



Universidad de
Santiago de Compostela
Departamento de Cirugía

***EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DE UNA
SOLUCIÓN DE PERFUSIÓN-LAVADO CON
TACROLIMUS SOBRE LA LESIÓN POR
ISQUEMIA- REPERFUSIÓN EN
TRASPLANTE HEPÁTICO***

TESIS DOCTORAL

M. Carmen Rivero Velasco

EVALUACION DE LOS EFECTOS DE UNA SOLUCION DE PERFUSION-LAVADO CON TACROLIMUS SOBRE LA LESION POR ISQUEMIA-REPERFUSION EN TRASPLANTE HEPATICO.

M. Carmen Rivero Velasco

Se trata de un estudio abierto, multicéntrico, randomizado para tratar de evaluar los efectos beneficiosos del tacrolimus añadido a una solución de lavado hepático, con el objetivo de corroborar la hipótesis de que este fármaco es capaz de disminuir el daño hepatocelular tras la reperfusión del injerto hepático preservado, mejorando la función del mismo tras el trasplante ortotópico de hígado.

Para ello se estudia prospectivamente una muestra de 137 pacientes, que se randomizan en 2 grupos: en el grupo I se realiza el lavado del injerto pretrasplante con una solución de lavado (Plasmalyte A) con tacrolimus a concentración de 20 ng/ml y el grupo II se realiza el lavado con la misma solución, pero sin tacrolimus.

Tras la hepatectomía del receptor, el órgano del donante se extrae de la solución de preservación (solución de la universidad de Wisconsin) y se lava durante 15 minutos con la solución asignada a caso. Todos los pacientes reciben el mismo tratamiento inmunosupresor postrasplante (tacrolimus + esteroides).

Como variable principal de eficacia se cuantifica el porcentaje de reducción en el pico máximo de GPT en las primeras 48 horas postrasplante de cara a valorar el daño hepatocelular producido por la isquemia y posterior reperfusión en el órgano trasplantado.

Se realiza un subanálisis en pacientes que reciben injertos procedentes de donantes que cumplen determinados criterios de marginalidad y, por último, se estratifica la muestra según la edad del donante (mayores de 50 años/ menores de 50 años), comparando asimismo la lesión hepática por isquemia-reperfusión en cada uno de los grupos, mediante el análisis de la variable principal, en función de que reciban un injerto perfundido con una solución de lavado con tacrolimus o sin el fármaco.

Como variables secundarias se estudian y comparan, entre pacientes tratados y no tratados, otros parámetros capaces de cuantificar el daño hepatocelular y la función sintética del órgano trasplantado: GOT, GGT, bilirrubina, actividad de protrombina e INR, así como la incidencia y gravedad del primer

episodio de rechazo agudo en los 3 meses posteriores al trasplante, la supervivencia del injerto y del paciente y la incidencia general de efectos adversos.

El estudio concluye que el lavado del injerto hepático del donante con una solución con tacrolimus comparado con el lavado con una solución con placebo no disminuye la lesión hepatocelular ocasionada por isquemia-reperfusión al estudiar el total de los receptores tras la realización de trasplante hepático. Sin embargo, sí disminuye el daño en el subgrupo de pacientes trasplantados con un órgano procedente de un donante < 50 años, sin diferencias cuando el donante es mayor. En el total de la muestra, no se observan diferencias entre tratados y no tratados en cuanto a la mortalidad del receptor ni en cuanto al riesgo de rechazo.

CERTIFICACIÓN



El **Dr. Evaristo Varo Pérez**, Jefe de la Unidad de Trasplante Abdominal del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela y Profesor Titular de Cirugía.

CERTIFICA:

Que la tesis doctoral con el título "Efectos de una solución de perfusión-lavado con tacrolimus sobre la lesión por isquemia-reperfusión en trasplante hepático", realizada por M. Carmen Rivero Velasco para aspirar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía, está en condiciones de ser presentada y sometida a la aprobación del tribunal convocado.

Lo que se hace constar a todos los efectos, en Santiago de Compostela, a 12 de mayo de 2008.

Dr. Evaristo Varo Pérez

*A mis padres, porque todo lo
bueno que tengo se lo debo a ellos*

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos

Al profesor Evaristo Varo Pérez, mi maestro, por proponerme este tema y por animarme y ayudarme a llevar a cabo este trabajo.

A la Dra. Cristina Pontón Larrea, por su imprescindible colaboración en la recogida de datos.

A todo el equipo quirúrgico y de la Unidad de Trasplante Abdominal que participó en este proyecto.

A Fujisawa-Astellas S.A, por la financiación de este estudio mediante una beca de investigación.

A los investigadores y hospitales participantes:

- **Dr. Evaristo Varo. Promotor del estudio.** Hospital Clínico Universitario. Santiago de Compostela (A Coruña, España).
- Dr. Ignacio González-Pinto. Hospital Central de Asturias. Oviedo (Asturias, España).
- Dr. Jorge Ortiz de Ubina. Hospital de Cruces. Barakaldo (Vizcaya, España).
- Dr. Andrés Valdivieso. Hospital de Cruces. Barakaldo (Vizcaya, España).
- Dr. Fernando Pardo. Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona (Navarra, España).
- Dr. Guillermo Solórzano. Hospital Reina Sofía (Córdoba, España).
- Dr. Eduardo Barroso. Hospital Curry Carral (Lisboa, Portugal).
- Dr. Javier Calleja. Hospital Gregorio Marañón (Madrid, España).
- Dr. Juan Carlos García Valdecasas. Hospital Clinic (Barcelona, España).

Agradecimientos

- Dr. Fernando José Oliveira. Hospital de la Universidade de Coimbra (Coimbra, Portugal).
- Dr. Victor Ribeiro. Hospital de Santo Antonio (Porto, Portugal).
- Dr. Fernando San Juan. Hospital La Fe (Valencia, España).
- Dr. Victor Sánchez Turrión. Clínica Puerta de Hierro (Madrid, España).
- Dr. Julio Santoyo. Hospital Carlos Haya (Málaga España).
- Dr. Eloy Tejero. Hospital Clínico de Zaragoza (Zaragoza España).

ACRÓNIMOS



- AA: acontecimiento adverso
- AMF: Acido micofenólico
- AntiHBs: Anticuerpo frente al antígeno de superficie de la hepatitis B
- AntiHBc: Anticuerpo anticore del virus de la hepatitis B
- ATP: Adenosín trifosfato
- Blr: Bilirrubina
- C: Centígrados (°C: grados centígrados)
- Ca: Calcio
- CMV: Citomegalovirus
- CPA: Célula presentadora de antígenos
- CRD: Cuaderno de recogida de datos
- CsA: Ciclosporina A
- D. típica: Desviación típica
- FA: Fosfatasa alcalina
- FBP: Fructosa 1,6 bifosfato
- FKBP: Proteína de unión al FK
- g: gramo
- GGT o γ GT: Gammaglutamil transpeptidasa
- GOT/AST: Glutamil oxalacético transaminasa/ aspartato aminotransferasa
- GPT/ALT: Glutamato piruvato transaminasa/ alanina aminotransferasa
- HBsAg: Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B
- HES: Hydroxethyl Starch
- HTK: Solución de preservación histidina-triptófano-cetoglutarato
- ICAM: Moléculas de adhesión intracelulares
- i.v.: Intravenoso

- IFN: Interferón
- IL: Interleucina
- INR: Ratio internacional normalizada
- K: Potasio
- Kg: Kilogramo
- L: litro
- LCR: Líquido cefalorraquídeo
- LDH: Lactato deshidrogenasa
- Max: Máximo
- Mg: Magnesio
- mg: Miligramo
- µg: Microgramo
- MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad
- min: Minuto
- mmol: Milimol
- mol: Mol
- mOsm: Miliosmol
- N: Tamaño muestral
- Na: Sodio
- NF-AT: Factor nuclear de las células T activadas
- NF-κB: Factor nuclear κB
- ng: Nanogramo
- NOS: Oxido nítrico sintetasa
- ONT: Organización Nacional de Trasplantes
- Osm: Osmolaridad
- PAF: Factor activador plaquetario
- PEG: Polietilenglicol
- PG: Prostaglandina
- PMN: Polimorfonucleares

- RLO: Radicales libres de oxígeno
- TCR: Receptor específico de la célula T
- TNF: Factor de necrosis tumoral
- TP: Tiempo de protrombina
- TTPA: Tiempo de tromboplastina parcial activada
- Tx: Trasplante
- UCI: Unidad de cuidados intensivos
- UI: unidades internacionales
- UNOS: United Network for Organ Sharing
- UW: Solución de preservación de la Universidad de Wisconsin
- VEB: Virus de Epstein-Barr
- VHB: Virus de la hepatitis B
- VHC: Virus de la hepatitis C
- VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana
- XD: Xantina deshidrogenasa
- XO: xantina oxidasa

ÍNDICE



I.- INTRODUCCIÓN	1
1. HISTORIA DEL TRASPLANTE HEPÁTICO	3
2. ESCASEZ DE DONANTES	12
3. LÍQUIDOS DE PRESERVACIÓN	30
4. INMUNOSUPRESIÓN EN TRASPLANTE HEPÁTICO	41
5. LESIÓN POR ISQUEMIA-REPERFUSIÓN	51
6. EFECTOS DE TACROLIMUS SOBRE LA LESIÓN POR ISQUEMIA- REPERFUSIÓN	58
II.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO	65
III.- MATERIAL Y MÉTODO	71
1. DISEÑO DEL ESTUDIO	73
2. PACIENTES	73
3. DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO	75
4. VARIABLES DE EFICACIA	78
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	79
6. INVESTIGADORES PRINCIPALES Y CENTROS PARTICIPANTES	82
IV.- RESULTADOS	83
1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA MUESTRA	85
2. ANÁLISIS DE LA VARIABLE PRINCIPAL	95
3. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES SECUNDARIAS	128
V.- DISCUSIÓN	157

VI.- CONCLUSIONES	169
VII.- BIBLIOGRAFÍA	173
VIII.- APÉNDICE	199
1. TABLAS RESUMEN DE LAS PRINCIPALES VARIABLES DE VALORACIÓN	201

I. INTRODUCCIÓN

1.- HISTORIA DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

El trasplante de órganos constituye uno de los avances más espectaculares de la historia de la medicina. El avance de diversas ramas de la ciencia y la tecnología, así como el esfuerzo de multitud de profesionales ha logrado que el trasplante constituya hoy una realidad, un procedimiento rutinario en la práctica médica que ya ha conseguido salvar a miles de enfermos y mejorar su calidad de vida.

