran cantidad de antígenos del donante y, por tanto, se necesita de una intensa y rápida inmunosupresión para prevenir el rechazo agudo. Esta inmunosupresión potente y rápida puede conseguirse con esteroides o con anticuerpos. Como ya hemos visto, los esteroides son de elección en la mayor parte de los casos. Pero esto no es suficiente para evitar el rechazo y los ICN, principalmente tacrolimus, son la base de la inmunosupresión en el TH. Además, se ha observado que el uso de MMF puede ayudar a reducir la dosis de tacrolimus mejorando la función renal y disminuyendo el rechazo agudo⁶⁶.

Los anticuerpos, en especial anti CD25 o Timoglobulina, también pueden añadirse en los primeros momentos tras el TH. Diferentes estudios han demostrado que añadir Timoglobulina a la pauta inmunosupresora habitual no se asocia a una reducción del rechazo ni a mejores resultados en términos de infección o supervivencia⁶⁷. En el estudio publicado por Benitez et al., el uso de timoglobulina junto a la reducción agresiva de la dosis de tacrolimus se asoció a un aumento del rechazo durante los primeros 3 meses sin obtener mejores resultados clínicos⁶⁸. Sin embargo, la asociación de anti CD25 al tratamiento inmunosupresor estándar sí ha demostrado beneficios. En un meta-análisis de los estudios controlados y aleatorizados, Wang et al. observaron la reducción de la incidencia de rechazo agudo durante el primer año con el uso de anti CD25 como

inducción junto a la inmunosupresión estándar⁶⁹. En un estudio retrospectivo de la base de datos de la United Network for Organ Sharing (UNOS) no se observaron diferencias en la supervivencia de los pacientes e injertos entre aquellos pacientes VHC negativos que recibieron inducción con ATG solo, ATG + esteroides, daclizumab o solo esteroides⁷⁰. El uso de daclizumab en combinación con tacrolimus en dosis reducida se asoció con una mejor función renal y menor incidencia de diabetes.

La incidencia de disfunción renal en el periodo perioperatorio es alta y multifactorial siendo el uso de los ICN uno de los factores reconocidos. La disfunción renal se asocia un aumento de la mortalidad postrasplante y un aumento del riesgo de desarrollar de fallo renal crónico^{71,72}. En el momento actual, la razón principal para el uso de los anti CD25 en la inducción tras el TH es la posibilidad que ofrecen de poder reducir la dosis inicial de ICN además de retrasar su inicio evitando así la nefrotoxicidad que estos pueden producir durante los primeros días postrasplante. En un estudio multicéntrico, prospectivo y aleatorizado con más de 500 pacientes divididos en tres grupos se observó que el uso de daclizumab junto con MMF y esteroides y una pauta de tacrolimus iniciada al 5º día postrasplante con dosis reducida se asoció a una disminución de la pérdida de filtrado glomerular estimado (FGE) durante el primer año frente al uso de tacrolimus en doble o triple terapia con esteroides ± MMF⁷³. Esta misma pauta inmunosupresora también se asoció a una mejor función renal un mes tras el TH en el estudio de Yoshida et al. aunque en este caso, esta diferencia no se mantuvo al final del primer año⁷⁴. Por contra, el uso de daclizumab, asociado a una introducción retrasada de tacrolimus sin reducir su dosis/nivel sanguíneo, no se ha asociado a mejoría en la función renal ni a la disminución del rechazo agudo⁷⁵.

Por otra parte, aunque ya se ha comentado anteriormente que los mTORi no están indicados para ser usados antes de las cuatro primeras semanas, algunos autores han

explorado la posibilidad de usarlos precozmente. Masetti et al. aleatorizaron 78 pacientes en tratamiento con ciclosporina + esteroides a continuar con monoterapia de CsA (n = 26) o a iniciar tratamiento con everolimus a partir del día 10 posTH con retirada de CsA y monoterapia con everolimus a partir del día 30 (n = 52)⁷⁶. Aunque no se observaron diferencias de supervivencia, la función renal se mantuvo significativamente mejor tras un año de seguimiento en el grupo de everolimus: 87,6 ml/min vs 59,9 ml/min. Recientemente, Manzia et al. han publicado su experiencia en 71 pacientes tratados desde el inicio con doble terapia everolimus – tacrolimus y un seguimiento medio de 24 meses comparados con un grupo de 61 pacientes tratados con un régimen de inducción con basiliximab junto con tacrolimus y MMF⁷⁷. La función renal basal era mejor en el grupo de estudio y se mantuvo mejor durante el seguimiento, sin embargo, la pérdida de FGE fue muy similar en ambos grupos al final del seguimiento 10 ml/min vs 12 ml/min. No hubo importantes diferencias en los efectos adversos excepto que el grupo control desarrolló más HTA y la supervivencia de injertos y pacientes fue comparable entre ambos grupos.

En esta situación, ¿Cuáles serían las posibles pautas inmunosupresoras en un paciente sin enfermedades intercurrentes importantes y una buena función renal?

A.- CNI monoterapia

Solo tacrolimus, con su mayor potencia inmunosupresora, ha demostrado la capacidad de ser usado en monoterapia tras el TH. En un estudio prospectivo, aleatorizado, doble ciego se observó que el uso de tacrolimus monoterapia se asociaba a resultados comparables a la combinación estándar de tacrolimus + esteroides en términos de rechazo agudo y supervivencia de pacientes e injertos²⁸.

Se observó, sin embargo, un aumento significativo de los rechazos

corticorresistentes aunque solo en aquellos pacientes en peor situación clínica. Por tanto, a pesar de que sea posible, la monoterapia con tacrolimus no se recomienda en los periodos iniciales postrasplante. Además, en la actualidad se aboga por la reducción de los niveles diana de tacrolimus tras el TH para reducir los efectos adversos lo que aconseja su uso en combinación con otros inmunosupresores.

B.- CNI (tacrolimus) + esteroides

Desde que tacrolimus fuera lanzado al mercado en la década de los 90, esta fue la combinación que se mostró superior al tratamiento estándar del momento que era CsA, azatioprina y esteroides^{23,25}. En esta pauta de inmunosupresión, tacrolimus se administraba a una dosis de 0,1 mg/kg/día y un nivel diana inicial alrededor de 10 ng/ml, hasta que, a finales de la primera década del siglo XXI, diferentes estudios demostraron el beneficio a largo plazo de reducir los niveles de ICN, generalmente añadiendo MMF^{47,62,78}.

C.- CNI (tacrolimus) + MMF + esteroides

Como ya hemos comentado previamente, esta es la combinación más habitual en el momento actual tras el TH; hasta un 80% de los pacientes reciben esta combinación inmunosupresora²⁷. Este protocolo combina la potencia del tacrolimus a dosis más bajas con el MMF que tiene un bajo perfil de toxicidad y la inducción con esteroides. Si la dosis de tacrolimus estándar es de 0,1 mg/kg dividida en 2 dosis, en esta combinación la dosis puede reducirse a 0,75 mg/kg. Los niveles diana de tacrolimus también pueden reducirse a 7-10 ng/ml e incluso hasta 5-7 ng/ml en grupos con experiencia. Si se utiliza tacrolimus de liberación prolongada

(Advagraf®) la dosis puede reducirse de 0,15 mg/kg/día a 0,1 mg/kg/día en una sola dosis diaria manteniendo los niveles diana (14).

D.- Anti CD25 + CNI + MMF + esteroides

Como ya se demostró en el estudio RESPECT⁷³, el uso de daclizumab en la inducción, junto a esteroides y MMF, permite retrasar la administración de los ICN reduciendo así la pérdida de función renal a medio plazo. Esta es una opción que algunos grupos utilizan como régimen habitual, sin embargo, como veremos más adelante, lo más frecuente es reservarla para aquellos pacientes con disfunción renal. Tiene como principal inconveniente el aumento de los costes ya que el precio de los anti CD25 es muy elevado.

E.- Protocolos con mTORi

A pesar de algunas experiencias reportadas^{76,77}, no es de elección en estos momentos en pacientes con buena función renal.

En la Tabla 1.3.1. pueden verse los regímenes inmunosupresores más frecuentes durante la fase de inducción.

Inducción

TAC + Esteroides

TAC reducido + MMF ± Esteroides

Anti CD25/ATG + MMF ± Esteroides + TAC reducido y retardado

Tabla 1.3.1. Tratamiento inmunosupresor de inducción

1.3.2. FASE DE MANTENIMIENTO

Los ICN son la base del mantenimiento de la inmunosupresión en el TH. CsA fue el primer ICN en ser usado en el TH y transformó los resultados de la supervivencia de los injertos y, con ello de los pacientes⁷⁹. Posteriormente, tacrolimus demostró tener mayor potencia inmunosupresora con reducción de la incidencia de rechazos y mayor supervivencia de los injertos^{23,25,80}.

La monoterapia con tacrolimus, tras la retirada de los esteroides usados en la fase inicial, y del MMF en su caso, ha sido en los últimos años el tratamiento de mantenimiento deseable en las pacientes con TH. Los esteroides usados en la inducción se eliminan progresivamente hasta ser retirados en los primeros 3–6 meses en los pacientes sin episodios de rechazo agudo excepto en aquellos con enfermedades autoinmunes como causa del trasplante en los que resulta aconsejable mantener la terapia con esteroides de forma crónica⁸¹. El MMF se eliminaba también durante los primeros meses de seguimiento para llegar a la monoterapia lo que se consideraba, además, un tratamiento

mejor aceptado por los pacientes al disminuir el número de fármacos a tomar de forma crónica.

Sin embargo, en los últimos años, la preocupación de los profesionales ya no son los resultados del TH a corto y medio plazo sino a largo plazo⁸². Se ha observado que los pacientes trasplantados hepáticos tienen una supervivencia a largo plazo muy inferior a la población general debido principalmente al desarrollo de tumores, tanto recidivas del hepatocarcinoma como tumores de novo, enfermedades cardiovasculares y disfunción renal crónica^{83,84}. Ya se ha comentado como el uso de los ICN se asocian a una progresiva lesión renal y a una disminución del FGE⁷² y esta disminución progresiva del FG se asocia a un aumento progresivo del riesgo de muerte⁸⁵. Por otro lado, la exposición a tacrolimus se ha demostrado como un factor independiente y dosis-dependiente en el desarrollo de tumores sólidos y recidiva del hepatocarcinoma tras el TH^{86-88,156}. Además, ya sabemos que los ICN se asocian al desarrollo de DM e hipertensión arterial que a su vez son factores independientes para la aparición de problemas cardiovasculares⁸⁹. Por tanto, la reducción en la exposición a los ICN parece un factor fundamental para mejorar los resultados del TH a largo plazo.

1.3.2.1. Inmunosupresión de mantenimiento en pacientes sin problemas clínicos

La preservación de la función renal de los pacientes con TH se ha convertido, probablemente, en el foco de preocupación más importante en los últimos años^{90,91}. Debemos saber que se asume como normal una pérdida de FGE de hasta 20-30 ml/min durante las primeras semanas tras el TH cuya causa es multifactorial: el proceso quirúrgico, alteraciones hemodinámicas perioperatorias, la polimedicación, posibles infecciones, etc^{92,93}. De esta forma, la modificación del régimen inmunosupresor tiene

por objeto reducir esa pérdida inicial de la función renal, y en lo posible, la pérdida de función renal que los pacientes pueden presentar durante el seguimiento. Como ya hemos visto previamente, el primer paso para reducir la exposición a los ICN ya se ha dado en los últimos años al añadir MMF al tratamiento inicial postrasplante, reduciendo así los niveles diana que clásicamente se habían recomendado^{14,47,66}. En un estudio reciente, la combinación de tacrolimus a niveles bajos (≤ 8 ng/ml) junto con MMF se relacionó con una disminución significativa en el desarrollo de enfermedad renal crónica comparada con otras pautas inmunosupresoras⁹⁴. De esta forma, en el momento actual la terapia de mantenimiento aconsejable ya no es la monoterapia con ICN a los que se añadía otro fármaco como MMF o un mTORi en caso de necesidad, como veremos más adelante, sino la terapia combinada de tacrolimus más MMF desde el comienzo.

En los últimos años se ha explorado la idea de que los mTORi, y en especial everolimus, pueda jugar un importante papel en las terapias de mantenimiento de cara a la reducción de la exposición a tacrolimus^{59,60,95-98}. El uso de sirolimus en combinación con MMF se comparó con tacrolimus + MMF en un estudio denominado “spare-the-nephron” en el que la aleatorización se realizaba entre la semana 4 y 12 postrasplante⁹⁵. Partiendo de un grupo de pacientes con moderada disfunción renal en el momento de la aleatorización, en este estudio se observó una mejoría del 19% del FGE en el grupo de sirolimus frente a solo un 1,2% en el grupo de tacrolimus; sin embargo, hasta un 34 % de los pacientes del grupo sirolimus se retiraron del estudio por diversos efectos adversos. En otro estudio, denominado PROTECT, se evaluó la función renal a 1 año comparando el mantenimiento con everolimus frente a ICN⁹⁶. El grupo con everolimus presentó un FGE 7,8 ml/min mejor que el grupo de mantenido con tacrolimus al final del estudio. De nuevo, la retirada del estudio ocurrió más frecuentemente en el grupo de everolimus en relación con la aparición de efectos adversos: 29,7% vs 13,7%. Un estudio importante para conocer el

papel de everolimus en los regímenes de mantenimiento fue el denominado H2304 que fue un estudio pivotal a partir del cual se aprobó, por parte de la FDA, el uso de everolimus como inmunosupresor a partir del primer mes tras el TH^{50,97,98}. En él, se comparaba el mantenimiento con tacrolimus como grupo control frente a dos regímenes con everolimus: la combinación everolimus – tacrolimus a dosis bajas y la eliminación del tacrolimus y terapia basada en everolimus. La importancia del estudio radica en la inclusión de más de 700 pacientes, con más de 200 pacientes en cada grupo de estudio. Los resultados a un año mostraron una mejoría del FGE de 8,5 ml/min a favor del grupo everolimus-tacrolimus frente al grupo tacrolimus. A destacar que la discontinuación del estudio ocurrió con más frecuencia en el grupo combinado: 25,7% vs 14,1%. Además, el grupo de tratamiento basado en everolimus debió ser parado antes de tiempo por un aumento inaceptable de la incidencia de rechazo agudo⁹⁷. En artículos posteriores se han publicado los resultados con 2 y 3 años de seguimiento^{50,98}. En ellos se ha reportado una menor pérdida de FGE a 3 años en el grupo everolimus-tacrolimus: -7ml/min vs -15,5 ml/min. Sin embargo, se mantiene una frecuencia más alta de pacientes que discontinuaron el estudio en el grupo combinado.

Recientemente, se ha publicado un estudio francés en el que se aleatorizaba los pacientes en la semana 4 a un tratamiento de mantenimiento con everolimus + EC-MPS frente a tacrolimus + EC-MPS⁵⁰. En este estudio, la variable principal fue la modificación de FGE al final del estudio tras 2 años de seguimiento. Los resultados, en términos de función renal, fueron claramente superiores en el grupo con everolimus 95,8 ml/min frente a 76 ml/min; sin embargo, también fueron superiores la incidencia de rechazo biopsiado (10% vs 2,2%), la aparición de efectos adversos (46,7% vs 29,8%) y la proporción de pacientes que se retiraron del estudio (17,8% vs 3,2%). Como resumen, en un reciente meta-análisis de los estudios controlados y aleatorizados que han estudiado la conversión de ICN a

mTORi se ha podido demostrar que la conversión a regímenes con mTORi se asocia a: a) una mejoría de la función renal a un año del TH, independientemente del mTORi utilizado; b) aumento del riesgo de desarrollar rechazo agudo; c) aumento de la retirada de los pacientes del tratamiento con mTORi debido a efectos adversos; d) similar incidencia de pérdida del injerto y mortalidad⁹⁹.

Sin embargo, como ya hemos comentado, la disfunción renal no es la única causa, ni la más importante, de mortalidad a largo plazo de los pacientes trasplantados hepáticos; la causa más importante es el desarrollo de tumores de novo⁹⁴ y este riesgo aumenta con el paso del tiempo¹⁰⁰. Diversos estudios han publicado un aumento de entre 2 y 3 veces del riesgo de desarrollar un tumor de novo entre los pacientes con un TH comparados con la población general de su misma edad y sexo^{94,101,136}. La relación entre la inmunosupresión y la oncogénesis está bien establecida ya que la integridad del sistema inmune es una de las defensas contra el cáncer. Sin embargo, pocos estudios han evaluado diferentes protocolos de inmunosupresión para prevenir o reducir la incidencia de tumores de novo y su nivel de evidencia es bajo¹⁰². El estudio de Carencio et al. ha demostrado por primera vez la posible relación entre la exposición a tacrolimus a largo plazo y el desarrollo de tumores sólidos en pacientes con un TH⁸⁶. Los autores encontraron que el desarrollo de tumores sólidos se relacionaba independientemente con el consumo de tabaco y exposición continuada a tacrolimus, tanto a 1 como a 3 años; observaron que el aumento del nivel medio de tacrolimus se relacionaba directamente con el aumento del riesgo de desarrollar tumores de novo. Estos hallazgos sugieren que la reducción de la exposición a los ICN podría disminuir la incidencia de tumores de novo. La reducción de los niveles de ICN puede hacerse con la combinación de MMF como ya hemos ido viendo. Sin embargo, en un reciente estudio retrospectivo, Aguilar et al. observaron que el tratamiento con MMF sin ICN era un factor protector independiente en el desarrollo de tumores de

novo¹⁰³. La incidencia de tumores fue inversamente proporcional el tiempo que el paciente había estado en monoterapia con MMF. Por otro lado, dado que los mTORi tiene cierta actividad antitumoral, al menos en modelos in vitro, se han propuesto como una mejor alternativa. No hay, hasta el momento, ningún estudio aleatorizado que evalúe el efecto de los mTORi en el desarrollo de tumores de novo en TH⁹⁹. En trasplante renal, el estudio CONVERT sí demostró que los pacientes con inmunosupresión basada en sirolimus y libres de ICN desarrollaron menos tumores de novo, en especial de origen cutáneo¹⁰⁴. Por otra parte, aunque no hay una evidencia científica, en los pacientes que ya han desarrollado un tumor de novo, la actitud general suele ser la reducción de los niveles de ICN mediante una combinación con mTORi o el cambio a una inmunosupresión sin ICN y basada en mTORi.

En una reciente revisión bibliográfica y metaanálisis tratando de definir el mejor régimen inmunosupresor de mantenimiento basado en la evidencia se observó que el fármaco de elección era tacrolimus en la mayoría de los centros. Se concluyó que ninguno de los diferentes regímenes de mantenimiento era superior en términos de mortalidad o pérdida del injerto. Se observó también que el mantenimiento con CsA se asociaba a un menor número de efectos adversos; sin embargo, el riesgo de retrasplante era mayor con ciclosporina que con tacrolimus¹⁰⁵. En la actualidad, la inmunosupresión de mantenimiento más usada es la combinación de dosis bajas de tacrolimus junto con MMF²⁷. Sin embargo, nadie ha definido lo que significa el término dosis bajas y los niveles de mantenimiento suelen ser variables y dependientes de cada centro.

En la Tabla 1.3.2. se muestran las combinaciones más habituales en el tratamiento de mantenimiento en pacientes sin problemas clínicos relevantes.

Mantenimiento

TAC monoterapia

TAC reducción progresiva + MMF

TAC reducido + Everolimus

Tabla 1.3.2. Tratamiento inmunosupresor de mantenimiento

1.3.2.2. Inmunosupresión en pacientes que desarrollan disfunción renal durante el seguimiento

Como ya se ha comentado, durante el seguimiento de los pacientes, se va produciendo un progresivo deterioro de la función renal que obligaba a plantear modificaciones en el tratamiento inmunosupresor. Esta situación constituye un nuevo escenario clínico; ya no se trata del paciente con buena función renal y clínicamente estable tras el TH en el que queremos prevenir el desarrollo de disfunción renal sino de un paciente que ha sido trasplantado hace un tiempo y ya ha comenzado a desarrollar disfunción renal.

Como ya sabemos, hasta hace unos años el tratamiento inmunosupresor estándar en el TH se basaba en el uso de tacrolimus en combinación con esteroides y, en ocasiones, MMF. Posteriormente, se iban retirando tanto los esteroides como el MMF para dejar al paciente en monoterapia con tacrolimus. La primera opción terapéutica en esta situación de monoterapia sería la introducción, o reintroducción en su caso, de MMF junto con una reducción de los niveles de tacrolimus. Pagueaux et al. aleatorizaron un grupo de 56

pacientes con enfermedad renal crónica después de 1 año del TH a un tratamiento con ICN reducidos al 50% más MMF (n 27) frente al mantenimiento de monoterapia con ICN con una reducción de hasta el 25% (n 29)¹⁰⁶. Los pacientes del grupo de estudio redujeron su creatinina plasmática y mejoraron su FGE de forma significativa a los 12 meses mientras que el grupo control no obtuvo ninguna mejoría en la función renal. En estudios posteriores, tanto comparativos como observacionales, se ha podido confirmar el beneficio en la función renal de esta estrategia de reducción de los niveles de ICN mediante el uso de MMF sin un aumento de los rechazos agudos¹⁰⁷⁻¹⁰⁹. En caso de que el tratamiento ya se esté haciendo con la combinación tacrolimus + MMF, se intentarán bajar los niveles de tacrolimus manteniendo la doble terapia.

El siguiente paso en esta dirección, en caso de que la función renal siguiera empeorando, sería la retirada de los ICN y el tratamiento con MMF en monoterapia. Esta idea ha sido explorada por diversos autores y en un metaanálisis publicado por Goralczyk et al., de los 4 estudios analizados, dos de ellos debieron ser finalizados prematuramente por un aumento inaceptable del rechazo agudo y/o pérdida del injerto¹¹⁰. En los dos estudios restantes, un tercio de los pacientes estaban con ICN de nuevo al final del periodo de análisis. En general, el riesgo de rechazo agudo fue más elevado (RR 4.96, CI 1.75-14.07) aunque sin que se observará un aumento del riesgo de pérdida del injerto o muerte de los pacientes.

Otra estrategia posible es la introducción tardía de los mTORi para reducir o eliminar el uso de ICN en los pacientes que ya presentan disfunción renal a medio-largo plazo. De Simone et al. aleatorizaron 130 pacientes que habían sido trasplantados entre 1 y 6 años antes y presentaban una disfunción renal crónica (FGE entre 20 y 60 ml/min) para ser tratados con everolimus y reducción de ICN (eventualmente eliminación de ICN) frente a mantener una terapia basada en ICN¹¹¹. A pesar de que hasta un 62% de los pacientes

con everolimus llegaron a discontinuar el tratamiento con ICN, no pudieron demostrar una mejoría en la función renal a los 6 meses y sí un aumento de los efectos adversos. Recientemente, se ha publicado un importante trabajo observacional con la experiencia de 20 centros españoles en la conversión de ICN a everolimus¹¹². Se incluyeron 477 pacientes convertidos a everolimus, por diferentes razones, tras una mediana de 21,6 m (RIC 2,4-70,8) de seguimiento. La disfunción renal fue la razón de la conversión en el 32,6% de los pacientes y en ellos la mediana de tiempo desde el TH hasta la conversión fue de 23,8 m (RIC 6-75,6). Se observó una mejoría significativa de la función renal en todos los grupos de pacientes tras la conversión siendo más intensa en aquellos pacientes convertidos por disfunción renal con una ganancia de 10.9 ml/min en el FGE a los 3 meses de la conversión que se mantuvo estable tras un año de seguimiento. Como hallazgo destacable, la mejoría de la función renal se relacionó directamente con el tiempo entre el TH y el momento de la conversión, de tal forma que los mayores beneficios se obtuvieron en aquellos pacientes con conversión antes del primer año mientras que los pacientes en los que se convirtió a everolimus más de 5 años después del TH no obtuvieron ningún beneficio en términos de FGE. Los efectos adversos fueron la causa de que el 11,2% de los pacientes solicitaran dejar de ser tratados con everolimus.

En la Tabla 1.3.3. se muestran las combinaciones más habituales en el tratamiento de mantenimiento en pacientes que desarrollan disfunción renal.

Mantenimiento

TAC reducción progresiva + MMF	→	MMF monoterapia
TAC reducido + Everolimus	→	EVL monoterapia
EVL + MMF	→	EVL monoterapia

Tabla 1.3.3. Tratamiento inmunosupresor de mantenimiento en pacientes que desarrollan disfunción renal

1.3.2.3. Inmunosupresión en pacientes que desarrollan neurotoxicidad

Como ya se ha apuntado previamente, la neurotoxicidad es uno de los efectos adversos más frecuentes con el uso de los ICN. Lo más habitual es que aparezca en forma de temblor, de intensidad variable durante la primera semana postrasplante, o cefaleas en cualquier momento del seguimiento, pero existe una amplia variedad de desórdenes neurológicos e incluso alteraciones psiquiátricas relacionadas. Los síntomas más severos pueden incluir: psicosis, alucinaciones, ceguera, ataxia cerebelosa alteraciones motoras o leucoencefalopatía⁵⁰. La neurotoxicidad ocurre con más frecuencia en pacientes que presentaban encefalopatía antes del TH.

Se ha relacionado la aparición de los efectos adversos, incluida la neurotoxicidad, con los niveles en sangre del fármaco, aunque no siempre es así¹¹³. En caso de que ocurra un episodio de neurotoxicidad, la actuación sobre la inmunosupresión dependerá de la intensidad y gravedad de los síntomas. La reducción de los niveles del ICN debe ser el

primer paso en caso de un problema de carácter leve. Si la reducción del ICN no es suficiente podemos intentar pasar al otro ICN (generalmente de tacrolimus a CsA). En el momento actual, si se utiliza Advagraf® podemos hacer un cambio a Envarsus® por su diferente forma de absorción. Sin embargo, en caso de un problema de carácter grave, el fármaco debe ser retirado. En estos casos, el paso a una inmunosupresión basada en everolimus se ha probado muy útil. En un reciente estudio español, la neurotoxicidad fue la razón de conversión a everolimus en el 11,6% de los pacientes¹¹². En otro estudio, 14 pacientes con neurotoxicidad precoz (antes del primer mes) relacionada con ICN fueron convertidos con éxito a diferentes regímenes basados en everolimus¹¹⁴.

1.3.2.4. Inmunosupresión en pacientes que desarrollan Síndrome Metabólico

El síndrome metabólico se define como una combinación de manifestaciones metabólicas de la obesidad, hipertensión, hiperglucemia y dislipemia y su prevalencia es superior al 30% en Occidente; sin embargo, aumenta tras el TH ya que, como sabemos, la DM y la HTA son efectos adversos relacionados con la terapia inmunosupresora y pueden observarse hasta en el 40% y 70% de los las pacientes, respectivamente¹¹⁵. Existe una asociación directa entre el Síndrome metabólico y la aparición de eventos cardiovasculares¹¹⁶.

Como es comprensible, debemos hacer una labor de educación y prevención del síndrome metabólico entre los pacientes trasplantados y, por supuesto, tratar adecuadamente cada una de las manifestaciones que puedan aparecer. Desde el punto de vista de la inmunosupresión, los esteroides producen resistencia a la insulina, HTA y dislipemia por lo que deben ser evitados. Los ICN se relacionan con el desarrollo de DM, HTA,

disfunción renal y dislipemia mientras que los mTORi tienen a la dislipemia como uno de sus efectos adversos más frecuentes. Por una parte, los niveles elevados de tacrolimus parecen ser un factor independiente en el desarrollo de DM de novo tras el TH¹¹⁷. Así mismo, la conversión tardía (mediana de 52 meses después del TH) de tacrolimus a monoterapia con MMF se acompañó de una ligera mejoría de la DM ya existente en un estudio de Herrero et al. aunque solo la mitad de los pacientes pudieron llegar al tratamiento de monoterapia tras 6 meses de seguimiento¹¹⁸. Finalmente, en un estudio reciente, se ha podido demostrar que la inclusión de MMF en el régimen inmunosupresor se relacionaba con la reducción de la morbilidad y mortalidad de origen cardiovascular¹¹⁹. Esto está relacionado, probablemente con la reducción de los niveles de ICN que acompañan al tratamiento con MMF.

Así las cosas, la inmunosupresión aconsejable en estas circunstancias, estaría basada en tacrolimus a bajas dosis en monoterapia o, preferiblemente, con MMF lo que permitiría un descenso aun mayor de la dosis de ICN evitando los esteroides y los mTORi.

1.3.3. INMUNOSUPRESION EN SITUACIONES CLINICAS ESPECIALES

Después de estudiar las posibilidades de tratamiento inmunosupresor en situaciones clínicas generales, debemos saber que existen diversas situaciones clínicas que pueden beneficiarse de pautas inmunosupresoras particulares. En esta sección revisaremos algunas de estas situaciones y valoraremos los posibles cambios en el tratamiento.

1.3.3.1. Pacientes con disfunción renal pretrasplante o durante el postrasplante inmediato

La combinación de insuficiencia hepática terminal y disfunción renal es relativamente frecuente. La prevalencia de la disfunción renal en los pacientes con TH varía entre el 17% y 95% dependiendo de los estudios y los criterios utilizados¹²⁰. En los pacientes cirróticos podemos definir diferentes situaciones de enfermedad renal en función de los cambios en la creatinina sérica y el FGE: disfunción renal aguda, enfermedad renal crónica y enfermedad renal aguda sobre crónica. En la actualidad, siempre debe estudiarse la función renal de los pacientes con enfermedad hepática terminal, de tal forma que la creatinina sérica es uno de los factores que se valoran en el score MELD (Model for end-stage liver disease) que es el modelo más extendido para valorar la gravedad de la enfermedad hepática y la priorización en lista de espera para el TH. En los pacientes con un FG <30 ml/min se debe valorar la realización de un doble trasplante hepato-renal.

Deberemos valorar una inmunosupresión adaptada en los siguientes casos:

- .- pacientes que hayan presentado una disfunción renal en las semanas previas al TH
- .- pacientes que presenten un FG <60 ml/min en el momento del TH
- .- pacientes que, aun teniendo buena función renal preTH, presenten datos de disfunción renal durante la cirugía del TH
- .- pacientes que presenten una disfunción renal aguda en el periodo inmediato pos-TH

En los pacientes que presentan una situación de las descritas previamente, la principal preocupación se centra en evitar el uso inicial de los ICN y su reconocida nefrotoxicidad. La combinación de terapia de inducción con Anti CD25 (Basiliximab) o ATG + MMF ± esteroides permite demorar la introducción de los ICN, con dosis reducidas, entre 4 y 10 días si se administran las dos dosis de basiliximab, evitando así añadir un factor nefrotóxico más o los que ya existen en el periodo periTH. Esta combinación ya ha demostrado un beneficio en la función renal a medio plazo en pacientes sin disfunción renal preTH⁷³.

Otra posible opción sería la de evitar el uso de ICN en favor de los mTORi a pesar de que, como ya se ha comentado previamente, no esté admitido su uso antes de la semana 4 posTH. Recientemente, se ha publicado un estudio con 27 pacientes con una FG <50 ml/min en el momento del TH a los que se trató con basiliximab + MMF + esteroides añadiendo sirolimus no antes del día 10 posTH¹²¹. Los autores observaron una incidencia del 18% de rechazo agudo, mejoría 31 ml/min del FG y supervivencia del 93% a un año. Destacaban que el 44% de los pacientes estaban con ICN al final del primer año, pero el resto de mantuvo sin ICN. En un estudio reciente, 28 paciente fueron tratados con everolimus antes del primer mes, con una mediana de 14 días (r 4-24)¹¹⁴. La disfunción renal fue la razón para instaurar un protocolo con everolimus + MMF/EC-MPS en la mitad de estos pacientes. El FG mejoró desde los 32 ml/min en el momento inicial del tratamiento hasta 62 ml/min al final del primer año. La incidencia de complicaciones hematológicas fue del 21%, mientras que el 28% de los pacientes presentaron edema/derrame pleural y el 42%, dislipemia. La supervivencia de los pacientes a un año fue del 92%. En una experiencia similar, Herden et al. iniciaron everolimus entre los días 1 y 5 posTH en 50 pacientes, 40% de ellos por disfunción renal¹²². Tras un seguimiento medio de 4,6 años, la función renal se mantuvo estable a pesar de la disfunción inicial,

aunque el 23% de los pacientes dejaron el everolimus por efectos adversos relacionados con el fármaco.

En la actualidad, podemos decir que el régimen inmunosupresor más recomendado en pacientes con disfunción renal preTH sería:

.- inducción (preferiblemente con basiliximab 2 dosis) + MMF ± esteroides con introducción retardada de tacrolimus con dosis bajas (nivel diana <7 ng/ml). Con este protocolo, el inicio de tacrolimus puede demorarse hasta la segunda semana. El mantenimiento se haría con los protocolos que ya han sido revisados en el apartado 1.3.2.2. “pacientes que desarrollan una disfunción renal”.

.- en caso de que, llegados a la segunda semana, la disfunción renal sea importante, podemos plantearnos la introducción de everolimus en combinación con tacrolimus o en un régimen sin ICN generalmente asociados a MMF con o sin esteroides. Este régimen tiene como problema potencial la combinación de dos fármacos que pueden producir mielotoxicidad, everolimus y MMF. Sin embargo, en las experiencias publicadas, no se ha visto un aumento significativo de este efecto adverso.

En la Tabla 1.3.4. se muestran las combinaciones más habituales en el tratamiento de mantenimiento en pacientes que presentan disfunción renal en el periodo periTH.

Inicial	Mantenimiento
Anti CD25+ MMF ± EST + TAC reducido y retardado	TAC reducción progresiva + MMF → MMF monoterapia
	TAC reducido + Everolimus → EVL monoterapia (Incluso antes de la 4 semana)
Anti CD25+ MMF ± EST + Everolimus	EVL + MMF → EVL monoterapia

Tabla 1.3.4. Tratamiento inmunosupresor en pacientes con disfunción renal en el periodo peritrasplante

1.3.3.2 . Pacientes con hepatocarcinoma

El hepatocarcinoma (HCC) es el tumor primario más frecuente del hígado y el TH es una opción terapéutica aceptada en pacientes cirróticos que desarrollan un HCC. En España, el HCC fue la indicación para el TH en el 27,9% de los pacientes según el informe de 2019 del Registro Español de Trasplante Hepático. La incidencia de la recidiva del HCC puede llegar a afectar hasta al 20% de los pacientes, aunque se ha reducido a menos del 10% en los pacientes trasplantados dentro de los criterios de Milan¹²³. Siendo el sistema inmune de gran importancia en la identificación y destrucción de las células cancerígenas, el tratamiento inmunosupresor puede favorecer el desarrollo de tumores de novo y la recidiva del HCC. Es por esto que reducir la inmunosupresión y elegir las combinaciones más adecuadas se ha convertido en una preocupación y parte importante de los cuidados de los pacientes trasplantados con HCC¹²⁴.

En la clínica, los esteroides no parecen tener un impacto evidente en la recidiva del HCC y lo mismo ocurre con los antimetabolitos y los anti CD25^{123,124}. Sin embargo, en diferentes estudios sí han demostrado la relación entre la exposición a los ICN y el desarrollo de recurrencia del HCC. Rodríguez-Peralvarez et al. observó que el uso de esteroides y antimetabolitos (azatioprina, MMF) no se relacionaba con un aumento de la recidiva del HCC; como tampoco hubo diferencias entre el uso de tacrolimus y CsA⁸⁸. Sin embargo, encontraron que la exposición durante el primer mes a niveles elevados de ICN, definidos como >10 ng/ml de tacrolimus y >300 ng/ml de ciclosporina, se asoció a un incremento significativo de la recurrencia del HCC a 5 años (27,7% vs 14,7%; $p = 0.007$). Los niveles elevados de ICN fueron un factor independiente, junto a otras características del tumor, en la aparición de una recurrencia. En un sentido similar, Vivarelli et al. observaron que la exposición a altos niveles de ICN durante el primer año,

definidos como >10 ng/ml de tacrolimus y >220 ng/ml de ciclosporina, era un factor independiente en el desarrollo de recidiva del HC⁸⁷. En general, se acepta que los dos ICN, CsA y tacrolimus, tienen un riesgo similar en el desarrollo de recurrencia del HCC¹²³.

A diferencia de los ICN, los mTORi inhiben la proliferación celular y la angiogénesis por los que se han constituido como una alternativa atractiva en la terapia de mantenimiento¹²⁵. Además, en vivo, el uso de mTORi han probado reducir el riesgo de cánceres de novo principalmente tumores de piel no melanomas en trasplantados renales^{104,126}.

En la práctica diaria, la conversión a mTORi suele hacerse en el periodo inicial de la terapia de mantenimiento. En un estudio español reciente, el 20,8% de las conversiones a everolimus se hicieron en pacientes trasplantados por HCC en con una idea de prevención de la recurrencia¹¹². En este estudio, la mediana del momento de conversión fue 4 meses (r 2-12). Desafortunadamente, las combinaciones inmunosupresoras utilizadas después de la conversión no se reportan en el estudio. En una revisión sistemática, Cholongitas et al. incluyeron 42 estudios y 3666 pacientes trasplantados por HCC¹²⁷. La recidiva del HCC fue superior entre los pacientes en tratamiento con ICN frente a aquellos tratados con mTORi: 13,8% vs 8% $P < 0.001$. Sin embargo, los pacientes con everolimus tenían un seguimiento menor que aquellos con ICN o sirolimus. Recientemente, se ha publicado el estudio más importante en cuanto a la evaluación del papel de los mTORi en la recidiva del HCC. El estudio SILVER es un estudio prospectivo, aleatorizado y multicéntrico europeo con un seguimiento de 5 años que incluyó 525 pacientes trasplantados con HCC con un tratamiento inicial libre de mTORi que se aleatorizaron en las semanas 4-6 a mantener un tratamiento inmunosupresor libre de mTORi o introducir sirolimus en monoterapia o en combinación con otros inmunosupresores¹²⁸. Aunque se observó una

ligera reducción de la recidiva a 3 años, este efecto se perdía a los 5 años de seguimiento. La mayor crítica al estudio era la heterogenicidad de los diferentes tratamientos que se incluían en el grupo con sirolimus y el hecho de que la incidencia de recidivas a 3 años entre los pacientes con criterios de Milan era superior a la reportada por muchos centros en ausencia de mTORi.

En 2010, la conferencia de consenso celebrada en Zurich concluyó que no había suficiente evidencia para recomendar un régimen inmunosupresor concreto en los pacientes trasplantados por HCC¹²⁹. Podemos decir que actualmente esta afirmación sigue vigente. En este sentido, el régimen elegido debe buscar un balance adecuado entre el desarrollo de rechazo agudo y el riesgo oncológico que supone la inmunosupresión. El primer paso debe ser reducir la inmunosupresión, especialmente los niveles de tacrolimus, desde los momentos iniciales tras el TH. Esto se puede hacer mediante la combinación tacrolimus con MMF durante del primer mes posTH. Pasadas las primeras 4 semanas podemos plantearnos mantener esta pauta inmunosupresora con reducción progresiva de los niveles de tacrolimus o una inmunosupresión que incluya mTORi. Esta opción sería adecuada en aquellos pacientes con alto riesgo de recidiva de acuerdo a las características del tumor en el estudio patológico y puede hacerse de dos maneras: basada en everolimus sin ICN o el uso de una combinación de everolimus con dosis muy bajas de tacrolimus.

En la Tabla 1.3.5. se muestran las combinaciones más habituales en el tratamiento de mantenimiento en pacientes trasplantados con HCC. Durante el primer mes puede hacerse triple terapia incluyendo los esteroides.

Primer mes	Mantenimiento
	TAC reducción progresiva + MMF → MMF monoterapia
TAC reducido + MMF	TAC reducido + Everolimus → EVL monoterapia
	EVL + MMF → EVL monoterapia

Tabla 1.3.5. Tratamiento inmunosupresor en pacientes con hepatocarcinoma.

1.3.3.3. Pacientes con Diabetes Mellitus

La actitud en estos pacientes se basa en los mismos principios que se han comentado para aquellos que desarrollan síndrome metabólico tras el TH. La inmunosupresión de inducción debe hacerse sin usar esteroides y con la idea de manejar niveles bajos de tacrolimus por tanto, podemos utilizar la combinación tacrolimus + MMF o inducción con antiCD25 + MMF e introducción retardada de bajos niveles de tacrolimus en caso de que se asocie disfunción renal en el periodo periTH.

1.3.4. TRATAMIENTO DEL RECHAZO CELULAR AGUDO

La incidencia del rechazo celular agudo que obliga a modificaciones del tratamiento inmunosupresor ha ido disminuyendo con la aparición de los nuevos inmunosupresores y nuevas combinaciones terapéuticas. En la actualidad es frecuente que los autores reporten cifras de entre el 10% y 20%. La sospecha clínica se hace en relación con la alteración de los enzimas hepáticos, principalmente fosfatasa alcalina y gamma-glutamil

transpeptidasa junto con las transaminasas y bilirrubina en menor medida. Sin embargo, antes de aceptar un diagnóstico de rechazo deben descartarse otras situaciones que puedan originar una disfunción hepática: complicaciones arteriales y biliares, disfunción precoz o diferida del injerto, sepsis, recidiva precoz de la hepatitis C. Aceptando que es la única manera de confirmar la existencia de un rechazo, la necesidad de una biopsia hepática es discutible. Algunos autores la hacen por protocolo ante la sospecha de un rechazo mientras que para otros solo se indica en caso de duda diagnóstica o si no hay respuesta a una primera tanda de tratamiento.

El tratamiento inicial puede ser el aumento de la inmunosupresión existente. Esto se puede hacer por este orden: aumentando la dosis de los ICN, añadiendo MMF en caso de no haber usado la triple terapia, cambiando de ciclosporina a tacrolimus, si fuera el caso, o añadiendo mTORi. En caso de que esto no fuera suficiente, se deben utilizar bolus de esteroides de 500-1000 mg/24 h durante tres días. Este tratamiento puede repetirse una segunda vez. Antes de la aparición de los tratamientos antivirales directos, el uso de bolus de esteroides en los pacientes VHC debía hacerse siempre tras una biopsia hepática que confirmara la existencia del rechazo por su relación directa con el desarrollo de recidivas agresivas del VHC. Actualmente, el uso de bolus de esteroides puede hacerse con más libertad ya que la recidiva VHC ha dejado de ser un problema grave en el TH. En caso de que no exista respuesta tras dos tandas de esteroides, se considera que estamos ante un rechazo corticorresistente¹³⁰. En estos casos, históricamente se utilizó el OKT3 pero ya hemos comentado que dejó de comercializarse en 2010. Se ha utilizado ATG a una dosis de 1,5 mg/kg/24h durante un periodo variable de 5-14 días con resultados prometedores¹³¹. Sin embargo, sus efectos adversos, principalmente citopenias, ha hecho que los profesionales prefieran el uso de AntiCD25 ya que sus efectos adversos son muy escasos¹³².

HIPÓTESIS

2. HIPÓTESIS

La inmunosupresión es un pilar básico en los resultados del TH; un protocolo de inmunosupresión basado en tacrolimus de liberación prolongada, usado *de novo*, puede influir favorablemente en los resultados a largo plazo.

1. El uso de Tac-ext *de novo*, en un protocolo de minimización de inmunosupresión, se asocia a una excelente supervivencia y a una baja incidencia de los efectos secundarios a largo plazo en los pacientes con trasplante hepático.

2. En pacientes trasplantados con disfunción renal previa, un protocolo de inmunosupresión basado en tratamiento de inducción y Tac-ext *de novo* se asocia a una adecuada preservación de la función renal y a una excelente supervivencia a largo plazo.

3. Bajo un protocolo de minimización de inmunosupresión, los niveles iniciales de tacrolimus no influyen en los resultados a largo plazo del trasplante hepático.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

1. Estudiar la supervivencia a 5 años de los pacientes tratados *de novo* con Tac-ext tras un trasplante hepático.
2. Estudiar los efectos secundarios más importantes a largo plazo en pacientes tratados *de novo* con Tac-ext tras un trasplante hepático.
3. Valorar la evolución de la función renal a largo plazo de los pacientes que fueron trasplantados con disfunción renal pretrasplante y que fueron tratados con un régimen inmunosupresor basado en el uso de terapia de inducción y en la introducción tardía con dosis reducida de Tac-ext.
4. Estudiar la supervivencia a 5 años en los pacientes que fueron trasplantados con disfunción renal pretrasplante y que fueron tratados con un régimen inmunosupresor basado en el uso de inducción y en la introducción tardía con dosis reducida de Tac-ext.
5. Demostrar que los niveles medios de tacrolimus durante el primer mes postrasplante no influyen en la supervivencia de los pacientes a largo plazo siempre que se mantenga una política de minimización de la inmunosupresión.
6. Demostrar que los niveles medios de tacrolimus durante el primer mes postrasplante no influyen en la morbilidad a largo plazo relacionada con la

inmunosupresión, siempre que se mantenga una política de minimización de la inmunosupresión.

MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Muestra y metodología

Realizamos un estudio observacional sobre una base de datos prospectiva que inicialmente incluía 184 pacientes adultos que habían recibido un trasplante hepático de forma sucesiva entre abril de 2008 y agosto de 2011 en la Unidad de Cirugía Hepatobiliar y Trasplante Hepático del Hospital Universitario Cruces y en los que la inmunosupresión se basó en el uso de novo de Tac-ext. Los retrasplantes y los trasplantes combinados (hepato-renales) fueron excluidos del estudio (Figura 4.1.1.). Esta cohorte se utilizó para analizar las hipótesis 1, resultados en la cohorte general, y 2, resultados en el grupo de pacientes con disfunción renal preTH en los que se usó tratamiento de inducción con anticuerpos y triple terapia de mantenimiento. Para el estudio de la hipótesis 1 se utilizó la cohorte completa de 160 pacientes mientras que en el estudio de la hipótesis 2, solamente se incluyeron los 19 pacientes con FGE <60 ml/min/1.73 m² preTH, sin necesidad de tratamiento sustitutivo renal, que fueron tratados con terapia de inducción con anticuerpos y Tac-ext de novo introducido de forma retardada y combinada con MMF.

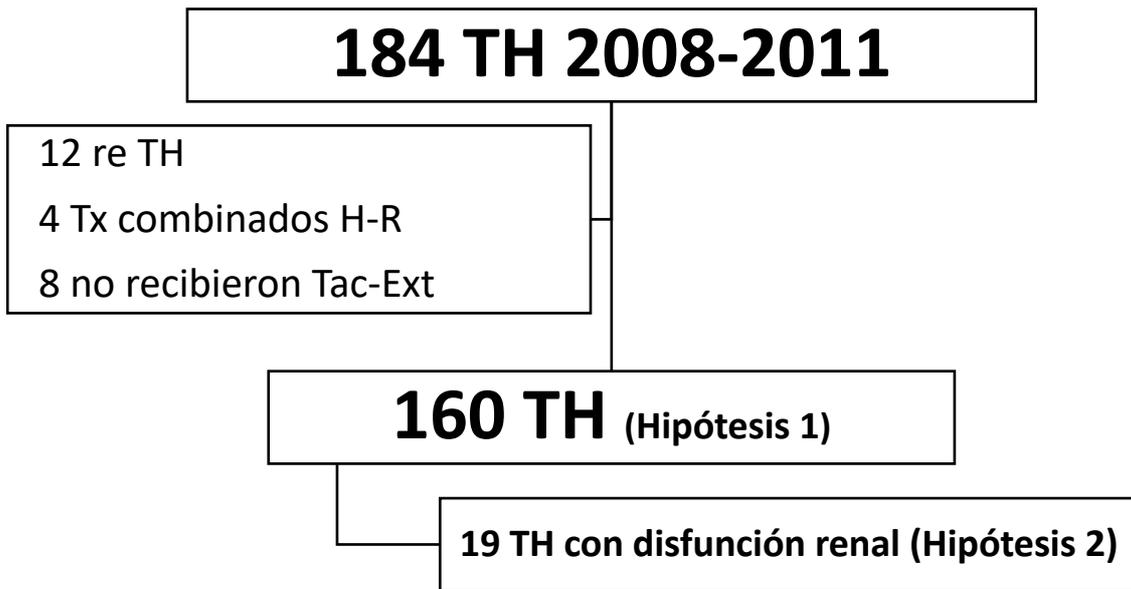


Figura 4.1.1. Pacientes incluidos en la primera parte del estudio

Para el estudio de la tercera hipótesis que pretendía estudiar la influencia de los niveles precoces en los resultados a largo plazo, se consideró adecuado excluir aquellos pacientes que habían recibido tratamiento de inducción con anticuerpos y Tac-ext introducido tardíamente por la posibilidad de que esto pudiera constituir un sesgo para el análisis de los niveles precoces de tacrolimus. En esta situación, la cohorte inicial resultaba pequeña para ser dividida en dos grupos de comparación. Se consideró necesario, por tanto, ampliar la cohorte incluyendo los pacientes trasplantados hasta mayo de 2012. Así, en esta parte del estudio, se incluyeron 237 pacientes. Como en la cohorte inicial, los re-trasplantes y los trasplantes combinados (hepato-renales) fueron excluidos del estudio, pero también lo fueron aquellos pacientes que recibieron tratamiento de inducción con anticuerpos o los que fallecieron durante la primera semana postTH (Figura 4.1.2.).

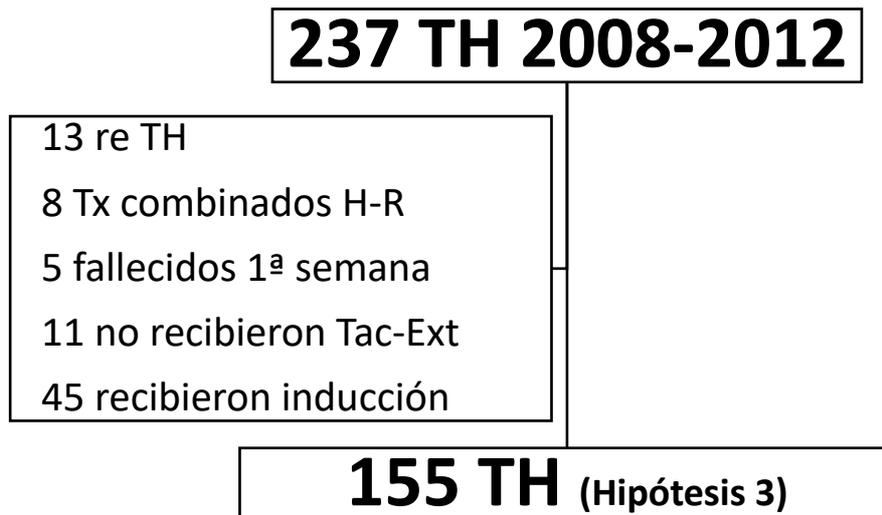


Figura 4.1.2. Pacientes incluidos en la segunda parte del estudio

Finalmente, la cohorte de estudio consistió en 155 que fueron divididos en dos grupos de acuerdo con el nivel medio de tacrolimus durante el primer mes post-TH: nivel medio de tacrolimus ≤ 10 ng/ml o >10 ng/ml. Se utilizó un mínimo de 5 muestras para obtener el nivel medio de tacrolimus durante el primer mes.

Todos los pacientes con hepatocarcinoma incluidos en los estudios cumplían los criterios de Milán.

En ambas cohortes, los pacientes fueron seguidos hasta diciembre de 2014.

Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado para su inclusión en la base de datos de carácter prospectivo. Esta base de datos recibió la aprobación del Comité Ético del Hospital Universitario Cruces (código CEIC E13/08). Los estudios realizados desde esta base fueron dispensados de la necesidad de una aprobación específica por parte del comité dado su carácter retrospectivo.

4.2. Tratamiento inmunosupresor en la fase inicial

La inmunosupresión inicial en los pacientes estándar sin disfunción renal se basó en Tac-ext y esteroides a una dosis de 20 mg/día desde el día +1 post-TH. Tac-ext se inició el primer día post-TH por vía oral o por sonda nasogástrica. La dosis inicial de Tac-ext fue de 0.15 mg/kg/día o 0.1mg/kg/día si también se usaba MMF. MMF se incluyó en aquellos pacientes que presentaban disfunción renal en el periodo periTH. En los pacientes con diabetes mellitus, se evitaron los esteroides.

Los niveles diana de tacrolimus fueron 5-10 ng/ml durante las primeras 3 semanas post-TH. Sin embargo, estos no eran niveles obligados de tal forma que, en pacientes con niveles por debajo de 5 ng/ml pero con función hepática normal, no se indicó un aumento de la dosis. Los niveles de tacrolimus se monitorizaron regularmente cada 48 horas durante el periodo de hospitalización.

4.3. Tratamiento inmunosupresor de mantenimiento

Tras el alta hospitalaria y hasta la retirada del tubo de Kehr en el tercer mes post-TH (la reconstrucción biliar estándar en nuestro centro era la coledoco-coledocostomía termino-terminal con tubo de Kehr), los pacientes se controlaron semanalmente a nivel domiciliario y cada dos semanas en consultas externas. A partir de ese momento, el control fue mensual durante el primer año y posteriormente cada 2-3 meses. A partir del tercer año, los pacientes sin problemas importantes fueron controlados cada 4-6 meses.

Los niveles diana de tacrolimus se fueron reduciendo progresivamente durante el seguimiento: 4-9 ng/ml entre el mes 3 y 6; 3-8 ng/ml hasta el primer año y <7 ng/ml a partir del primer año post-TH. Los esteroides se retiraron entre el 3 y 4 mes post-TH; sin

embargo, se indicó una retirada lenta hasta los 12-18 meses en aquellos pacientes HVC positivos. En pacientes con enfermedades autoinmunes, los esteroides se mantuvieron con una dosis de 5 mg/día. La duración del tratamiento con MMF fue individualizada según requerimientos clínicos y efectos adversos.

Durante el seguimiento, el tratamiento inmunosupresor se ajustó de acuerdo con criterios clínicos. No se utilizó ningún método específico para estudiar la adherencia de los pacientes al tratamiento inmunosupresor.

4.4. Tratamiento inmunosupresor en los pacientes con disfunción renal pre-TH

En aquellos pacientes con disfunción renal pre-TH definida por una FGE <60 ml/min/1.73 m², la inmunosupresión se basó en el uso de AntiCD25 como inducción junto con MMF a dosis de 1 gr/12h y esteroides, introduciendo de forma diferida el Tac-ext cuando la función renal hubiera mejorado (mínimo FGE >50 ml/min/1.73 m²) a una dosis de 0.07 mg/kg/día. Este protocolo también se siguió en aquellos pacientes con mala función renal durante el procedimiento del TH. En estos pacientes, el nivel diana de tacrolimus fue de 4-6 ng/ml durante el primer año post-TH y <4 ng/ml durante el resto del seguimiento.

4.5. Rechazo celular agudo

Se sospechó la existencia de un rechazo celular agudo (RCA) en pacientes con alteración de la función hepática en combinación con bajos niveles de tacrolimus tras haber descartado otras posibles causas. Ante la sospecha de RCA, el primer paso fue el incremento de los niveles de tacrolimus. En caso de persistencia de disfunción hepática

con niveles adecuados de tacrolimus, se indicó la realización de una biopsia hepática. Todos los RCA recogidos fueron probados mediante biopsia, evaluados por un patólogo local y estratificados de acuerdo con la clasificación de Banff¹³³. En caso de RCA probado por biopsia, se procedió a incrementar de nuevo el nivel de tacrolimus como primer paso; se utilizaron bolos de esteroides de 500 mg de prednisona en caso de RCA severo o si persistía la disfunción hepática a pesar de los ajustes de inmunosupresión.

4.6. Definiciones

La disfunción renal pre-TH se definió como FGE < 60 ml/min/ 1.73 m² en el momento del TH de acuerdo con la fórmula Modification of Diet in Renal Disease 4 (MDRD4). La enfermedad renal crónica (ERC) se definió y clasificó de acuerdo con la guía Kidney Disease: Improving Global Outcome (KDIGO)¹³⁴. El síndrome metabólico se definió de acuerdo con definiciones previas¹³⁵. Se diagnosticó una diabetes mellitus de novo cuando la glucemia en ayunas era >126 mg/dl de forma repetida. Se diagnosticó una dislipemia cuando fue necesario instaurar tratamiento para controlar un colesterol o triglicéridos elevados.

4.7. Análisis estadístico

Las variables cualitativas se describen como porcentajes mientras las variables cuantitativas se describen usando medias con desviación estándar o medianas con rango intercuartílico (RIC) dependiendo de la distribución de los datos. La supervivencia de los pacientes y de los injertos se analizaron mediante el método Kaplan-Meier. Los pacientes perdidos en el seguimiento fueron censurados para la supervivencia en su última visita.

Definimos pérdida del injerto cuando fue necesario un trasplante o se observó un fallecimiento con un hígado con disfunción. El fallecimiento del paciente con un injerto normofuncionante fue censurado en el análisis de la supervivencia del injerto. El test log-rank se utilizó para estudiar la supervivencia de los pacientes y la evolución de la función renal cuando la cohorte se dividió en tres diferentes grupos de MELD score. El estudio estadístico se realizó mediante SPSS versión 22.0.

Para el estudio de la tercera hipótesis, las comparaciones entre frecuencias de los dos grupos de estudio se realizaron usando el test de Chi cuadrado o el test de Fisher. Las variables continuas se compararon mediante el test de Kruskal-Wallis. La supervivencia de pacientes e injertos se analizó con el método de Kaplan-Meier. Para ello, los pacientes perdidos en el seguimiento se censuraron en su última visita, la pérdida de un injerto se definió como trasplante o fallecimiento con un hígado no funcionante mientras que el fallecimiento con hígado funcionante fue censurado. El test log-rank se usó para comparar la supervivencia entre grupos. Se realizó un análisis univariante de regresión de Cox para identificar los factores relacionados con la mortalidad de los pacientes y la pérdida de los injertos. Aquellas variables con una $p < 0,05$ se incluyeron en un análisis multivariante de regresión de Cox. Las variables con una p más elevada fueron excluidas uno a uno hasta que todas las variables tuvieron una $p < 0,05$. El estudio estadístico se realizó mediante la actualización del programa SPSS versión 23.0.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. RESULTADOS A LARGO PLAZO DE LA POBLACIÓN GENERAL

La cohorte de estudio consistió en 160 pacientes (Figura 4.1.1.) con una mediana de seguimiento de 57,6 meses (RIC 46,6-69,0). Los resultados de esta parte del estudio fueron publicados en la revista Liver Transplantation en 2016¹⁴

Las características de los donantes y receptores se resumen en la Tabla 5.1.1.

Tabla 5.1.1. Características de los donantes y receptores

DONANTES	160 donantes n (%)
Edad, años (media \pm DS)	57 \pm 17,2
Varones	96 (60,3%)
Causa de muerte	
ACV	105 (65,6%)
Traumatismo	34 (21,4%)
Otra	20 (12,5%)
Esteatosis del injerto \geq 30%	10 (6,7%)
RECEPTORES	160 receptores n (%)
Edad, años (media \pm DS)	54.9 \pm 8.9
Varones	125 (78,6%)
MELD*	14,9 \pm 5,8
Hepatocarcinoma	69 (43,1%)
Indice de masa corporal	26,9 \pm 4,1
Causa de la cirrosis	
Alcohol	78 (49%)
Virus C	50 (31,5%)
Enfermedad colestásica	6 (3,8%)
Otra	25 (15,7%)
Antecedentes médicos	
Disfunción renal	23 (14,4%)
Diabetes mellitus	30 (18,8%)
Hipertensión arterial	28 (17,6%)

*MELD, Model for end-stage Liver Disease

En relación con la inmunosupresión, 28 pacientes (17,5%) fueron tratados con terapia de inducción con AntiCD25 mientras que en 60 pacientes (37,5%) se asoció MMF como se observa en la Tabla 5.1.2.

Table 5.1.2. Tratamiento inmunosupresor inicial

	160 pacientes n (%)
Inhibidores de receptores de IL-2	28 (17,5%)
Corticosteroides	133 (83,0%)
Mycophenolate mofetil	60 (37,5%)
Dosis inicial de tacrolimus por día, mg (media \pm DS)	10,2 \pm 2,5
Dosis de tacrolimus por Kg y día, mg/kg (media \pm DS)	0,13 \pm 0,2
Nivel medio de tacrolimus hasta el día +15 (ng/ml)	8,33 \pm 4,1

La doble terapia con Tac-ext y esteroides o MMF se utilizó en el 71,9% de los pacientes mientras que la triple terapia con Tac-ext, MMF y esteroides en el 10,6%.

Los niveles medios de tacrolimus durante el tiempo del estudio se presentan en la Figura 5.1.1.

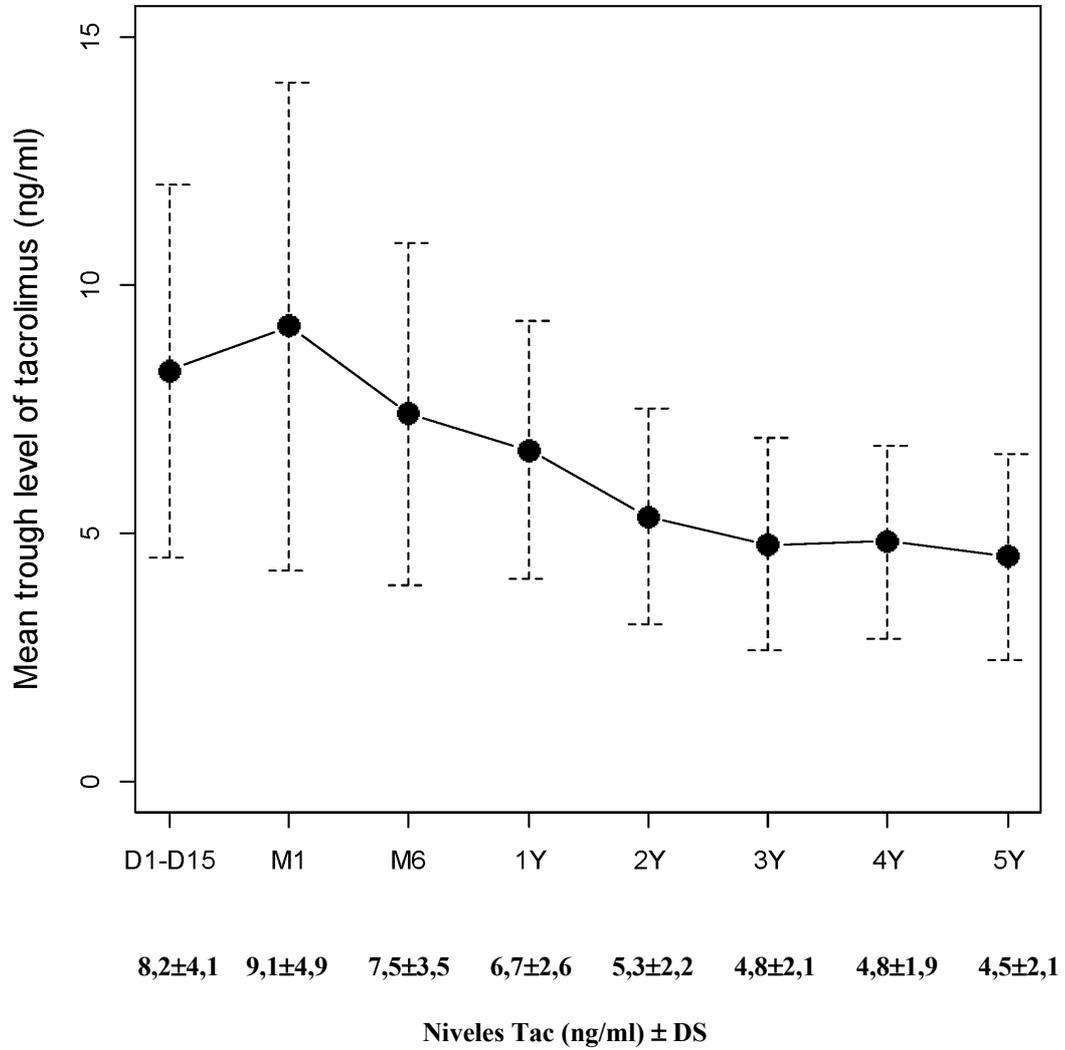


Figura 5.1.1. Evolución de los niveles medios de tacrolimus

No se requirió un ajuste de la dosis inicial del Tac-ext durante los primeros 15 días tras el TH en el 15,7% de los receptores mientras que un 69,2% de ellos necesitaron entre 1 y 2 ajustes de dosis en ese periodo de tiempo y el 15,1% necesitó entre 3 y 4 ajustes como se observa en la Figura 5.1.2.

La mediana de la estancia hospitalaria fue de 17 días (RIC 14-25).

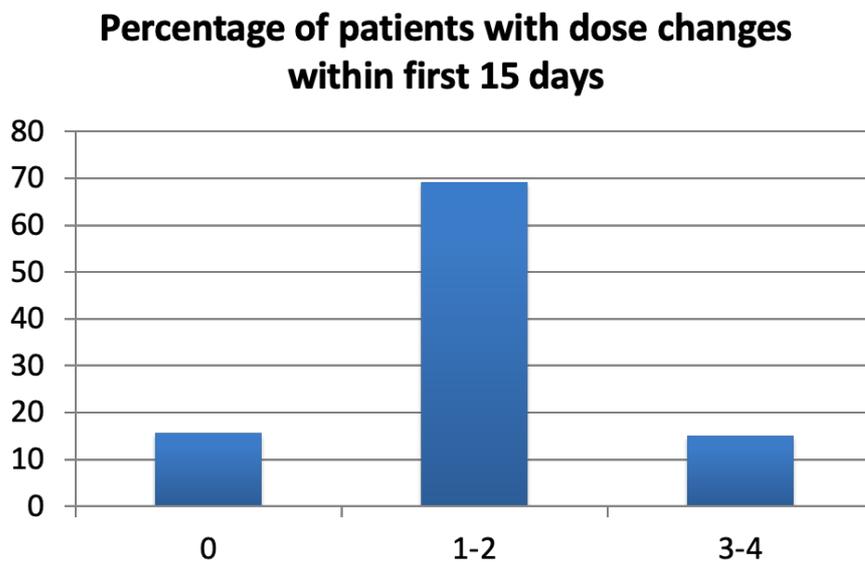


Figura 5.1.2. Ajustes de dosis de Tac-ext durante los primeros 15 días. Eje de ordenadas: proporción de pacientes. Eje de abscisas: número de ajustes de dosis.

Una parte de los resultados se presentan en la Tabla 5.1.3.

Table 5.1.3. Resultados a corto y largo plazo

	160 pacientes n (%)
Rechazo celular agudo	20 (12,5%)
Grado del rechazo	
Ligero	1 (5%)
Moderado	18 (95%)
Bolus de esteroides	11 (6,8%)
Rechazo corticoresistente	-
Reintervención precoz	6 (3,7%)
Trombosis de arteria hepática	3 (1,8%)
Complicaciones biliares	25 (15,7%)
Retrasplante	9 (5,6%)
Causa del retrasplante*	
Fallo primario del injerto	2 (22,2%)
Complicación biliar	2 (22,2%)
Recidiva virus C	2 (22,2%)
Otra	3 (33,3%)
Tumor <i>de novo</i> **	19 (1,3%)
Recidiva hepatocarcinoma [¶]	2 (2,9%)
Retirada de tacrolimus	35 (21,8%)
Causas de retirada	
Neurotoxicidad	3 (8,6%)
Disfunción Renal	15 (42,8%)
Síndrome Metabólico	10 (28,6%)
Síndrome Metabólico + Disfunción Renal	3 (8,6%)
Otra [#]	4 (11,4%)

* Porcentaje sobre 9 retrasplantes.

** Tipos de neoplasia: 6 piel, 4 cabeza y cuello, 4 gastrointestinal, 2 próstata y pulmón, B linfoma y neurinoma del acústico.

[¶] Porcentaje sobre 69 pacientes con hepatocarcinoma antes del TH.

[#] 2 tumores de novo, Riesgo CV + colangiocarcinoma incidental, Colitis ulcerosa con resección intestinal.

La incidencia de RCA fue del 12,5% (20 pacientes). 15 pacientes desarrollaron el RCA durante el primer mes postTH. En el día de la biopsia hepática, el nivel medio de tacrolimus de estos pacientes con RCA durante el primer mes fue de $6,3 \pm 3,4$ ng/ml que era menor que el nivel medio para el conjunto de la cohorte ($8,3 \pm 4,1$ ng/ml). El 95% de los rechazos fueron moderados; sin embargo, solo 11 pacientes necesitaron bolus de esteroides ya que el resto respondió a la elevación de la dosis de tacrolimus. Ningún paciente necesitó un segundo ciclo de tratamiento esteroideo.

El FGE descendió desde una media de $100.3 \pm 38,6$ ml/min/ 1.73 m^2 antes del TH a $75,7 \pm 19,6$ ml/min/ 1.73 m^2 a los 6 meses tras el TH, manteniéndose estable a partir de ese momento. El FGE a los 5 años de seguimiento fue de $77,7 \pm 19,6$ ml/min/ 1.73 m^2 . La evolución del FGE se presenta en la Figura 5.1.3.

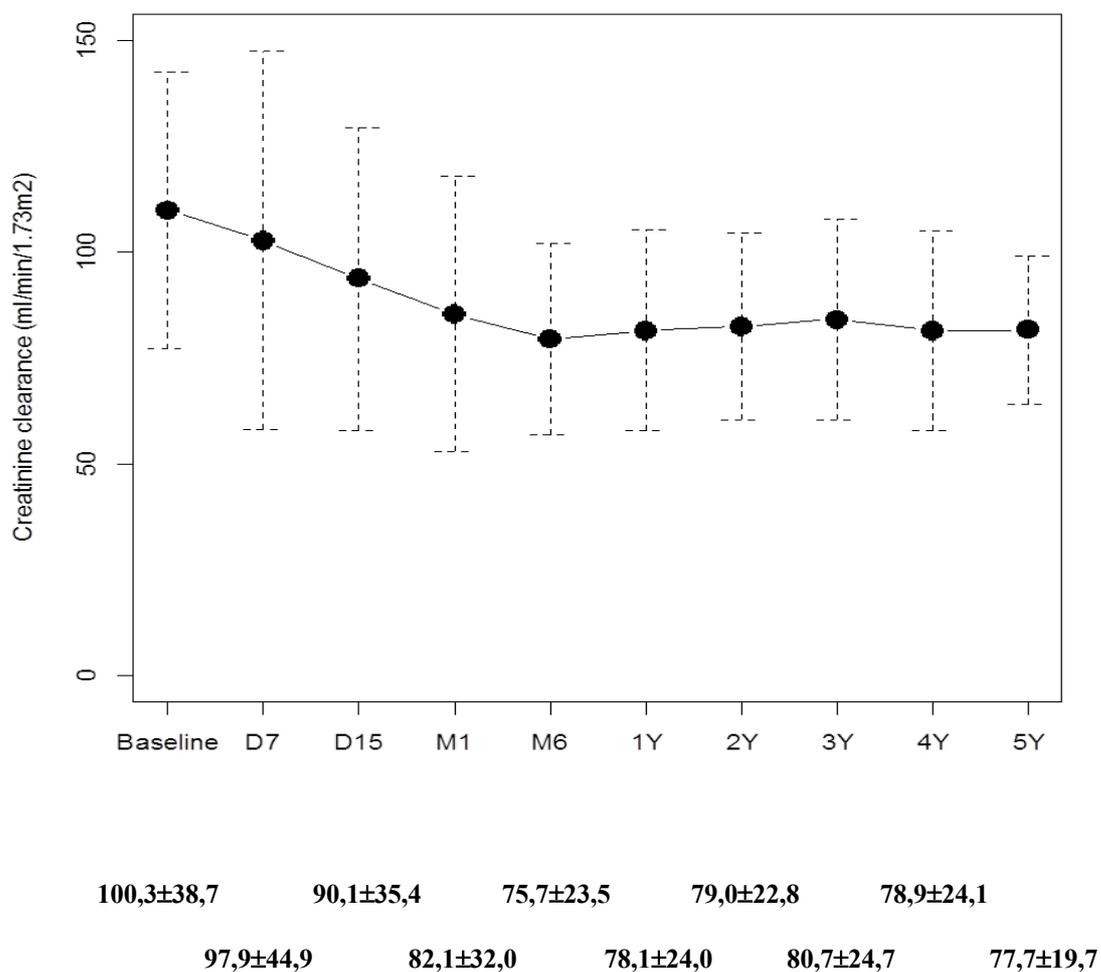


Figura 5.1.3. Evolución del filtrado glomerular estimado. FGE ml/min/ $1.73 \text{ m}^2 \pm \text{DS}$

La función renal a largo plazo de los pacientes MELD >25 fue comparable a la observada en pacientes trasplantados con un MELD menor (Figura 5.1.4.).