Esto ha sido posible gracias a los extraordinarios avances realizados en cuanto a la preservación de los órganos del donante, las terapias inmunosupresoras, las técnicas quirúrgicas y los cuidados del receptor, antes, durante y después de la cirugía.

En la civilización de Occidente, los trasplantes de órganos y tejidos, homólogos y heterólogos, se inician y prodigan hace más de 250 años, gracias al advenimiento de las ciencias naturales. En 1746 se acuña el término "injerto animal" por Duhamel du Monceau, quien tres años más tarde injertó con éxito espolones extraídos de pollos jóvenes en la cresta del mismo o de otro animal. A lo largo del siglo XIX se prodigaron todo tipo de injertos, de tejidos y órganos, entre animales de la misma especie y entre animales diferentes¹.

Los primeros fracasos se relacionaron con errores en la técnica quirúrgica, sobre todo en lo referente al campo de la cirugía vascular, hasta que en 1902, Alexis Carrel sienta las bases de las modernas anastomosis vasculares², punto de partida fundamental para el desarrollo de los trasplantes.

El primer homotrasplante clínico fue renal y realizado en 1936 por Voronoy³. No llegó a funcionar. En los años siguientes se realizaron varios intentos más, con resultados desalentadores; los órganos trasplantados dejaban de funcionar porque sufrían un proceso biológico de base inmunológica: el rechazo.

El trasplante hepático se empieza a mencionar en la literatura médica en 1955. El primer informe se publicó en una revista llamada *Transplantation Bulletin*, antecesor de la actual *Transplantation*. En este artículo, C. Stuart Welch describió la colocación de un hígado auxiliar canino en pelvis o canal paravertebral derecho de receptores no inmunosuprimidos⁴. La revascularización de la arteria hepática se realizaba desde la aorta o la arteria iliaca y el flujo portal se restauraba redirigiendo el retorno venoso de la cava inferior del receptor a la porta del injerto hepático. Años más tarde se descubriría que existían otros factores, además del rechazo, que contribuían a la rápida destrucción del trasplante auxiliar. Es Jack Cannon quien comienza a plantearse la extracción del hígado nativo previa al implante del nuevo órgano (trasplante ortotópico)⁵. Dos grupos de investigadores trabajan en esta línea durante los años siguientes: el equipo de Francis D. Moore, en Boston, y el liderado por Thomas E. Starzl, en Chicago. Se realiza una nueva técnica de hepatectomía total⁶ y en 1960 se publican 31 experimentos en perros realizados por el equipo de Moore^{7,8} con 7 supervivientes de entre 4 y 12 días y 80 por parte del grupo de Starzl⁹, de los que sobrevivieron 18 entre 4 y 20 días. Aún no existía inmunosupresión eficaz y el rechazo se presentaba tras el 5º o 6º día en ambas series y era la considerado como la principal causa de la muerte. Unos años más tarde, Groth¹⁰ demostró que las reducciones drásticas del flujo hepático eran, en parte, responsables del rechazo y hacían el injerto más susceptible a las infecciones^{11,12}.

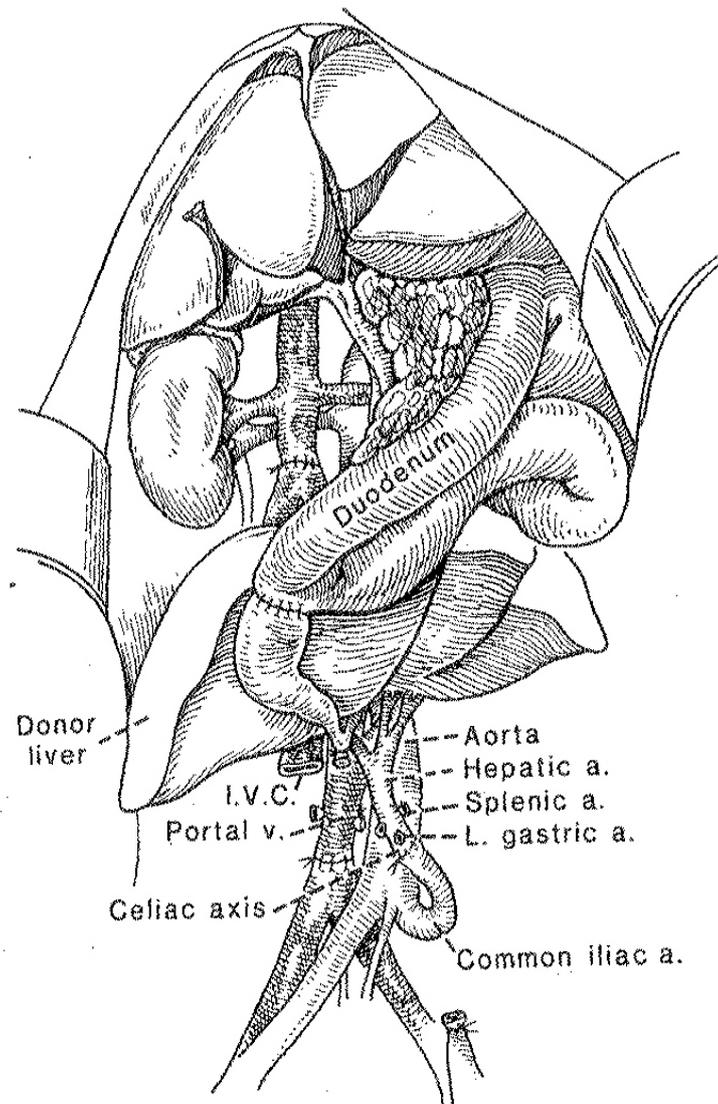


Figura 1. Trasplante hepático auxiliar en perros (técnica de Welch modificada).
Marchioro TL, Rowlands DT Jr et al. Immunosuppression after experimental and
clinical homotransplantation of the liver. *Ann Surg.* 1964; 160:411-439

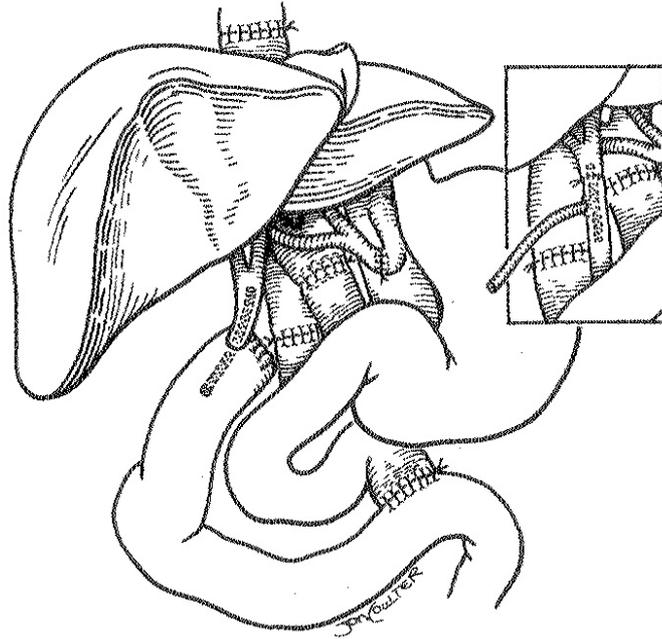


Figura 2. Trasplante hepático ortotópico. Starzl TE, Demetrio AJ, Van Thiel DH. Medical progress: liver transplantation, part I. Tomado de The New England Journal of Medicine. 1989; 321:1014-1022.

En esta época se llegó a la conclusión de que era imprescindible, de cara a mejorar la supervivencia de los animales tras el trasplante, la prevención de la lesión isquémica del injerto y así se comenzaron a emplear soluciones de preservación. Inicialmente se utilizaron soluciones salinas o Ringer, útiles durante las primeras 5 o 6 horas. Posteriormente se fueron introduciendo modificaciones^{13,14} hasta que, en 1978, gracias a la solución ideada en la Universidad de Wisconsin¹⁵, fue posible la preservación de injertos hepáticos humanos refrigerados hasta 18-24 h^{16,17}.

El requisito final para el éxito del trasplante en perros fue el uso de by-pass plásticos y posteriormente by-pass con bomba, con^{18,19} o sin

anticoagulación^{20,21}, que drenaban el flujo venoso esplácnico del receptor a la vena cava superior durante la hepatectomía y el implante del nuevo injerto.

Un concepto erróneo acerca de la fisiología hepática fue lo que condujo a Welch a pensar en el rechazo como el único responsable de la destrucción de los injertos hepáticos de los perros^{4,22}. El shunt portocava (fístula de Eck) realizado para el trasplante hacía que todo el retorno venoso esplácnico de la porta se desviase sin pasar por el hígado. Se producía una atrofia del injerto²³, que en esa época se atribuía a déficit de flujo total y no a falta de paso de determinados componentes sanguíneos por el hígado vía portal^{24,25}. Aunque estaba equivocado, Welch creó un modelo experimental de gran importancia, que se basaba en hacer coexistir en el mismo animal dos hígados que únicamente se diferenciaban por la cantidad de aporte sanguíneo derivado a cada uno de sus sistemas portales. Cuando este experimento se repitió bajo inmunosupresión pudo observarse que aquellos injertos con escaso aporte de flujo portal reducían su tamaño en comparación con los injertos con flujo normal²⁶. No era, pues, el rechazo la única causa del deterioro hepático. Lo mismo ocurría cuando se dividía en dos el hígado del mismo animal y se vascularizaba con retorno venoso portal procedente de diferentes territorios esplácnicos^{27,28}. El fragmento peor vascularizado se atrofiaba. Continuó investigándose a partir de estos modelos experimentales, llegando a la conclusión de que tanto la insulina como otras sustancias aportadas por el flujo portal influían de forma importante en el trofismo hepático^{28,29,30,31} y el paso de la sangre portal a través del hígado evitaba otras consecuencias adversas ocasionadas por la fístula de Eck³².

Tras la demostración por Medawar en 1944 de que el rechazo era un fenómeno de base inmunológica^{33,34} se ensayaron múltiples pautas inmunosupresoras, que fueron mejorándose hasta el descubrimiento del sinergismo entre azatioprina y esteroides, consiguiéndose a partir de ese momento una mejoría de los resultados clínicos^{35,36}.

En la tabla 1 se resumen cronológicamente los principales regímenes inmunosupresores empleados.

Inmunosupresor	Inconvenientes	Uso en tx abdominales
Irradiación corporal total	No efectivo, peligroso	No
Azatioprina	No efectivo, peligroso	No
Azatioprina + esteroides	Subóptimo	Hígado
Drenaje adyuvante de conducto torácico	Requería pretratamiento 20-30 días antes	Hígado
Timectomía adyuvante	Eficacia no probada	Si
Esplenectomía adyuvante	Innecesaria	Si
Globulina antilinfocito adyuvante	Subóptimo	Si
Ciclofosfamida	Sólo útil en toxicidad a azatioprina	Hígado
Irradiación linfática total	Peligroso	Hígado
Ciclosporina	Subóptimo	Si
Ciclosporina + esteroides	Nefrotoxicidad. Mal control rechazo	Si
FK506 + esteroides	Nefrotoxicidad. Mal control rechazo	Si

Tabla 1. Principales regímenes inmunosupresores y utilidad clínica. Starlz TE. Transplantation of the liver. Chapter 1: History of liver and other splachnic organ transplantaion. W.B. Saunders Company 1996.

Una vez demostrada la efectividad de la combinación de azatioprina + prednisona como régimen inmunosupresor en animales y trasplantes renales en humanos, se realizó el primer trasplante hepático clínico. Thomas Starzl realizó el primer trasplante de hígado en humanos en el año 1963³⁷. A un niño de tres años afecto de atresia biliar que se encontraba en muy mal estado le trasplantó el hígado de otro niño fallecido de un tumor cerebral. Solo sobrevivió cinco horas. En el mismo año, dos meses más tarde, realizó su segundo trasplante hepático, esta vez entre adultos. El receptor era un varón de 48 años de edad afecto de un hepatoma que afectaba a la totalidad del hígado y el donante un varón de 55 años con un glioma cerebral. Coincidiendo con la asistolia del donante se procedió a la extracción inmediata del hígado. El trasplante fue un éxito, pero el receptor falleció 22 días después a causa de una embolia de pulmón. El examen patológico del injerto hepático era normal.

En los años siguientes, la evolución de las terapias inmunosupresoras y una mejor preservación de los injertos³⁸ permitieron que la supervivencia de los receptores aumentase paulatinamente. El trasplante hepático era una realidad clínica.

A finales de los años 80 ya había una lista de patologías que se consideraban susceptibles de tratamiento mediante trasplante hepático; estas patologías estaban divididas en: enfermedades colestásicas, trastornos del parénquima³⁹, errores innatos del metabolismo^{39,40} y tumores.

Al mismo tiempo que aumentaba el número de indicaciones disminuían las circunstancias que inicialmente contraindicaban el trasplante. Así, comenzó a considerarse la posibilidad de trasplantar pacientes con cirugías o shunt portosistémicos previos; la trombosis de la porta y las venas mesentéricas superiores, que hasta entonces hacían el trasplante difícil o imposible, habían dejado de ser un obstáculo insalvable mediante el uso de injertos venosos⁴¹⁻⁴²; se flexibilizaron los límites de edad de los receptores y la obtención de órganos para receptores pediátricos aumentó con el uso de fragmentos hepáticos.

	Autor	Año	Hecho/descubrimiento
Preinmunosupresión	Welch	1955	Primera cita en la literatura Trasplante auxiliar de hígado en perros
	Moore, Starzl	1960	Primer trasplante ortotópico de hígado en perros
Inmunosupresión	Starzl	1963	Primeros tres intentos clínicos trasplante ortotópico de hígado. Máxima supervivencia 21 días
	Starzl	1965	Primera supervivencia superior a un año en perros
	Starzl	1968	Trasplantes ortotópicos de hígado con supervivencia prolongada
	Calne	1968	Primeros cuatro casos de Cambridge, primera supervivencia más de cuatro meses
	Starzl	1969	Veinticinco casos en Denver

Tabla 2. Hechos de relevancia para el éxito del trasplante hepático. Rodés
Teixidor J. Trasplante de órganos y células.. Fundación BBVA ed. 2006.

La primera cirugía de reducción hepática se realizó en Denver en 1975⁴³, pero la técnica fue descrita y publicada más tarde^{44,45}. En 1989 Lynch y Strong realizaron con éxito un trasplante de una porción de lóbulo hepático izquierdo de donante vivo relacionado⁴⁶, técnica mejorada y popularizada después por Broelsch⁴⁷. Estos procedimientos de reducción hepática fueron facilitados mediante la utilización de la técnica del *piggyback*, es decir, la conservación de la cava retrohepática del receptor y la anastomosis de las venas suprahepáticas del injerto a ramas de las venas hepáticas. El *piggyback*, descrito inicialmente por Calne⁴⁸ para el trasplante de hígados pediátricos a adultos, fue utilizado esporádicamente durante unos años y finalmente popularizado por Tzakis y cols⁴⁹.

2.- ESCASEZ DE DONANTES

En los últimos años el trasplante hepático ha representado un gran avance desde el punto de vista terapéutico al conseguir una mejoría sustancial, tanto de la supervivencia como de la calidad de vida, de aquellos pacientes afectos de una hepatopatía terminal. En la actualidad, la supervivencia del paciente a los 5 y 10 años se cifra alrededor de un 90% y un 75-80%, respectivamente⁵⁰. No cabe ninguna duda, por tanto, de que el trasplante hepático es una terapéutica altamente eficaz, únicamente condicionada por el número limitado de donantes.

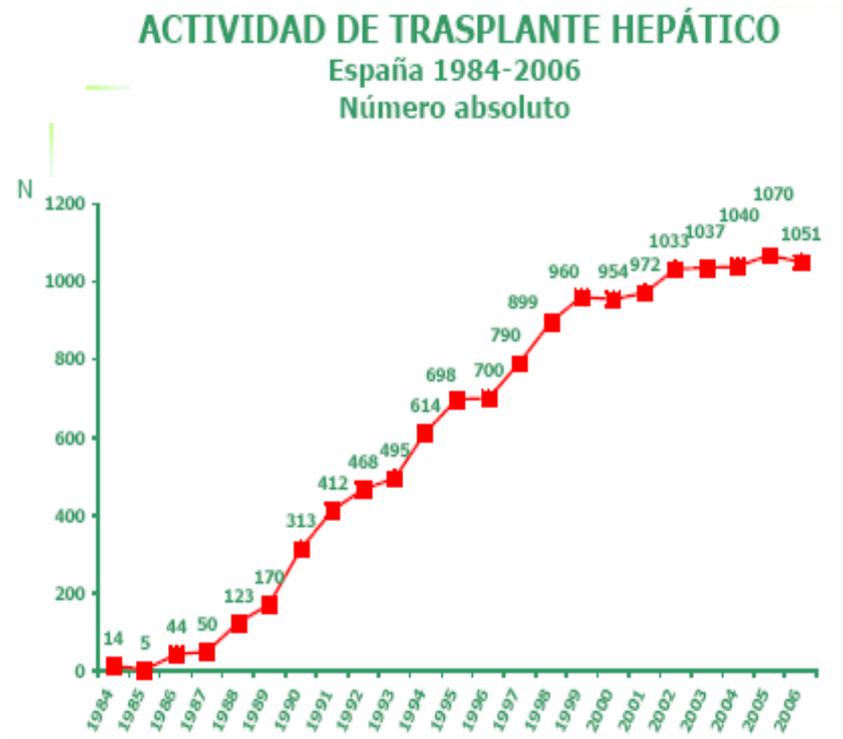


Gráfico 1. Datos de 2006. Organización Nacional de Trasplantes

Debido a esta gran eficacia terapéutica, este tipo de tratamiento se está ofreciendo progresivamente a un mayor número de pacientes, lo que provoca, a pesar del elevado número de donantes que se generan en España, un mayor tiempo en lista de espera y, como consecuencia, un mayor número de fallecimientos entre los enfermos que esperan un órgano que no llega a tiempo.

EVOLUCIÓN LISTA DE ESPERA GLOBAL 2006

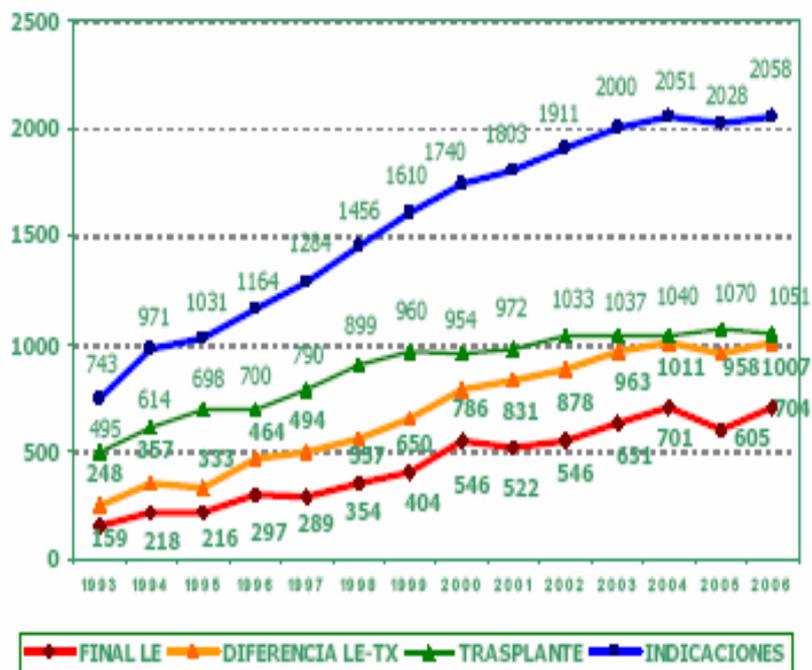


Gráfico 2. Datos de 2006. Organización Nacional de Trasplantes

En los Gráficos 1 y 2 se representa el aumento de la actividad de trasplante hepático que se ha producido en los últimos años y la evolución de la lista de espera.