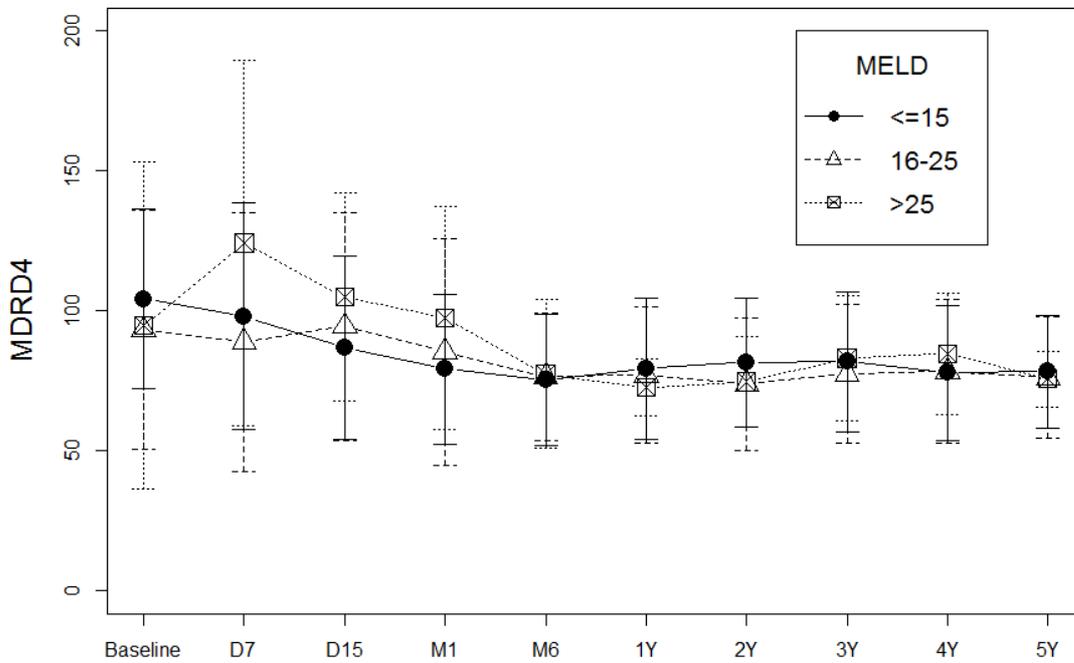


Figure 5.1.4. Evolución de la función renal de acuerdo a la puntuación MELD antes de TH.

Al final del seguimiento, 86 pacientes (55,8%), incluyendo 19 pacientes con disfunción renal preTH, desarrollaron enfermedad renal crónica: 49 pacientes (31,8%) presentaban un estadio 2 según la KDIGO y 37 (24,0%) un estadio 3. Ningún paciente desarrolló disfunción renal crónica estadio 4 o 5 (Tabla 5.1.4.).

Tabla 5.1.4. Efectos adversos

	Hospitalización n = 160	Seguimiento n = 154
Infección	34 (21,4%)*	47 (30,5%) [§]
Bacteriana	22 (64,7%)	11 (23,4%)
Viral, excluido CMV	8 (23,5%)	3 (6,4%)
CMV	5 (14,7%)	34 (72,3%)
Fúngica	6 (17,6%)	2 (4,3%)
Disfunción renal		
Aguda	39 (24,3%)	5 (3,1%)
Crónica Estadio 2	0	49 (31,8%)
Estadio 3	0	37 (24%)
Neurotoxicidad	10 (6,3%)	33 (21,4%)
Temblor	4 (2,5%)	31 (20,1%)
Cefalea	0	2 (1,3%)
Disartria	4 (2,5%)	0
Otra	2 (1,2%)	0
<i>De-novo</i> diabetes mellitus	-	26 (16,3%)
<i>De-novo</i> necesidad de insulina	-	18 (11,3%)
<i>De-novo</i> Hipertensión	-	48 (31,1%)
<i>De-novo</i> Dislipemia	-	10 (6,5%)

* 6 pacientes presentaron 2 infecciones diferentes; [§]3 pacientes presentaron 2 infecciones diferentes.

CMV, citomegalovirus

Los efectos adversos más habituales tras el TH están recogidos en la Tabla 5.1.4. La infección bacteriana fue el tipo de infección más frecuente durante el periodo de

hospitalización (64,7%) mientras que la infección por CMV fue la más frecuente durante el seguimiento (72,3% del total de infecciones).

Cuarenta y tres pacientes (27,7%) desarrollaron neurotoxicidad. En 10 casos, esta neurotoxicidad se observó en el postoperatorio inmediato (en 3 pacientes Tac-ext fue retirado).

En 35 pacientes (21,9%), el Tac-ext tuvo que ser retirado durante el seguimiento. La retirada precoz, durante las primeras 2 semanas, se realizó en 3 pacientes por neurotoxicidad con recuperación completa tras cambiar la base de la inmunosupresión a ciclosporina en dos casos y everolimus en uno. La retirada tardía se debió, principalmente, al desarrollo de disfunción renal, a la evolución de la ya existente o al desarrollo de un síndrome metabólico. El tiempo de seguimiento medio entre el TH y la retirada del Tac-ext fue de $41,0 \pm 10,5$ meses en los 18 pacientes en los que la razón fue una disfunción renal. El FGE en estos pacientes en el momento de la retirada era de $54,7 \pm 8,8$ ml/min/1.73 m². Tras la retirada, la inmunosupresión se mantuvo con MMF monoterapia en 15 pacientes y everolimus en 2 pacientes. Un paciente con DM severa y disfunción renal se pasó a tacrolimus estándar 3 meses tras el TH. Todos los pacientes con síndrome metabólico se mantuvieron con MMF.

Al final del seguimiento, un 44,3% de los pacientes se mantenía con Tac-ext en monoterapia, un 22,8% en combinación Tac-ext con MMF y un 18% de los pacientes recibía monoterapia con MMF.

La evolución de la inmunosupresión a lo largo del seguimiento puede verse en la Figura 5.1.5.

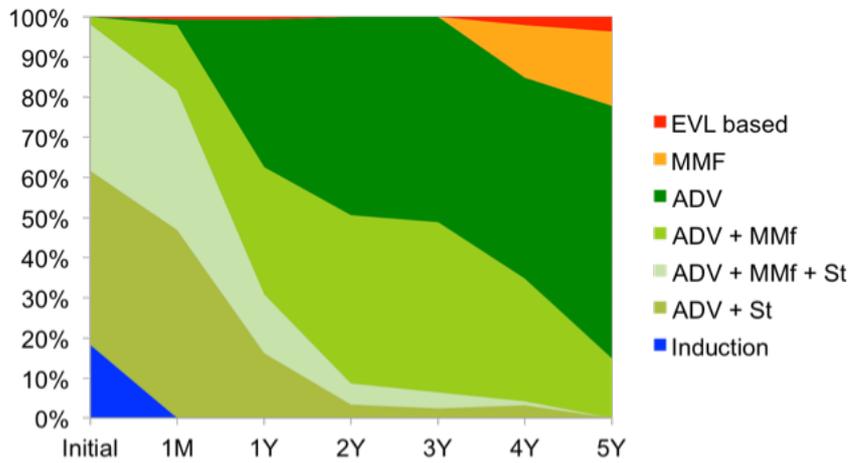


Figura 5.1.5. Evolución del tratamiento inmunosupresor

Observamos complicaciones biliares en 25 pacientes (15,7%) (Tabla 5.1.3); siendo la estenosis anastomótica (5%) y la fístula alrededor del tubo de Kehr (5%) las más frecuentes. Solo dos pacientes (1,2%) desarrollaron algún tipo de colangiopatía isquémica.

Diecinueve pacientes (11,9%) fallecieron durante el seguimiento. La causa más frecuente de mortalidad fue la recurrencia del virus C seguida por el tumor *de novo* (Tabla 5.1.5.). Solo 2 pacientes fallecieron durante el postoperatorio inmediato lo que supone una mortalidad hospitalaria de 1,2%.

Tabla 5.1.5. Mortalidad tras el TH

N = 160 casos	
Mortalidad	
Precoz (antes del alta)	2 (1,2%)
Tardía (tras el alta)	17 (10,6%)
Causa de fallecimiento*	
Sepsis	3 (15,7%)
Recidiva virus C	9 (47,3%)
Tumor <i>de novo</i>	4 (21,0%)
Recidiva hepatocarcinoma	1 (5,3%)
Cardiovascular	2 (10,5%)

* Porcentaje sobre el total de fallecimientos

La supervivencia de los pacientes a 1, 3 y 5 años fue 96,3%, 91,9% y 88,3% (Figura 5.1.6.).

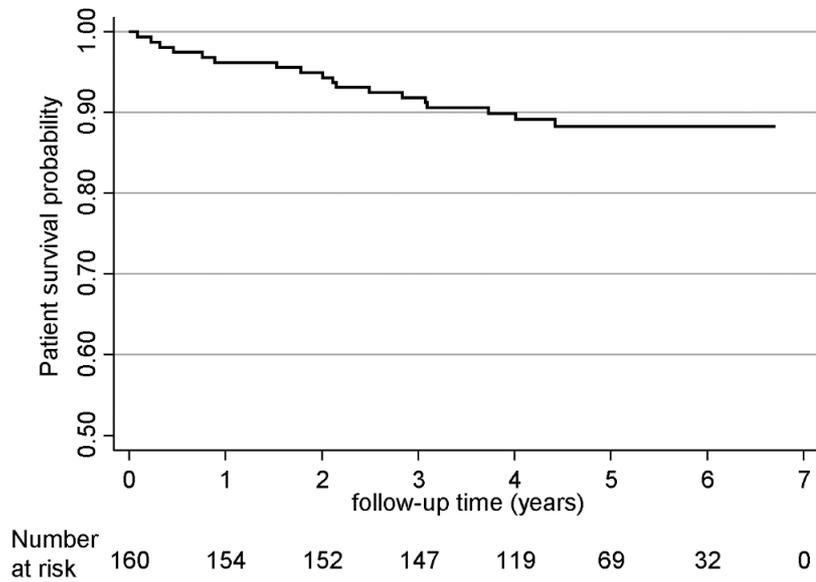


Figura 5.1.6. Supervivencia de los pacientes

La supervivencia de los injertos a 1, 3 y 5 años fue 96,2%, 90,4% y 87,9% (Figura 5.1.7.).

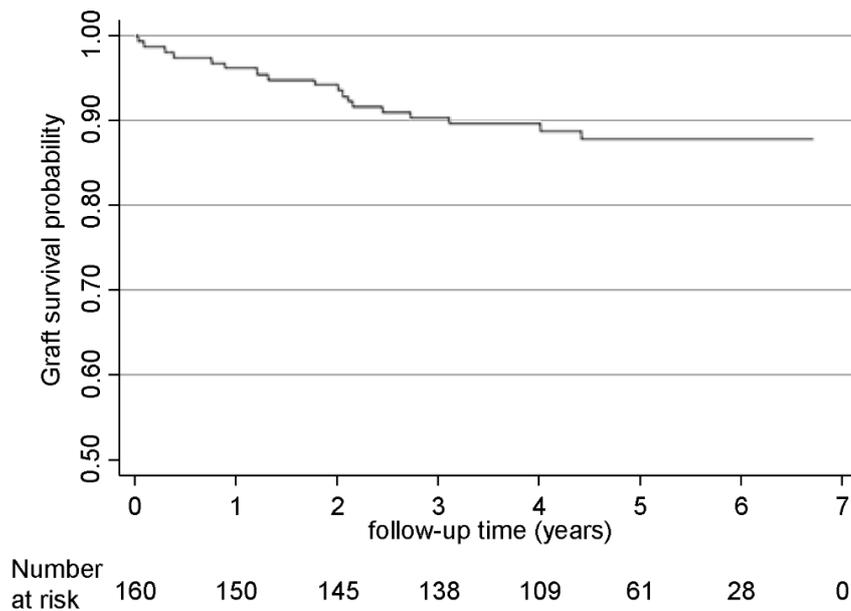


Figura 5.1.7. Supervivencia de los injertos

5.2. RESULTADOS A LARGO PLAZO EN LA POBLACIÓN DE PACIENTES CON DISFUNCIÓN RENAL PRETRASPLANTE

La cohorte de estudio en este grupo concreto de pacientes consistió en 19 pacientes con FGE <60 ml/min/1.73 m², sin necesidad de tratamiento sustitutivo renal, que recibieron tratamiento inicial con inducción mediante Ac anti CD25, MMF y esteroides y a los que se introdujo Tac-ext de forma diferida y reducida como forma de preservar la función renal en el periodo inmediato postTH (Figura 4.1.1.). La mediana de seguimiento de estos pacientes fue de 56,4 meses (rango 11-78). Los resultados del estudio de esta población tan específica de pacientes fueron publicados en la revista *Transplantation Proceedings* en 2020¹³⁶.

Las características de los donantes y receptores se resumen en la Tabla 5.2.1.

Tabla 5.2.1. Características de donantes y receptores en pacientes con disfunción renal preTH

N = 19 CASOS	
DONANTES	
Edad (años)	59.9 ± 17.2
Varones	13 (68.4)
Causa de muerte	13 (68.4)
ACV	3 (15.8)
Trauma	3 (15.8)
Otras	3 (15.8)
RECEPTORES	
Edad (años)	56.0 ± 11.3
Varones	11 (57.9)
Causa de trasplante	
Alcohol	10 (52.6)
HVC	4 (21.1)
HVB	2 (10.5)
Otras	3 (15.8)
MELD	21.6 ± 9.6
Pre-TH FGE (mL/min)	45.9 ± 10.9
Tiempo de isquemia fría (min)	384.5 ± 11.3
Mycophenolate Mofetil en día +15	16 (84.4)
Introducción de Tacrolimus (día)	7 (3-12)

El FGE medio de los pacientes antes del TH fue 45 ± 10,9 ml/min/ 1.73 m².

Tras la inducción con antiCD25, los pacientes recibieron triple terapia con TAC-ext + MMF + esteroides en el 75% de los casos, Tac-ext + esteroides en el 15% y Tac-ext + MMF, por tratarse de pacientes con DM, en el 10%. La mediana de introducción de Tac-ext fue de 7 días (rango 3-12).

La evolución de los niveles medios de tacrolimus se presenta en la Figura 5.2.1. Los niveles medios de tacrolimus se mantuvieron dentro de protocolo durante todo el seguimiento y fueron inferiores a los mantenidos para la cohorte general.

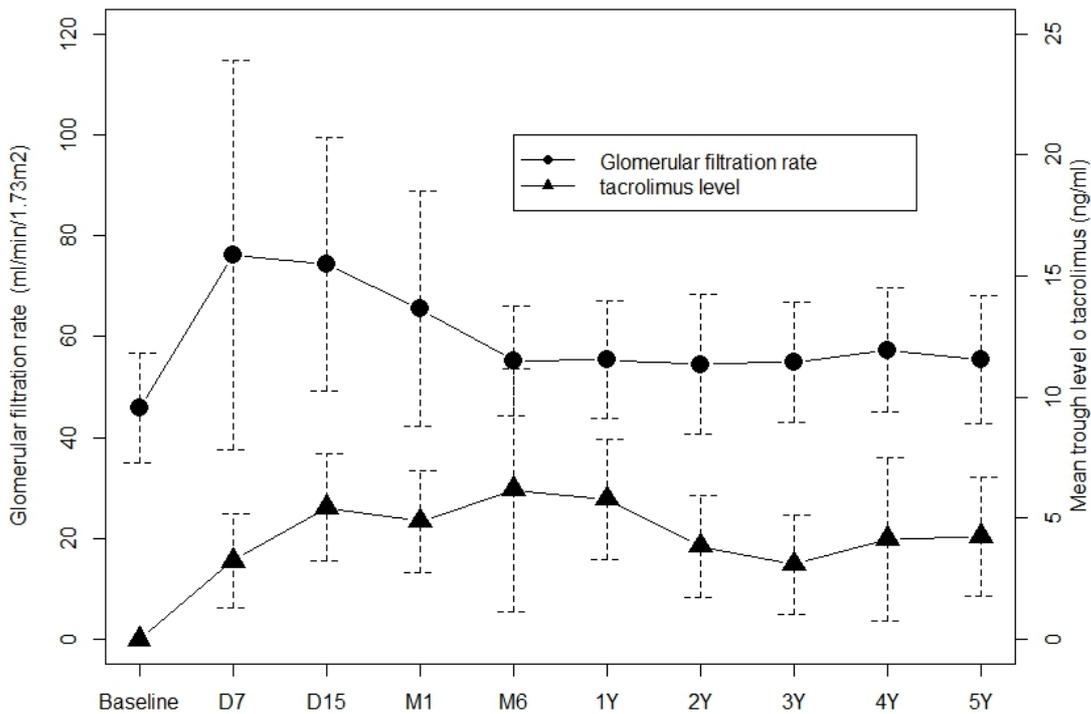


Figura 5.2.1. Evolución del nivel de tacrolimus y de la función renal

La mediana de estancia en el hospital fue de 18 días (rango 14-47).

Tres pacientes desarrollaron RCA demostrado por biopsia (15,8%) y solo uno de ellos necesitó tratamiento con bolus de esteroides.

La evolución del FGE se presenta en la Figura 5.2.1. El FGE medio a los 5 años fue de $55,3 \pm 12,7$ ml/min/ 1.73 m², lo que suponía un incremento del 22,2% respecto al FGE preTH. Ninguno de los pacientes necesitó diálisis o trasplante renal durante el seguimiento.

Tac-ext fue retirado en 6 pacientes (31,6%) tras un seguimiento mínimo de 3 años debido a la evolución de la disfunción renal en todos los casos, combinada con el desarrollo de un síndrome metabólico en 2 pacientes. Cuatro pacientes mantuvieron con monoterapia de MMF mientras que en dos se inició tratamiento con EVL. Tras 5 años de seguimiento, 3 pacientes (15,7% del total) se mantenían en tratamiento con monoterapia de MMF.

La evolución de la inmunosupresión a lo largo del seguimiento puede verse en la Figura 5.2.2.

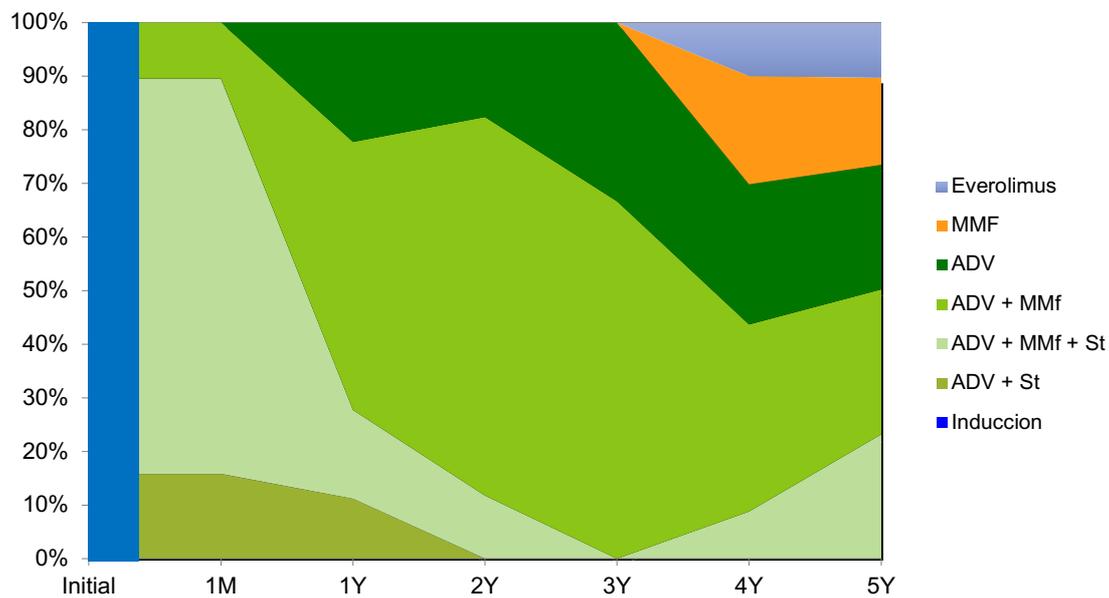


Figura 5.2.2. Evolución del tratamiento inmunosupresor

Cuatro pacientes fallecieron durante el seguimiento debido a una recurrencia del virus C (tres casos) y un tumor de novo (1 caso). Todos los fallecimientos ocurrieron antes del tercer año. La supervivencia de los pacientes a 1, 3 y 5 años fue de 94,7%, 78,9% y 78,9%, respectivamente (Figura 5.2.3.). La supervivencia de los injertos a 1,3 y 5 años fue del 94,7%, 77,6% y 77,6%, respectivamente (Figura 5.2.4.)

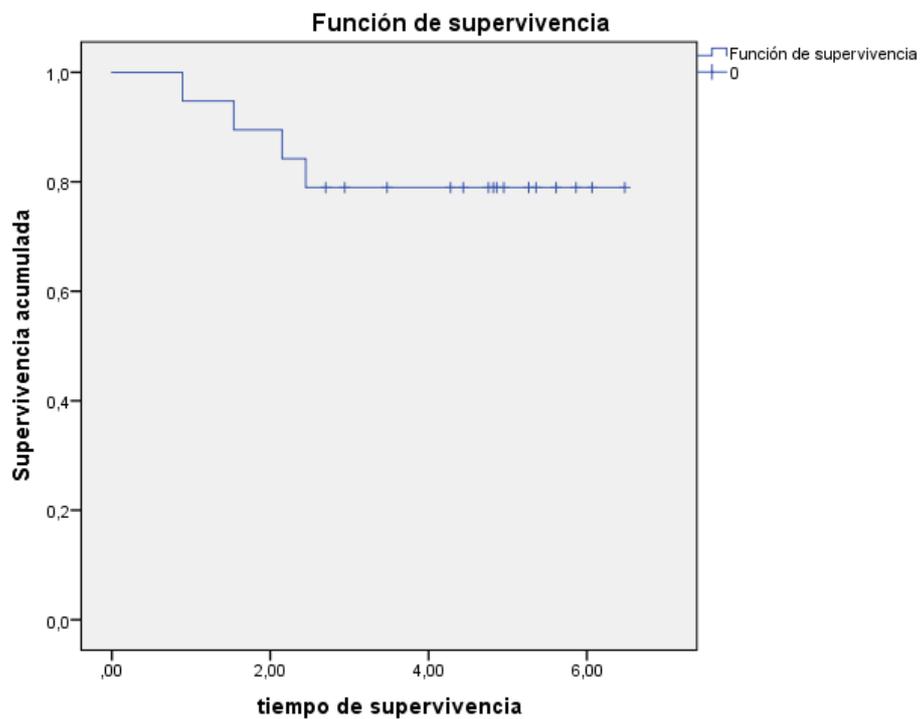


Figura 5.2.3. Supervivencia estimada de los pacientes

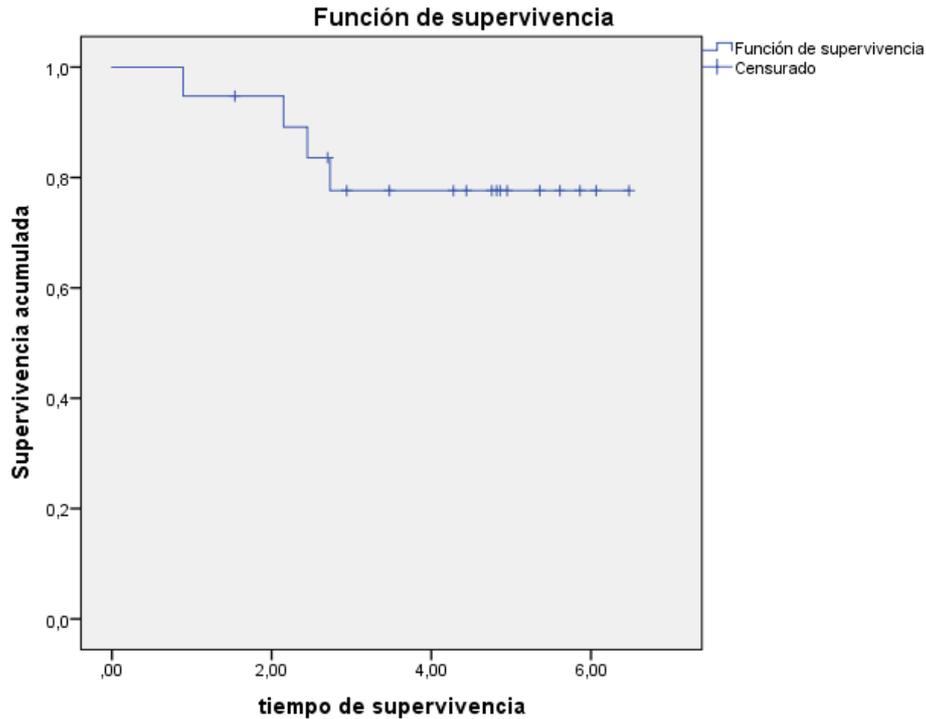


Figura 5.2.4. Supervivencia estimada de los injertos

5.3. RESULTADOS DEL ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LOS NIVELES INICIALES POSTRASPLANTE EN LOS RESULTADOS A LARGO PLAZO

Para el estudio de esta influencia, además de excluir los trasplantes, los trasplantes combinados y aquellos pacientes que fallecieron durante la primera semana post-TH, también se consideró adecuado excluir aquellos pacientes con disfunción renal peri-TH ya que en estos pacientes el uso de una inmunosupresión basada en inducción e introducción tardía y reducida de Tac-ext podría suponer un sesgo importante en los niveles medios de tacrolimus durante las primeras semanas post-TH.

La cohorte de estudio para esta hipótesis fue de 155 pacientes divididos en dos grupos según el nivel medio de tacrolimus durante el primer mes. Noventa y ocho pacientes fueron incluidos en el grupo de nivel medio de tacrolimus ≤ 10 ng/ml y 57 pacientes en el

grupo de nivel medio <10 ng/ml. La mediana de seguimiento de estos pacientes fue de 56,4 meses (RIC 11-78).

Los resultados del estudio de esta tercera hipótesis fueron publicados recientemente en el *World Journal of Hepatology*¹³⁷.

Las características de los donantes y los receptores se resumen en la Tabla 5.3.1. No se observaban diferencias en las características de los receptores entre los dos grupos de estudio. La única diferencia significativa observada fue que los donantes del grupo >10 ng/ml eran de mayor edad y, consecuentemente, la causa de muerte de los donantes fue más frecuentemente el accidente cerebro vascular. El uso de esteroides fue similar en los dos grupos mientras que el MMF se usó más frecuentemente en el grupo de tacrolimus ≤10 ng/ml (32,7% frente a 15,8% p=0.024)

Table 5.3.1.: Características de donantes y receptores incluidos en el estudio de la influencia de los niveles iniciales en los resultados a largo plazo

	≤10 ng/mL n = 98	>10 ng/mL n = 57	p
<u>DONANTES</u>			
Edad, años (media ± DS)	54,7 ± 17,5	62,9 ± 16,8	0,002
Varones	58 (59,2%)	35 (61,4%)	0,786
Causa de muerte			0,004
ACV	57 (58,2%)	48 (84,2%)	
Trauma	27 (27,6%)	6 (10,5%)	
Otra	14 (14,3%)	3 (5,3%)	
Esteatosis injerto	19 (19,6%)	12 (21,1%)	0,827
<u>RECEPTORES</u>			
Edad, años (media ± DS)	55,3 ± 8,4	53,2 ± 9,8	0,227
Varones	81 (82,7%)	48 (84,2%)	0,802
MELD (media ± DS)	13,1 ± 5,6	12,7 ± 5,3	0,618
Carcinoma Hepatocelular	45 (45,9%)	29 (50,9%)	0,551
Causa de trasplante			0,283
Alcohol	45 (45,9%)	24 (42,1%)	
Hepatitis virus C	40 (40,8%)	18 (31,6%)	
Hepatitis virus B	3 (3,1%)	5 (8,8%)	
Enfermedad colestásica	3 (3,1%)	4 (7%)	
Otra	7 (7,1%)	6 (10,5%)	
Situación clínica (Pre TH)			
MDRD4 (media ± DS)	107,8 ± 35,7	116,7 ± 33,7	0,223
Diabetes mellitus	18 (18,4%)	9 (15,8%)	0,683
Hipertensión arterial	12 (12,2%)	10 (17,5%)	0,362
Nivel medio de tacrolimus durante el mes 1 (ng/mL)	7,38 ± 1,68	12,62 ± 2,25	NA
Esteroides	80 (82,5%)	49 (86,0%)	0,571
Micophenolato mofetil	32(32,7%)	9 (15,8%)	0,024

Los niveles medios de tacrolimus durante el primer mes postTH fueron de $7,4 \pm 1,7$ y de $12,6 \pm 2,2$ ng/ml en los grupos de ≤ 10 ng/ml y de >10 ng/ml, respectivamente. Como se observa en la Figura 5.3.1., el nivel de tacrolimus descendió progresivamente en el grupo

de >10 ng/ml durante los primeros 3 meses. A partir de tercer mes, los niveles de tacrolimus de ambos grupos fueron comparables durante todo el seguimiento. Se observó una reducción progresiva de los niveles de tacrolimus a lo largo del seguimiento en los dos grupos de estudio (Figura 5.3.1.).

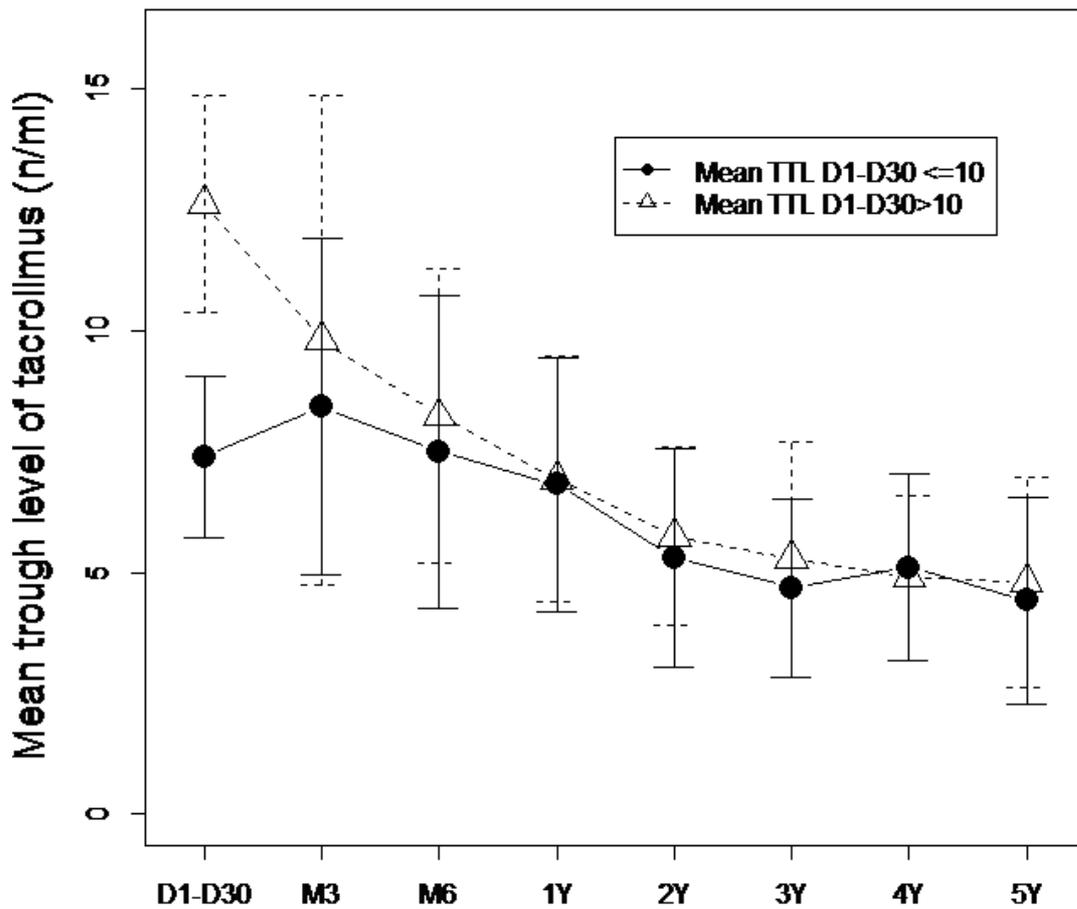


Figura 5.3.1. Evolución de los niveles de tacrolimus

Los resultados se presentan en la Tabla 5.3.2. No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos de estudio en relación con el desarrollo de rechazo celular agudo biopsiado, complicaciones biliares o arteriales, incidencia de infección, necesidad de

retrasplante o recurrencia del HCC o de la enfermedad viral. La incidencia de tumores de novo, HTA de novo y DM de novo también fue similar en ambos grupos.

Table 5.3.2: Resultados tras el trasplante hepático

	≤10 ng/mL n = 98	>10 ng/mL n = 57	p-valor
Rechazo agudo biopsiado	12 (12,2%)	5(8,8%)	0,505
Complicaciones arteriales	12 (12,2%)	7(12,3%)	0,995
Complicaciones biliares	13 (13,3%)	8 (14%)	0,893
Infección (de cualquier tipo)	49(50,0%)	26 (45,6%)	0,598
Infección por Citomegalovirus	26 (26,5%)	12 (21,1%)	0,445
Retrasplante	5 (5,1%)	5 (8,8%)	0,500
Recurrencia VHC*	1 (2,3%)	0	0,999
Recurrencia Hepatocarcinoma**	35 (87,5%)	14 (77,8%)	0,438
Tumor <i>De novo</i>	10 (10,2%)	5 (8,8%)	0,771
Hipertensión arterial <i>de novo</i>	35(36,1%)	19 (36,5%)	0,827
Diabetes Mellitus <i>de novo</i>	21 (21,6%)	6 (12,7%)	0,127
Retirada Tacrolimus. Causas:	18 (18,4%)	8 (14,0%)	0,486
<i>Insuficiencia renal</i>	7	1	
<i>Neurotoxicidad</i>	1	2	
<i>Síndrome metabólico</i>	6	4	
<i>Sínd. Metabólico + Insuf. renal</i>	1	-	
<i>Otras</i>	3	1	
MDRD-4 a 5 años (media ± DS)	82,5 ± 19,4	80,32 ± 14,7	0,686
Muertes. Causas:	10 (10,2%)	8 (14,0%)	0,827
<i>Recurrencia VHC</i>	5	3	
<i>Tumor de-novo</i>	1	2	
<i>Sepsis</i>	2	1	
<i>ACV</i>	0	1	
<i>Otras</i>	2	1	

* Sobre el total de pacientes VHC. ** Sobre el total de

pacientes con HCC preTH

Como se puede observar en la Figura 5.3.2., no hubo diferencias en la evolución de la función renal entre ambos grupos de estudio. El FGE decreció de forma similar en ambos grupos durante los primeros 6 meses para permanecer estable a partir de ese momento. A los 5 años, el FGE era de $82,5 \pm 19,3$ ml/min en el grupo de ≤ 10 ng/ml y de $80,3 \pm 14,7$ ml/min en el grupo de >10 ng/ml ($p= 0,686$).

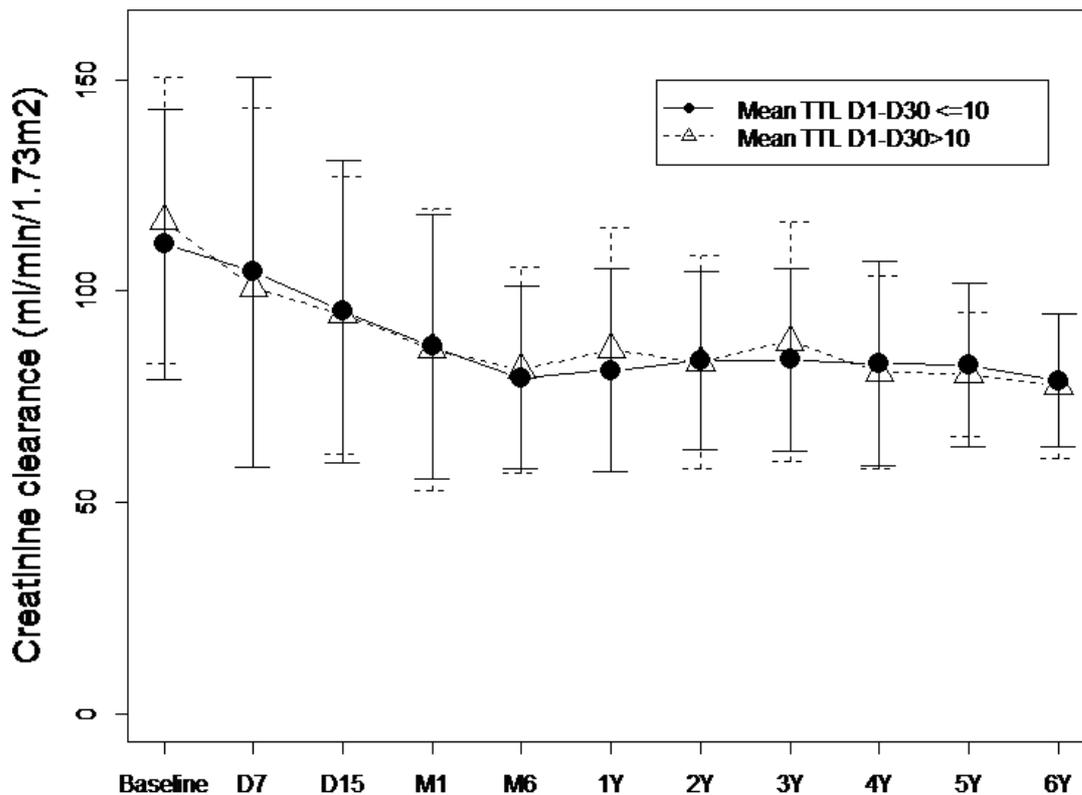


Figura 5.3.2. Evolución de la función renal

No se observaron diferencias en relación con la supervivencia tanto de los pacientes como de los injertos como se demuestra en las Figuras 5.3.3 y 5.3.4. La supervivencia de los pacientes a 5 años fue del 90,5% en el grupo de grupo de ≤ 10 ng/ml y del 84,9% en el grupo de >10 ng/ml ($p= 0,443$) mientras que la supervivencia de los injertos a 5 años fue

del 88,2% en el grupo de grupo de ≤ 10 ng/ml y del 85,8% en el grupo de >10 ng/ml ($p=0,426$)

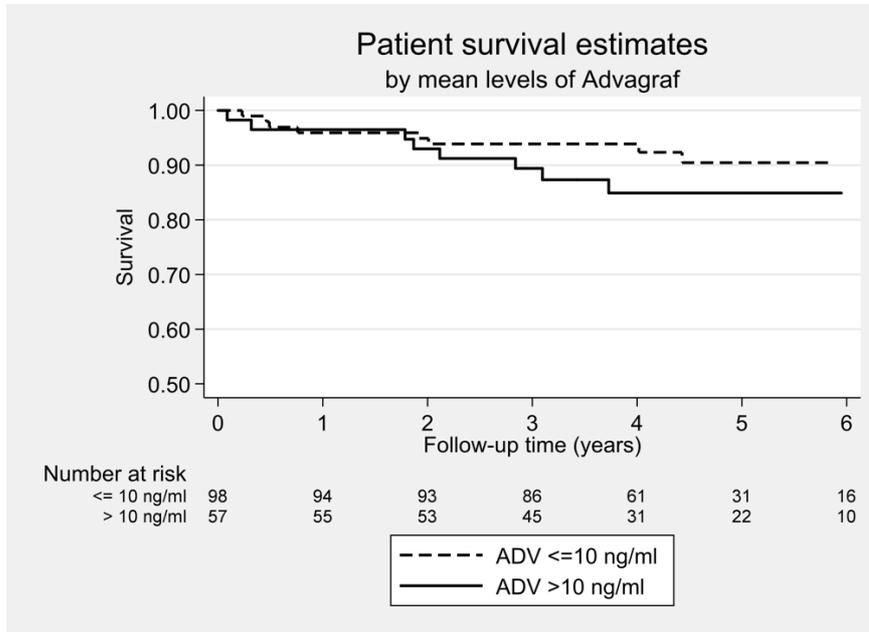


Figura 5.3.3. Supervivencia de los pacientes

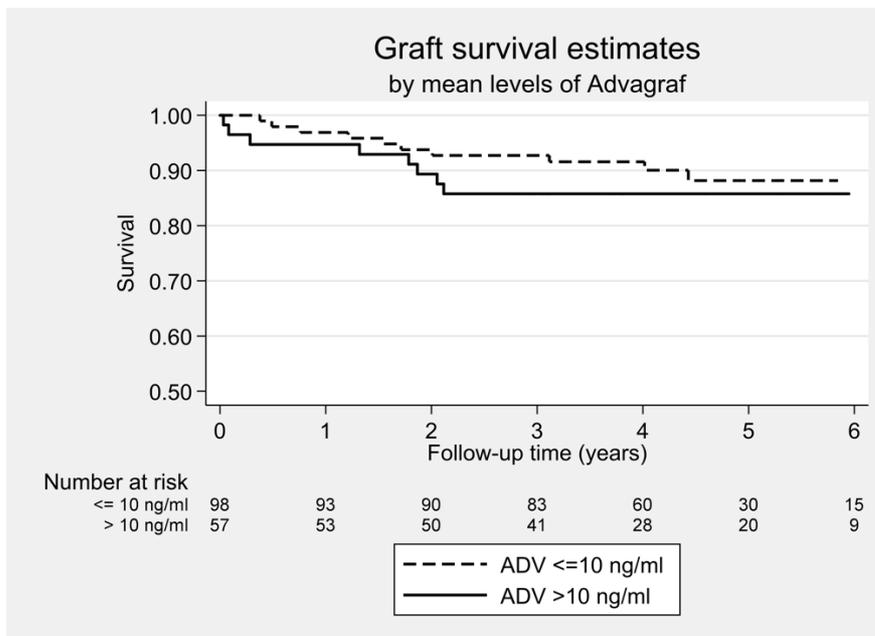


Figura 5.3.4. Supervivencia de los injertos

Se realizaron análisis uni y multivariantes de regresión de Cox para identificar los factores relacionados con la mortalidad de los pacientes y la pérdida de los injertos. En los estudios, se incluyeron numerosas variables relacionadas con el donante y con el receptor, así como, complicaciones y efectos adversos aparecidos en el seguimiento. Los niveles iniciales de tacrolimus se incluyeron considerando los grupos de estudio, así como, otros puntos de corte: dos grupos con punto de corte en 8 ng/ml o tres grupos según los niveles <7 ng/ml, 7-10 ng/ml y >10 ng/ml.

En el estudio multivariante, los factores relacionados con la mortalidad de los pacientes fueron: la aparición de un tumor *de novo* (HR = 13.8; 95% CI, 4.1-46.9; $p < 0.001$), MELD ≥ 20 (HR = 6.1; 95% CI, 1.9-19.6; $p = 0.003$), la infección por VHC como causa de enfermedad hepática (HR = 4.9; 95% CI, 1.7-14.1; $p = 0.003$), la aparición de una complicación arterial (HR= 3.7; 95% CI, 1.1-12.6; $p = 0.03$) y el desarrollo de disfunción precoz del injerto (HR= 6.0; 95% CI, 2.33-15.49; $p < 0.001$) (Table 5.3.3).

Tabla 5.3.3. Análisis Uni y multivariante de los factores relacionados con la mortalidad de los pacientes

	ANALISIS UNIVARIANTE		ANALISIS MULTIVARIANTE*	
	p-valor	HR (95% CI)	p-valor	HR (95% CI)
Edad donante ≥70 años	0,54	0,72 (0,25-2,05)		
Esteatosis hepática	0,23	0,40 (0,09-1,79)		
Receptor				
Edad donante ≥70 años	0,93	1,04 (0,38-2,78)		
VHC como causa de trasplante	0,02	3,02 (1,16-7,81)	0,003	4,93 (1,72-14,16)
Hepatocarcinoma	0,56	1,31 (0,51-3,33)		
MELD score ≥20	0,02	3,16 (1,12-8,90)	0,003	6,05 (1,87-19,56)
Diabetes antes de TH	0,62	1,31 (0,43-4,01)		
Hipertensión antes del TH	0,05	2,77 (0,97-7,90)	-	-
Función renal basal (MDRD-4)	0,35	0,99 (0,97-1,00)		
Uso inicial de Mycophenolato mofetil	0,89	1,07 (0,38-3,02)		
Evolución y complicaciones				
Rechazo agudo por biopsia	0,20	2,07 (0,67-6,42)		
Complicaciones arteriales	0,06	2,91 (0,93-9,06)	0,032	3,75 (1,11-12,61)
Complicaciones biliares	0,58	1,41 (0,40-4,91)		
Disfunción renal durante la hospitalización	0,07	2,40 (0,90-6,38)	-	-
<i>Diabetes de novo</i>	0,01	3,25 (1,23-8,55)	-	-
Hipertensión de novo	0,08	0,32 (0,09-1,14)	-	-
<i>Tumor de novo</i>	0,005	4,20 (1,56-11,31)	<0,001	13,81 (4,06-46,98)
Recurrencia VHC	0,22	1,78 (0,70-4,52)		
Recurrencia hepatocarcinoma	0,008	16,60 (2,10-131,07)	-	-
Infección de cualquier tipo	0,70	1,19 (0,47-3,02)		
Infección bacteriana	0,04	2,70 (1,03-7,06)	-	-

Función renal normal última visita (MDRD-4 \geq 60mL/min/1.73 m ²)	0,92	1,07 (0,22-5,07)		
Disfunción precoz del injerto	0,08	2,44 (0,89-6,63)	<0,001	6,02 (2,33-15,49)
Nivel medio Tacrolimus primer mes				
>10 ng/ml vs \leq 10 ng/ml	0,44	1,44 (0,56-3,65)		
<7 ng/ml (referencia) †	0,32			
7-10 ng/ml	0,31	0,48 (0,12-1,95)		
>10 ng/ml	0,59	1,32 (0,47-3,72)		
>8 ng/ml vs \leq 8 ng/ml †	0,78	1,14 (0,44-2,95)		

*Las variables con $p < 0.2$ en el estudio univariante aparecen en negrita

Los factores relacionados con la pérdida del injerto, en el estudio multivariante, fueron: la infección por VHC como causa de enfermedad hepática (HR = 14.8; 95% CI, 3.4-64.7; $p < 0.001$), el desarrollo de una disfunción precoz del injerto (HR = 6.0; 95% CI, 2.3-15.5; $p < 0.001$), la disfunción renal durante la hospitalización (HR = 3.1; 95% CI, 1.2-8.0; $p = 0.02$) y el MELD \geq 20 (HR= 3.0; 95% CI, 1.1-8.9; $p = 0.03$) (Table 5.3.4.).

Es importante destacar que los niveles precoces de tacrolimus no fueron, en ningún caso, un factor independiente relacionado con la mortalidad de los pacientes ni con la pérdida de los injertos.

Table 5.3.4. Analisis Uni y multivariante de los factores relacionados con la pérdida del injerto

	UNIVARIATE ANALYSIS		MULTIVARIATE ANALYSIS*	
	p-value	HR (95% CI)	p-value	HR (95% CI)
Edad donante ≥70 años	0,04	0,22 (0,05-0,96)	-	-
Esteatosis hepática	0,29	0,45 (0,10-1,97)		
Receptor				
Edad donante ≥70 años	0,13	0,39 (0,11-1,34)	-	-
VHC como causa de trasplante	<0,001	15,33 (3,52-66,73)	<0,001	14,79 (3,38-64,68)
Hepatocarcinoma	0,83	1,10 (0,44-2,77)		
MELD score ≥20	0,03	3,13 (1,12-8,80)	0,03	3,09 (1,07-8,98)
Diabetes antes de TH	0,87	0,90 (0,26-3,12)		
Hipertensión antes del TH	0,31	1,77 (0,58-5,39)		
Función renal basal (MDRD-4)	0,52	0,99 (0,97-1,01)		
Uso inicial de Mycophenolato mofetil	0,29	0,51 (0,15-1,78)		
Evolución y complicaciones				
Rechazo agudo por biopsia	0,004	4,28 (1,61-11,42)	-	-
Complicaciones arteriales	0,08	2,67 (0,88-8,15)	-	-
Complicaciones biliares	0,07	2,61 (0,93-7,34)	-	-
Disfunción renal durante la hospitalización	0,003	4,20 (1,64-10,73)	0,02	3,10 (1,20-8,04)
<i>Diabetes de novo</i>	0,06	2,61 (0,96-7,06)	-	-
Hipertensión de novo	0,06	0,30 (0,08-1,05)	-	-
<i>Tumor de novo</i>	0,54	0,53 (0,07-4,01)		
Recurrencia VHC	<0,001	8,04 (2,64-24,43)	-	-
Recurrencia hepatocarcinoma	0,01	12,12 (1,58-93,24)	-	-
Infección de cualquier tipo	0,44	1,445(0,57-3,68)		
Infección bacteriana	0,06	2,51 (0,96-6,56)	-	-

Función renal normal última visita (MDRD-4≥60mL/min/1.73 m ²)	0,27	0,48 (0,13-1,78)		
Disfunción precoz del injerto	<0,001	6,45 (2,56-16,27)	<0,001	6,02 (2,34-15,49)
Nivel medio Tacrolimus primer mes				
>10 ng/ml vs ≤10 ng/ml	0,43	1,46 (0,57-3,69)		
<7 ng/mL (referencia) †	0,33			
7-10 ng/mL	0,35	0,52 (0,13-2,07)		
>10 ng/mL	0,54	1,38 (0,49-3,88)		
>8 ng/ml vs ≤ 8 ng/ml †	0,78	1,17 (0,44-2,88)		

*Las variables con $p < 0.2$ en el estudio univariante aparecen en negrita

6. DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

6.1 RESULTADOS A LARGO PLAZO EN LA COHORTE GENERAL

Nuestro estudio presenta una cohorte muy homogénea en términos de manejo de la inmunosupresión, tanto de las dosis como de los niveles, y de las complicaciones derivadas de la misma. En el momento de su publicación, se trataba de la primera experiencia con resultados a largo plazo (5 años) con el uso de novo de Tac-ext y la mayor en número en relación con datos en práctica clínica diaria. Nuestros resultados demuestran que la inmunosupresión basada en Tac-ext, iniciada inmediatamente tras el TH, no solo es posible, sino que se sigue de una baja incidencia de rechazo agudo celular biopsiado. Además, el manejo de niveles bajos de tacrolimus tanto en el periodo postoperatorio inmediato como durante el seguimiento permitió preservar la función renal asociándose a una baja recurrencia del HCC y a una elevada supervivencia tanto de los pacientes como de los injertos.

La incidencia de rechazo biopsiado fue del 12,5% en nuestro estudio siendo en su mayor parte rechazos moderados. Esto se explica por el protocolo usado en nuestra unidad: ante un rechazo bioquímico, el tratamiento inicial es la elevación de los niveles de tacrolimus sin necesidad de biopsia; solo cuando el rechazo persiste en pacientes con niveles de tacrolimus en rango terapéutico, se realiza la biopsia. Esto puede suponer una selección de los pacientes con rechazo, de tal forma que los rechazos leves no llegan a ser biopsiados, observando así, una proporción alta de rechazos moderados y severos en las biopsias. Es de destacar el hecho de que prácticamente, la mitad de los rechazos se solucionaron sin necesidad de utilizar esteroides y que no se observaron rechazos

corticoresistentes lo que abunda en la idea ya reconocida de la capacidad de tacrolimus para revertir los rechazos agudos celulares.

La preservación de la función renal a largo plazo también pudo influir en los buenos datos de supervivencia en nuestro estudio. El desarrollo de disfunción renal en los pacientes con TH se asocia a un aumento de 4-5 veces en el riesgo relativo de muerte a partir del primer año postrasplante^{138,139}. En la literatura, se acepta una pérdida de filtrado glomerular de entre 20 y 30 ml/min durante las primeras semanas postrasplante y una reducción progresiva de la función renal a lo largo del seguimiento^{78,85,93,140}. En nuestro estudio, observamos la pérdida inicial del filtrado glomerular de acuerdo a lo ya publicado mientras que la función renal se mantuvo estable durante el seguimiento con un filtrado medio de $77,7 \pm 19,6$ ml/min a los 5 años. En cualquier caso, la disfunción renal también fue prevalente en nuestro estudio ya que el 55,8% de los pacientes desarrolló una disfunción renal crónica. Sin embargo, solo un 24% de los pacientes presentó una disfunción renal estadio 3 mientras que ninguno de los pacientes desarrolló un estadio 4 o 5, o necesitó diálisis o trasplante renal. Estos datos contrastan con lo publicado previamente donde se aceptaba una incidencia de disfunción renal crónica estadio 3-4 de entre el 30% y 80% a partir del primer año postrasplante y una incidencia acumulada del 5-8% de necesidad de diálisis o trasplante renal durante los primeros 10 años postrasplante¹⁴⁰.

Nuestro estudio demuestra que una política de minimización de los niveles de tacrolimus iniciada en el postrasplante inmediato y mantenida a largo plazo puede tener un papel importante en la reducción de la pérdida progresiva de función renal a lo largo del seguimiento de los pacientes con TH. Este beneficio, no solo ocurriría en pacientes con buena función preTH sino también en aquellos con un MELD elevado.

También resulta destacable que la incidencia acumulada de otros efectos adversos relacionados con el desarrollo de disfunción renal y aumento de la mortalidad como son la DM de novo y la HTA de novo o la dislipemia^{78,85}, fue baja en nuestro estudio teniendo en cuenta el largo periodo de seguimiento de los pacientes. En este sentido, solo dos pacientes fallecieron por problemas cardiovasculares. Este hecho pondría de manifiesto el beneficio que mantener una exposición baja a tacrolimus puede tener no solo en la propia función renal sino también en otras situaciones clínicas relacionadas con ella.

La recurrencia del HCC fue del 2,9% en nuestra serie, muy inferior a la publicada que se encuentra en torno al 8-20%^{129,141}. Todos los pacientes cumplían los criterios de Milan antes del TH y en el estudio anatomopatológico la incidencia de invasión microvascular y satelitosis fue baja lo que pudo influir en la disminución de la recurrencia.

Siempre hemos defendido que el mantenimiento de bajos niveles de tacrolimus desde los periodos iniciales del TH podría haber tenido una clara influencia en la baja incidencia de efectos adversos y de recurrencia del HCC en nuestros pacientes. Recientemente, un estudio español multicéntrico ha demostrado esta relación directa entre la exposición a tacrolimus durante los primeros 3 y 12 meses con la recurrencia del HCC¹⁴².

Finalmente, la supervivencia a 5 años, tanto de los pacientes como de los injertos, fue del 88,3% y 87,9%, respectivamente. Esta supervivencia es superior a la media de los grupos españoles reportada en el Registro Español de Trasplante Hepático.

En la publicación, se reconocían diversas limitaciones de nuestro estudio como su naturaleza retrospectiva y observacional y la no existencia de un grupo control por nuestra política a partir de 2008 de usar inmunosupresión basada en Tac-ext en todos los TH en los que no haya contraindicación para la misma. Sin embargo, la cohorte de estudio era homogénea en términos de manejo de la inmunosupresión y de los efectos adversos y suponía la mayor experiencia en práctica clínica con el uso de Tac-ext de novo hasta la

fecha. Por otra parte, debemos reconocer también que la combinación tacrolimus-esteroides era la aceptada mayoritariamente en el momento al que pertenecen los pacientes trasplantados, pero no es la combinación más aceptada actualmente. Como ya se ha venido comentando en este trabajo, la combinación más utilizada en la actualidad es la triple terapia con tacrolimus, MMF y esteroides.

Publicaciones posteriores a la nuestra han demostrado excelentes resultados con el uso de Tac-ext. El Hospital Bellvitge demostró un correcto mantenimiento de la función renal durante el primer año en 69 pacientes tratados con inducción y Tac-ext¹⁴³. El Hospital King's College de Londres encontró que el uso de Tac-ext de novo tras el TH se asociaba a una incidencia similar de rechazo, DM de novo y toxicidad cuando se comparaba con el uso de Tac estándar¹⁴⁴. Así mismo, no encontraron diferencias de supervivencia tanto de los pacientes como de los injertos. Es de destacar que el uso de Tac-ext se asoció, en general, a una disminución de la incidencia de disfunción renal crónica estadio 3-4 durante los primeros 6 meses y, específicamente, a una significativa disminución de la pérdida de función renal en aquellos pacientes que presentaban disfunción renal preTH y fueron tratados con inducción.

En un estudio japonés, realizado mayoritariamente con donante vivo, observaron que el uso de Tac-ext requirió un mayor número de ajustes de dosis durante el postoperatorio inmediato comparado con el Tac estándar, aunque el control de los niveles en los primeros tres meses fue correcto en ambos grupos. No observaron diferencias significativas en la incidencia de rechazo agudo, ni tampoco en la evolución de la función renal ni en la supervivencia de los pacientes a largo plazo¹⁴⁵.

Finalmente, los resultados del Registro Europeo de Trasplante Hepático con más de 13000 pacientes estudiados y 3000 incluidos en un estudio de propensión comparando 1002 pacientes con Tac-ext frente a 2004 pacientes con Tac estándar han demostrado un

aumento significativo de la supervivencia a 4 años tanto en los pacientes como en los injertos con el uso de Tac-ext¹⁴⁶.

Tanto nuestro estudio, como las experiencias publicadas posteriormente demuestran que el uso de Tac-ext *de novo* no solo no se asocia a peores resultados a largo plazo, sino que podría relacionarse con la disminución de otros efectos adversos relacionados con la inmunosupresión a largo plazo, poniendo así en cuestión las reticencias que muchos autores mostraban y aún siguen mostrando en relación con su uso *de novo* tras el TH.

6.2. RESULTADOS A LARGO PLAZO EN LA POBLACIÓN DE PACIENTES CON DISFUNCIÓN RENAL PRETRASPLANTE

La prevalencia de la disfunción renal en los pacientes con enfermedad hepática en estadio terminal e indicación de TH varía entre el 17% y el 95%^{120,147}. El trasplante hepato-renal se indica en pacientes con enfermedad hepática terminal y enfermedad renal crónica con FG estimado ≤ 30 ml/min/ 1.73 m² (147). Sin embargo, el TH asociado a una inmunosupresión nefroprotectora se indica en aquellos pacientes con FG de 30-60 ml/min/ 1.73 m². Los protocolos con inducción e introducción retardada y reducida de anticalcineurínicos son los más recomendados en la actualidad^{90,91}; sin embargo, estas combinaciones se basan en el uso de tacrolimus estándar mientras que la experiencia con Tac-ext es prácticamente inexistente.

En nuestro estudio, se analizó un pequeño grupo de 19 pacientes con disfunción renal pre-TH que fueron tratados con inducción e introducción retardada y reducida de Tac-ext. La disfunción renal pre-TH se definió como un FG estimado < 60 ml/min/ 1.73 m², excluyendo aquellos pacientes que necesitaban tratamiento sustitutivo renal que fueron tratados con trasplante combinado hepático-renal.

Resulta importante que la función renal de nuestros pacientes mejoró ostensiblemente en el periodo inicial postrasplante pero es especialmente destacable el hecho de que el FGE se mantuvo estable desde el sexto mes del seguimiento hasta los cinco años ($55,3 \pm 12,7$ ml/min/ 1.73 m^2) lo que supuso un incremento del 20% respecto del FGE medio que los pacientes presentaban antes del TH. También resulta destacable que ninguno de los pacientes necesitó diálisis o trasplante renal durante el seguimiento a pesar de la disfunción renal que presentaban antes del TH.

Estos resultados contrastan con lo descrito por algunos autores con una incidencia del 5-8% de desarrollo de disfunción renal terminal con necesidad de diálisis o trasplante renal durante los primeros 10 años tras el TH¹⁴⁰. Datos históricos del Scientific Registry of Transplant Recipients mostraban una incidencia de la disfunción renal crónica estadio 4-5 del 8%, 14% y 18% a los 1, 3 y 5 años post TH⁷².

A su vez, la supervivencia a 5 años de nuestros pacientes fue relativamente alta (78,9%) cuando se han publicado supervivencias del 70,7% a 3 años en pacientes con disfunción renal crónica pre-TH^{148,149}. Parece evidente que la elevada supervivencia de estos pacientes pueda estar en relación con el mantenimiento de la función renal a largo plazo. La relación directa entre la exposición a tacrolimus y la reducción de la función renal se ha demostrado de forma repetida^{40,73,150}. La reducción de la exposición a tacrolimus inmediatamente tras el TH con el uso de inducción con anti IL-2 se ha relacionado con una reducción significativa de la disminución de función renal a 1 año⁷³. Nuestro estudio muestra que el beneficio de la reducción de la exposición inicial a tacrolimus en la función renal puede extenderse en el tiempo con el mantenimiento de una política de minimización y el uso de Tac-ext en pacientes con disfunción renal pre-TH.

Es destacable también que, en nuestro estudio, tacrolimus fue retirado hasta en un tercio de los casos dejando a los pacientes en monoterapia con MMF sin que observáramos

ningún caso de pérdida del injerto. El cambio de una inmunosupresión basada en anticalcineurínicos a una monoterapia con MMF se ha asociado generalmente a una mejora en la función renal en pacientes con disfunción renal severa pero también a un aumento significativo de la incidencia del rechazo agudo tardío^{151,152}. Parece que la clave para reducir el desarrollo de rechazo agudo en pacientes con paso a monoterapia MMF es que los pacientes mantengan niveles bajos de tacrolimus en el momento de su retirada¹⁵³. Pensamos que nuestra política de minimización de tacrolimus puede haber ayudado en este sentido.

6.3. RESULTADOS DEL ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LOS NIVELES INICIALES POSTRASPLANTE EN LOS RESULTADOS A LARGO PLAZO

Inicialmente, los niveles terapéuticos de tacrolimus tras el TH se extrapolaron desde los niveles aceptados en los pacientes con trasplante renal. Sin embargo, múltiples estudios han demostrado la idoneidad de la reducción de la exposición a tacrolimus^{66,68,72}.

Niveles de tacrolimus superiores a 10 ng/ml durante el primer mes tras el TH se han asociado a un aumento de la pérdida de función renal durante el primer año postrasplante y de la recidiva del HCC^{88,150}, mientras que una reducción de los niveles de tacrolimus por debajo de 10 ng/ml no se ha asociado a un aumento de la tasa de rechazos agudos¹⁵⁴.

En este sentido, se ha recomendado un nivel de tacrolimus de 7-10 ng/ml durante las primeras dos semanas tras el TH⁴⁷.

Esta parte de nuestro estudio se centró en valorar el efecto real que los niveles de tacrolimus durante el primer mes postrasplante tenían en los resultados a largo plazo en los pacientes con un TH y una política de minimización de la inmunosupresión.

Lo primero que nos sorprendió fue que, a pesar de nuestro protocolo de mantener unos niveles de tacrolimus de 5-10 ng/ml durante los primeros 3 meses post TH, un número significativo de los pacientes habían tenido niveles por encima de los 10 ng/ml de forma mantenida. Así, 57 pacientes (36,7%) de los 155 que componían la cohorte de estudio fueron incluidos en el grupo de estudio con un nivel medio de tacrolimus >10 ng/ml durante el primer mes post TH. Sin embargo, es de destacar que la diferencia en los niveles de tacrolimus entre los grupos de estudio solo se observó durante el primer mes post TH y no a lo largo del seguimiento, lo cual reforzaba la idoneidad de los grupos del estudio a la hora de valorar la influencia de los niveles precoces en los resultados a largo plazo.

Es importante destacar que se excluyeron del estudio aquellos pacientes con disfunción renal previa ya que, como se ha comentado previamente, estos pacientes fueron tratados con inducción de anticuerpos e introducción tardía y reducida de tacrolimus y esto hubiera sesgado los grupos de estudio.

En contraste con lo publicado hasta la fecha, nuestro estudio no demostró que un nivel medio de tacrolimus >10 ng/ml durante el primer mes post TH se relacionara con diferencias significativas en los resultados a largo plazo. No observamos diferencias en la evolución de la función renal, la recurrencia del HCC, la inmunotoxicidad, el desarrollo de efectos adversos o la supervivencia tanto de los pacientes como de los injertos. Además, los valores precoces de tacrolimus no resultaron ser un factor con influencia en la supervivencia a largo plazo de los pacientes con TH tras el estudio multivariante aun cuando los niveles medios durante el primer mes se estudiaron con varios puntos de corte. Observamos que la edad del donante era significativamente mayor en el grupo de niveles >10 ng/ml. Es sabido que la edad se relaciona con un descenso en la función celular hepática pudiendo afectar a la farmacocinética de los inmunosupresores. Se ha sugerido

que los injertos procedentes de donantes añosos pueden relacionarse con una disminución de la metabolización de los fármacos con la consecuencia de un aumento de sus niveles en sangre¹⁵⁵. Esta idea justificaría nuestro hallazgo.

Los niveles elevados de tacrolimus durante el primer mes postrasplante se han asociado a un empeoramiento de la función renal^{78,154}. Karie-Guigues et al encontraron que la introducción de MMF permite reducir significativamente los niveles de tacrolimus al final del primer mes con una significativa reducción de la pérdida de función renal a los 12 y 60 meses⁷⁸. Así mismo, Rodríguez-Peralvarez observó en un metaanálisis que los niveles <10 ng/ml durante el primer mes se asociaron con una mejor función renal al final del primer año¹⁵⁴. Nuestros resultados no confirman las observaciones de estos estudios. Creemos que resulta muy importante el hecho de que nuestros grupos de estudio solo presentaban una diferencia significativa en los niveles de tacrolimus durante el primer mes posTH mientras que la evolución de los niveles era superponible entre ambos grupos a lo largo del seguimiento hasta los 5 años. Mientras, en los estudios comentados, o bien solo hay determinaciones puntuales del nivel de tacrolimus en los meses 1, 12 y 60 con lo que no se conocen los niveles en periodos intermedios⁷⁸, o bien se han usado, para el metaanálisis, estudios que presentaban diferencias del nivel de tacrolimus entre los grupos de estudio que, aunque no significativas, sí eran mantenidas en el tiempo. En nuestra opinión, la posible diferencia en la exposición a tacrolimus durante el seguimiento es la razón por la que se han observado diferentes resultados en los estudios referidos y no en nuestro estudio. Pensamos que es necesario un periodo más largo de exposición para que los niveles elevados de tacrolimus afecten la función renal a medio o largo plazo. De acuerdo con esta idea, recientemente se ha publicado que la exposición acumulada de tacrolimus durante los tres primeros meses post TH se ha relacionado directamente con la evolución de la función renal a un año¹⁵⁰.

En relación con la recurrencia del HCC, niveles >10 ng/ml durante el primer mes se han relacionado con un aumento de esta a 5 años⁸⁶. Sin embargo, otros autores proponen que la alta exposición a tacrolimus ha de ser más prolongada para influir en la recurrencia del HCC. Así, Vivarelli et al. observaron que niveles >10 ng/ml durante el primer año post TH se relacionaron con una recurrencia de hasta el 50% en los pacientes con HCC frente a un 9,1% en aquellos pacientes con niveles menores⁸⁷. Recientemente, otros autores han reportado también la falta de efecto de la exposición a ACN durante los primeros 15 días post TH en el desarrollo de recurrencias de HCC y de tumores de novo¹⁵⁶. En nuestro caso, la incidencia de tumores de novo tampoco fue diferente entre los grupos del estudio. De nuevo, en nuestra publicación insistíamos en la idea de que resulta necesaria una exposición a niveles elevados de tacrolimus durante más de un mes para que exista una influencia real en el desarrollo de recurrencias del HCC o el desarrollo de tumores de novo.

Como ya se ha comentado previamente, esta idea se ha visto demostrada recientemente en un estudio retrospectivo multicéntrico español. En el estudio de Rodríguez-Perálvarez et al. la exposición acumulada de tacrolimus, tanto durante los primeros 3 meses post TH como durante el primer año, calculada en base al área bajo la curva de las concentraciones de tacrolimus en sangre, resultó ser un predictor del desarrollo de tumores después del TH tanto de novo como recurrencia del HCC¹⁴².

Los niveles <10 ng/ml durante el primer mes post TH no se relacionaron con un aumento significativo de la incidencia de rechazo agudo con necesidad de biopsia. El hecho de que la reducción del nivel de tacrolimus se asociara frecuentemente con el uso combinado de MMF puede haber influido en ello. Actualmente, la combinación tacrolimus a dosis reducidas en combinación con MMF y esteroides es la pauta inmunosupresora más recomendada tras el TH²⁷.

Los factores asociados con la supervivencia de los pacientes en nuestro estudio fueron el desarrollo de un tumor de novo, el MELD >20, la infección VHC, la aparición de complicaciones arteriales y el desarrollo de una disfunción precoz del injerto. Los factores asociados con la pérdida del injerto fueron la infección por VHC como causa de enfermedad hepática, el desarrollo de una disfunción precoz del injerto, la disfunción renal durante el ingreso, y el MELD score ≥ 20 .

Estos factores han sido repetidamente reconocidos como factores independientes en la supervivencia tanto de pacientes como de injertos. En la era previa a los nuevos tratamientos de acción directa, la recurrencia de la hepatitis VHC era uno de los factores más importantes relacionados con la pérdida del injerto, el retrasplante y la supervivencia de los pacientes¹³⁸. Sin embargo, la recurrencia del virus C se consideraba relacionada con la inmunosupresión en general y los cambios bruscos relacionados con la retirada rápida de esteroides, la necesidad de tratamientos con bolus de esteroides o el uso de OKT3, más que con los niveles de los anticalcineurínicos propiamente^{157,158}.

En cualquier caso, como confirmación de nuestra tercera hipótesis, el nivel medio de tacrolimus durante el primer mes no fue un factor con influencia en la supervivencia de los pacientes ni de los injertos en nuestro estudio.