Esta desproporción entre la oferta y la demanda de órganos ha hecho necesario el desarrollo de alternativas para aumentar el número de injertos hepáticos útiles para trasplante.

2.1.- ALTERNATIVAS A LA ESCASEZ DE ÓRGANOS⁵¹

- MEJORA DE TODOS LOS ASPECTOS RELACIONADOS CON LA DONACIÓN

En España tenemos los índices de donación más altos del mundo (Gráficos 3 y 4). Aún así, la tasa de negativa familiar en nuestro país se mantiene estable por encima del 15% en los últimos años (Gráfico 10), por lo que los esfuerzos encaminados a disminuir el número de negativas pueden suponer un aumento sustancial del número de donantes. La labor de los equipos de coordinación de trasplantes también es fundamental de cara a una mejor detección y selección de potenciales donantes.

Otra alternativa a la escasez de órganos es la obtención de órganos procedentes de donante vivo: la utilización de donantes familiares para el trasplante renal se utilizó ya en los inicios del trasplante y se ha mantenido en los países cuya donación de cadáver es escasa o las listas de espera largas. En la actualidad, y debido a esta escasez de órganos, el interés por el donante vivo ha aumentado de nuevo y se ha extendido a la donación de órganos extrarrenales como el hígado. La donación de vivo tiene el inconveniente del riesgo de morbimortalidad en el donante y los problemas éticos que puede acarrear.

Aproximadamente un 5% de nuestros donantes son donantes en asistolia, cuya muerte se determina mediante la irreversibilidad del cese

de las funciones cardiorrespiratorias. No sólo se obtienen riñones viables para trasplante de estos donantes, también se han trasplantado con éxito en nuestro país hígados procedentes de este tipo de donantes.

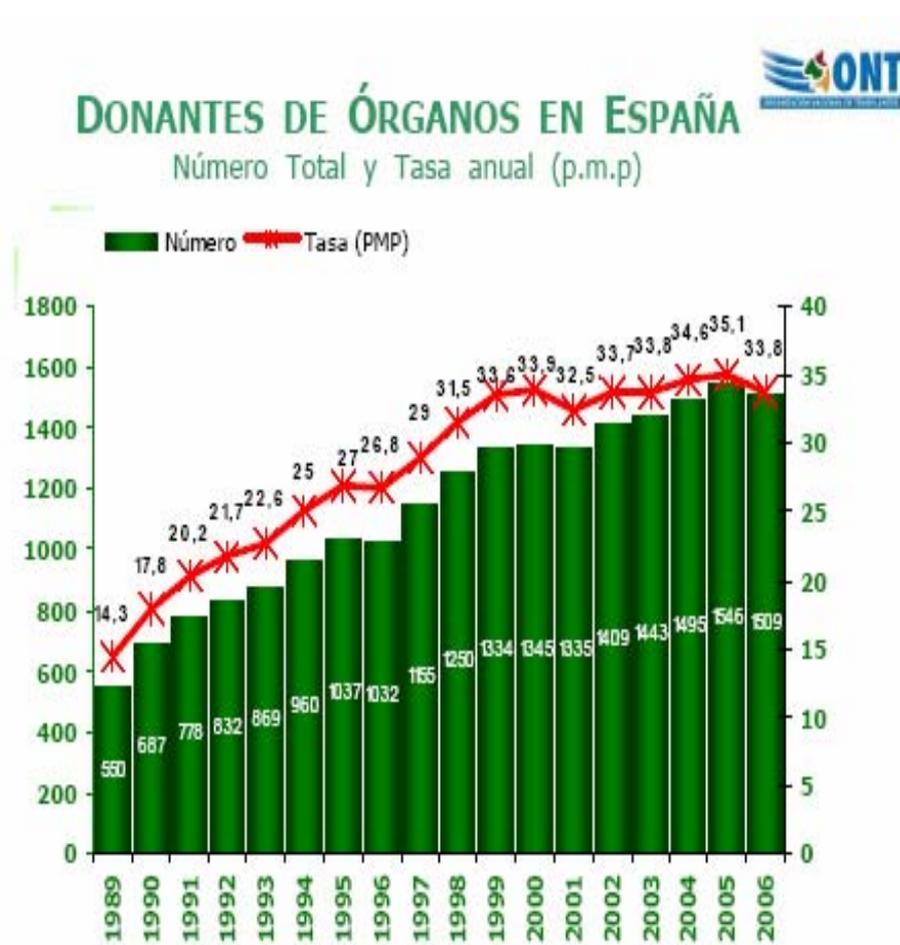


Gráfico 3. Datos de 2006. Organización Nacional de Trasplantes

DONANTES DE ÓRGANOS EN ESPAÑA Y OTROS PAÍSES

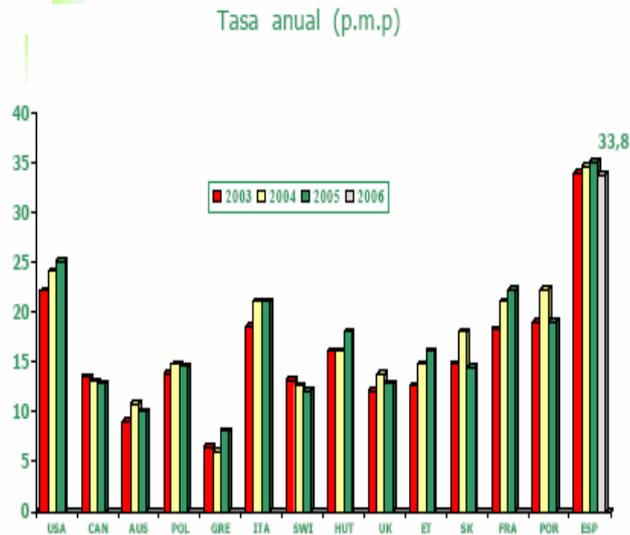


Gráfico 4. Datos de 2006. Organización Nacional de Trasplantes

- APROVECHAMIENTO MÁXIMO DE LOS ÓRGANOS

Una de las técnicas que ha contribuido a disminuir las listas de espera en el trasplante hepático infantil sin menoscabo de las listas de espera de adultos ha sido el *split*, que consiste en realizar una partición hepática para trasplantar a un adulto con el lóbulo derecho y a un niño con el segmento lateral izquierdo. Actualmente se está trabajando en la obtención de dos injertos hepáticos para poder trasplantar a dos adultos, ya que son estas listas de espera las más preocupantes.

Otra forma de aumentar el número de órganos disponibles para trasplante a lo largo de estos últimos años ha sido ampliar los criterios de aceptación de los donantes, tanto en el sentido de ser menos estrictos en cuanto a los antecedentes patológicos, como en el de flexibilizar los límites de edad.

- **MEJORAS EN LA PRESERVACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LOS ÓRGANOS**

El aumento en la edad media de los donantes provoca un aumento de la utilización de órganos considerados como "subóptimos" o "marginales", con mayor riesgo de desarrollo de lesión por isquemia-reperfusión. De ahí la relevancia cada vez mayor de las investigaciones encaminadas a mejorar las soluciones de preservación que hagan posible una mayor utilización de estos órganos, manteniendo buenos resultados funcionales en el receptor.

- **XENOTRASPLANTE**

Se trata del trasplante entre diferentes especies, es decir, de órganos de animal al hombre. La experiencia con este tipo de trasplantes es antigua, pero no se han conseguido supervivencias prolongadas, aunque algunos órganos de primates funcionaron durante meses. El trasplante de primates al hombre sería el más factible desde el punto de vista de compatibilidad inmunológica, pero los problemas éticos, de disponibilidad de animales y el riesgo de transmisión de enfermedades, como los retrovirus, lo hacen inviable. El cerdo tiene menos problemas de disponibilidad, pero en este caso la barrera inmunológica es muy grande. Para evitar el rechazo fulminante debido a los xenoanticuerpos que se generan en el hombre se ha conseguido introducir genes humanos en el cerdo; estos cerdos transgénicos expresan antígenos humanos en sus células endoteliales, evitándose el rechazo por xenoanticuerpos. Se está investigando el trasplante de órganos de cerdo a primates, pero a corto plazo no se puede pensar aún en aplicación humana. Las epidemias actuales en los cerdos y el descubrimiento de los retrovirus porcinos representan otro obstáculo aún sin resolver.

2.2.- DONANTES MARGINALES/SUBÓPTIMOS

Como se ha comentado previamente, una de las alternativas frente a la desproporción entre el número de donantes y receptores hepáticos es la ampliación de los criterios de aceptación de órganos mediante la utilización de los denominados injertos "subóptimos" o "marginales", que son aquellos que, sin ser ideales, reúnen las condiciones suficientes para ser implantados.

Las características de los donantes de órganos en España se ha ido modificando en los últimos años hacia un mayor envejecimiento de los mismos (Gráficos 5, 6 y 7) y, por tanto, a una mayor prevalencia de antecedentes patológicos.

Además, el número de órganos procedentes de donantes fallecidos por traumatismo craneoencefálico, generalmente jóvenes y previamente sanos, ha ido disminuyendo al mismo tiempo que aumenta el número de órganos de donantes cuya causa de muerte es el accidente cerebrovascular (Gráficos 8 y 9), lo que implica una mayor incidencia de arteriosclerosis.

De forma análoga a este cambio en el perfil del donante y debido a la presión cada vez mayor de las listas de espera, los equipos de trasplante hepático han ido modificando sus límites de aceptación de los injertos obtenidos, utilizando hígados para trasplante que parecen tener una probabilidad inferior de óptima funcionalidad o supervivencia que la que tendrían aquellos procedentes de un donante "ideal".