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. Resultados a largo plazo en la cohorte general:

- a) El uso de una inmunosupresión basada en Tac-ext de novo se asocia a una supervivencia elevada a largo plazo tanto de los pacientes como de los injertos, comparable e incluso superior a la reportada hasta la fecha con el uso de otros protocolos basados en tacrolimus estándar. Estos buenos resultados se observan incluso en pacientes con MELD elevado en el momento del TH.
- b) La inmunosupresión basada en el uso de Tac-ext de novo dentro de un protocolo de minimización se asocia a un adecuado cuidado de la función renal a largo plazo en los pacientes con TH y a una baja incidencia de la recurrencia del HCC sin un aumento de la incidencia del rechazo agudo biopsiado.
- c) Nuestros resultados demuestran que el uso de TAC-ext de novo es seguro y eficaz.

2. Resultados a largo plazo en la población de pacientes con disfunción renal pretrasplante:

- a) En los pacientes que llegan al TH con disfunción renal, la inmunosupresión basada en la combinación de tratamiento de inducción con anticuerpos antiCD25, MMF y esteroides con una introducción diferida y reducida de tacrolimus permite mantener la función renal a medio y largo plazo.

- b) En estos casos, el uso de TAC-ext, en vez del tacrolimus en su formulación estándar, se ha demostrado seguro y eficaz, acompañándose de una elevada supervivencia a largo plazo.

3.. Influencia de los niveles iniciales postrasplante en los resultados a largo plazo:

- a) Los niveles de tacrolimus durante el primer mes post TH no tienen efecto en los resultados a largo plazo.
- b) Los niveles de tacrolimus durante el primer mes post TH no influyen en la evolución de la función renal, en la morbilidad relacionada con la inmunosupresión ni tampoco en la supervivencia de los pacientes y los injertos a los 5 años siempre que se mantenga una política de minimización de la inmunosupresión a medio y largo plazo.
- c) Debemos asumir que es la exposición prolongada a tacrolimus, y no solo durante un periodo concreto del post TH, lo que influye en el desarrollo de la morbilidad relacionada con la inmunosupresión y finalmente en la supervivencia de los pacientes.

BIBLIOGRAFIA

8. BIBLIOGRAFIA

1. Starzl TE, Machiuro TL, Von Kaulla KN, et al. Homotransplantation of the liver in humans. *Surg Gynecol Obstet* 1963;117:659-676.
2. Welch CS. A note on transplantation of the whole liver in dogs. *Transplant Bull* 1955;2:54-55.
3. Cannon JA. Brief report. *Transplant Bull* 1956;3:7.
4. Moore FD, Wheeler HB, Demissiamos HV et al. Experimental whole organ transplantation of the liver and of the spleen. *Ann Surg* 1960;152:374-387.
5. Starzl TE, Kaupp HA Jr, Brock DR, et al. Reconstructive problems in canine liver transplantation with special reference to the postoperative role of hepatic venous flow. *Surg Gynecol Obstet* 1960;111:733-743.
6. Starzl TE, Machiuro TL, Wadell WR. The reversal of rejection in human renal homografts with subsequent development of homograft tolerance. *Surg Gynecol Obstet* 1963;117:385-395.
7. Starzl TE, Machiuro TL, Porter KA, et al. The use of heterologous antilymphoid agents in canine renal and liver homotransplantation and in human renal transplantation. *Surg Gynecol Obstet* 1967;124:01-318.
8. Brettschneider L, Dazole PM, Huguet C, et al. The use of combined preservation techniques for extended storage of orthotopic liver homografts. *Surg Gynecol Obstet* 1968;126:263-274.
9. Starzl TE, Iwatsuki S, Van Thiel DH, et al. Evolution of liver transplantation. *Hepatology* 1982;2:614-636.
10. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: liver transplantation—June 20-23, 1983. *Hepatology* 1984;4:107S–110S.

11. Crispe IN. Immune tolerance in liver disease. *Hepatology* 2014;60:2109-2117.
12. Opelz G, Wujciak T, Döhler B, et al. HLA compatibility and organ transplant survival. Collaborative Transplant Study. *Rev Immunogenet* 1999;1:334-342.
13. Opelz G, Margreiter R, Döhler B. Prolongation of long-term kidney graft survival by a simultaneous liver transplant: the liver does it, and the heart does it too. *Transplantation* 2002;74: 1390-1394.
14. Gastaca M, Valdivieso A, Bustamante J, et al. Favorable longterm outcomes of liver transplant recipients treated de novo with once-daily tacrolimus: Results of a single-center cohort. *Liver Transpl.* 2016;22(10):1391-1400.
15. Moini M, Schilsky ML, Tichy EM. Review on immunosuppression in liver transplantation. *World J Hepatol* 2015; 7(10):1355-1368.
16. Dhanasekaran R. Management of immunosuppression in liver transplantation. *Clin Liver Dis* 2017;21:337-353.
17. Billingham RE, Krihn PL, Medawar PB. Effect of cortisone on survival of skin homografts in rabbits. *Br Med J.* 1951;1:1157-1163.
18. Schewartz RH, Dameshek W. Drug-induced immunological tolerance. *Nature* 1959;183:1682-1693.
19. Borel JF, Feurer C, Gubler HU, et al. Biological effects of cyclosporine A: a new antilymphocyte agent. *Agents Actions* 1976;6:468-475.
20. Calne RY, Rolles K, White DJG. Cyclosporine A in patients receiving renal allografts from cadaveric donors. *Lancet* 1978;II:1323-1327.
21. Goto T, Kino T, Hatanaka H, et al. Discovery of FK 506, a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces tsukubaensis*. *Transplant Proc* 1987;19:4-8.

22. Starzl TE, Todo S, Fung J, et al. FK 506 for liver, kidney and pancreas transplantation. *Lancet* 1989;II:1000-1004.
23. The US Multicenter Liver Study Group. A comparison of Tacrolimus (FK 506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. *N Eng J Med* 1994;331:1110-1115.
24. Fung J, Eliasziw M, Todo S, et al. The Pittsburgh randomized trial of tacrolimus compared to cyclosporin for hepatic transplantation. *J Am Coll Surg* 1996; 183:117-125.
25. European multicenter Liver Study Group. Randomized trial comparing tacrolimus (FK 506) and cyclosporin in prevention of liver allograft rejection. *Lancet* 1994; 344:423-428.
26. Haddad EM, McAlister VC, Renouf E, et al. Cyclosporin versus tacrolimus for liver transplanted patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; (4): CD005161
27. Kim WR, Lake JR, Smith JM, et al. OPTN/SRTR 2017 Annual Data Report: liver. *Am J Transplant* 2019;17 Suppl 2:184-283..
28. Lerut J, Mathys J, Verbaandert C, et al. Tacrolimus monotherapy in liver transplantation. One-year results of a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Ann Surg* 2008;248 (6): 956-967.
29. Geissler EK, Schlitt HJ. Immunosuppression for liver transplantation. *Gut* 2009;58:452-463.
30. Beckebaum S, Iacob S, Sweid D, et al. Efficacy, safety, and immunosuppressant adherence in stable liver transplant patients converted from a twice-daily

- tacrolimus-based regimen to once-daily tacrolimus extended-release formulation. *Transpl Int* 2011;24(7):666-675.
31. Dumortier J, Guillaud O, Boillot O. Conversion from twice daily tacrolimus to once daily tacrolimus in long-term stable liver transplant recipients: a single-center experience with 394 patients. *Liver Transpl* 2013;19(5):529-533.
 32. Considine A, Tredger JM, Heneghan M, et al. Performance of modified-release tacrolimus after conversion in liver transplant patients indicates potentially favorable outcomes in selected cohorts. *Liver Transpl* 2015;21(1):29-37.
 33. Giannelli V, Rossi M, Giusto M, et al. Conversion from twice-daily to once-daily Tacrolimus administration in liver transplant patient: results of long term follow-up. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013;17(20):2718-2720.
 34. Saňko-Resmer J, Boillot O, Wolf P, et al. Renal function, efficacy and safety postconversion from twice- to once-daily tacrolimus in stable liver recipients: an open-label multicenter study. *Transpl Int* 2012;25(3):283-293.
 35. Valente G, Rinaldi L, Sgambato M, et al. Conversion from twice-daily to once-daily tacrolimus in stable liver transplant patients: effectiveness in a real-world setting. *Transplant Proc* 2013;45(3):1273-1275.
 36. Dopazo C, Rodriguez R, Llado L, et al. Successful conversion from twice-daily to once-daily tacrolimus in liver transplantation: observational multicenter study. *Clin Transplant* 2012;26(1):E32-37.
 37. Fischer L, Trunecka P, Gridelli B, et al. Pharmacokinetics for once-daily versus twice-daily tacrolimus formulations in de novo liver transplantation: A randomized, open-label trial. *Liver Transpl* 2011;17:167-177.

38. Coilly A, Calmus Y, Chermak F, et al. Once-daily prolonged release tacrolimus in liver transplantation: Experts' literature review and recommendations. *Liver Transpl* 2015; 21:1312-1321.
39. Trunečka P, Boillot O, Seehofer D, et al. Once-daily prolonged-release tacrolimus (ADVAGRAF) versus twice-daily tacrolimus (PROGRAF) in liver transplantation. *Am J Transplant* 2010;10(10):2313-2323.
40. Trunečka P, Klempnauer J, Bechstein WO, et al. Renal Function in *De novo* Liver Transplant Recipients Receiving Different Prolonged-Release Tacrolimus Regimens-The DIAMOND Study. *Am J Transplant* 2015;15(7):1843-1854.
41. Charco R, Caralt M, Lladó L, et al. A prospective, multicenter study of once-daily extended-release tacrolimus in *de novo* liver transplant recipients. *Transplant Proc* 2011;43(3):718-723.
42. Uemoto S, Abe R, Horike H, et al. Safety and efficacy of once-daily modified-release tacrolimus in liver transplant recipients: a multicenter postmarketing surveillance in Japan. *Transplant Proc* 2014;46(3):749-753.
43. Schnitzbauer AA, Ayik C, Ulrich F, et al. Delayed bottom-up and amended simple method of dosing with once-daily tacrolimus application to achieve stable trough levels in liver transplantation. *Ann Transplant* 2015;20:1-6.
44. Ortiz de Urbina J, Valdivieso A, Matarranz A, et al. Advagraf *de novo* in liver transplantation: a single-center experience. *Transplant Proc* 2011;43(3):724-725.
45. van Hooff JP, Alloway RR, Trunečka P, et al. Four-year experience with tacrolimus once-daily prolonged release in patients from phase II conversion and *de novo* kidney, liver, and heart studies. *Clin Transplant* 2011;25(1):E1-12.
46. Adam R, Karam V, Cailliez V, et al. Improved Survival in Liver Transplant Recipients Receiving Prolonged-Release Tacrolimus based immunosuppression

- in the European Liver Transplant Registry (ELTR): An extension study. *Transplantation* 2019;103:1844-1862.
47. Rodriguez-Peralvarez M, Germani G, Papastergiou V, et al. Early tacrolimus exposure after liver transplantation: relationship with moderate/severe acute rejection and long-term outcome. *J Hepatol.* 2013;58(2):262-270.
48. Remuzzi G, Bertani T. Renal vascular and thrombotic effects of cyclosporine. *Am J Kidney Dis* 1989;13:261-272.
49. Issa N, Kukla A, Ibrahim HN. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity: a review and perspective of the evidence. *Am J Nephrol* 2013;37:602-612.
50. Bechstein WO. Neurotoxicity of calcineurin inhibitors: impact and clinical management. *Transpl Int* 2000;13:313-326.
51. Doesch AO, Müller S, Konstandin M, et al. Malignancies after heart transplantation: incidence, risk factors, and effects of calcineurin inhibitor withdrawal. *Transplant Proc* 2010;42:3694-3699.
52. Staatz CE, Tett SE. Pharmacology and toxicology of mycophenolate in organ transplant recipients: an update. *Arch Toxicol* 2014;88:1351-1389.
53. Berenguer M, Charco R, Pascasio JM, et al. Spanish society of liver transplantation (SETH) consensus recommendations on hepatitis C virus and liver transplantation. *Liver Int* 2012;32:712-731.
54. Brown Jr. R, O'Leary J, Reddy HR, et al. Interferon-free therapy for genotype 1 hepatitis C in liver transplant recipients: real-world experience from HCV-TARGET. *Liver Transpl* 2016;22:24-33.
55. Poordad F, Schiff ER, Vierling JM, et al. Daclatasvir with sofosbuvir and ribavirin for hepatitis C virus infection with advanced cirrhosis or post-liver transplantation recurrence. *Hepatology* 2016;63:1493–505.

56. Fairfield C, Penninga L, Powell J, et al. Glucocorticosteroid-free versus glucocorticosteroid-containing immunosuppression for liver transplanted patients. Update of Cochrane Database Syst Rev. 2015 Dec 15;(12):CD007606.
57. Ramirez CB, Doria C, di Francesco F, et al. Basiliximab induction in adult liver transplant recipients with 93% rejection-free patient and graft survival at 24 months. *Transplant Proc* 2006;38:3633-3635.
58. Asrani SK, Wiesner RH, Trotter JF, et al. De novo sirolimus and reduced-dose tacrolimus versus standard dose tacrolimus after liver transplantation: the 2000-2003 phase II prospective randomized trial. *Am J Transplant* 2014;14:356-366.
59. Saliba F, De Simone P, Nevens F, et al. Renal function at two years in liver transplant patients receiving everolimus: results of a randomized, multicenter study. *Am J Transplant* 2013;13:1734-1745.
60. Saliba F, Duvoux C, Gugenheim J, et al. Efficacy and safety of everolimus and mycophenolic acid with early tacrolimus withdrawal after liver transplantation: a multicenter randomized trial. *Am J Transplant* 2017;17:1843-1852.
61. Sterneck M, Kaiser GM, Heyne N, et al. Long-term follow-up of five yr shows superior renal function with everolimus plus early calcineurin inhibitor withdrawal in the PROTECT randomized liver transplantation study. *Clin Transplant* 2016;30:741-748.
62. Brennan DC, Flavin K, Lowell JA, et al. A randomized, double-blinded comparison of Thymoglobulin versus Atgam for induction immunosuppressive therapy in adult renal transplant recipients. *Transplantation* 1999;67:1011-1018.

63. Levitsky J, Thudi K, Ison MG, et al. Alemtuzumab induction in non-hepatitis C positive liver transplant recipients. *Liver Transpl* 2011;17:32-37
64. Marcos A, Eghtesad B, Fung JJ, et al. Use of Alemtuzumab and tacrolimus monotherapy for cadaveric liver transplantation: with particular reference to Hepatitis C virus. *Transplantation* 2004;78:966-971
65. Klintmam GB, Feng S, Lake JR, et al. Belatacept-based immunosuppression in de novo liver transplant recipients: 1-year experience from phase II randomized study. *Am J Transpl* 2014;14:1817-1827.
66. Boudjema K, Camus C, Saliba F, et al. Reduced-dose tacrolimus with mycophenolate mophetil vs standard-dose tacrolimus in liver transplantation: a randomized study. *Am J Transpl* 2011;11:965-976.
67. Turner AP, Knechtle SJ. Induction immunosuppression in liver transplantation: a review. *Transpl Int* 2013;26 673-683.
68. Benitez CE, Puig-Rey I, Lopez M, et al. ATG_Fresenius treatment and low-dose tacrolimus: results of a randomized controlled trial in liver transplantation. *Am J Transpl* 2010;10:2296-2304.
69. Wang XF, Li JD, Peng Y, et al. Interleukin-2 receptor antagonist in liver transplantation: a meta-analysis of randomized trials. *Transpl Proc* 2010;42:4567-4572.
70. Uemura T, Schaefer E, Hollenbeak CS, et al. Outcome of induction immunosuppression for liver transplantation comparing anti-thymocyte globulin, daclizumab and corticosteroids. *Transpl Int* 2011;24:640-650.

71. Gainza FJ, Valdivieso A, Quintanilla N, et al. Evaluation of acute renal failure in the liver transplantation perioperative period: incidence and impact. *Transpl Proc* 2002;34:250-251.
72. Ojo AO, Held PJ, Port FK, et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med* 2003;349(10):931-940.
73. Neuberger JM, Mamelok RD, Neuhaus P, et al. Delayed introduction of reduced-dose tacrolimus, and renal function function in liver transplantation: the ReSpECT study. *Am J Transpl* 2009;9:327-336.
74. Yoshida EM, Marotta PJ, Grieg PD et al. Evaluation of renal function in liver transplant recipients receiving daclizumab (Zenapax), mycophenolate mophetil and delayed, low-dose tacrolimus regimen vs a standard-dose tacrolimus and mycophenolate mophetil regimen: a multicenter randomized clinical trial. *Liver Transpl* 2005;11:1064-1072.
75. Calmus Y, Kamar N, Gugenheim J, et al. Assesing renal function with daclizumab induction and delayed tacrolimus introduction in liver transplant recipients. *Transplantation* 2010;89:1504-1510.
76. Masetti M, Montalti R, Rompianesi G, et al. Early withdrawal of calcineurin inhibitors and everolimua monotherapy in de novo liver transplant recipiensts preserves renal function. *Am J Transpl* 2010;10:2252-2262.
77. Manzia TM, Angelico R, Toti L, et al. Ab initio everolimus-based versus standard calcineurin inhibitor immunosuppression regimen in liver transplant recipients. *Transpl Proc* 2018;50:175-183.

78. Karie-Guigues K, Janus N, Saliba F, et al. Long-term renal function in liver transplant recipients and impact of immunosuppressive regimens (calcineurin inhibitors alone or in combination with mycophenolate mofetil): the TRY study. *Liver Transpl* 2009;15:1083-1091.
79. Iwatsuki S, Starzl TE, Todo S, et al. Experience in 1000 liver transplants under cyclosporine-steroid therapy:a survival report. *Transplant Proc* 1988;20 (1 Suppl 1):498-504.
80. O'Grady JG, Burroughs A, Hardy P, et al. Tacrolimus versus microemulsified ciclosporin in liver transplantation: the TMC randomized controlled trial. *Lancet* 2002;360 (9340):1119-1125.
81. Liberal R, Zen Y, Mieli-Vergani G, Vergani D. Liver transplantation and autoimmune liver diseases. *Liver Transpl* 2013;19:1065-1077.
82. Neuberger JM, Bechstein WO, Kuypers DRJ, et al. Practical recommendations for long-term management of modifiable risk in kidney and liver transplant recipients: A guidance report and clinical checklist by the consensus on managing modifiable risk in transplantation (COMMIT) group. *Transplantation* 2017;101: S1-S56.
83. US Organ Procurement and Transplantation Network and Scientific Registry of Transplant Recipients Annual Report 2008; Available at: http://optn.transplant.hrsa.gov/ar2008/Preface_Contributors.htm?cp=1, accessed 28 September 2012.

84. Aberg F, Gissler M, Karlsten TH, et al. Differences in long-term survival among liver transplant recipients and the general population: a population-based Nordic study. *Hepatology* 2015;61:668-677.
85. Allen AM, Kim WR, Therneau TM, et al. Chronic kidney disease and associated mortality after liver transplantation – A time-dependent analysis using measured glomerular filtration rate. *J Hepatol* 2014;61:286-292.
86. Carencu C, Assenat E, Faure S, et al. Tacrolimus and the risk of solid cancers after liver transplant: a dose effect relationship. *Am J Transpl* 2015;15:678-686.
87. Vivarelli M, Cucchetti A, La Barba G, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma under calcineurin inhibitors. Reassessment of risk factors for tumor recurrence. *Ann Surg* 2008;248:857-862.
88. Rodriguez-Peralvarez M, Tsochatzis E, Naveas MC, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors early after liver transplantation prevents recurrence of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2013;59:1193-1199.
89. Konerman MA, Fritze D, Weinberg RL, et al. Incidence of and risk assessment for adverse cardiovascular outcomes after liver transplantation: a systematic review. *Transplantation* 2017;101:1645-1657.
90. Levitsky J, O'Leary JG, Asrani S, et al. Protecting the kidney in liver transplant recipients: Practice-based recommendations from the American Society of Transplantation Liver and Intestine Community of Practice. *Am J Transpl* 2016;16:2532-2544.

91. Duvoux C, Pageaux GP. Immunosuppression in liver transplant recipients with renal impairment. *J Hepatol* 2011;54:1041-1054.
92. Valente G, Rinaldi L, Sgambato M, et al. Conversion from twice-daily to once-daily tacrolimus in stable liver transplant patients: effectiveness in a real-world setting. *Transplant Proc* 2013;45(3):1273-1275.
93. Bahirwani R, Reddy KR. Outcomes after liver transplantation: chronic kidney disease. *Liver Transpl* 2009;15 Suppl 2:S70-74.
94. Hao JC, Wang WT, Yan LN, et al. Effect of low-dose tacrolimus with mycophenolate mofetil on renal function following liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2014;20:11356-11362.
95. Taperman L, Moonka D, Sebastian A, et al. Calcineurin inhibitor-free mycophenolate mofetil/sirolimus maintenance in liver transplantation: the randomized spare-the-nephron trial. *Liver Transpl* 2013;19:675-689.
96. Fisher L, Klempnauer J, Beckebaum S, et al. A randomized, controlled study to assess the conversion from calcineurin-inhibitors to everolimus after liver transplantation – PROTECT. *Am J Transpl* 2012;12:1855-1865.
97. 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. *Am J Transpl* 2012;12:3008-3020.
98. Fisher L, Saliba F, Kaiser GM, et al. Three-year outcomes in the novo liver transplant recipients receiving everolimus with reduced tacrolimus: follow-up results from a randomized multicenter study. *Transplantation* 2015;99:1455-1462.

99. Glover TE, BChir MB, Watson CJE, et al. Conversion from calcineurin to mammalian target of rapamycin inhibitors in liver transplantation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Transplantation* 2016;100:621-629.
100. US Organ Procurement and Transplantation Network and Scientific Registry of Transplant Recipients Annual Report 2008; Available at: http://optn.transplant.hrsa.gov/ar2008/Preface_Contributors.htm?cp=1, accessed 28 September 2012.
101. Chandock N, Watt KD. Burden of de novo malignancy in the liver transplant recipient. *Liver Transpl* 2012;18:1277-1289.
102. Rodriguez-Peralvarez M, De la Mata M, Burroughs AK. Liver transplantation: immunosuppression and oncology. *Curr Opin Organ Transplant* 2014;19:253-260.
103. Aguilar D, Martinez-Urbistondo D, D'Ávila D, et al. Conversion from calcineurin inhibitor-based immunosuppression to mycophenolate mofetil in monotherapy reduces risk of de novo malignancies after liver transplantation. *Ann Transplant* 2017;22:141-147.
104. Alberu J, Pascoe MD, Campistol JM, et al. Lower malignancy rates in renal allograft recipients converted to sirolimus-based calcineurin inhibitor-free immunotherapy: 24-month results from the CONVERT trial. *Transplantation* 2011;92:303-310.
105. Rodriguez-Peralvarez M, Guerrero_misas M, Thornburn D, et al Maintenance immunosuppression for adults undergoing liver transplantation: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 Mar 31;3:CD011639.

106. Pageaux GP, Rostaing L, Calmus Y, et al. Mycophenolate mofetil in combination with reduction of calcineurin inhibitors for chronic renal dysfunction after liver transplantation. *Liver Transpl* 2006;12:1755-1760.
107. Beckebaum S, Klein CG, Sotiropoulos GC, et al. Combined mycophenolate mofetil and minimal dose calcineurin inhibitor therapy in liver transplant patient: clinical results of a prospective randomized study. *Transplant Proc* 2009;41:2567-2569.
108. Komberg A, Kupper B, Thrum K, et al. Sustained renal response to mycophenolate mofetil and CNI taper promotes survival in liver transplant patients with CNI-related renal dysfunction. *Dig Dis Sci* 2011;56:244-251.
109. Schlitt HJ, Jonas S, Ganten JS, et al. Effects of mycophenolate mofetil introduction in liver transplant recipients: results from an observational, non-interventional, multicenter study (LOBSTER). *Clin Transplant* 2013;27:368-378.
110. Goralczyk AD, Bari N, Abu-Ajaj W, et al. Calcineurin inhibitor sparing with mycophenolate mofetil in liver transplantation: a systematic review of randomized controlled trials. *Am J Transpl* 2012;12:2601-2607.
111. De Simone P, Metselaar HJ, Fisher L, et al. Conversion from a calcineurin inhibitor to everolimus therapy in maintenance liver transplant recipients: a prospective, randomized, multicenter trial. *Liver Transpl* 2009;15:1262-1269.
112. Bilbao I, Salcedo M, Gomez MA, et al. Renal function improvement in liver transplant recipients after early everolimus conversion: a clinical practice cohort study in Spain. *Liver Transpl* 2015;21:1056-1065.

113. Varghese J, Reddy MS, Venugopal K, et al. Tacrolimus-related adverse events in liver transplant recipients: Its association with trough concentrations. *Indian J Gastroenterol* 2014;33:219-225.
114. Gastaca M, Bilbao I, Jimenez M, et al. Safety and efficacy of early everolimus when calcineurin inhibitors are not recommended in orthotopic liver transplantation. *Transpl Proc* 2016;48:2506-2509.
115. Watt K, Charlton MR. Metabolic syndrome and liver transplantation: a review and guide to management. *J Hepatol* 2010;53:199-206.
116. Laryea M, Watt KD, Molinari M, et al. Metabolic syndrome in liver transplant recipients: prevalence and association with cardiovascular events. *Liver Transpl* 2007;13:1109-114.
117. Song JL, Gao W, Zhong Y, et al. Minimizing tacrolimus decreases the risk of new-onset diabetes mellitus after liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2016;14:2133-2141.
118. Herrero JI, Quiroga J, Sangro B, et al. Conversión from calcinurin inhibitors to mycophenolate mofetil in liver transplant recipients with diabetes mellitus. *Transpl Proc* 2003;35:1877-1879.
119. D'Avola D, Cuervas-Mons V, Martí J, et al. Cardiovascular morbidity and mortality after liver transplantation: the protective role of mycophelate mofetil. *Liver Transpl* 2017;23:498-509.
120. Sampaio MS, Martin P, Bunnapradist S. Renal dysfunction in end-stage liver disease and post-liver transplant. *Clin Liver Dis* 2014;18:543-560.

121. Schnitzbauer AA, Sothmann J, Baier L, et al. Calcineurin inhibitor free de novo immunosuppression in liver transplant recipients with pretransplant renal impairment: results of a pilot study (PATRON07). *Transplantation* 2015;99:2565-2575.
122. Herden U, Galante A, Fisher L, et al. Early initiation of everolimus after liver transplantation: a single-center experience. *Ann Transplant* 2016;21:77-85.
123. Khorsandi SE, Heaton N. Optimization of immunosuppressive medication upon liver transplantation against HCC recurrence. *Transl Gastroenterol Hepatol* 2016;1:25-35.
124. Lerut J, Iesari S, Foguene M, et al. Hepatocellular cancer and recurrence after liver transplantation: what about the impact of immunosuppression? *Transl Gastroenterol Hepatol* 2017;2:80-91.
125. Andrassy J, Graeb C, Rentsch M, et al. mTOR inhibition and its effect on cancer in transplantation. *Transplantation* 2005;80:S171-174.
126. Opelz G, Unterrainer C, Susal C, et al. Immunosuppression with mammalian target of rapamycin inhibitor and incidence of post-transplant cancer in kidney transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2016;31:1360-1367.
127. Cholangitas E, Mamou C, Rodriguez-Castro KI, et al. Mammalian target of rapamycin inhibitors are associated with lower rates of hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation: a systematic review. *Transplant Int* 2014;27:1039-49.

128. Geissler EK, Schnitzbauer A, Zülke C, et al. Sirolimus Use in Liver Transplant Recipients With Hepatocellular Carcinoma: A Randomized, Multicenter, Open-Label Phase 3 Trial. *Transplantation* 2016;100:116-125.
129. Clavien PA, Lesurtel M, Bossuyt PM, et al. Recommendations for liver transplantation for hepatocellular carcinoma: an international consensus conference report. *Lancet oncol* 2012;13:e11-22.
130. Wu L, Tam N, Deng R, et al. Steroid-resistant acute rejection after cadaveric liver transplantation: experience from one single center. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2014;38:592-597.
131. Schmitt TM, Pholips M, Sawyer RG, et al. Anti.thymocyte globuline for the treatment of acute cellular rejection following liver transplantation. *Dig Dis Sci* 2010;55:3224-3234.
132. Aw MM, Taylor RM, Vema A, et al. Basiliximab (Simulect) for the treatment of steroid-resistant rejection in pediatric liver transplant recipients: a preliminary experience. *Transplantation* 2003;75:796-799.
133. Banff schema for grading liver allograft rejection: an international consensus document. *Hepatology* 1997; 25(3): 658-663
134. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2005; 67(6): 2089-2100
135. Charlton M. Obesity, hyperlipidemia, and metabolic syndrome. *Liver Transp* 2009; 15 Suppl 2: S83-89 [PMID 19877024 DOI: 1001002/lt.21914]

136. Gastaca M, Prieto M, Palomares I, et al. Long-term outcomes of liver transplantation in patients with pre-transplant renal dysfunction treated with induction therapy and delayed reduced de novo once-daily tacrolimus. *Transpl Proc* 2020;52:1489-1492.
137. Gastaca M, Ruiz P, Bustamante J, et al. Early tacrolimus exposure does not impact long-term outcomes after liver transplantation. *World J Hepatol* 2021;13:362-374.
138. Watt KD, Pedersen RA, Kremers WK, et al. 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(6):1420-1427.
139. Lucey MR, Terrault N, Ojo L, et al. Long-term management of the successful adult liver transplant: 2012 practice guideline by the American Association for the Study of the Liver Diseases and the American Society of Transplantation. *Liver Transpl* 2013;19:3-26.
140. Kandaswamy R, Humar A, Casingal V, et al. Stable kidney function in the second decade after kidney transplantation while on cyclosporine-based immunosuppression. *Transplantation* 2007;83:722-726.
141. Roayaie S, Schwartz JD, Sung MW, et al. Recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplant: Patterns and prognosis. *Liver Transpl* 2004;10:534-540.
142. Rodriguez-Peralvarez M, Colmenero J, Gonzalez A, et al. Cumulative exposure to tacrolimus and incidence of cancer after liver transplantation. *Am J Transplant.* ahead of print DOI:10.1111/ajt.17021
143. Lladó L, Gonzalez-Castillo A, Fabregat J, et al. Efficacy and safety of delayed prolonged-release tacrolimus initiation in de novo hepatitis C virus-negative

- orthotopic liver transplant recipients: A single-center, single-arm, prospective study. *Ann transplant* 2019;24:36-44.
144. Lim TY, McPhail MJ, Shah A, et al. Sequential cohort analysis after liver transplantation shows de novo extended-release tacrolimus is safe, efficacious and minimizes renal dysfunction. *Transplantation Direct* 2021;6:e528.
145. Okumura Y, Noda T, Eguchi H, et al. Short- and long-term outcomes of the dovo liver transplant patients treated with once-daily prolonged-release tacrolimus. *Transplantation Direct* 2017;3:e207.
146. Adam R, Karam V, Cailliez V, et al. Improved survival in liver transplant recipients receiving prolonged-release tacrolimus-based immunosuppression in the European liver Transplant Registry (ELTR): An extension study. *Transplantation* 2019;103:1844-1862.
147. Parajuli S, Foley D, Djamali A, et al. Renal function and transplantation in liver disease. *Transplantation* 2015;99:1756-1764.
148. Eason JD, Gonwa TA, Davis CL, et al. Proceedings of consensus conference on simultaneous liver kidney transplantation (SLK). *Am J Transplant* 2008;8:2243-2251.
149. Süleymanlar I, Yilmaz VT, Koçak H, et al. The effect of kidney diseases on survival in liver transplant patients. *Int Urol Nephrol* 2011;43:827-833.
150. Rodriguez-Perálvarez M, Guerrero M, De Luca L, et al. Area under trough concentrations of tacrolimus as a predictor of progressive renal impairment after liver transplantation. *Transplantation* 2019;103:2439-2548.
151. Cruz CM, Pareira S, Gandara J, et al. Efficacy and safety of monotherapy with mycophenolate mofetil in liver transplantation patients with nephrotoxicity. *Transplant Proc* 2016;48:2341-2343.

152. Norero B, Serrano CA, Sanchez-Fueyo A, et al. Conversion to mycophenolate mofetil monotherapy in liver recipients: Calcineurin inhibitor levels are key. *Ann Hepatol* 2017;16:94-106.
153. Lan X, Liu MG, Chen HX, et al. Efficacy of immunosuppression monotherapy after liver transplantation: A meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2014;20:12330-12340.
154. Rodríguez-Perálvarez M, Germani G, Darius T et al. Tacrolimus trough levels, rejection and renal impairment in liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant* 2012;12:2797-2814.
155. Taperman LW, Morgan GR, Diflo T, et al. Tacrolimus dose is donor dependent. *Transplantation* 1998;66:S44.
156. Di Maria T, Sapisochin G, Rajakumar R, et al. The first fifteen days of calcineurin inhibitors exposure do not predict post-transplant malignant outcomes. *Transplantation* 2018;102 Suppl 5: S167-S168.
157. Roche B, Samuel D. Risk factors for hepatitis C recurrence after liver transplantation. *J Viral Hepat* 2007;14 Suppl 1:89-96.
158. Berenguer M, et al. Significant improvement in the outcome of HCV-infected transplant recipients by avoiding rapid steroid tapering and potent induction immunosuppression. *J Hepatol* 2006;44(4):717-722.

ANEXO

Favorable Longterm Outcomes of Liver Transplant Recipients Treated De Novo With Once-Daily Tacrolimus: Results of a Single-Center Cohort

Mikel Gastaca,^{1,4} Andrés Valdivieso,^{1,4} Javier Bustamante,^{2,4} José R. Fernández,² Patricia Ruiz,¹ Alberto Ventoso,¹ Milagros Testillano,² Ibone Palomares,¹ Patricia Salvador,² Mikel Prieto,¹ Miguel Montejo,^{3,4} María J. Suárez,² and Jorge Ortiz de Urbina¹

¹Hepatobiliary Surgery and Liver Transplantation Unit, ²Liver Diseases Unit, and ³Infectious Diseases Unit, Cruces University Hospital, Bilbao, Spain; and ⁴University of the Basque Country, Leioa, Spain

The once-daily prolonged-release formulation of tacrolimus has been recently related with significant graft and patient mid-term survival advantages; however, practical information on the de novo administration after liver transplantation and longterm outcomes is currently lacking. This study is a 5-year retrospective analysis of a single-center cohort of liver transplant recipients treated de novo with once-daily tacrolimus (April 2008/August 2011). The study cohort consisted of 160 patients, including 23 with pretransplant renal dysfunction, with a median follow-up of 57.6 months (interquartile range, 46.6-69.0). Tacrolimus target trough levels were 5-10 ng/mL during the first 3 months after transplant, reducing progressively to <7 ng/mL after the first posttransplant year. Once-daily tacrolimus was withdrawn in 35 (21.8%) patients during follow-up, mostly due to renal dysfunction and/or metabolic syndrome. The biopsy-proven acute rejection rate was 12.5% with no cases of steroid-resistant rejection. The cumulative incidence of de novo diabetes, hypertension, and dyslipidemia were 16.9%, 31.2%, and 6.5%, respectively. Hepatocellular carcinoma recurrence rate was 2.8%. Renal function remained stable after the sixth month after transplant with a mean estimated glomerular filtration rate of 77.7 ± 19.6 mL/minute/1.73 m² at 5 years. None of our patients developed chronic kidney disease stage 4 or 5. Patient survival at 1, 3, and 5 years was 96.3%, 91.9%, and 88.3%, respectively. Overall survival of patients with Model for End-Stage Liver Disease (MELD) score >25 points was not significantly different. In conclusion, our study suggests that immunosuppression based on de novo once-daily tacrolimus is feasible in routine clinical practice, showing favorable outcomes and outstanding longterm survival even in patients with high MELD scores.

Liver Transplantation 22 1391-1400 2016 AASLD.

Received March 17, 2016; accepted June 21, 2016.

The once-daily prolonged-release formulation of tacrolimus (T-qd; Advagraf, Astellas Pharma, Ltd.) was

licensed in Europe in 2007 for the prevention and treatment of allograft rejection in liver, kidney, and heart transplantation. The simpler dosing regimen aimed to improve outcomes by eliciting better adherence among transplant recipients and stabilizing tacrolimus exposure.⁽¹⁻⁷⁾ Nevertheless, reported systemic exposure area under the curve at 0-24 hours (AUC0-24) on day 1 was 50% lower for T-qd than for tacrolimus administered 2 times a day (bid) at equivalent doses, so a higher initial dose of T-qd has been recommended to achieve similar exposure.⁽⁸⁾ The difficulty in achieving adequate tacrolimus levels early after liver transplantation (LT) makes clinicians reluctant to use T-qd de novo, and experts tend not to recommend an oral extended formulation of tacrolimus in intensive care units.⁽⁹⁾

Abbreviations: AUC0-24, area under the curve at 0-24 hours; bid, twice daily; BMI, body mass index; BPAR, biopsy-proven acute rejection; CKD, chronic kidney disease; CMV, cytomegalovirus; DM, diabetes mellitus; eGFR, estimated glomerular filtration rate; HbA1C, hemoglobin A1c; HCC, hepatocellular carcinoma; HCV, hepatitis C virus; IQR, interquartile range; KDIGO, Kidney Disease, Improving Global Outcomes; labMELD, laboratory Model for End-Stage Liver Disease; LT, liver transplantation; MELD, Model for End-Stage Liver Disease; MMF, mycophenolate mofetil; OLT, orthotopic liver transplantation; SD, standard deviation; TACE, transarterial chemoembolization; T-qd, once-daily prolonged-release formulation of tacrolimus.

Several LT studies have addressed short- and medium-term outcomes after conversion to T-qd.^(1,10-15) In these studies, clinical outcomes have been similar to bid tacrolimus after follow-up periods of between 6 and 24 months. Nevertheless, information on the safety and efficacy of de novo use of T-qd in LT is scant, and follow-up in general does not exceed 1 year.⁽¹⁶⁻²³⁾ Only 2 studies in the literature report mid-term to longterm outcomes with de novo T-qd. In the first, van Hooff et al.⁽²³⁾ included 47 patients from previous de novo studies in a prospective follow-up. It is interesting to note that although 4-year patient and graft survival was 90.9%, patients were included in the study 6 weeks after transplantation and data from the early posttransplant period were not recorded. In the second study, Adam et al.⁽¹⁶⁾ retrospectively analyzed the European Liver Transplant Registry to compare long-term outcomes with T-qd versus conventional tacrolimus in LT. In this study, significant graft and patient survival advantages at 3 years were observed in the T-qd group. Again, it should be mentioned that patients with <1 month of follow-up were excluded in the study. Moreover, tacrolimus dose and/or exposure and renal function over time could not be evaluated in this retrospective analysis. In this context, experts have recently recommended additional research on the novo administration of T-qd because currently available information is scant and practical information is lacking.⁽⁹⁾

The aim of our study was to describe the longterm safety and efficacy profile of once-daily tacrolimus initiated de novo after LT. To our knowledge, this is the first study to report 5-year patient and graft outcomes

in LT with de novo prolonged-release tacrolimus-based immunosuppression.

Patients and Methods

STUDY DESIGN

We conducted an observational study based on a prospectively collected database comprising 176 consecutive adult patients who received a LT between April 2008 and August 2011 and whose initial immunosuppression was based on T-qd. Patients were followed up until December 31, 2014. Exclusion criteria were retransplantation (n = 12) and combined transplantation (n = 4). All patients with hepatocellular carcinoma (HCC) met preoperative Milan criteria. All patients gave informed consent. This study followed the principles of the Declaration of Helsinki and received ethics committee approval.

EARLY POSTTRANSPLANTATION IMMUNOSUPPRESSIVE TREATMENT

Initial immunosuppression was achieved with T-qd and steroids 20 mg/day. Patients who were considered at risk of renal dysfunction received mycophenolate mofetil (MMF) 1000-2000 mg/day. T-qd began within the first 24 hours after orthotopic liver transplantation (OLT), either orally or via a nasogastric tube. The initial dose was 0.15 mg/kg/day or 0.1 mg/kg/day if combined with MMF. Patients with preoperative renal dysfunction and those who developed renal dysfunction during the surgical procedure or in the immediate posttransplant period were first treated with interleukin 2 receptor antagonists. In these patients, MMF was added and T-qd was delayed and initiated when renal function recovered to a minimum estimated glomerular filtration rate (eGFR) of 50 mL/minute/1.73 m². In patients with diabetes mellitus (DM), immunosuppression was achieved with T-qd and MMF, avoiding steroids. Tacrolimus target trough levels were 5-10 ng/mL during the first 3 months after transplantation; however, the tacrolimus dose was not increased in patients with lower trough levels and normal liver function tests. Serum tacrolimus levels were monitored regularly every 48 hours during hospitalization.

Address reprint requests to Mikel Gastaca, M.D., Hepatobiliary Surgery and Liver Transplantation Unit, Cruces University Hospital, Plaza de Cruces 12, 48903 Bilbao, Spain. Telephone: +34 946006372; FAX: +34 946006590; E-mail: mikelgastaca@gmail.com

Mikel Gastaca is a member of advisory boards and has received honoraria from Astellas and Novartis. Javier Bustamante has received honoraria from Astellas and Novartis. Andrés Valdivieso has received honoraria from Astellas and Novartis. Jorge Ortiz de Urbina is a member of advisory boards and has received honoraria from Astellas and Novartis. All other authors have no conflicts to declare.

This study did not receive financial support. Medical writing support was funded by Astellas Pharma.

Copyright © 2016 by the American Association for the Study of Liver Diseases.

View this article online at wileyonlinelibrary.com.

DOI 10.1002/lt.24514

MID-TERM TO LONGTERM IMMUNOSUPPRESSION AND FOLLOW-UP

After discharge and until T-tube withdrawal at the third postoperative month (end-to-end choledochocholedochostomy with a T-tube is our choice for biliary reconstruction), patients were monitored weekly by the home hospitalization team and every 2 weeks by the transplant hepatologist at the outpatient clinic. Subsequently, patients were monitored monthly until the first year and then every 2-3 months. From the third year on, stable patients with no relevant comorbidities were followed up every 4-6 months.

Target tacrolimus trough levels were progressively reduced during follow-up: 4-9 ng/mL from month 3 to 6; 3-8 ng/mL from month 6 to 12; and <7 ng/mL after the first posttransplant year. Steroids were withdrawn 3-4 months after transplantation in most patients; however, slow weaning was indicated in hepatitis C virus (HCV)-positive patients and withdrawal was delayed until months 12-18. Patients with autoimmune disease continued to receive low-dose prednisone (5 mg/day). The duration of treatment with MMF was individualized on the basis of side effects and/or clinical requirements.

Treating physicians adjusted immunosuppressive drugs according to their clinical judgment. No specific method was used to assess adherence: patients were asked at each visit whether there had been any deviations from the prescribed regimen.

ACUTE CELLULAR REJECTION

Acute cellular rejection was suspected when abnormal liver function tests were observed in patients with low tacrolimus trough levels after other possible causes of liver dysfunction had been ruled out. First-line therapy for suspected rejection was to increase tacrolimus trough levels. If liver dysfunction persisted with no other obvious cause, a liver biopsy was indicated. Acute cellular rejection in this study was biopsy-proven in all cases, evaluated by the local pathologist, and graded according to the Banff International Consensus document.⁽²⁴⁾ The initial approach in the case of biopsy-proven acute rejection (BPAR) was to further increase tacrolimus exposure even above target levels; 3 consecutive daily 500-mg corticosteroid boluses were used only in pathologically severe rejection or if graft dysfunction persisted after T-qd adjustments.

ENDPOINTS AND DEFINITIONS

Outcome variables were as follows:

1. Patient survival.
2. Graft survival.
3. BPAR rate.
4. Immunosuppression-related morbidity.
5. Longterm renal function (assessed by eGFR based on the Modification of Diet in Renal Disease-4 formula).

Pretransplant renal dysfunction was defined as an eGFR of <60 mL/minute/1.73 m² at the time of transplantation. Chronic kidney disease (CKD) was defined and classified according to Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) guidelines.⁽²⁵⁾ Metabolic syndrome was defined according to previous definitions.⁽²⁶⁾ De novo diabetes was diagnosed when fasting plasma glucose was repeatedly at >126 mg/dL; dyslipidemia was diagnosed when treatment was prescribed by the treating specialist for elevated blood cholesterol or triglycerides; and arterial hypertension was diagnosed when antihypertensive treatment was initiated. Graft loss was defined as retransplantation or death with a nonfunctioning graft. Death with a functioning graft was censored for the analysis of graft survival.

STATISTICAL ANALYSIS

Qualitative variables were described in percentages and quantitative variables were described using means and standard deviations (SDs) or median and interquartile ranges (IQRs), depending on data distribution. Patient and graft survival were analyzed using the Kaplan-Meier method. Patients lost to follow-up were censored for survival analysis at their last recorded visit. The log-rank test was used to study patient and survival and evolution of eGFR among the 3 groups of laboratory Model for End-Stage Liver Disease (labMELD) score.

Statistical analysis was performed using the statistical software SPSS, version 22.0 (IBM, Armonk, NY).

Results

The final cohort consisted of 160 patients with a median follow-up of 57.6 months (IQR, 46.6-69.0). Four patients were lost to follow-up between 1 and 6 years after transplant. All recipients were Caucasians and received whole grafts from donation after brain death

TABLE 1. Donor and Recipient Characteristics

	Donors and Recipients (n = 160)
Donors	
Age, years	57.0 ± 17.2
Sex, male	96 (60.0)
Cause of death	
Stroke	105 (65.6)
Trauma	34 (21.2)
Other	20 (12.5)
Graft steatosis ≥ 30%	10 (6.2)
Recipients	
Age, years	54.9 ± 8.9
Sex, male	125 (78.1)
LabMELD	14.9 ± 5.8
HCC	69 (43.1)
BMI, kg/m ²	26.9 ± 4.1
Cause of liver disease	
Alcohol abuse	78 (48.8)
HCV	50 (31.2)
Cholestatic liver disease	6 (3.8)
Other	25 (15.6)
Medical history	
Renal dysfunction	23 (14.4)
DM	30 (18.8)
Arterial hypertension	28 (17.5)

donors. Donor and recipient characteristics are summarized in Table 1. The donors' mean age was 57.0 ± 17.2 years, and the majority of them (65.6%) died of stroke. Regarding recipients, the major causes of liver disease were alcohol cirrhosis (n = 78; 48.8%) and HCV-related cirrhosis (n = 50; 31.2%). Seven patients underwent transplantation with acute liver failure (4.4%). Overall mean labMELD score was 14.9 ± 5.8. A total of 69 (43.1%) patients had HCC. Mean labMELD score for patients without HCC was 17.0 ± 5.9. Twenty-three patients (14.4%) presented with pretransplant renal dysfunction.

Overall, interleukin 2 receptor antagonists and delayed T-qd were used in 17.5% of the transplants (Table 2). Double therapy with T-qd with steroids or MMF, as initial immunosuppression was used in

TABLE 2. Initial Immunosuppressive Therapy During the Posttransplant Period

	Patients (n = 160)
Interleukin 2 receptor antagonists	28 (17.5)
Corticosteroids	133 (83.1)
Mycophenolate mofetil	64 (40)
Total initial dose of tacrolimus per day, mg	10.2 ± 2.5
Dose of tacrolimus per kg and day, mg/kg	0.13 ± 0.24
Mean trough levels from day 1 to day 15, ng/mL	8.3 ± 4.1

NOTE: Data are given as n (%) or mean ± SD.

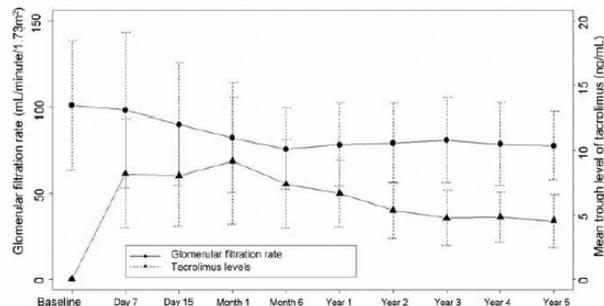


FIG. 1. Tacrolimus trough levels and estimation of glomerular filtration rate over 5-year follow-up (mean ± SD).

71.8% of the recipients, whereas 10.6% were treated with triple therapy (T-qd, steroids, and MMF). Mean tacrolimus trough level was maintained within targets throughout the study period, at 8.3 ± 4.1 ng/mL within the first 15 posttransplant days, with a slight increase within the first month to 9.1 ± 4.9 ng/mL, and a steady decrease during the remaining follow-up: 6.7 ± 2.5 ng/mL at 1 year, 4.7 ± 2.1 ng/mL at 3 years, and 4.5 ± 2 ng/mL at 5 years as shown in Fig. 1. Tacrolimus trough levels of <10 ng/mL were achieved in 68.8% of the recipients during the first 15 days after LT. This proportion increased to 80.9% at 3 months. T-qd dose adjustment during the first 15 days after LT was not needed in 15.7% of the patients; 1 or 2 adjustments were needed in 69.2%; and 3 or 4 adjustments in 15.1%. MMF was maintained lifelong in 52% of the patients who were receiving MMF at the time of hospital discharge. Moreover, 18.0% of the patients were receiving MMF monotherapy at the end of follow-up.

Recipient outcomes are shown in Table 3. Overall, BPAR was reported in 20 (12.5%) patients. Fifteen patients developed BPAR within the first posttransplant month with a mean tacrolimus trough level on the day of liver biopsy of 6.3 ± 3.4 ng/mL, which was lower than the mean tacrolimus level observed for the whole cohort during the first 15 posttransplant days (8.3 ± 4.1 ng/mL). Most rejections were histologically moderate; however, only 11 were treated with corticosteroid boluses, whereas the rest responded to tacrolimus dose escalation. No patient required a second cycle of corticosteroids, and there were no cases of steroid-resistant rejection. One patient developed chronic rejection 8 months after LT and was successfully treated by increasing the tacrolimus dose.

TABLE 3. Patient Outcomes After Transplantation

	Patients (n = 160)
BPAR	20 (12.5)
Grade of rejection	
Mild	1 (5)
Moderate	18 (95)
Administration of corticosteroid boluses	11 (6.9)
Corticosteroid-resistant rejection	—
Early reoperation	6 (3.8)
Hepatic artery thrombosis	3 (1.9)
Biliary complications	25 (15.6)
re-OLT	9 (5.6)
Cause of re-OLT*	
Primary nonfunction	2 (22.2)
Biliary complication	2 (22.2)
HCV recurrence	2 (22.2)
Other	3 (33.3)
De novo tumor†	19 (11.9)
HCC recurrence‡	2 (2.9)
Discontinuation of tacrolimus	35 (21.9)
Causes of discontinuation	
Toxicity	3 (8.6)
Renal dysfunction	15 (42.8)
Metabolic syndrome	10 (28.6)
Metabolic syndrome + renal dysfunction	3 (8.6)
Other	4 (11.4)
Mortality	
Hospitalization	2 (1.2)
Follow-up	17 (10.6)
Cause of mortality§	
Sepsis	3 (15.8)
HCV recurrence	9 (47.4)
De novo tumor	4 (21.1)
HCC recurrence	1 (5.3)
Stroke	2 (10.6)

NOTE: Data are given as n (%).

*Percentage of 9 retransplantations.

†Neoplasias as follows: 6 skin; 4 head and neck; 4 gastrointestinal; 2 prostate; and 1 each lung, B lymphoma, and acoustic neuroma.

‡Percentage of 69 patients with HCC prior to transplantation.

§Percentage of 19 deceased recipients.

Overall, T-qd was withdrawn in 35 patients (Table 3). Early withdrawal, within the first 2 weeks after transplantation, was required in 3 patients with neurotoxicity. All of them successfully recovered after withdrawal. Late withdrawal was needed in 28 patients with renal dysfunction and/or metabolic syndrome. The median time from LT to T-qd withdrawal was 41.0 ± 10.5 months in 18 patients with renal dysfunction. Mean eGFR in these patients was 54.7 ± 8.8 mL/minute/1.73 m² at the time of discontinuation. After T-qd discontinuation in patients with renal dysfunction, immunosuppression was managed with MMF monotherapy in 15 patients and everolimus-based therapy in 2 patients. A median improvement of 10% in creatinine clearance was observed in 9 patients

out of the 15 recipients in whom renal impairment was the sole reason for tacrolimus discontinuation, whereas the rest suffered no change or worsening of renal function. One patient with severe de novo DM and renal impairment switched to tacrolimus bid 3 months after LT. Ten patients with late metabolic syndrome were obese, and all but 1 had DM. All of them continued on MMF monotherapy after tacrolimus withdrawal.

Retransplantation was performed in 9 (5.6%) patients; only 2 patients were urgently retransplanted, both due to primary graft nonfunction. HCV recurrence was the reason for regrafting in 2 patients with late retransplantation (4% of the HCV-positive transplanted patients). De novo tumors were diagnosed in 19 (11.9%) recipients (see Table 3), whereas 2 (2.9%) patients developed HCC recurrence. Because of the low recurrence rate, we analyzed data from the HCC

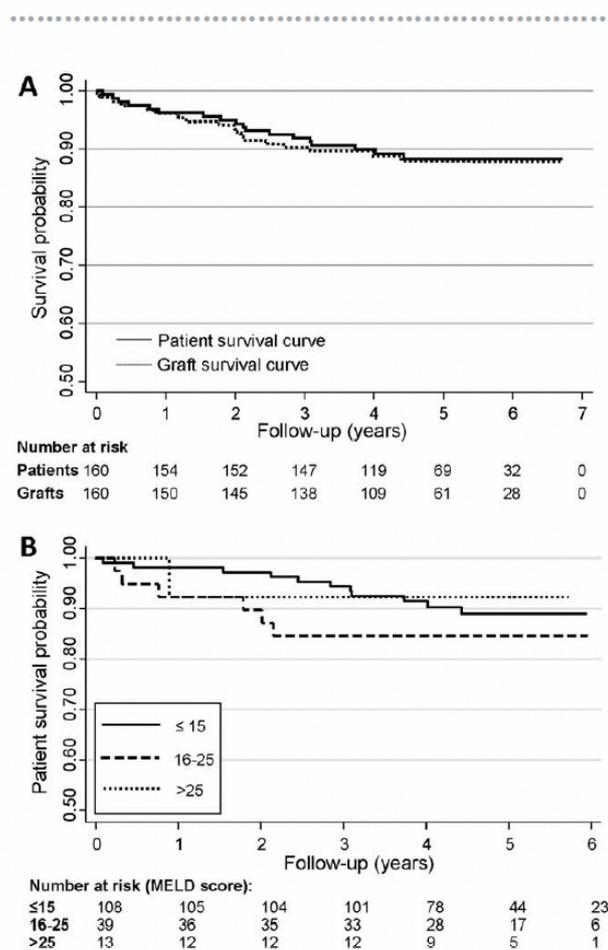


FIG. 2. Kaplan-Meier survival curves after LT (n = 160). (A) Patient and graft survival. (B) Patient survival according to the labMELD score (P = 0.77).

TABLE 4. Adverse Events

	Hospitalization (n = 160)	Follow-up (n = 154)
Patients presenting with infections	34 (21.2)*	47 (30.5) [†]
Bacterial	22 (64.7)	11 (23.4)
Viral, excluding CMV	8 (23.5)	3 (6.4)
CMV	5 (14.7)	34 (72.3)
Fungal	6 (17.6)	2 (4.3)
Renal dysfunction		
Acute	39 (24.4)	5 (3.2)
Chronic stage 2	0	49 (31.8)
Stage 3	0	37 (24.0)
Neurotoxicity	10 (6.2)	33 (21.4)
Tremor	4 (2.5)	31 (20.1)
Headache	0	2 (1.3)
Dysarthria	4 (2.5)	0
Other	2 (1.2)	0
De novo DM	—	26 (16.9)
HbA1c in de novo DM	—	6.5% ± 1.2%
De novo insulin therapy	—	18 (11.7)
De novo hypertension	—	48 (31.2)
De novo dyslipidemia	—	10 (6.5)

NOTE: Data are given as n (%) or mean ± SD.

*6 patients had 2 different infection episodes.

[†]3 patients had 2 different infection episodes.

cohort more in depth. Patients with HCC underwent transplantation after a mean waiting time of 153 days, and 70.3% of them had been treated with transarterial chemoembolization (TACE) and/or ablation techniques while listed. After pathology examination, 81.5% of the patients remained within Milan criteria. Notably, microvascular invasion or satellite nodules were observed in only 3% of the patients.

Nineteen (11.9%) patients died during the study period. The most common cause of death was HCV recurrence in 9 patients, followed by de novo tumor in 4 patients (Table 3). Only 2 patients died of cardiovascular complications, and 1 died of HCC recurrence. It is noteworthy that only 2 patients died during hospitalization (in-hospital mortality rate of 1.2%). Patient survival at 1, 3, and 5 years was 96.3%, 91.9%, and 88.3%, respectively, whereas graft survival was 96.2%, 90.4%, and 87.9%, respectively (Fig. 2A). Overall survival of patients with MELD scores of >25 points was not significantly different when compared to recipients with labMELD score ≤15 or 16–25 points (Fig. 2B).

Adverse events observed during follow-up are shown in Table 4. The most frequent postoperative complication was infection. Bacterial infections accounted for 64.7% of the total infections during hospitalization. Cytomegalovirus (CMV) infection was the most frequent infection during follow-up (72.3% of the total), although it was uncommon early after transplantation (3.1%). The cumulative incidence of de

novo diabetes, hypertension, and dyslipidemia at the end of the follow-up was 16.9%, 31.2%, and 6.5%, respectively. Mean hemoglobin A1c (HbA1C) level during follow-up was 6.6% ± 1.1% in patients with pre-LT diabetes and 6.5% ± 1.2% in patients with de novo diabetes. Neurotoxicity occurred in 10 (6.3%) patients during hospitalization. Tremor or dysarthria was observed in 8 patients. During follow-up, 33 (21.4%) patients complained of tremor and/or headache.

Evolution of eGFR is shown in Fig. 1. Patients withdrawn from T-qd due to renal function were not censored for this analysis, so longterm renal data was intent to treat. Glomerular filtration decreased from 100.3 ± 38.6 mL/minute/1.73 m² prior to transplant to 75.7 ± 23.5 mL/minute/1.73 m² at 6 months after transplantation; thereafter, it remained stable at between 70 and 80 mL/minute/1.73 m² until the end of the follow-up period. Mean eGFR was 77.7 ± 19.6 mL/minute/1.73 m² at 5 years after transplant. At the end of follow-up, 86 (55.8%) patients, including 19 patients with pretransplant renal dysfunction, had developed CKD according to the KDIGO guidelines (Table 4). Of these patients, 49 (31.8%) presented with stage 2 CKD, whereas 37 (24.0%) patients had stage 3 CKD. Interestingly, none of our patients developed CKD stages 4 and 5 during the study period. Longterm renal function of patients transplanted with a MELD score of >25 was comparable to that observed in recipients with lower MELD scores (76.5 ± 20.6 mL/minute/1.73 m² at 5 years after transplant).

Discussion

To our knowledge, this study describes for the first time the 5-year outcomes of adult LT with immunosuppression therapy based on de novo once-daily tacrolimus. In this study, patients underwent transplantation and were managed in the same center; accordingly, they were all treated following similar procedures and strategies, and as such, they represent a large homogeneous sample of routine daily practice with a longterm follow-up. Our study demonstrates that immunosuppression based on oral de novo T-qd initiated immediately after LT is feasible and achieves a low BPAR rate. Moreover, low tacrolimus trough levels during the early posttransplant period and throughout the longterm follow-up were associated with preserved renal function, low HCC recurrence, and remarkable longterm patient and graft survival.

Overall, the rate of BPAR was 12.5% in our study. Most rejection episodes in our cohort were of moderate severity, which could be explained by the sequential strategy used in our unit. We can hypothesize that most mild rejections were treated by increasing tacrolimus trough levels, so biopsy was not required. In addition, mean tacrolimus trough levels on the day of liver biopsy of the patients who developed BPAR within the first month after transplantation were lower than the mean tacrolimus levels observed for the whole cohort during the first 15 days after transplant. This may be why almost half of the moderate BPAR cases were also successfully treated by tacrolimus dose escalation. Our findings mirror those reported in a recent systematic review and meta-analysis where reduced conventional tacrolimus trough concentrations (<10 ng/mL) within the first month after LT had no significant influence on acute rejection.⁽²⁷⁾

Of course, multiple reasons may have contributed to our favorable results in terms of patient and graft survival. Undoubtedly, the remarkable advances seen in recent years in all fields related to solid organ transplantation have contributed to a dramatic improvement in clinical outcomes, particularly patient and graft survival; this contemporary cohort has therefore benefited from this scenario. It can be argued that our results might be related with the favorable clinical situation of our recipients at the time of transplantation. Nevertheless, the weakness of the MELD score in evaluating some clinical situations related with liver cirrhosis has already been addressed in the literature.⁽²⁸⁾ In our center, the clinical status and the indication for transplantation of our patients is evaluated not only by their MELD score but also by the Child-Pugh score, so patients with intractable ascites, encephalopathy, or other clinical situations not adequately evaluated by MELD score can be prioritized for transplant. In addition, the median waiting time for LT in our center was 4 months during the study period, and this probably allowed patients to be transplanted before liver function deteriorated. This scenario can be explained by our local conditions, which consist of a single reference transplant center in a small community with high rates of organ donation. We realize that the low MELD score of our patients might limit the generalized application of our findings; however, results in terms of patient survival or longterm renal function were not significantly different for patients with MELD scores of >25 when compared with lower MELD score patients.

Preservation of renal function might be another reason for our outstanding results. Indeed, renal insufficiency is associated with a 4- to 5-fold increase in the relative risk of death more than 1 year after LT.^(29,30) A steady decrease in glomerular filtration rate of between 20 and 30 mL/minute during the first weeks has been previously described after LT⁽³¹⁾ and a progressive reduction of renal function in the mid-term to long term has been repeatedly reported.⁽³²⁻³⁴⁾ In our study, although an expected 20% decrease in eGFR was observed during the first month after LT, renal function remained stable with a mean eGFR between 75 and 80 mL/minute/1.73 m² from month 6 after transplant throughout the 5-year follow-up. Nevertheless, renal dysfunction was a prevalent complication in our population, and as many as 55.8% of the recipients developed CKD according to the KDIGO guidelines. However, we should note that CKD stage 3 (eGFR 30-59 mL/minute/1.73 m²) only occurred in 37 (24.0%) patients, including 9 patients with pretransplant renal dysfunction. None of our patients developed CKD stages 4 and 5, so none needed dialysis or renal transplant. These findings contrast with an accepted rate of 30%-80% CKD stage 3-4 beyond the first posttransplant year and the cumulative risk of 5%-8% of end-stage kidney disease requiring maintenance dialysis therapy or kidney transplantation during the first 10 years after LT.⁽³⁵⁾ The relationship between low initial T-qd exposure and reduced impairment of renal function during the early post-LT period has been demonstrated recently.⁽²¹⁾ Our study shows that the initial benefit of low T-qd exposure on renal function may be extended to the long term after LT. Moreover, this beneficial effect on longterm renal function was not only observed in patients with good pre-LT clinical condition but also in patients with high MELD scores. Our renal function results may reflect a lack of longer follow-up, but in our opinion, our policy of low tacrolimus trough levels from the very early posttransplant period and throughout the follow-up in addition to our policy of discontinuing calcineurin inhibitors and MMF monotherapy in the mid-term to long term in patients with renal impairment may have played a significant role in maintaining renal function. Moreover, the cumulative incidence of factors known to contribute to the development of CKD and mortality in the LT population—de novo DM, hypertension, and dyslipidemia^(29,30)—was low in our study, particularly when the longterm follow-up is taken into account. Notably, only 2 patients died due to cardiovascular-related causes. Maintenance of low

tacrolimus levels during follow-up might also be related with this reduction of side effects. Nevertheless, due to the nature of our study, we cannot prove that the use of T-qd instead of conventional tacrolimus played a direct role in the maintenance of renal function.

HCC recurrence rate in our study was 2.9%. This rate is surprisingly low compared with the 8%-20% reported in the literature^(36,37) and with our previous results—12.5% HCC recurrence in patients transplanted between 1996 and 2008.⁽³⁸⁾ Advances in diagnosis and treatment options while on the waiting list may have influenced these results. In fact, more than two-thirds of the patients received treatment for their HCC prior to LT. In addition, pathology reports of the transplanted patients with HCCs suggested a low incidence of microvascular invasion and satellite nodules, indicating a possibly favorable transplantation cohort. Nevertheless, in our opinion, maintenance of low tacrolimus levels could have also played a significant role. The possible relationship of a higher early exposure to calcineurin inhibitors with an increased risk of HCC recurrence was recently addressed by Rodríguez-Perálvarez et al.⁽³⁹⁾ These authors observed that high exposure to calcineurin inhibitors was an independent predictor of HCC recurrence after LT (relative risk = 2.82; $P = 0.005$) in the multiple Cox regression analysis. Although, our findings warrant further analysis, they seem to confirm a possible relationship between low tacrolimus levels and a reduction in HCC recurrence.

Finally, improved adherence to treatment with a simplified once-daily regimen has been described as a key factor in patient and graft survival.⁽⁴⁰⁻⁴²⁾ Moreover, improvement in adherence has been established both in liver and renal transplant recipients after conversion from bid tacrolimus to T-qd.^(1,12,42) Although we did not specifically study treatment adherence, we may indirectly assume that our patients' compliance was good because the rates of rejection, immunological complications, and death were low in our study.

Our study is subject to a series of limitations:

1. It is retrospective and observational, although the data were retrieved from a prospective database.
2. It is descriptive and has no control group because nearly all patients in our hospital after 2008 received T-qd.
3. We did not collect an objective measure of adherence.

Consequently, we recognize that the cause-effect relationship between the use of T-qd and outcome after LT may be considered somewhat speculative. We also

recognize that our study may generate new controversies that must be answered with further analyses. Nevertheless, this large single-center cohort is homogeneous in terms of immunosuppressive protocol and management of adverse events, and in the current climate in which experts have recognized a lack of practical information on de novo initiation of T-qd after LT,⁽⁹⁾ our study provides valuable information about its use in routine clinical practice and the longterm outcomes that can be expected with a careful policy of minimization of immunosuppression. To our knowledge, this is the first report of 5-year outcomes after LT with T-qd-based immunosuppression initiated de novo.

We conclude that, in our study, low exposure to tacrolimus in LT recipients treated de novo with T-qd-based immunosuppression was associated with preservation of longterm renal function, a low incidence of side effects, and an extremely low rate of HCC recurrence without an increase in the incidence of biopsied acute cellular rejection. Longterm patient and graft survival rates were outstanding even in patients with high MELD scores and support the effectiveness and safety of de novo once-daily tacrolimus-based immunosuppression in LT. Our study questions the current reluctance among clinicians to use T-qd de novo in LT by providing evidence from routine daily practice. Finally, in our opinion, the lower tacrolimus exposure observed in the early posttransplant period when using once-daily tacrolimus may become a valuable advantage in terms of drug-related side effects.

Acknowledgments: The authors thank Lorea Martínez-Indart and Jose Ignacio Pijoan from the Clinical Epidemiology Unit of our center for their valuable help with the statistics. The authors also thank Dr. Blanca Piedrafita at Medical Statistics Consulting S.L. (Valencia) for writing assistance in manuscript preparation and collation of author contributions.

REFERENCES

- 1) Beckebaum S, Jacob S, Sweid D, Sotiropoulos GC, Saner F, Kaiser G, et al. Efficacy, safety, and immunosuppressant adherence in stable liver transplant patients converted from a twice-daily tacrolimus-based regimen to once-daily tacrolimus extended-release formulation. *Transpl Int* 2011;24:666-675.
- 2) First MR. First clinical experience with the new once-daily formulation of tacrolimus. *Ther Drug Monit* 2008;30:159-166.
- 3) Morales JM, Varo E, Lázaro P. Immunosuppressant treatment adherence, barriers to adherence and quality of life in renal and liver transplant recipients in Spain. *Clin Transplant* 2012;26:369-376.