DONANTES DE ÓRGANOS: Grupos de edad

España 1999-2006

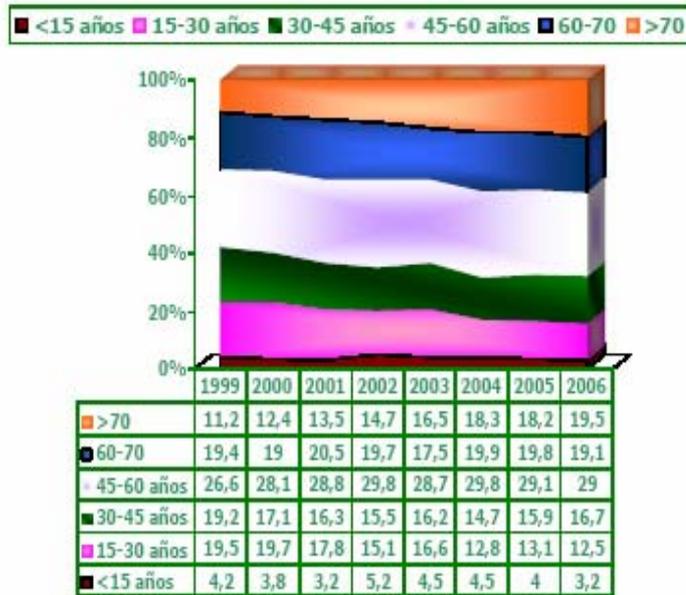


Gráfico 5. Datos de 2006. Organización Nacional de Trasplantes

DONANTES DE ÓRGANOS: Edad media

España 1992-2006

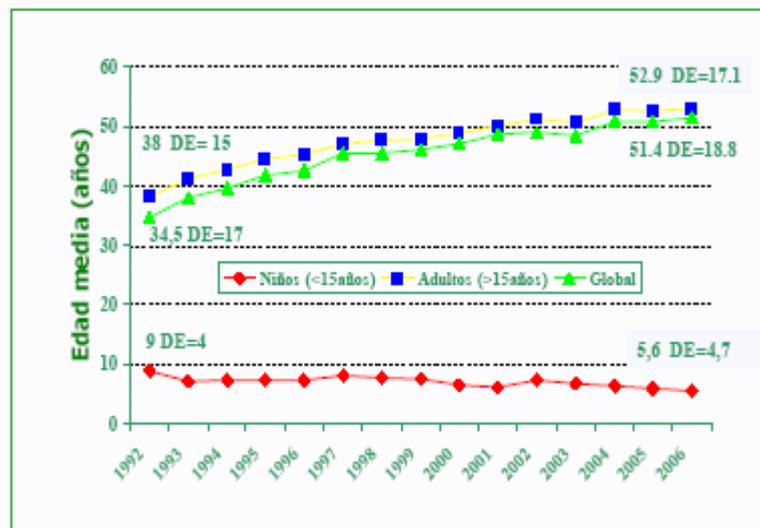


Gráfico 6. Datos de 2006. Organización Nacional de Trasplantes

DONANTES HEPÁTICOS 2006

EDAD MEDIA

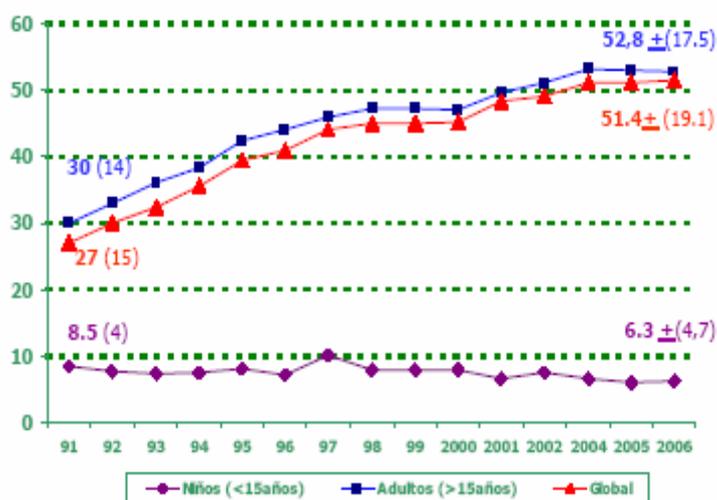


Gráfico 7. Datos de 2006. Organización Nacional de Trasplantes

DONANTES DE ÓRGANOS: Causas de muerte

España 1992-2006

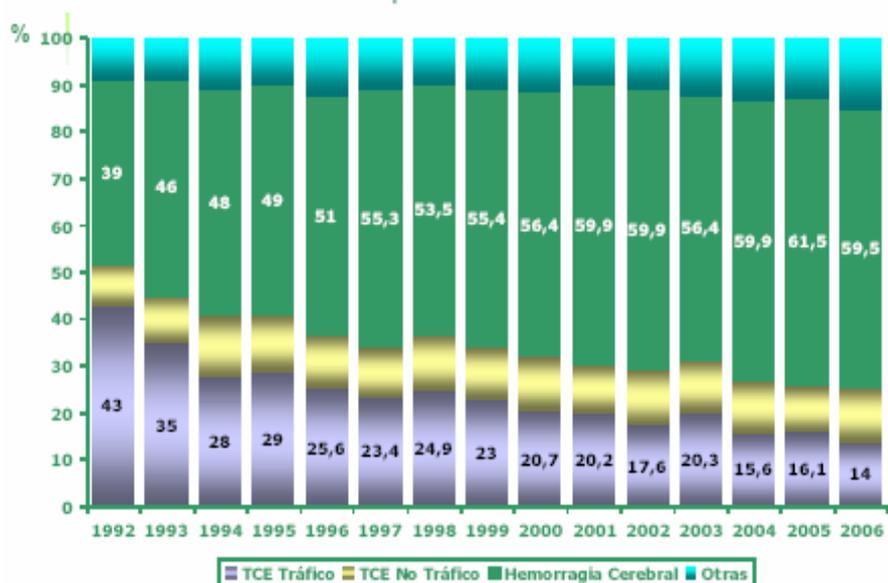


Gráfico 8. Datos de 2006. Organización Nacional de Trasplantes

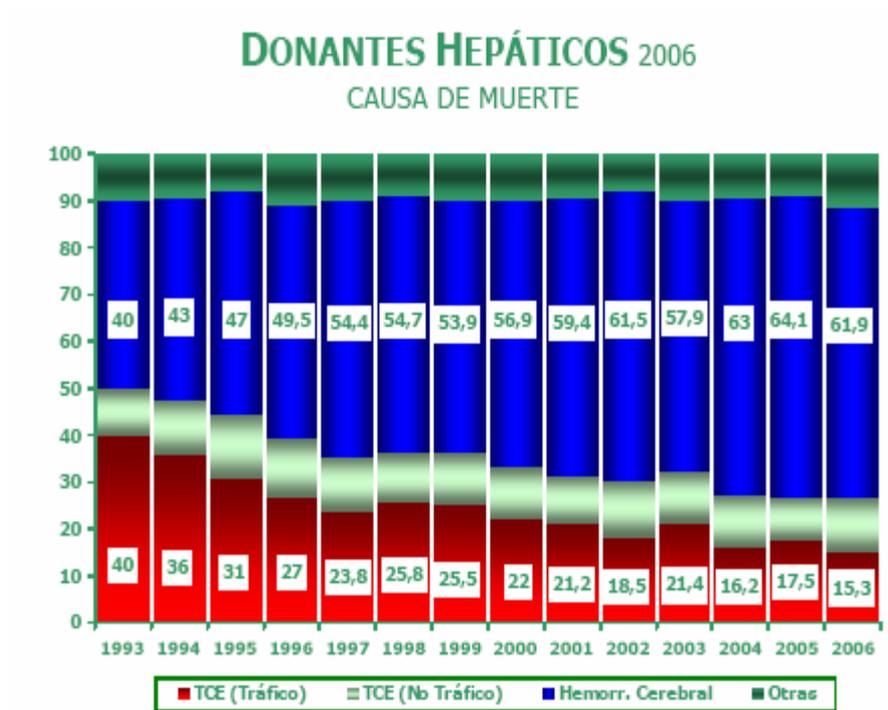


Gráfico 9. Datos de 2006. Organización Nacional de Trasplantes

Hablaremos, pues, de donante “marginal” o “subóptimo” para referirnos a aquel que presenta un riesgo inmediato de disfunción o fallo primario después del trasplante o a medio o largo plazo como consecuencia de la transmisión al receptor de una infección o un tumor.

En la bibliografía médica existen múltiples estudios que analizan factores de riesgo del donante asociados a la supervivencia o la función del injerto hepático tras el trasplante. La mayor parte de los estudios señalan como factor de riesgo para una menor supervivencia la edad elevada del donante⁵²⁻⁵³⁻⁵⁴, especialmente en receptores con hepatitis crónica C⁵⁵⁻⁵⁶. Como factores de riesgo se han señalado también otras características, entre las que se encuentran el sexo femenino del donante (especialmente cuando se trasplanta a un receptor masculino)⁵⁷⁻⁵⁸, aspectos del mantenimiento hemodinámico como la utilización de dosis elevadas de aminas vasoactivas (especialmente dopamina)⁵⁹, la parada cardíaca o hipotensión mantenida⁶⁰, la estancia prolongada en la

unidad de cuidados intensivos (UCI)^{59,61,62}, la presencia de infecciones bacterianas o serologías positivas para citomegalovirus (CMV)⁶³ o virus de la hepatitis B (VHB) o C (VHC), la observación de alteraciones analíticas como elevación de sodio⁵⁴ o la acidosis^{61,62}, la existencia de antecedentes de ingesta alcohólica importante, arteriosclerosis⁶⁴, hipertensión arterial⁶² y las alteraciones macro⁶⁵ y microscópicas del injerto, en forma de macro y microesteatosis hepáticas^{59,66,67}. Algunos autores incluso han desarrollado puntuaciones⁶⁸ para intentar valorar el riesgo de disfunción del injerto dependiendo de las características del donante. Sin embargo, entre los trabajos publicados existe una gran disparidad de criterios respecto a qué características del donante deben considerarse como verdaderos factores de riesgo. En la actualidad no existe ningún modelo matemático que prediga de forma precisa el riesgo de fallo del injerto dependiendo de las características del donante.