- 4) Morrissey PE, Flynn ML, Lin S. Medication noncompliance and its implications in transplant recipients. *Drugs* 2007;67:1463-1481.
- 5) Sabaté E. Adherence to long-term therapies: evidence for action. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2003.
- 6) O'Carroll RE, McGregor LM, Swanson V, Masterton G, Hayes PC. Adherence to medication after liver transplantation in Scotland: a pilot study. *Liver Transpl* 2006;12:1862-1868.
- 7) Florman S, Alloway R, Kalayoglu M, Lake K, Bak T, Klein A, et al. Conversion of stable liver transplant recipients from a twice-daily Prograf-based regimen to a once-daily modified release tacrolimus-based regimen. *Transplant Proc* 2005;37:1211-1213.
- 8) Fischer L, Trunečka P, Gridelli B, Roy A, Vitale A, Valdivieso A, et al. Pharmacokinetics for once-daily versus twice-daily tacrolimus formulations in de novo liver transplantation: a randomized, open-label trial. *Liver Transpl* 2011;17:167-177.
- 9) Coilly A, Calmus Y, Chermak F, Dumortier J, Duvoux C, Guillaud O, et al. Once-daily prolonged release tacrolimus in liver transplantation: Experts' literature review and recommendations. *Liver Transpl* 2015;21:1312-1321.
- 10) Dumortier J, Guillaud O, Boillot O. Conversion from twice daily tacrolimus to once daily tacrolimus in long-term stable liver transplant recipients: a single-center experience with 394 patients. *Liver Transpl* 2013;19:529-533.
- 11) Considine A, Tredger JM, Heneghan M, Agarwal K, Samyn M, Heaton ND, et al. Performance of modified-release tacrolimus after conversion in liver transplant patients indicates potentially favorable outcomes in selected cohorts. *Liver Transpl* 2015;21:29-37.
- 12) Giannelli V, Rossi M, Giusto M, Lucidi C, Lattanzi B, Ruffa A, et al. Conversion from twice-daily to once-daily Tacrolimus administration in liver transplant patient: results of long term follow-up. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013;17:2718-2720.
- 13) Saňko-Resmer J, Boillot O, Wolf P, Thorburn D. Renal function, efficacy and safety postconversion from twice- to once-daily tacrolimus in stable liver recipients: an open-label multicenter study. *Transpl Int* 2012;25:283-293.
- 14) Valente G, Rinaldi L, Sgambato M, Piai G. Conversion from twice-daily to once-daily tacrolimus in stable liver transplant patients: effectiveness in a real-world setting. *Transplant Proc* 2013;45:1273-1275.
- 15) Dopazo C, Rodriguez R, Llado L, Calatayud D, Castells L, Ramos E, et al. Successful conversion from twice-daily to once-daily tacrolimus in liver transplantation: observational multicenter study. *Clin Transplant* 2012;26:E32-E37.
- 16) Adam R, Karam V, Delvart V, Trunečka P, Samuel D, Bechstein WO, et al. Improved survival in liver transplant recipients receiving prolonged-release tacrolimus in the European Liver Transplant Registry. *Am J Transplant* 2015;15:1267-1282.
- 17) Charco R, Caralt M, Lladó L, Valdivieso A, Fabregat J, Matarranz A, et al. A prospective, multicenter study of once-daily extended-release tacrolimus in de novo liver transplant recipients. *Transplant Proc* 2011;43:718-723.
- 18) Ortiz de Urbina J, Valdivieso A, Matarranz A, Gastaca M, Fernandez JR, Bustamante J, et al. Advagraf de novo in liver transplantation: a single-center experience. *Transplant Proc* 2011;43:724-725.
- 19) Schnitzbauer AA, Ayik C, Ulrich F, Bechstein WO, Mönch C. Delayed bottom-up and amended simple method of dosing with once-daily tacrolimus application to achieve stable trough levels in liver transplantation. *Ann Transplant* 2015;20:1-6.
- 20) Trunečka P, Boillot O, Seehofer D, Pinna AD, Fischer L, Ericzon BG, et al.; for Tacrolimus Prolonged Release Liver Study Group. Once-daily prolonged-release tacrolimus (ADVA-GRAF) versus twice-daily tacrolimus (PROGRAF) in liver transplantation. *Am J Transplant* 2010;10:2313-2323.
- 21) Trunečka P, Klempnauer J, Bechstein WO, Pirenne J, Friman S, Zhao A, et al.; for DIAMOND† study group. Renal function in de novo liver transplant recipients receiving different prolonged-release tacrolimus regimens—the DIAMOND study. *Am J Transplant* 2015;15:1843-1854.
- 22) Uemoto S, Abe R, Horike H, So M. Safety and efficacy of once-daily modified-release tacrolimus in liver transplant recipients: a multicenter postmarketing surveillance in Japan. *Transplant Proc* 2014;46:749-753.
- 23) van Hooff JP, Alloway RR, Trunečka P, Mourad M. Four-year experience with tacrolimus once-daily prolonged release in patients from phase II conversion and de novo kidney, liver, and heart studies. *Clin Transplant* 2011;25:E1-E12.
- 24) Banff schema for grading liver allograft rejection: an international consensus document. *Hepatology* 1997;25:658-663.
- 25) Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2005;67:2089-2100.
- 26) Charlton M. Obesity, hyperlipidemia, and metabolic syndrome. *Liver Transpl* 2009;15(suppl 2):S83-S89.
- 27) Rodríguez-Perálvarez M, Germani G, Darius T, Lerut J, Tsochatzis E, Burroughs AK. Tacrolimus trough levels, rejection and renal impairment in liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant* 2012;12:2797-2814.
- 28) Bernardi M, Gitto S, Biselli M. The MELD score in patients awaiting liver transplant: strengths and weaknesses. *J Hepatol* 2011;54:1297-1306.
- 29) Lucey MR, Terrault N, Ojo L, Hay JE, Neuberger J, Blumberg E, Teperman LW. Long-term management of the successful adult liver transplant: 2012 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the American Society of Transplantation. *Liver Transpl* 2013;19:3-26.
- 30) 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.
- 31) Bahirwani R, Reddy KR. Outcomes after liver transplantation: chronic kidney disease. *Liver Transpl* 2009;15(suppl 2):S70-S74.
- 32) Ojo AO, Held PJ, Port FK, Wolfe RA, Leichtman AB, Young EW, et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med* 2003;349:931-940.
- 33) Karie-Guigues S, Janus N, Saliba F, Dumortier J, Duvoux C, Calmus Y, et al. Long-term renal function in liver transplant recipients and impact of immunosuppressive regimens (calcineurin inhibitors alone or in combination with mycophenolate mofetil): the TRY study. *Liver Transpl* 2009;15:1083-1091.
- 34) Allen AM, Kim WR, Therneau TM, Larson JJ, Heimbach JK, Rule AD. Chronic kidney disease and associated mortality after liver transplantation—a time-dependent analysis using measured glomerular filtration rate. *J Hepatol* 2014;61:286-292.
- 35) Kandaswamy R, Humar A, Casingal V, Gillingham KJ, Ibrahim H, Matas AJ. Stable kidney function in the second decade after kidney transplantation while on cyclosporine-based immunosuppression. *Transplantation* 2007;83:722-726.
- 36) Roayaie S, Schwartz JD, Sung MW, Emre SH, Miller CM, Gondolesi GE, et al. Recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplant: patterns and prognosis. *Liver Transpl* 2004;10:534-540.

- 37) Geissler EK, Schnitzbauer AA, Zülke C, Lamby PE, Proneth A, Duvoux C, et al. Sirolimus use in liver transplant recipients with hepatocellular carcinoma: a randomized, multicenter, open-label phase 3 trial. *Transplantation* 2016;100:116-125.
- 38) Valdivieso A, Bustamante J, Gastaca M, Uriarte JG, Ventoso A, Ruiz P, et al. Management of hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation. *Transplant Proc* 2010;42:660-662.
- 39) Rodríguez-Perálvarez M, Tsochatzis E, Naveas MC, Pieri G, García-Caparrós C, O'Beirne J, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors early after liver transplantation prevents recurrence of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2013;59:1193-1199.
- 40) Dharancy S, Giral M, Tetaz R, Fatras M, Dubel L, Pageaux GP. Adherence with immunosuppressive treatment after transplantation: results from the French trial PREDICT. *Clin Transplant* 2012;26:E293-E299.
- 41) O'Grady JG, Asderakis A, Bradley R, Burnapp L, McPake DM, Perrin M, et al. Multidisciplinary insights into optimizing adherence after solid organ transplantation. *Transplantation* 2010;89:627-632.
- 42) Kuypers DR, Peeters PC, Sennesael JJ, Kianda MN, Vrijens B, Kristanto P, et al. Improved adherence to tacrolimus once-daily formulation in renal recipients: a randomized controlled trial using electronic monitoring. *Transplantation* 2013;95:333-340.



Long-Term Outcomes of Liver Transplantation in Patients With Pretransplant Renal Dysfunction Treated With Induction Therapy and Delayed Reduced De Novo Once-Daily Tacrolimus

Mikel Gastaca^{a,c,*}, Mikel Prieto^{a,c}, Ibone Palomares^a, Javier Bustamante^{b,c}, José R. Fernandez^b, Patricia Ruiz^a, Alberto Ventoso^a, Patricia Salvador^b, Maria Senosiain^b, Milagros Testillano^b, Maria J. Suarez^b, and Andrés Valdivieso^{a,c}

^aBiocruces Bizkaia Health Research Institute, Hepatobiliary Surgery and Liver Transplantation Unit, Hospital Universitario Cruces, Bilbao, Spain; ^bBiocruces Bizkaia Health Research Institute, Hepatology Unit, Hospital Universitario Cruces, Bilbao, Spain; and ^cMedicine Department, University of the Basque Country, Bilbao, Spain

ABSTRACT

Background and aim. Renal dysfunction is related to short- and long-term survival after liver transplantation. We present herein a retrospective analysis of our experience with liver transplantation in recipients with pretransplant renal dysfunction treated with induction therapy followed by delayed/reduced de novo once-daily tacrolimus.

Methods. Liver transplantations performed between April 2008 and August 2011 were included in this study. Pretransplant renal dysfunction was defined as estimated glomerular filtration rate <60 mL/min. Interleukin-2 receptor antagonists were used for induction therapy. Initial once-daily tacrolimus dose was 0.10 mg/kg/day or 0.07 mg/kg/day if combined with mycophenolate mofetil (MMF). Tacrolimus target trough levels were 4 to 6 ng/mL during the first post-transplant year and <4 ng/mL the rest of the follow-up.

Results. Nineteen patients comprised the study cohort with a median follow-up of 56.4 months (range, 11-78). Median day of tacrolimus introduction was 7 (range, 3-12). Once-daily tacrolimus was withdrawn in 6 patients (31.6%) due to evolution of renal dysfunction in all cases. At 5 years, 30% of the patients were under MMF monotherapy. Mean tacrolimus trough levels were maintained under 5 ng/mL. Mean estimated glomerular filtration rate at 5 years was 55.3 ± 12.7 mL/min. No patient needed hemodialysis or renal transplantation over the follow-up. Patient survival at 5 years was 78.9%.

Conclusions. Induction therapy followed by delayed/reduced de novo once-daily tacrolimus and maintenance of low tacrolimus exposition during the follow-up is effective to maintain long-term renal function and to achieve favorable patient survival in liver transplant recipients with pretransplant renal dysfunction.

PREVALENCE of renal dysfunction in recipients of a liver transplantation (LT) varies between 17% and 95% [1,2]. Renal dysfunction after LT is one of the main factors related with short- and long-term survival [2-4]. Combined liver and kidney transplant is indicated in patients with end-stage liver disease and chronic kidney disease with estimated glomerular filtration rate (eGFR) ≤ 30 mL/min [5]. Nevertheless, LT alone followed by nephroprotective actions including adapted immunosuppression

is indicated in LT recipients with eGFR between 30 and 60 mL/min. Immunosuppression protocols based on induction therapy followed by delayed/reduced calcineurin inhibitors

*Address correspondence to Mikel Gastaca, Unidad de Cirugía Hepato-biliari Trasplante Hepático, Hospital Universitario de Cruces, Plaza de Cruces s/n. 48903, Baracaldo, Vizcaya, Spain. Tel: +34946006372. E-mail: mikalgastaca@gmail.com

have been recommended in patients with pre-LT or early post-LT renal dysfunction [6,7]. On the other hand, once-daily prolonged-release formulation of tacrolimus, Advagraf (T-QD), was licensed in Europe in 2007 with the aim to improve patients' adherence and help stabilize tacrolimus exposure. Favorable long-term outcomes have been reported in LT recipients with immunosuppression therapy based on T-QD de novo [8,9].

We present herein a retrospective analysis of our experience with LT in recipients with pre-LT renal dysfunction treated with induction therapy followed by delayed/reduced T-QD de novo.

METHODS

We conducted a retrospective analysis of a prospectively collected database comprising 187 consecutive whole-graft, adult LTs performed between April 2008 and August 2011, whose initial immunosuppression was based on T-QD de novo. Patients with pre-LT renal dysfunction treated with induction immunosuppression plus delayed/reduced T-QD de novo were included in this study. Pre-LT renal dysfunction was defined as eGFR <60 mL/min according to the Modification of Diet in Renal Disease 4 formula. Interleukin-2 receptor antagonists (IL-2 inh) were used for induction therapy. Introduction of T-QD was decided according to the evolution of renal function. Initial T-QD dose was 0.10 mg/kg/day, or 0.07 mg/kg/day if combined with mycophenolate mofetil (MMF). Tacrolimus target trough levels were 4 to 6 ng/mL during the first post-transplant year and <4 ng/mL for the rest of the follow-up. Serum tacrolimus levels were regularly monitored every 48 hours during hospitalization.

Steroids were always used except in patients with diabetes mellitus, and MMF was indicated according to clinical criteria. Patients were followed-up until December 31, 2014.

Statistical Analysis

Continuous variables were expressed as mean with standard deviation or median and range according to the distribution. Categorical variables were expressed with frequencies and percentages. Patient and graft survival were analyzed using the Kaplan-Meier method. Graft loss was defined as retransplantation or death with graft dysfunction (death with functioning graft was censored). All statistical analyses were performed using SPSS 23 (SPSS, Inc, Chicago, Ill, United States).

RESULTS

Nineteen patients comprised the study cohort with a median follow-up of 56.4 months (range, 11-78). Donor and recipient characteristics are presented in Table 1. Mean pre-LT eGFR was 45 ± 10.9 mL/min. Apart from the induction therapy, immunosuppression therapy was as follows: triple therapy with T-QD, MMF and steroids in 75% of the patients, T-QD and steroids in 15%, and T-QD and MMF in 10% (patients with diabetes mellitus). Median day of tacrolimus introduction was 7 (range, 3-12). Evolution of mean tacrolimus trough levels is shown in Fig 1. Mean tacrolimus levels were within the target levels during the study period. Three patients developed acute cellular rejection (15.8%), one of them received steroid boluses. No

Table 1. Baseline Recipient, Donor, and Surgical Characteristics

	19 Cases
Donor age (y)	59.9 \pm 17.2
Donor sex male	13 (68.4)
Donor cause of death	
Stroke	13 (68.4)
Trauma	3 (15.8)
Other	3 (15.8)
Graft steatosis	5 (26.3)
Recipient age (y)	56.0 \pm 11.3
Recipient sex male	11 (57.9)
Cause of transplant	
Alcohol	10 (52.6)
HCV	4 (21.1)
HBV	2 (10.5)
Other	3 (15.8)
MELD	21.6 \pm 9.6
Pre-LT eGFR (mL/min)	45.9 \pm 10.9
Cold ischemia time (min)	384.5 \pm 11.3
Red blood cells (units)	9.3 \pm 4.8
Mycophenolate mofetil at day 15	16 (84.4)
Day of tacrolimus introduction	7 (3-12)

Data are presented as n (%), mean \pm standard deviation, or median (range). Abbreviations: eGFR, estimated glomerular filtration rate; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; LT, liver transplant; MELD, Model for End-Stage Liver Disease.

patient showed corticosteroid resistant rejection. Median hospital stay was 18 days (range, 14-47). T-QD was withdrawn in 6 patients (31.6%). Tacrolimus withdrawal occurred after a minimum of 3 years of follow-up and was due to evolution of renal dysfunction in all cases combined with metabolic syndrome in 2 patients. At 5 years, 30% of the patients were under MMF monotherapy.

Evolution of eGFR is shown in Fig 1. Mean eGFR at 5 years was 55.3 ± 12.7 mL/min. No patient needed hemodialysis or renal transplantation over the follow-up. Four patients died due to HCV recurrence (3 cases) and de novo tumor (1 case). Patient survival at 5 years was 78.9%.

DISCUSSION

In our study, remarkable outcomes in terms of long-term renal function and patient survival were achieved in LT recipients with pre-LT renal dysfunction treated with a combination of induction therapy and delayed/reduced T-QD de novo after LT. Mean eGFR of our patients increased during the first week after LT with a progressive reduction over the first 6 months. Thereafter, it remained stable over the follow-up and was 55.3 ± 12.7 mL/min at 5 years, which means a 20% improvement from the eGFR at the moment of transplantation. Of note, none of our patients needed hemodialysis or kidney transplant after LT. This finding contrasts with the progressive reduction of renal function in the long-term after LT that was repeatedly reported in literature [10-12]. Kandaswamy et al reported a rate of 5% to 8% of end-stage kidney disease requiring maintenance dialysis therapy or kidney transplantation during the first 10 years after LT [13]. Data from the

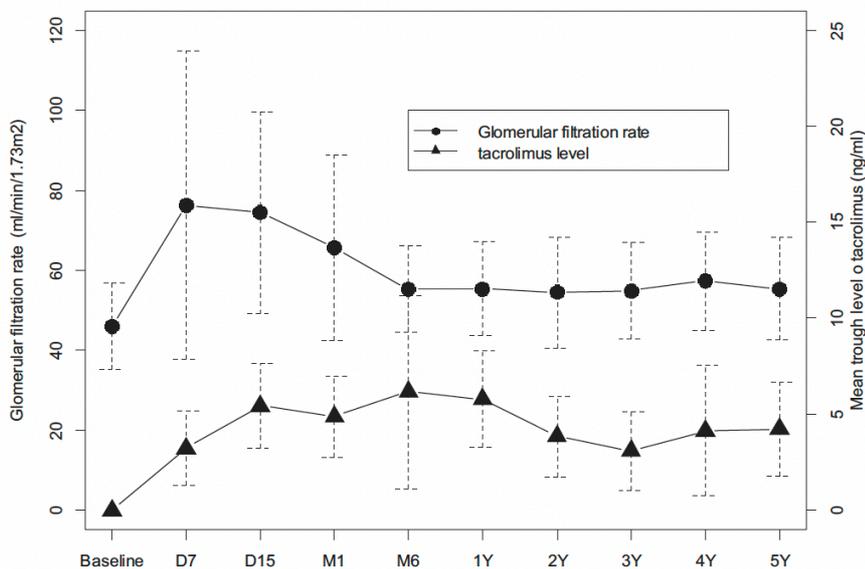


Fig 1. Tacrolimus trough levels and estimation of glomerular filtration rate over 5-year follow-up (mean \pm standard deviation).

Scientific Registry of Transplant Recipients showed that the incidence of stage 4 chronic kidney disease or stage 5 chronic kidney disease after orthotopic liver transplantation were 8%, 14%, and 18% at 1, 3, and 5 years, respectively [11]. Moreover, patient survival was notably high in our study, 78.9% at 5 years. Süleymaniar et al reported a patient survival rate of 70.7% at 3 years in patients with chronic kidney disease pre-LT [14].

The relationship between tacrolimus exposure and renal function has been demonstrated with standard tacrolimus and with T-QD [15–17]. Reduction of tacrolimus exposure immediately after LT with the use of IL-2 inh was related to a significant reduction of mean eGFR change from baseline to 1 year after LT in the RESPECT study [15]. In addition, combination of T-QD plus basilixmab and MMF was associated with lower tacrolimus exposure and significantly reduced renal function impairment and biopsy-proven acute rejection rate during the first 24 weeks in the DIAMOND study [16]. Our study shows that this beneficial effect of low tacrolimus exposure may be extended to the long-term with the use of low maintenance trough levels of T-QD in recipients with pre-LT renal dysfunction.

mTOR inhibitors have been proposed as an early alternative to calcineurin inhibitors (CNI) to preserve renal function after LT. CNI-free de novo immunosuppression with IL-2 inh, MMF, and steroids with delayed introduction of sirolimus in liver transplant recipients with pretransplant impairment was related to significant renal function improvement from baseline to day 30 and to month 12 after LT in the PATRON07 study [18]. Nevertheless, 44% of the patients were switched to CNI treatment during the first year and authors recognize that renal recovery was more likely to be related to CNI avoidance than a direct effect of mTOR inhibitors.

We believe that our results are based on the use of induction therapy during the early post-LT period and on the maintenance of reduced tacrolimus levels over the follow-up by combining T-QD and MMF. Of note, in our study tacrolimus was withdrawn after more than 3 years of follow-up in one-third of the patients due to progressive impairment of renal dysfunction. All of these patients were treated with MMF monotherapy with no graft loss. The switch to MMF monotherapy has been associated to an improvement of renal function in LT recipients with severe renal dysfunction, but also with significantly more acute rejection events [19–21]. As shown by Norero et al the key to reduce acute cellular rejection in patients switched to MMF monotherapy seems to be low tacrolimus levels at the moment of withdrawal [20].

In summary, our results confirm that induction therapy followed by delayed/reduced T-QD de novo and maintenance of low tacrolimus exposition during the follow-up is effective to maintain long-term renal function and to achieve favorable patient survival in LT recipients with pre-LT renal dysfunction.

REFERENCES

- [1] Sampaio MS, Martin P, Bunnapradist S. Renal dysfunction in end-stage liver disease and post-liver transplant. *Clin Liver Dis* 2014;18:543–60.
- [2] Parajuli S, Foley D, Djamali A, Mandelbrot D. Renal function and transplantation in liver disease. *Transplantation* 2015;99:1756–64.
- [3] Gainza FJ, Valdivieso A, Quintanilla N, Errazti G, Gastaca M, Campo M, et al. Evaluation of acute renal failure in the liver transplantation perioperative period: incidence and impact. *Transplant Proc* 2002;34:250–1.
- [4] 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;10:1420–7.

[5] Eason JD, Gonwa TA, Davis CL, Sung RS, Gerber D, Bloom RD. Proceedings of consensus conference on simultaneous liver kidney transplantation (SLK). *Am J Transplant* 2008;8:2243–51.

[6] Duvoux C, Pageaux GP. Immunosuppression in liver transplant recipients with renal impairment. *J Hepatol* 2011;54:1041–54.

[7] Levitsky J, O'Leary JG, Asrani S, Sharma P, Fung J, Wiseman A, et al. Protecting the kidney in liver transplant recipients: practice-based recommendations from the American Society of Transplantation Liver and Intestine Community of Practice. *Am J Transplant* 2016;16:2532–44.

[8] Gastaca M, Valdivieso A, Bustamante J, Fernandez JR, Ruiz P, Ventoso A, et al. Favorable longterm outcomes of liver transplant recipients treated de novo with once-daily tacrolimus: results of a single-center cohort. *Liver Transpl* 2016;22:1391–400.

[9] Okumura Y, Noda T, Eguchi H, Iwagami Y, Yamada D, Asaoka T, et al. Short- and long-term outcomes of de novo liver transplant patients treated with once-daily prolonged-release tacrolimus. *Transplant Direct* 2017;3:e207.

[10] Allen AM, Kim WR, Therneau TM, Larson JJ, Heimbach JK, Rule AD. Chronic kidney disease and associated mortality after liver transplantation – a time-dependent analysis using measured glomerular filtration rate. *J Hepatol* 2014;61:286–92.

[11] Ojo AO, Held PJ, Port FK, Wolfe RA, Leichtman AB, Young EW, et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med* 2003;349:931–40.

[12] Bahirwani R, Reddy KR. Outcomes after liver transplantation: chronic kidney disease. *Liver Transpl* 2009;15(Suppl. 2):S70–4.

[13] Kandaswamy R, Humar A, Casingal V, Gillingham KJ, Ibrahim H, Matas AJ. Stable kidney function in the second decade after kidney transplantation while on cyclosporine-based immunosuppression. *Transplantation* 2007;83:722–6.

[14] Süleymanlar I, Yılmaz VT, KoçaK H, Dinçkan A, Gürkan A, Ersoy F, et al. The effect of kidney diseases on survival in liver transplant patients. *Int Urol Nephrol* 2011;43:827–33.

[15] Neuberger JM, Mamelok RD, Neuhaus P, Pirenne J, Samuel D, Isoniemi H, et al. Delayed introduction of reduced-dose tacrolimus, and renal function in liver transplantation: the 'ReSpECT' study. *Am J Transplant* 2009;9:327–36.

[16] Trunečka P, Klempnauer J, Bechstein WO, Pirenne J, Friman S, Zhao A, et al. Renal function in de novo liver transplant recipients receiving different prolonged-release tacrolimus regimens-the DIAMOND study. *Am J Transplant* 2015;15:1843–54.

[17] Rodriguez-Peralvarez M, Guerrero M, De Luca L, Gros B, Thorburn D, Patch D, et al. Area under trough concentrations of tacrolimus as a predictor of progressive renal impairment after liver transplantation. *Transplantation* 2019;103:2539–48.

[18] Schnitzbauer AA, Sothmann J, Baier L, Bein T, Geissler EK, Scherer MN, et al. Calcineurin inhibitor free de novo immunosuppression in liver transplant recipients with pretransplant renal impairment: results of a pilot study (PATRON07). *Transplantation* 2015;99:2565–75.

[19] Cruz CM, Pereira S, Gandara J, Ferreira S, Lopes V, Daniel J, et al. Efficacy and safety of monotherapy with mycophenolate mofetil in liver transplantation patients with nephrotoxicity. *Transplant Proc* 2016;48:2341–3.

[20] Norero B, Serrano CA, Sanchez-Fueyo A, Duarte I, Torres J, Ocquetau M, et al. Conversion to mycophenolate mofetil monotherapy in liver recipients: calcineurin inhibitor levels are key. *Ann Hepatol* 2017;16:94–106.

[21] Lan X, Liu MG, Chen HX, Liu HM, Zeng W, Wei D, et al. Efficacy of immunosuppression monotherapy after liver transplantation: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2014;20:12330–40.

Retrospective Study

Early tacrolimus exposure does not impact long-term outcomes after liver transplantation

Mikel Gastaca, Patricia Ruiz, Javier Bustamante, Lorea Martinez-Indart, Alberto Ventoso, José Ramón Fernandez, Ibone Palomares, Mikel Prieto, Milagros Testillano, Patricia Salvador, Maria Senosiain, Maria Jesus Suárez, Andres Valdivieso

ORCID number: Mikel Gastaca 0000-0003-2771-9640; Patricia Ruiz 0000-0002-2598-0370; Javier Bustamante 0000-0002-5280-3038; Lorea Martinez-Indart 0000-0003-3241-6345; Alberto Ventoso 0000-0003-4635-8545; José Ramón Fernandez 0000-0002-9746-2812; Ibone Palomares 0000-0002-0002-7436; Mikel Prieto 0000-0001-6662-4252; Milagros Testillano 0000-0001-7917-1862; Patricia Salvador 0000-0001-7741-9465; Maria Senosiain 0000-0001-7595-7059; Maria Jesus Suárez 0000-0002-9827-2914; Andres Valdivieso 0000-0002-2614-3670.

Author contributions: Gastaca M designed and performed the research and wrote the paper; Ruiz P and Bustamante J designed the research and supervised the report; Martinez-Indart L provided the statistical analysis; Ventoso A, Palomares I, Prieto M, Salvador P, and Senosiain M acquired and analyzed the data; Testillano M, and Suárez MJ and Valdivieso A supervised the report; all authors approved the final version of the article.

Institutional review board statement: This study was reviewed and approved by the Research Ethics Committee of the Hospital Universitario Cruces, No.

Mikel Gastaca, Patricia Ruiz, Alberto Ventoso, Ibone Palomares, Mikel Prieto, Andres Valdivieso, Department of HPB Surgery and Liver Transplantation Unit, Hospital Universitario Cruces, Bilbao 48903, Spain

Javier Bustamante, José Ramón Fernandez, Milagros Testillano, Patricia Salvador, Maria Senosiain, Maria Jesus Suárez, Department of Hepatology Unit, Hospital Universitario Cruces, Bilbao 48903, Spain

Lorea Martinez-Indart, Department of Bioinformatics and Statistics Platform, Biocruces Bizkaia Health Research Institute, Hospital Universitario Cruces, Bilbao 48903, Spain

Corresponding author: Mikel Gastaca, MD, Associate Professor, Surgeon, Department of HPB Surgery and Liver Transplantation Unit, Hospital Universitario Cruces, PLaza de Cruces s/n, Bilbao 48903, Spain. mikalgastaca@gmail.com

Abstract

BACKGROUND

Tacrolimus trough levels (TTL) during the first weeks after liver transplantation (LT) have been related with long-term renal function and hepatocellular carcinoma recurrence. Nevertheless, the significance of trough levels of tacrolimus during the early post-transplant period for the long-term outcome is under debate

AIM

To evaluate the effect of TTL during the first month on the long-term outcomes after LT.

METHODS

One hundred fifty-five LT recipients treated *de novo* with once-daily tacrolimus were retrospectively studied. Patients with repeated LT or combined transplantation were excluded as well as those who presented renal dysfunction prior to transplantation and/or those who needed induction therapy. Patients were classified into 2 groups according to their mean TTL within the first month after transplantation: ≤ 10 ($n = 98$) and > 10 ng/mL ($n = 57$). Multivariate analyses were performed to assess risk factors for patient mortality.

RESULTS

CEIC E13/08.

Informed consent statement:

Patients gave written consent to be included in the liver transplantation prospective data base. The requirement for specific informed consent for this study was waived because of the retrospective nature of the study.

Conflict-of-interest statement:

MG is a member of advisory boards and has received honoraria from Astellas, Novartis and Chiesi. JB has received honoraria from Astellas and Novartis. AV has received honoraria from Astellas and Novartis. All other authors have no conflicts to declare.

Data sharing statement:

No additional data are available.

Open-Access:

This article is an open-access article that was selected by an in-house editor and fully peer-reviewed by external reviewers. It is distributed in accordance with the Creative Commons Attribution NonCommercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Manuscript source: Unsolicited manuscript

Specialty type: Gastroenterology and hepatology

Country/Territory of origin: Spain

Peer-review report's scientific quality classification

Grade A (Excellent): A
Grade B (Very good): 0
Grade C (Good): C
Grade D (Fair): 0
Grade E (Poor): 0

Received: August 14, 2020

Peer-review started: August 14, 2020

First decision: December 11, 2020

Revised: December 27, 2020

Mean levels within the first month post-transplant were 7.4 ± 1.7 and 12.6 ± 2.2 ng/mL in the ≤ 10 and > 10 groups, respectively. Donor age was higher in the high TTL group 62.9 ± 16.8 years *vs* 45.7 ± 17.5 years ($P = 0.002$) whilst mycophenolate-mofetil was more frequently used in the low TTL group 32.7% *vs* 15.8% ($P = 0.02$). Recipient features were generally similar across groups. After a median follow-up of 52.8 mo (range 2.8-81.1), no significant differences were observed in: Mean estimated glomerular filtration rate ($P = 0.69$), hepatocellular carcinoma recurrence ($P = 0.44$), *de novo* tumors ($P = 0.77$), new-onset diabetes ($P = 0.13$), or biopsy-proven acute rejection rate (12.2% and 8.8%, respectively; $P = 0.50$). Eighteen patients died during the follow-up and were evenly distributed across groups ($P = 0.83$). Five-year patient survival was 90.5% and 84.9%, respectively ($P = 0.44$), while 5-year graft survival was 88.2% and 80.8%, respectively ($P = 0.42$). Early TTL was not an independent factor for patient mortality in multivariate analyses.

CONCLUSION

Differences in tacrolimus levels restricted to the first month after transplant did not result in significant differences in long-term outcomes of LT recipients.

Key Words: Liver transplantation; Tacrolimus levels; Prolonged released tacrolimus; Once-daily tacrolimus; Renal function; Survival; Outcomes

©The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Core Tip: This is a retrospective study to evaluate the effect of early tacrolimus trough levels (TTL) on the long-term outcomes after liver transplantation. Patients were classified into 2 groups according to mean TTL within the first month: ≤ 10 ($n = 98$) and > 10 ng/mL ($n = 57$). After a median follow-up of 52.8 mo (range 2.8-81.1), no significant differences were observed in: Mean estimated glomerular filtration rate, hepatocellular carcinoma recurrence, *de novo* tumors, biopsy-proven acute rejection rate and five-year patient and graft survival. Differences in tacrolimus levels within the first month after liver transplant did not result in significant differences in long-term outcomes.

Citation: Gastaca M, Ruiz P, Bustamante J, Martinez-Indart L, Ventoso A, Fernandez JR, Palomares I, Prieto M, Testillano M, Salvador P, Senosiain M, Suárez MJ, Valdivieso A. Early tacrolimus exposure does not impact long-term outcomes after liver transplantation. *World J Hepatol* 2021; 13(3): 362-374

URL: <https://www.wjgnet.com/1948-5182/full/v13/i3/362.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.4254/wjh.v13.i3.362>

INTRODUCTION

Tacrolimus represents the keystone of current immunosuppressive regimens after liver transplantation (LT)^[1]. Monitoring of trough drug levels is required to maintain them within the therapeutic range^[2]. In the case of LT, there is some debate regarding the significance of trough levels of tacrolimus in the early post-transplant period for the long-term outcome. Initial recommendations were extrapolated from kidney transplantation, but LT does not require the high doses needed to prevent acute cellular rejection (ACR) in other allografts^[3]. In this regard, various studies have explored the idea of minimizing initial tacrolimus trough levels (TTL)^[4-6].

Mean TTL < 10 ng/mL within the first month after LT was associated with less renal impairment within 1 year in a recent meta-analysis^[7]. In this study, tacrolimus concentration between 6 and 10 ng/mL were recommended as more appropriate after LT. Mean TTL > 10 ng/mL within the first month after LT but not thereafter has been also associated with increased risk of hepatocellular carcinoma (HCC) recurrence^[8]. High exposure to calcineurin inhibitors was an independent predictor of HCC recurrence by multivariate analysis in this study (RR: 2.82; $P = 0.005$). Moreover, Rodríguez-Perálvarez *et al*^[9] reported that mean TTL of 7-10 ng/mL during the first

Accepted: March 12, 2021
Article in press: March 12, 2021
Published online: March 27, 2021

P-Reviewer: Verran DJ
S-Editor: Fan JR
L-Editor: A
P-Editor: Wang LL



two weeks after LT was effective in preventing ACR, and was related with significantly superior results in graft survival than TTL above or below this range. More recently, the survival time of patients with mean TTL < 5 ng/mL during the first four weeks after LT was observed to be significantly shorter than that of patients with higher mean TTL^[9]. Despite these studies, the actual role of initial TTL on long-term outcomes after LT is difficult to assess. Retrospective studies did not report TTL during the follow-up period^[5,9], and therefore the influence of potential differences among groups in tacrolimus exposure throughout the follow-up cannot be ruled out. In addition, in some reports TTL were maintained different in the study groups not only during the first month but throughout the whole follow-up, though not significantly, with the consequent difference of long-term tacrolimus exposure and the potential influence on the outcomes^[4,6,8].

Our experience with the use of once-daily tacrolimus (Tac-QD) *de novo* after LT has been published^[10]. Outstanding long-term patient and graft survival was achieved with the use of *de novo* Tac-QD in a minimizing immunosuppression protocol in LT recipients. With the aim of assessing the significance of the early post-transplant period in the outcomes of LT, we conducted this study to determine the real role of early TTL within the first month on long-term outcomes after LT.

MATERIALS AND METHODS

Design and patients

We conducted a retrospective analysis of a prospectively collected database of patients transplanted between April 2008 and May 2013. A total of 237 consecutive LTs were performed during the study period. Patients in the database with repeated LT ($n = 13$) or combined transplantation ($n = 8$) were excluded from this analysis, as were those who died within the first week after LT ($n = 5$) and those who did not receive Tac-QD for various reasons ($n = 11$). Patients who presented renal dysfunction prior to transplantation, defined as estimated glomerular filtration rate (eGFR) < 60 mL/min/1.73 m², and/or those who needed induction therapy ($n = 45$ overall) were also excluded to avoid bias in the early TTL measurements due to their particular immunosuppressive protocol with induction therapy and delayed initiation of tacrolimus. Finally, 155 adult LT recipients, whose immunosuppressive therapy was based on Tac-QD *de novo*, were eligible for this study and were followed up until December 31, 2015. Patients with HCC met the preoperative Milan criteria. To determine the effect of early exposure to tacrolimus on long-term outcomes and renal function, patients were classified into two groups according to their mean TTL during the first month after LT: ≤ 10 ng/mL or > 10 ng/mL. All TTL obtained during the first month were used to define the mean values.

The study was performed in accordance with relevant guidelines and regulation. No organs were procured from prisoners. The prospective database received the approval of the Research Ethics Committee of the Hospital Universitario Cruces, No. CEIC E13/08. All patients gave informed consent to be included in the prospective database; the requirement for specific informed consent was waived because of the retrospective nature of the study.

Early post-transplantation immunosuppressive therapy

Initial immunosuppression included Tac-QD and steroids 20 mg/day, except in those patients with diabetes mellitus who were treated with Tac-QD and mycophenolate-mofetil (MMF), avoiding the use of steroids. Tac-QD was administered within the first 24 h after LT, either orally or *via* a nasogastric tube. Patients considered at risk of renal dysfunction received MMF at a daily dose of 1000-2000 mg. Initial Tac-QD dose was 0.15 mg/kg *per day* (or 0.1 mg/kg *per day* if combined with MMF). Subsequent doses were adjusted according to trough levels. Serum tacrolimus levels were monitored regularly every 48 h until discharge. Target TTL were 5-10 ng/mL during the first 3 mo; however, if trough levels were lower but liver function tests were normal, the TacQD dose was not preventively increased. Azathioprine was not used in our patients.

Clinical follow-up and long-term immunosuppressive therapy

Biliary reconstruction in our patients is performed with end-to-end choledochocholedochostomy with T-tube. When the patient progresses well, T-tube is closed on postoperative day 3 to avoid the potential effect that biliary diversion might have on TTL. Cholangiography is performed on day 7 and in the third postoperative month

before T-tube removal. During these three months, patients are monitored weekly at home after hospital discharge, and also seen every two weeks at the outpatient clinic. Patients are monitored with liver function tests and TTL monthly afterwards until completion of the first year, and every 2-3 mo for a further two years. Stable patients with no relevant comorbidities are seen every 4 to 6 mo from the third year on.

The treating physicians adjusted immunosuppressive treatment according to their clinical judgment. Target TTL were progressively reduced: 4-9 ng/mL from month 3 to 6, 3-8 ng/mL from month 6 to 12, < 7 ng/mL after the first year and < 5 ng/mL after the second year onwards. Immunosuppressive protocol included steroids withdrawal 3-4 mo after transplantation, except in case of autoimmune disease (in which low-dose prednisone 5 mg/day was maintained), and in patients with hepatitis C virus (HCV), in whom withdrawal was delayed until months 12-18. Duration of treatment with MMF depended on side effects and/or clinical requirements. Adherence to treatment was assessed at each visit by asking the patients regarding any deviations from the prescribed regimen.