- **EDAD**

El uso de injertos hepáticos procedentes de donantes "añosos" es cada vez más frecuente. En España, según datos facilitados por la Organización Nacional de Trasplantes, la edad media de los donantes hepáticos adultos ha aumentado desde el año 1991, que se situaba en los 30 hasta los 52.8 años en el año 2006 (Figura 7). Otro dato interesante: en el año 1999 un 30.6% de los donantes tenía más de 60 años y un 11.2% más de 70; en cambio en 2006 el porcentaje de donantes mayores de 60 años ha aumentado a un 38.6% y el de mayores de 70 años a 19.5% (Figura 5).

En Galicia, la media de edad de los donantes fue de 56.4 en el año 2006, más de tres años por encima de la media nacional (datos de la Oficina de Coordinación Autonómica de Trasplantes). Probablemente, este incremento de la media de edad de los donantes gallegos pueda explicarse por la alta tasa de negativas familiares registrada en esta

comunidad (21.5%, Gráfico 10), que también se sitúa por encima de la media española (15.2%), lo que obliga a los equipos de trasplante a aceptar un mayor número de donantes "marginales" para poder hacer frente a las listas de espera.

Concretamente, dentro de Galicia, fue en el hospital Clínico de Santiago de Compostela donde se registró una media de edad mayor de los donantes hepáticos en el año 2006 (59.2 años). En este centro, antes de finalizar el año 2007, con datos de enero a noviembre, la media de edad de los donantes hepáticos era extraordinariamente alta, de 69 años, con buenos resultados funcionales en los receptores. Esta cifra refleja el esfuerzo cada vez mayor del equipo de cara a un aprovechamiento óptimo de los escasos donantes disponibles en relación a la demanda.

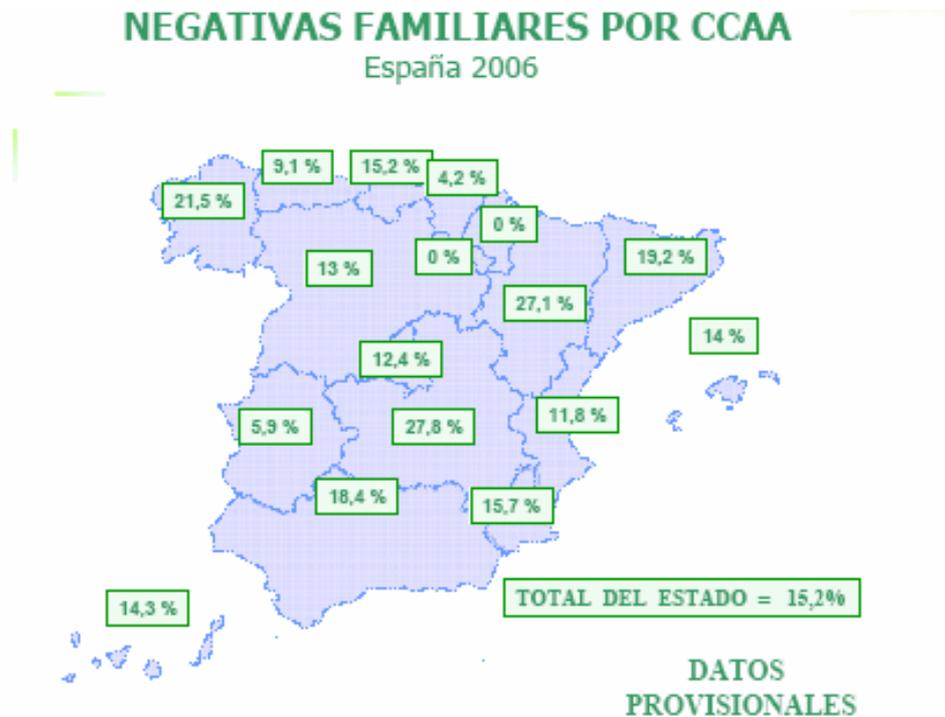


Gráfico 10. Datos de 2006. Organización Nacional de Trasplantes

Estudios morfológicos y fisiológicos sugieren que el hígado comparado con otros órganos, envejece más lentamente. Los análisis de función hepática no se alteran significativamente en relación con la edad, y la función de síntesis y la concentración de albúmina se mantienen relativamente estables. Sin embargo, el flujo hepático desciende un 40-45% y el biliar un 50%, observándose también disminución de la actividad del citocromo P-450. Los cambios ultraestructurales que se producen en el hígado con el paso de los años pueden hacer que disminuya la disponibilidad de oxígeno y otras sustancias⁵⁹. Además, los donantes >60 años muestran tasas mayores de esteatosis microvesicular de moderada a severa comparadas con aquellos de donantes <60 años, así como valores mayores de bilirrubina y tiempo de protrombina⁶⁹. Los injertos procedentes de donantes añosos son más susceptibles a las lesiones producidas durante la isquemia fría^{70,71}, efecto potenciado probablemente por la mayor prevalencia de esteatosis y la disminución en la síntesis de ATP tras la reperfusión, que puede afectar a la capacidad de síntesis y disminuir la función, con un patrón de colestasis tras el implante⁷². En el hígado de los donantes de más edad los hepatocitos disminuyen en número, aunque aumentan en tamaño para intentar compensar la reducción de la celularidad⁷³.

En cuanto a las complicaciones postrasplante, los datos encontrados en la literatura son dispares. Por un lado, se ha publicado que los hígados de donantes "añosos" son más susceptibles al rechazo, las complicaciones biliares⁵³ y presentan un riesgo mayor de complicaciones vasculares debido a arteriosclerosis de la arteria hepática⁶⁴ y un riesgo mayor de transmisión de tumores ocultos^{74,75}. Por otro lado, otros autores no observaron una incidencia significativamente mayor de rechazo agudo, estenosis de la vía biliar, toxicidad por inhibidores de la calcineurina, insuficiencia renal con requerimiento de diálisis ni aumento

del tiempo de estancia en UCI ni hospitalaria⁷⁶. En cuanto a la supervivencia del injerto y del receptor, los datos tampoco son unánimes; mientras algunos estudios muestran una supervivencia menor, otros encuentran diferencia sólo a largo plazo o no encuentran diferencias^{53,54,72,76,77,78}.

La utilización de donantes "añosos" para receptores con virus de la hepatitis C se ha asociado a una menor supervivencia de estos pacientes, detectándose una relación entre la mayor incidencia de cirrosis y la progresión de la fibrosis y la edad del donante^{79,80}.

En resumen, no parece sensato desestimar un donante sólo por edad avanzada, pero son donantes que requieren una evaluación minuciosa: del propio donante, para evitar un acúmulo de factores de riesgo y del injerto hepático previo al implante, con realización de biopsia en casos dudosos⁸¹.

- **ESTEATOSIS**

La incidencia de esteatosis en la población está aumentando y habitualmente se asocia con obesidad, consumo de alcohol, edad avanzada y diabetes tipo II. Hay dos patrones histológicos de esteatosis hepática: un patrón difuso con vacuolas grasas de pequeño tamaño (esteatosis microvesicular) y otro combinado con depósitos vacuolares grasos grandes y pequeños (esteatosis macrovesicular)⁸². El uso de injertos con esteatosis macrovesicular se ha asociado con mayor incidencia de disfunción y fracaso primario del injerto⁸³. Los mecanismos implicados podrían ser el deterioro del metabolismo en los hepatocitos esteatósicos^{84,85,86}, los efectos de los lípidos^{87,88} (particularmente durante la isquemia fría), la disminución del flujo portal y el incremento de la sensibilidad al estrés oxidativo en la reperfusión^{89,90,91}.

Los injertos hepáticos esteatóxicos son más susceptibles a la lesión producida por la isquemia fría^{92,93} y la esteatosis de moderada a severa se ha postulado como la primera causa de lesión por isquemia-reperfusión⁹⁴. Existen datos que sugieren que la recidiva de la hepatitis C es más frecuente en receptores de órganos que proceden de donantes con esteatosis moderada-severa⁹⁵.

Habitualmente se aceptan injertos con una esteatosis de hasta el 30%⁹⁶ y se pueden utilizar con esteatosis entre el 30 y el 60% en ausencia de otros factores de riesgo adicionales en el donante o el receptor; los órganos con esteatosis >60% normalmente son considerados no válidos⁹⁷.

- **TIEMPO DE ISQUEMIA**

El tiempo de isquemia ha sido identificado como un factor de riesgo independiente de mortalidad. Dos análisis del *European Liver Transplant Registry*, publicados en 2000⁹⁸ y 2006⁹⁹ muestran peores resultados, con aumento de la mortalidad, cuando el tiempo total de isquemia excede de 12-13 horas. Es necesario acortar los tiempos de isquemia en la medida de lo posible, sobre todo en injertos procedentes de donantes con otros criterios de marginalidad.

- **TIEMPO DE ESTANCIA EN UCI E INFECCIONES**

Los donantes con una estancia en UCI prolongada tienen un riesgo de infección mayor. Los resultados de un análisis multivariante señalaron el tiempo de estancia en UCI ≥ 3 días como la única característica del donante que influía en la infección del mismo, demostrada mediante la positividad de los cultivos obtenidos antes de la extracción¹⁰⁰. Un mantenimiento cuidadoso del donante, con prevención y tratamiento adecuado de las infecciones, puede limitar la transmisión de éstas al

receptor. La mayoría de los estudios realizados sugieren que los injertos hepáticos obtenidos de donantes bacteriémicos funcionan adecuadamente en el receptor y no someten a éste a un riesgo importante de transmisión, siempre y cuando se administre tras el trasplante un tratamiento activo contra la infección detectada en el donante^{101,102,103}.

- **DONANTES CON SEROLOGÍAS POSITIVAS**

De acuerdo con los resultados de varios estudios, la supervivencia de los pacientes VHC+ que reciben un injerto hepático procedente de un donante VHC+ es equivalente a la de aquellos que lo reciben de un donante VHC-^{104,105}. Deben descartarse aquellos órganos que muestran en la biopsia datos de hepatitis y fibrosis significativas¹⁰⁶. Sin embargo, como ya se ha comentado, los receptores VHC+ con órganos procedentes de donantes "añosos" sí presentan una mayor incidencia de fracaso del injerto y una mayor mortalidad que los receptores VHC- a los que se trasplanta órganos de estos donantes de mayor edad⁸⁰.

En el caso de los donantes con anti-HBc+ se han comunicado una tasa de transmisión a receptores VHB- entre 17-94% sin profilaxis^{107,108,109,110}. Actualmente, se usa inmunoglobulina antiVHB, con o sin lamivudina, para prevenir la recurrencia de VHB en el receptor así como la transmisión del donante al receptor en casos de donante anti-HBc+. Los hígados de donantes anti-HBc+ deben asignarse en primer lugar a receptores HBsAg+ o, en segundo lugar, a receptores anti-HBs+ o anti-HBc+, aunque pueden asignarse a receptores VHB- en casos críticos.

- **MALIGNIDAD**

En una revisión de los datos de *UNOS Tumor Registry* se demostraron unas tasas de transmisión de cáncer muy bajas (de 31986 trasplantes hepáticos realizados entre 1994 y 2001 sólo se registraron 7 casos de transmisión de tumores, aunque con una mortalidad muy alta). Existe consenso en cuanto a la mayoría de tumores que contraindican la donación. El melanoma, el sarcoma de partes blandas, el cáncer de mama y el de pulmón representan contraindicaciones absolutas. Para el resto, es necesario valorar criterios de curación según el tratamiento recibido. Los que no constituyen una contraindicación son los primarios del SNC, excepto aquellos muy agresivos como el glioblastoma multiforme y el medulolostoma, así como los antecedentes de craneotomía, derivación de líquido cefalorraquídeo (LCR) y/o tratamiento radioterápico, que aumentan el riesgo de transmisión tumoral¹¹¹.

- **ENFERMEDADES HEPÁTICAS BENIGNAS**

Muchos injertos hepáticos con tumores benignos o traumatismos leves son aprovechables para trasplante. Es necesario valorar cuidadosamente estos órganos y las características de las lesiones (con realización de biopsia si hay dudas, en el caso de los tumores), evitando la asociación con otros criterios de marginalidad y desechando aquellos injertos que presentan lesiones con potencial maligno¹¹².

- **TRASPLANTE DOMINÓ**

En el trasplante hepático secuencial o dominó, un paciente con una hepatopatía crónica o un tumor primario hepático (receptor dominó) recibe un órgano completo procedente de un donante vivo que presenta una enfermedad metabólica (donante dominó), el cual a su vez recibe un

injerto procedente de un donante cadáver. Aunque se han comunicado casos de trasplantes dominó en pacientes con hiperoxaluria, en la casi totalidad de los casos publicados la enfermedad metabólica es la polineuropatía amiloidótica familiar tipo I¹³.

En resumen, la escasez de donantes de hígado óptimos suficientes para trasplantar a todos los pacientes en lista de espera requiere una ponderación de los posibles riesgos y beneficios que supone aceptar un donante "marginal" frente a los riesgos de mortalidad o agravamiento de los pacientes mientras esperan el trasplante. La gravedad de los pacientes en lista de espera, la mortalidad de los mismos y el tiempo medio de espera para recibir un trasplante varían de forma significativa entre los diferentes centros de trasplante; estos factores se relacionan directamente con la variabilidad existente en los criterios de aceptación de donantes.

3.- LÍQUIDOS DE PRESERVACIÓN

Como ya se ha comentado, la desproporción entre la oferta y la demanda de órganos para trasplante ha provocado un incremento en la utilización de órganos de donantes "marginales". Por este motivo y por la necesidad de transportar los órganos entre diferentes hospitales, en ocasiones muy distantes, la preservación de los mismos ha adquirido una importancia capital.

En el mismo momento en que se produce la parada circulatoria, comienzan a producirse una serie de cambios bioquímico-estructurales, que con el tiempo terminan por convertirse en irreversibles y provocan la muerte celular.

La preservación de los órganos ha de iniciarse en el mismo momento en que se certifica la muerte del donante, pudiendo distinguirse dos fases hasta la implantación del órgano en el receptor:

- Tiempo de isquemia caliente: es el tiempo que transcurre desde el cese del flujo sanguíneo por el órgano hasta la colocación en un medio de preservación.
- Tiempo de isquemia fría: es el tiempo de almacenaje de los órganos, desde la colocación en el medio de preservación hasta el implante.

Los distintos métodos de preservación de órganos comenzaron a desarrollarse en respuesta a la necesidad de órganos procedentes de donantes cadáveres a partir de los años 60¹¹⁴. Inicialmente, los esfuerzos investigadores se dirigieron hacia la conservación de los injertos renales, ya que fue el primer órgano que empezó a trasplantarse a gran escala. Además, era relativamente sencillo monitorizar el proceso de rechazo. Cuando este se producía, el paciente sobrevivía gracias a la diálisis.

Se comenzaron a usar dos métodos de preservación: la refrigeración simple y las máquinas de perfusión. Para la preservación mediante refrigeración

se retira la sangre del sistema vascular con soluciones de lavado y después se almacena el órgano refrigerado con hielo hasta el momento del implante. Las máquinas de perfusión, usadas sólo para riñón, son sistemas de perfusión continua ideados por Belzer¹¹⁵ y colaboradores; mediante este sistema, y con los avances en la composición de los líquidos de perfusión¹¹⁶, llegaron a conseguir la preservación de los riñones durante períodos de tiempo prolongados^{117,118}.

La conservación en frío es el método de elección para la preservación de la mayoría de los órganos. Se comenzó a usar en riñón por Collins y colaboradores con el descubrimiento de la denominada solución de Collins¹¹⁹. Esta solución y otras similares^{120,121} se mostraron ineficaces para la conservación prolongada de otros órganos. El panorama cambió radicalmente cuando Belzer y colaboradores desarrollaron la denominada solución de la Universidad de Wisconsin (UW), la más utilizada en la actualidad y eficaz para la preservación en frío, fundamentalmente, de órganos abdominales: hígado¹²², riñón¹²³ y páncreas¹²⁴.

La hipotermia (1-4°C) es efectiva porque reduce el metabolismo basal y las reacciones catabólicas, tanto las que se producen espontáneamente como las que son catalizadas por enzimas celulares (por cada 10°C de reducción de temperatura, el metabolismo celular se reduce un 50%). La tolerancia del hígado y los demás órganos a la isquemia fría es considerablemente superior a la tolerancia a la isquemia caliente. Además, el daño que se produce es diferente: la isquemia caliente produce mayor daño en la función hepatocelular, mientras que en el tiempo de isquemia fría el daño se produce fundamentalmente sobre las células sinusoidales^{125,126,127}.

El enfriamiento del órgano (perfusión hipotérmica) se realiza mediante soluciones a 4°C con una composición bioquímica dirigida a evitar los efectos deletéreos de la isquemia-reperfusión. Por tanto, esta estrategia de combinación de soluciones de preservación e hipotermia ha conseguido buenos resultados mediante:

- Reducción del tiempo de isquemia caliente
- Reducción de los cambios celulares durante el tiempo de isquemia fría
- Reducción del daño por reperfusión una vez restaurado el flujo sanguíneo en el receptor.

A pesar de esto, datos recientes indican que el daño producido por un tiempo de preservación prolongado continúa representando un importante factor de riesgo que influye en la incidencia de fracaso primario del injerto, sobre todo cuando se trasplantan órganos procedentes de donantes "subóptimos", situación cada vez más frecuente, como se ha comentado, dada la desproporción entre el número de donantes y la creciente necesidad de órganos para trasplante.

3.1.- CARACTERÍSTICAS DE LOS LÍQUIDOS DE PRESERVACIÓN

Las soluciones de preservación han evolucionado mucho a medida que se ha ido avanzando en el conocimiento de los mecanismos patogénicos de las lesiones por isquemia.

Al principio se usaban "soluciones cristaloides", que favorecían el edema celular al aportar gran cantidad de sodio a la célula hipóxica. Por eso, para contrarrestar este edema, se comenzaron a emplear "soluciones hiperosmolares", surgiendo así la solución de Sacks (usaba manitol como sustancia osmótica), de Collins (glucosa y fosfatos), de Calne (con fracción proteica del plasma, fundamentalmente albúmina), de Lambote (sucrosa), etc.

Más adelante, estas soluciones se fueron modificando para evitar la transmineralización de iones celulares, igualándose cada vez más su composición a la del líquido intracelular. Así surgieron las "soluciones intracelulares" (Collins C1, C2, C3 y C4 y Euro Collins), a las que se han ido incorporando determinados aditivos para su perfeccionamiento, hasta llegar a

producir soluciones más complejas entre las que se encuentra una de las más empleadas en la actualidad: la solución de la Universidad de Wisconsin (UW).

Con los diferentes componentes de los líquidos de preservación se consigue¹²⁸:

- MINIMIZAR EL EDEMA CELULAR:

El edema celular se produce como consecuencia del paso de iones a favor de los gradientes de concentración a uno y otro lado de la membrana celular, como resultado de la disminución de la actividad de la Na^+/K^+ ATPasa. Para evitar en lo posible esta translocación iónica, los líquidos de preservación intentan disminuir estos gradientes asemejándose en su contenido iónico a la composición de iones del medio intracelular (rico en K^+ y pobre en Na^+). Además, para evitar el paso de agua al interior de la célula, contienen sustancias osmóticamente activas como azúcares (glucosa, sucrosa, manitol) o lactobionato, trisacáridos, rafinosa, etc.