Endpoints and definitions

Outcome variables were: (1) Long-term renal function; (2) Immunosuppression-related morbidity; (3) Patient survival; and (4) Graft survival.

Long-term renal function was assessed by eGFR based on the modification of diet in renal disease formula. K/DIGO guidelines were used to define and classify chronic kidney disease^[11]. Metabolic syndrome was defined according to already established definitions^[12]. Fasting plasma glucose repeatedly > 126 mg/dL was used to define *de novo* diabetes whilst dyslipidemia was considered when treatment was prescribed for elevated blood cholesterol or triglycerides, and arterial hypertension when antihypertensive treatment was initiated. Patients with HCC met the Milan criteria. ACR was biopsy-proven acute rejection (BPAR) in all cases. BPAR were graded according to the Banff International Consensus Document^[13]. Liver biopsy was not performed *per* protocol but indicated according to clinical evolution. In case of BPAR, tacrolimus exposure was further increased as the initial step. In case of severe rejection or if the graft dysfunction persisted after Tac-QD adjustments, three consecutive daily 500 mg corticosteroid boluses were used. Early graft dysfunction was defined according to previous specifications^[14].

Statistical analysis

Qualitative variables are summarized as percentages and quantitative variables using means and standard deviations or median and interquartile range. Comparisons between frequencies of characteristics among trough-level groups were performed using the Chi-squared test or Fisher test, and continuous variables were compared using the Kruskal-Wallis test. Patient and graft survival were analyzed using the Kaplan-Meier method, in which patients lost to follow-up were censored at their last recorded visit. Graft loss was defined as retransplantation or death with non-functioning graft. Death with functioning graft was censored for the analysis of graft survival. The log-rank test was used to compare survival among the three groups. A univariate Cox regression analysis was performed to identify clinical and treatment factors related with patient survival including all patients in the cohort. Those variables with a $P < 0.200$ were included in a multivariate Cox regression model. Variables with the higher P value were excluded one by one until all variables had a $P < 0.05$. The proportional hazard assumption was tested. The statistical methods of this study were reviewed by Lorea Martinez-Indart from Bioinformatics and Statistics Platform, Biocruces Bizkaia Health Research Institute. Statistical analysis was performed using SPSS version 23.0.

RESULTS

All patients were Caucasian and received whole grafts from donation after brain-death. Ninety-eight were included in the ≤ 10 ng/mL group and 57 in the > 10 ng/mL group. A median of 7 samples of TTL (range 5-12) were used to obtain the mean TTL during the first month after transplant. Donor and recipient characteristics of the two groups are summarized in Table 1. Recipient features were generally similar across groups, including age, cause of liver disease, model for end-stage liver disease (MELD) score, baseline kidney function and pre-transplant comorbidities. The only significant difference between groups was the age of the graft donor (older for recipients whose early TTL were > 10 ng/mL); consequently, stroke as the cause of death was more

Table 1 Donors and recipients characteristics

	≤ 10 ng/mL, n = 98	> 10 ng/mL, n = 57	P value
Donors			
Age, year (mean ± SD)	54.7 ± 17.5	54.7 ± 17.5	0.002
Male	58 (59.2%)	35 (61.4%)	0.786
Cause of death			
Stroke	57 (58.2%)	48 (84.2%)	0.004
Trauma	27 (27.6%)	6 (10.5%)	
Other	14 (14.3%)	3 (5.3%)	
Graft steatosis	19 (19.6%)	12 (21.1%)	0.827
Recipients			
Age, years (mean ± SD)	55.3 ± 8.4	53.2 ± 9.8	0.227
Male	81 (82.7%)	48 (84.2%)	0.802
MELD (mean ± SD)	13.1 ± 5.6	12.7 ± 5.3	0.618
Hepatocellular carcinoma	45 (45.9%)	29 (50.9%)	0.551
Cause of liver disease			
Alcohol abuse	45 (45.9%)	24 (42.1%)	0.283
HCV	40 (40.8%)	18 (31.6%)	
HBV	3 (3.1%)	5 (8.8%)	
Cho/estatic liver disease	3 (3.1%)	4 (7%)	
Other	7 (7.1%)	6 (10.5%)	
Medical history (<i>pre</i> LT)			
MDRD-4 (mean ± SD)	107.8 ± 35.7	16.7 ± 33.7	0.223
Diabetes mellitus	18 (18.4%)	9 (15.8%)	0.683
Arterial hypertension	12 (12.2%)	10 (17.5%)	0.362
Mean tacrolimus trough levels 1 mo (ng/mL)	7.38 ± 1.68	12.62 ± 2.25	NA
Corticosteroids	80 (82.5%)	49 (86.0%)	0.571
Mycophenolate mofetil	32 (32.7%)	9 (15.8%)	0.024

MELD: Model for end-stage liver disease; MDRD-4: Modification of diet in renal disease; HCV: Hepatitis C virus; HCC: Hepatocellular carcinoma; LT: Liver transplantation.

frequent among those donors. Corticosteroids were similarly used in all groups; however, MMF use was significantly more common in the group with TTL ≤ 10 ng/mL.

Evolution of mean TTL during the follow-up of the two groups is shown in Figure 1. Mean levels within the first month post-transplant were 7.4 ± 1.7 and 12.6 ± 2.2 ng/mL in the ≤ 10 and > 10 groups, respectively (Table 1). Levels decreased in the > 10 mg/mL group within the first three months and were similar in both groups by the third month. From the third month on, a steady decrease in TTL was observed in both groups. Of note, for the purpose of this study, TTL were significantly different among groups only during the first month after LT, but not during the rest of the follow-up ($P = 0.65$).

Median follow-up was 52.8 mo (range 2.8-81.1) for those patients with early levels ≤ 10 ng/mL and 52.6 mo (10.8-79.1) for patients with tacrolimus mean levels > 10 ng/mL. Patient outcomes after transplantation are summarized in Table 2. There were no statistically or clinically relevant differences among groups. Mean TTL during the early post-transplant period did not affect renal function. Creatinine clearance fell in parallel in both groups ($P = 0.67$), decreasing similarly during the first 6 mo to remain steady thereafter until the end of follow-up, at mean levels of approximately 80

Table 2 Recipients outcomes after liver transplantation

	≤ 10 ng/mL, n = 98	> 10 ng/mL, n = 57	P value
Biopsy-proven acute rejection	12 (12.2%)	5(8.8%)	0.505
Arterial complications	12 (12.2%)	7(12.3%)	0.995
Biliary complications	13 (13.3%)	8 (14%)	0.893
Infection (any)	49(50.0%)	26 (45.6%)	0.598
Cytomegalovirus infection	26 (26.5%)	12 (21.1%)	0.445
Retransplantation	5 (5.1%)	5 (8.8%)	0.500
HCC recurrence ¹	1 (2.3%)	0	0.999
HCV recurrence ²	35 (87.5%)	14 (77.8%)	0.438
<i>De novo</i> tumor	10 (10.2%)	5 (8.8%)	0.771
New-onset arterial hypertension	35(36.1%)	19 (36.5%)	0.827
New-onset diabetes	21 (21.6%)	6 (12.7%)	0.127
Tacrolimus withdrawal. Causes:	18 (18.4%)	8 (14.0%)	0.486
Kidney failure	7	1	
Neurotoxicity	1	2	
Metabolic syndrome	6	4	
Metabolic synd + kidney failure	1	-	
Other	3	1	
MDRD-4 at 5 yr (mean ± SD)	82.5 ± 19.4	80.32 ± 14.7	0.686
Deaths. Causes:	10 (10.2%)	8 (14.0%)	0.827
HCV recurrence	5	3	
<i>De novo</i> tumor	1	2	
Sepsis	2	1	
Stroke	0	1	
Other	2	1	

¹Including variables with $P < 0.2$ in univariate analysis, highlighted in bold.

²Renal dysfunction during hospitalization. HCC: Hepatocellular carcinoma; HCV: Hepatitis C virus; MDRD-4 stands for: Modification of Diet in Renal Disease.

mL/min/1.73 m² in all groups (Figure 2). Patients with higher levels within the first month after LT did not present more immunosuppression-related toxicity including new-onset diabetes, hypertension, HCC recurrence or *de novo* tumors. BPAR occurred with low and similar frequency in all groups (12.2%, and 8.8% in ≤ 10 and > 10 mg/mL, respectively; $P = 0.50$). Only 10 patients were treated with corticosteroid boluses (8 (66.7%) and 2 (40.0%), respectively; $P = 0.99$), and the rest responded to tacrolimus dose escalation. There was no relationship between the decision to withdraw tacrolimus during follow-up and the initial trough level.

Eighteen patients died during the follow-up and were evenly distributed across groups ($P = 0.83$) (Table 2). The most common cause of death was HCV recurrence. Five-year patient survival in the study groups was 90.5% and 84.9%, respectively ($P = 0.44$) (Figure 3A), while 5-year graft survival was 88.2% and 85.8%, respectively ($P = 0.42$) (Figure 3B).

Univariate and multivariate analysis

All patients were included in a univariate and multivariate Cox regression analysis to study factors associated with patient mortality. Multiple variables from donor and recipients were considered in the univariate analysis, as well as various outcomes and adverse events. This analysis was performed considering the two mean TTL groups described in methods, and also dividing the sample into two groups using the cut-off

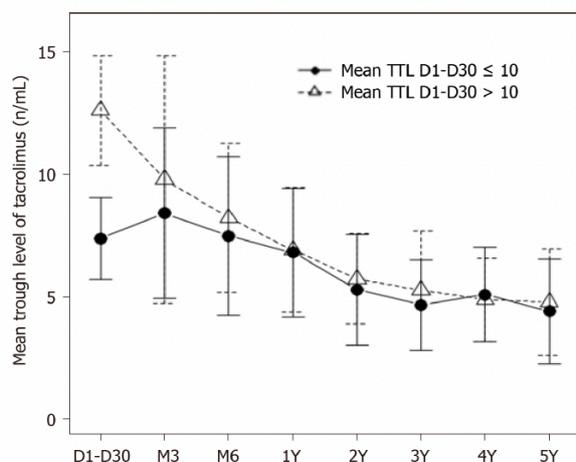


Figure 1 Mean serum tacrolimus levels according to the mean tacrolimus trough levels for each group within 1 mo after transplantation (mean ± SD). $P = 0.65$ comparing means from month 3 (M3) to year 5 (5Y). TTL: Tacrolimus trough levels.

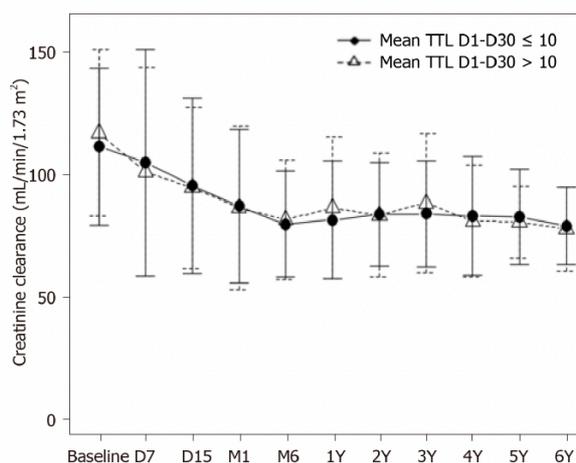


Figure 2 Mean creatinine clearance according to the mean tacrolimus trough levels for each group within 1 mo after transplantation (mean ± SD) ($P = 0.67$). TTL: Tacrolimus trough levels.

level 8 ng/mL or three groups using cut-off levels of < 7 ng/mL, 7-10 ng/mL and > 10 ng/mL. Multivariate analysis revealed that factors independently related with patient mortality were *de novo* tumor (HR = 13.8; 95%CI: 4.1-46.9; $P < 0.001$), MELD score ≥ 20 (HR = 6.1; 95%CI: 1.9-19.6; $P = 0.003$), HCV infection as the cause of liver disease (HR = 4.9; 95%CI: 1.7-14.1; $P = 0.003$) and arterial complications (HR = 3.7; 95%CI: 1.1-12.6; $P = 0.03$) (Table 3). Early TTL was not an independent factor for patient mortality.

DISCUSSION

This analysis aimed to further explore factors related to long-term clinical outcomes in our LT patients treated *de novo* with Tac-QD, with particular interest in the effect of mean TTL during the early post-transplant period. In order to have an adequate follow-up time to study long-term outcomes, patients transplanted between 2008 and 2013 were included in the study. Considering the time when LTs were performed, we followed a policy of immunosuppression minimization with target TTL of 5-10 ng/mL during the first 3 mo; however, a significant number of patients in this cohort were outside our target levels during the first month after LT, although this was corrected afterwards, as shown in Figure 1. We divided our cohort into two groups of early TTL (within 1 mo) as previously done by Rodríguez-Perálvarez *et al*^[7,21] who found a

Table 3 Univariate and multivariate analysis of factors associated with patient mortality

	Univariate analysis		Multivariate analysis ¹	
	P value	HR (95%CI)	P value	HR (95%CI)
Age of donor ≥ 70 years	0.55	0.73 (0.26-2.05)		
Recipient				
Liver steatosis	0.1	0.408 (0.09-1.79)		
Age ≥ 60 years	0.94	1.04 (0.39-2.78)		
HCV infection as cause of liver disease	0.02	3.02 (1.17-7.81)	0.003	4.94 (1.72-14.17)
Presence of hepatocellular carcinoma	0.57	1.31 (0.52-3.34)		
MELD score ≥ 20	0.02	3.16 (1.12-8.91)	0.003	6.06 (1.88-19.56)
Diabetes before transplantation	0.63	1.32(0.43-4.01)		
Hypertension before transplantation	0.05	2.78 (0.98-7.90)	-	-
MDRD-4 at baseline	0.35	0.99 (0.97-1.01)		
Mycophenolate mofetil at initial therapy	0.89	1.07 (0.38-3.02)		
Outcomes and complications				
BPAR	0.20	2.08 (0.67-6.43)		
Arterial complications	0.06	2.91 (0.94-9.06)	0.03	3.76 (1.12-12.62)
Biliary complications	0.59	1.41 (0.40-4.92)		
Renal dysfunction early after transplant ²	0.08	2.40 (0.90-6.38)	-	-
Renal hypertension	0.82	1.12 (0.42-3.02)		
<i>De novo</i> diabetes	0.02	3.25 (1.24-8.55)	-	-
Cardiovascular				
Arterial hypertension	0.08	0.32 (0.09-1.15)	-	-
Heart failure	0.26	0.31 (0.04-2.37)		
<i>De novo</i> tumor	0.005	4.20 (1.56-11.32)	< 0.001	13.82 (4.06-46.98)
HCV recurrence	0.22	1.79 (0.70-4.53)		
HCC recurrence	0.008	16.61 (2.10-131.07)	-	-
Any infection	0.71	1.12 (0.47-3.03)		
Bacterial infection	0.04	2.71 (1.04-7.07)	-	-
Viral infection	0.39	0.61 (0.20-1.87)		
Fungal infection	0.87	1.19 (0.16-9.03)		
Cytomegalovirus infection	0.79	0.86 (0.28-2.62)		
Normal renal function at last visit (MDRD-4 ≥ 60 mL/min/1.73 m ²)	0.92	1.08 (0.23-5.08)		
Mean tacrolimus levels at days 1-30 after LT				
> 10 ng/mL vs ≤ 10 ng/mL	0.44	1.44 (0.57-3.65)		
< 7 ng/mL (reference) ³	0.32			
7-10 ng/mL	0.31	0.49 (0.12-1.96)		
> 10 ng/mL	0.59	1.33 (0.47-3.73)		
> 8 ng/mL vs < 8 ng/mL ³	0.78	1.14 (0.44-2.95)		
Early graft dysfunction	0.08	2.44 (0.890-6.63)	< 0.001	6.02 (2.34-15.49)

¹Including variables with *P* < 0.2 in univariate analysis, highlighted in bold.²Renal dysfunction during hospitalization.

³Additional analysis modifying cut-off values. MELD: Model for end-stage liver disease; HCV: Hepatitis C virus; HCC: Hepatocellular carcinoma; BPAR: Biopsy-proven acute rejection; MDRD-4 stands for: Modification of Diet in Renal Disease; LT: Liver transplantation.

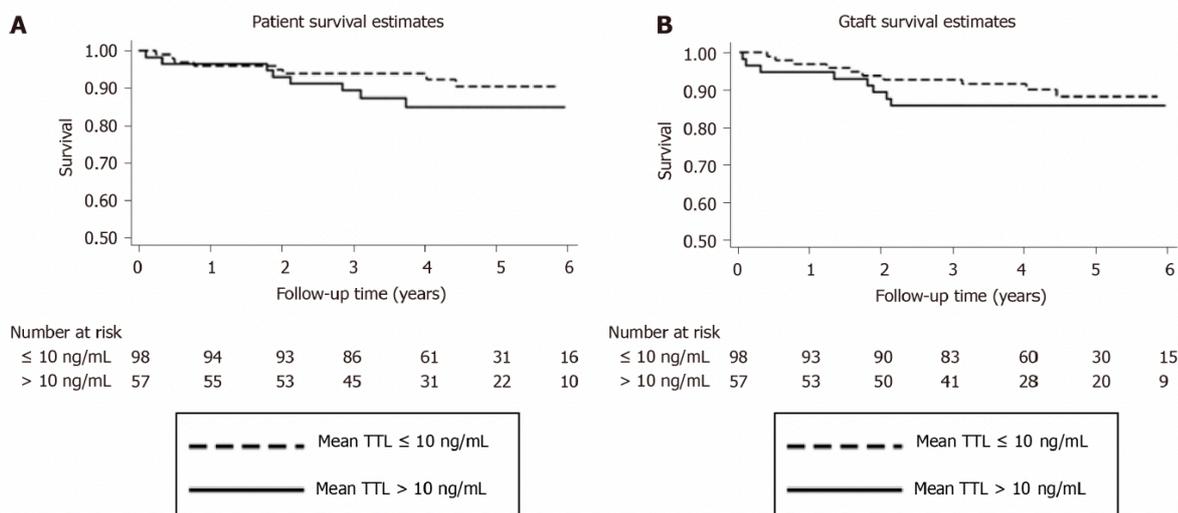


Figure 3 Kaplan-Meier survival curves after liver transplantation according to the mean tacrolimus trough levels for each group within 1 mo after transplantation. A: Patient survival ($P = 0.44$); B: Graft survival ($P = 0.42$). TTL: Tacrolimus trough levels.

significant improvement of outcomes when mean TTL within the first month post-LT were ≤ 10 ng/mL, compared with patients with > 10 ng/mL^[7,8]. Of note, patients treated with induction therapy and delayed introduction of low-dose tacrolimus, namely those with pretransplant renal dysfunction, were excluded in our study to avoid bias as most of these patients would have probably ended in the low mean TTL group. In contrast to the published studies, we did not find significant differences in long-term renal function, HCC recurrence, immunosuppression-related toxicity or patient and graft survival in both groups of early TTL. In addition, multivariate analysis in our study, performed three times with different cut-off values for early TTL, demonstrated the lack of influence of early TTL on long-term patient survival.

In our study, donor age was significantly higher in the group with high TTL. Aging is characterized by a decline of liver cellular function that could determine alterations in immunosuppressants liver metabolism and pharmacokinetic. In this sense, it has been suggested that aged donor livers might exhibit lower drug clearance with consequently higher TTL^[15]. Nevertheless, this circumstance was not detrimental in our experience as both TTL groups achieved comparable long-term outcomes.

According to the literature, the relative risk of death more than 1 year after LT suffers a 4-fold to 5-fold increase when renal dysfunction is present^[16,17]. In our study, renal function evolved similarly in the two groups, with an expected 20% decrease in eGFR during the initial period after LT-as already described by other authors^[18]-and maintenance of renal function from month 6 onwards. This contrasts with the progressive decline in renal function in the Mid/long-term repeatedly reported in literature^[19-21]. Although, some authors have found no relationship between TTL within 15 d after LT and chronic renal impairment^[8,9], high TTL within the first month after LT has been associated with worse renal function in different studies^[7,20]. Karie-Guigues *et al*^[20] found that the introduction of MMF significantly reduced the TTL at the end of the first month after LT, and this was associated with a significantly less marked reduction of the eGFR at 12 and 60 mo. Rodríguez-Perálvarez *et al*^[7] also observed in a meta-analysis that reduced TTL (< 10 ng/mL) within the first month after LT were associated with less renal impairment at 1 year^[7]. Nevertheless, both studies can be discussed. In the former study, TTL were shown at months 1, 12 and 60 after LT; however, no data were shown on the evolution of TTL between those time points and so, results could be biased due to different exposition to tacrolimus in both groups^[20]. In the latter study, only two clinical trials were used in the meta-analysis and TTL were maintained higher in both study groups along the whole follow-up although differences did not achieve significance^[7].

We can hypothesize that TTL early after LT have little effect on the evolution of long-term renal function when a tacrolimus minimization policy is implemented during long-term follow-up, as in our case. A longer period of high TTL in the post-transplant period might be needed to negatively affect the mid/long-term renal function. In accordance with this idea, the role of cumulative exposure to tacrolimus in eGFR decline after LT has been recently addressed^[23]. In this study, conventional/high exposure to tacrolimus within the first 3 mo resulted in a more pronounced eGRF decline as compared with minimization (23.3 mL/min *vs* 9.5 mL/min; $P \leq 0.001$).

The role of tacrolimus exposure in HCC recurrence has been also addressed in different studies. High TTL (> 10 ng/mL) within the first month after LT but not thereafter was associated with increased risk of HCC recurrence at 5 years by Rodríguez-Perálvarez *et al*^[9] (RR = 2.8; $P = 0.005$). Of note, in this study, tacrolimus levels were consistently lower during the 3-year follow-up in the non-recurrence group, although differences did not achieve significance. In another study, high exposure to tacrolimus was followed by a 50% recurrence rate *vs* 9.1% in patients with low exposure ($P = 0.001$)^[23]. In this study, high exposure was described as > 10 ng/mL during the first year and not only during the first month reflecting a significant higher exposure to tacrolimus along the follow-up. In our study, overall HCC recurrence rate was extremely low and no differences were found between groups. Low exposure to tacrolimus not only during the early post-transplant period but in the long term, and our strict selection policy, all patients fulfilled Milan criteria prior to transplantation, might have positively influenced these remarkable results in our study. Recently, other authors have also reported the lack of effect of the first fifteen days of calcineurin inhibitor exposure in the development of HCC recurrence or *de novo* tumors after LT^[24]. Again, it seems that longer periods of high exposure to tacrolimus-and not only during the first month after transplant-are needed to influence the development of *de novo* tumors or HCC recurrence.

Early TTL were not related with an increase in BPAR rates in our study. Reduction in early TTL was associated with the use of MMF and this could explain why the BPAR rate was not higher in patients with lower early TTL. Immunosuppression therapy with tacrolimus, MMF and steroids is currently the most common combination following LT^[1], and has been demonstrated to be effective in reducing TTL while maintaining or even reducing the acute rejection rate^[4,6].

We observed a relatively low rate of immunosuppression-related toxicity in terms of *de novo* diabetes or arterial hypertension and no differences were seen according to early TTL. In addition, development of *de novo* tumors was not influenced by TTL during the first month in our study.

In our study, factors associated with patient survival in multivariate analysis were *de novo* tumor, higher severity of liver disease (MELD score > 20), baseline HCV infection and arterial complications after LT. These factors have been repeatedly reported to be related to patient and graft survival after LT in the pre-direct-acting antivirals era^[16,25,26]. Of note, early TTL were not an independent risk factors for patient survival in our study.

We recognize some limitations in our study. It is retrospective, although the data were retrieved from a prospective database. Indeed, the number of patients included in the different groups are limited and hence the number of patients who experienced adverse events of interest such as impairment of renal function or HCC recurrence are also limited. In addition, MMF was more frequently used in the lower TTL group although immunosuppression-related morbidity is more likely related with tacrolimus exposure rather than to the use of MMF. Nevertheless, our study has several strengths: (1) Median follow-up was more than 4 years in both groups, which seems sufficient to assess the long-term outcomes and draw meaningful conclusions; and (2) Regarding TTL, our study groups were significantly different only within the first month after LT, which was the target period of time in the study, but not during the rest of the follow-up, what reinforces the adequacy of the study for our purpose and avoids the significant potential bias of having not only different early TTL but different TTL during the study period.

CONCLUSION

In summary, TTL within the first month after LT had no significant effect on long-term renal function, immunosuppression-related morbidity and 5-year patient or graft survival in our study. Early post-transplant tacrolimus level was not an independent factor for long-term patient in multivariate analysis. We conclude that relatively small

differences in mean tacrolimus levels restricted to the first month after LT do not determine differences in long-term immunosuppression-related morbidity and patient survival and therefore, larger exposure to tacrolimus seems to be needed to influence long-term outcomes. Larger studies should be advisable to confirm our results; however, these studies should be done on the basis of different TTL only during the early post-transplant period and not along the follow-up to avoid potential biases.

ARTICLE HIGHLIGHTS

Research background

Immunosuppression is a cornerstone in liver transplantation (LT) and current immunosuppressive regimens are mostly based on tacrolimus. At present, side effects relating anticalcineurin inhibitors are one of the main concerns for long-term outcomes after LT. Side effects are commonly related with drug dose and trough levels.

Research motivation

Tacrolimus trough levels (TTL) above 10 ng/mL during the first weeks after liver transplant have been related with mid and long-term outcomes including impairment of renal function and an increased rate of hepatocellular recurrence, *de novo* tumors and new-onset diabetes.

Research objectives

The aim of this study was to assess the influence of the TTL during the early post-transplant period in the long-term outcomes of LT.

Research methods

This was a retrospective study of 155 consecutive liver transplants treated with an immunosuppressive regimen based on *de novo* once-daily tacrolimus. Patients were classified into 2 groups according to their mean TTL within the first month after transplantation: ≤ 10 ng/mL ($n = 98$) and > 10 ng/mL ($n = 57$). All TTL obtained during the first month were used to define the mean values. Multivariate analyses were performed to assess risk factors for patient mortality.

Research results

TTL were significantly different among groups only during the first month after transplantation, but not during the rest of the follow-up. After a median follow-up of 52.8 mo (range 2.8-81.1), no significant differences were observed in the evolution of the mean estimated glomerular filtration rate, hepatocellular carcinoma recurrence, development of *de novo* tumors, new-onset diabetes, new-onset arterial hypertension or biopsy-proven acute rejection rate. Five-year patient and graft survival were comparable. Early tacrolimus trough level was not an independent factor for patient mortality in multivariate analyses.

Research conclusions

Differences in tacrolimus levels restricted to the first month after transplantation did not result in significant differences in long-term outcomes of liver transplant recipients.

Research perspectives

Mid and long-term calcineurin inhibitors-related side effects after LT should be studied considering the cumulative exposure to tacrolimus along the follow-up and not only the trough levels observed during the early post-transplant period.

ACKNOWLEDGEMENTS

Dr. Blanca Piedrafita at Medical Statistics Consulting S.L. (Valencia) is thanked for writing assistance and Dr. José Ignacio Pijuan from the Department of Epidemiology and Biostatistics for assistance in survival analysis.

REFERENCES

- 1 **Kim WR**, Lake JR, Smith JM, Skeans MA, Schladt DP, Edwards EB, Harper AM, Wainright JL, Snyder JJ, Israni AK, Kasiske BL. OPTN/SRTR 2015 Annual Data Report: Liver. *Am J Transplant* 2017; **17** Suppl 1: 174-251 [PMID: 28052604 DOI: 10.1111/ajt.14126]
- 2 **Kahan BD**, Keown P, Levy GA, Johnston A. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice. *Clin Ther* 2002; **24**: 330-50; discussion 329 [PMID: 11952020 DOI: 10.1016/s0149-2918(02)85038-x]
- 3 **Rodríguez-Perálvarez M**, Germani G, Papastergiou V, Tsochatzis E, Thalassinos E, Luong TV, Rolando N, Dhillon AP, Patch D, O'Beirne J, Thorburn D, Burroughs AK. Early tacrolimus exposure after liver transplantation: relationship with moderate/severe acute rejection and long-term outcome. *J Hepatol* 2013; **58**: 262-270 [PMID: 23023010 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.09.019]
- 4 **Neuberger JM**, Mamelok RD, Neuhaus P, Pirenne J, Samuel D, Isoniemi H, Rostaing L, Rimola A, Marshall S, Mayer AD; ReSpECT Study Group. Delayed introduction of reduced-dose tacrolimus, and renal function in liver transplantation: the 'ReSpECT' study. *Am J Transplant* 2009; **9**: 327-336 [PMID: 19120077 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2008.02493.x]
- 5 **Benítez CE**, Puig-Pey I, López M, Martínez-Llordella M, Lozano JJ, Bohne F, Londoño MC, García-Valdecasas JC, Bruguera M, Navasa M, Rimola A, Sánchez-Fueyo A. ATG-Fresenius treatment and low-dose tacrolimus: results of a randomized controlled trial in liver transplantation. *Am J Transplant* 2010; **10**: 2296-2304 [PMID: 20883560 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2010.03164.x]
- 6 **Boudjema K**, Camus C, Saliba F, Calmus Y, Salamé E, Pageaux G, Ducerf C, Duvoux C, Mouchel C, Renault A, Compagnon P, Lorho R, Bellissant E. Reduced-dose tacrolimus with mycophenolate mofetil vs. standard-dose tacrolimus in liver transplantation: a randomized study. *Am J Transplant* 2011; **11**: 965-976 [PMID: 21466650 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03486.x]
- 7 **Rodríguez-Perálvarez M**, Germani G, Darius T, Lerut J, Tsochatzis E, Burroughs AK. Tacrolimus trough levels, rejection and renal impairment in liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant* 2012; **12**: 2797-2814 [PMID: 22703529 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2012.04140.x]
- 8 **Rodríguez-Perálvarez M**, Tsochatzis E, Naveas MC, Pieri G, García-Caparrós C, O'Beirne J, Poyato-González A, Ferrín-Sánchez G, Montero-Álvarez JL, Patch D, Thorburn D, Briceno J, De la Mata M, Burroughs AK. Reduced exposure to calcineurin inhibitors early after liver transplantation prevents recurrence of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2013; **59**: 1193-1199 [PMID: 23867318 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.07.012]
- 9 **Jia JJ**, Lin BY, He JJ, Geng L, Kadel D, Wang L, Yu DD, Shen T, Yang Z, Ye YF, Zhou L, Zheng SS. "Minimizing tacrolimus" strategy and long-term survival after liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2014; **20**: 11363-11369 [PMID: 25170223 DOI: 10.3748/wjg.v20.i32.11363]
- 10 **Gastaca M**, Valdivieso A, Bustamante J, Fernández JR, Ruiz P, Ventoso A, Testillano M, Palomares I, Salvador P, Prieto M, Montejo M, Suárez MJ, de Urbina JO. Favorable long-term outcomes of liver transplant recipients treated de novo with once-daily tacrolimus: Results of a single-center cohort. *Liver Transpl* 2016; **22**: 1391-1400 [PMID: 27434676 DOI: 10.1002/lt.24514]
- 11 **Levey AS**, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, De Zeeuw D, Hostetter TH, Lameire N, Eknoyan G. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2005; **67**: 2089-2100 [PMID: 15882252 DOI: 10.1111/j.1523-1755.2005.00365.x]
- 12 **Charlton M**. Obesity, hyperlipidemia, and metabolic syndrome. *Liver Transpl* 2009; **15** Suppl 2: S83-S89 [PMID: 19877024 DOI: 10.1002/lt.21914]
- 13 schema for grading liver allograft rejection: an international consensus document. *Hepatology* 1997; **25**: 658-663 [PMID: 9049215 DOI: 10.1002/hep.510250328]
- 14 **Olthoff KM**, Kulik L, Samstein B, Kaminski M, Abecassis M, Emond J, Shaked A, Christie JD. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transpl* 2010; **16**: 943-949 [PMID: 20677285 DOI: 10.1002/lt.22091]
- 15 **Teperman LW**, Morgan GR, Diflo T, John DG, Gopalan V, Negron CE, Tobias H. Tacrolimus dose is donor age dependent. *Transplantation* 1998; **66**: S44 [DOI: 10.1097/00007890-199810270-00206]
- 16 **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 [PMID: 20486907 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2010.03126.x]
- 17 **Lucey MR**, Terrault N, Ojo L, Hay JE, Neuberger J, Blumberg E, Teperman LW. Long-term management of the successful adult liver transplant: 2012 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the American Society of Transplantation. *Liver Transpl* 2013; **19**: 3-26 [PMID: 23281277 DOI: 10.1002/lt.23566]
- 18 **Bahirwani R**, Reddy KR. Outcomes after liver transplantation: chronic kidney disease. *Liver Transpl* 2009; **15** Suppl 2: S70-S74 [PMID: 19876956 DOI: 10.1002/lt.21900]
- 19 **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; **349**: 931-940 [PMID: 12954741 DOI: 10.1056/NEJMoa021744]
- 20 **Karie-Guigues S**, Janus N, Saliba F, Dumortier J, Duvoux C, Calmus Y, Lorho R, Deray G, Launay-Vacher V, Pageaux GP. Long-term renal function in liver transplant recipients and impact of immunosuppressive regimens (calcineurin inhibitors alone or in combination with mycophenolate

- mofetil): the TRY study. *Liver Transpl* 2009; **15**: 1083-1091 [PMID: 19718632 DOI: 10.1002/lt.21803]
- 21 **Allen AM**, Kim WR, Therneau TM, Larson JJ, Heimbach JK, Rule AD. Chronic kidney disease and associated mortality after liver transplantation--a time-dependent analysis using measured glomerular filtration rate. *J Hepatol* 2014; **61**: 286-292 [PMID: 24713190 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.03.034]
 - 22 **Rodríguez-Perálvarez M**, Guerrero M, De Luca L, Gros B, Thorburn D, Patch D, Aumente MD, Westbrook R, Fernández R, Amado V, Aguilar P, Montero JL, O'Beirne J, Briceño J, Tsochatzis E, De la Mata M. Area Under Trough Concentrations of Tacrolimus as a Predictor of Progressive Renal Impairment After Liver Transplantation. *Transplantation* 2019; **103**: 2539-2548 [PMID: 31107827 DOI: 10.1097/TP.0000000000002760]
 - 23 **Vivarelli M**, Cucchetti A, La Barba G, Ravaioli M, Del Gaudio M, Lauro A, Grazi GL, Pinna AD. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma under calcineurin inhibitors: reassessment of risk factors for tumor recurrence. *Ann Surg* 2008; **248**: 857-862 [PMID: 18948815 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181896278]
 - 24 **Di Maria T**, Sapisochin G, Rajakumar R, Lilly L, Prieto M, Lopez-Andujar R, Berenguer M. The first fifteen days of calcineurin inhibitors exposure do not predict post-transplant malignant outcomes. *Transplantation* 2018; **102** Suppl 5: S167-S168 [DOI: 10.1097/01.tp.0000534078.18014.88]
 - 25 **Bruns H**, Lozanovski VJ, Schultze D, Hillebrand N, Hinz U, Büchler MW, Schemmer P. Prediction of postoperative mortality in liver transplantation in the era of MELD-based liver allocation: a multivariate analysis. *PLoS One* 2014; **9**: e98782 [PMID: 24905210 DOI: 10.1371/journal.pone.0098782]
 - 26 **Jain A**, Singhal A, Fontes P, Mazariegos G, DeVera ME, Cacciarelli T, Lopez RC, Sindhi R, Humar A, Marsh JW. One thousand consecutive primary liver transplants under tacrolimus immunosuppression: a 17- to 20-year longitudinal follow-up. *Transplantation* 2011; **91**: 1025-1030 [PMID: 21378604 DOI: 10.1097/TP.0b013e3182129215]