- MINIMIZAR LA ACIDOSIS INTRACELULAR:

La acidosis intracelular se produce como resultado de la glucólisis anaerobia. La hipotermia, en parte, disminuye esa glucólisis. Para contrarrestar la acidosis, en los líquidos de preservación se introducen sustancias tampón que mantienen el pH, como bicarbonato, citrato, fosfatos, lactobionato e histidina. La inclusión de glucosa como sustancia osmótica en las soluciones de preservación puede ser perjudicial en tejidos con gran capacidad glucolítica (como el hígado), ya que estimula la glucólisis anaerobia y, por tanto, aumenta la acidosis.

- PREVENIR EL EFECTO DE LOS RADICALES LIBRES DE OXÍGENO (RLO):
Se añaden sustancias antioxidantes con actividad “*scavenger*” para frenar el efecto de los radicales libres de oxígeno, como glutatión, manitol, dimetilglioxima, quelantes de hierro (desferrioxamina). También se pueden añadir enzimas como la superóxido dismutasa, que metaboliza iones superóxido. A nivel de la génesis de radicales libres por la vía de la degradación de las bases purínicas se puede actuar añadiendo inhibidores de la xantina oxidasa como el alopurinol.

- APORTAR PRECURSORES DE ATP:
La adición de inosina, adenosina, etc., permiten una rápida reposición de los niveles de ATP.

- DISMINUIR LA ENTRADA DE CALCIO DURANTE LA REPERFUSIÓN:
Esta entrada de calcio es muy perjudicial porque activa la fosfolipasa citosólica que ataca a la membrana celular. Por eso se añaden sustancias bloqueantes de los canales de calcio como verapamilo, nifedipino o diltiazem. A este nivel, también se puede actuar con sustancias inhibitorias de la calmodulina (trifluoperacina), que es la proteína citosólica receptora de calcio.

- APORTAR SUSTANCIAS PROTECTORAS DE LA MEMBRANA CELULAR:
Los líquidos de preservación pueden incluir también corticoides (dexametasona) o clorpromacina, que han demostrado sus cualidades protectoras de membrana.

- APORTAR SUSTANCIAS VASOACTIVAS:
Con estas sustancias se consigue una mejor perfusión del órgano trasplantado. Así, los líquidos de preservación pueden contener

isoproterenol, dopamina, antagonistas de los receptores de la endotelina, etc.

- DISMINUIR LA RESPUESTA INFLAMATORIA PRODUCIDA POR LA ISQUEMIA:

Esta respuesta inflamatoria puede desencadenar un círculo vicioso al desarrollar nuevas lesiones mediante sus mecanismos humorales o aporte de radicales libres de oxígeno de los PMN. Existen sustancias inmunomoduladoras que pueden controlar este efecto.

3.2.- PRINCIPALES LÍQUIDOS DE PRESERVACIÓN HEPÁTICA

Las soluciones que se emplean en la actualidad para la preservación hepática son:

- **SOLUCIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE WISCONSIN (UW)**

Es la más utilizada en preservación hepática. Se trata de una solución de tipo "intracelular" (ya que su concentración iónica es similar a la del líquido intracelular). A diferencia de las soluciones que se empleaban previamente (Collins, Euro Collins¹²⁹), no lleva glucosa para no favorecer la glucólisis anaerobia ni el consiguiente aumento de la acidosis intracelular (vía metabólica especialmente importante en el hígado). Para sustituir las propiedades osmóticas de la glucosa se añadió lactobionato¹³⁰, rafinosa y HES (Hydroxethyl starch o almidón sintético), que le proporciona una viscosidad relativamente alta. Además contiene sustancias tampón (fosfato), precursores de la síntesis de ATP (adenosina), sustancias con actividad anti-RLO (glutathion¹³¹ como

"scavenger" y alopurinol, inhibidor de la xantina oxidasa) y citoprotectores (magnesio). Esta solución ha sido evaluada mediante un estudio multicéntrico europeo demostrando resultados superiores al EuroCollins de cara a la función del injerto¹³².

- **SOLUCIÓN HISTIDINA-TRIPTÓFANO-CETOGLUTARATO (HTK)**

Fue introducida por H. J. Brettschneider. Esta solución se basa en la adición de un potente sistema tampón (histidina), junto con los otros dos sustratos. Su viscosidad es muy baja, no contiene componentes de alto peso molecular y proporciona un nivel de protección del hepatocito y una perfusión hepática adecuada y similar a la solución UW. Además, por su bajo contenido en potasio, no es necesario el lavado pre-reperfusión. Un estudio prospectivo realizado en Europa entre 1996 y 1999 sobre 214 trasplantes hepáticos sugirió que la solución HTK podría ser una alternativa razonable a la solución UW para tiempos de preservación de hasta 10 horas¹³³. Mangus y colaboradores publicaron un estudio comparando la utilización de UW y HTK, no encontrando diferencias significativas entre los resultados de los grupos en los que se había utilizado una u otra solución¹³⁴. Testa publicó un estudio similar en donantes vivos, obteniendo los mismos resultados¹³⁵.

- **SOLUCIÓN CELSIOR**

Creada por Pasteur-Merieux, es una mezcla de las dos soluciones anteriores, con lactobionato y manitol como la solución UW, e histidina al igual que la HTK¹³⁶. Contiene también *scavengers* de radicales de oxígeno. Desde el punto de vista electrolítico es una solución con alto contenido en sodio y bajo en potasio.

	UW	HTK	Celsior
AÑO DE INTRODUCCIÓN	1988	1975	1994
PROCEDENCIA	USA	Germany	France
COMPONENTES			
Na ⁺ (mmol/L)	25-30	15	100
K ⁺ (mmol/L)	125-130	10	15
Mg ²⁺ (mmol/L)	5	13	4
Ca ²⁺ (mol/L)	-	0.25	0.015
Manitol (g/L)	-	30	60
Acido lactobiónico (mmol/L)	100	-	80
HES (g/L)	50	-	-
Rafinosa (mmol/L)	30	-	-
Histidina (mmol/L)	-	180	30
H ₂ PO ₄ /HPO ₄ (mmol/L)	25	-	-
OH (mmol/L)	-	-	100
Glutation (mmol/L)	3	-	3
Alopurinol (mmol/L)	-	1	-
Adenosina (mmol/L)	5	-	-
Acido acético dicarboxílico (mmol/L)	-	1	-
Triptófano (mmol/L)	-	2	-
Acido aminoglutamínico (mmol/L)	-	-	20
mOsm/L	320	310	320
pH	7.4	7.2	7.3

Tabla 3. Composición de las soluciones Wisconsin, HTK y Celsior. Xiao-Ning Feng et al. Current status and perspective of liver preservation solutions. Review article. Hepatobiliary and pancreatic diseases international, 2006; 5:490- 494

Se han realizado varios estudios que sugieren la superioridad de la solución de Celsior frente a la solución UW^{137,138}, aunque serían necesarios más estudios para confirmarlo. En la actualidad, la solución UW se considera la solución estándar para la preservación de órganos abdominales y las soluciones HTK y Celsior se emplean fundamentalmente para preservar órganos torácicos (corazón y pulmón).

3.3.- MODIFICACIONES DE LA SOLUCIONES DE PRESERVACIÓN HEPÁTICAS¹³⁹

- MICROCIRCULACIÓN HEPÁTICA

Algunos estudios sugieren que la deformabilidad de los eritrocitos se pierde con la exposición a los líquidos de preservación. Estos hematíes pueden obstruir los sinusoides y causar daños en los pequeños vasos. La solución HTK causa un deterioro de los glóbulos rojos menor que la solución UW, por tanto, es más beneficiosa para la microcirculación hepática¹⁴⁰. Cuando las células sanguíneas contactan con el HES que contiene la UW, se agregan en partículas de 18-30 μm de diámetro que bloquean los sinusoides (10 μm de diámetro), produciendo alteraciones de la microcirculación. Plaats profundizó hígados de rata con UW sin HES, encontrando una menor agregación celular¹⁴¹. Otro estudio en humanos también demostró agregación de los glóbulos rojos al utilizar UW. Por todo ello, se ha propuesto una solución con baja viscosidad sin HES como alternativa a la UW. Franco-Gou y colaboradores sustituyeron HES por polietilenglicol (PEG) e invirtieron las concentraciones de sodio y potasio de la solución UW, observando disminución de la lesión por isquemia-reperfusión en comparación con la solución UW estándar¹⁴².

- FACTOR ANTI- APOPTOSIS ANTICUERPO ANTI TNF- α

La lesión por isquemia-reperfusión es la causa fundamental del fracaso primario del injerto. Durante este proceso, el TNF- α juega un papel fundamental en la inducción de apoptosis y, por tanto, en la destrucción tisular. Se realizaron estudios en ratas añadiendo monoanticuerpo anti-TNF- α a la solución de preservación que mostraron disminución de los niveles de GPT y reducción de la apoptosis¹⁴³.

- FACTOR PROTECTOR ENDOTHELIAL FK506

El daño en el endotelio sinusoidal produce trastornos de la microcirculación que impiden el flujo sanguíneo tras la reperusión. Los estudios realizados en este campo sugieren que las citoquinas liberadas por la células de Kupffer, como el TNF- α , causan daño endotelial. El aumento de la secreción de endotelina induce contracción endotelial y daña la microcirculación. Se ha confirmado que el FK506 disminuye las citoquinas séricas, los radicales libres y la infiltración neutrofilica. Su adición a las soluciones de preservación puede, por tanto, disminuir el daño por isquemia-reperfusión¹⁴⁴.

- SUPLEMENTO ENERGÉTICO FRUCTOSA 1,6 BIFOSFATO (FBP)

Existe una asociación entre déficit energético y lesión por reperusión. Hirokawa y colaboradores¹⁴⁵ propusieron un efecto protector de FBP sobre el desarrollo de este tipo de lesión mediante el mantenimiento de los niveles de ATP y de calcio intracelulares. Se ha publicado también que inhibe la generación de radicales libres de oxígeno y la peroxidación lipídica¹⁴⁶.

- INTERVENCIÓN CON GENES PROTECTORES

- INSULINA

Algunos centros añadían insulina a la solución de Wisconsin para la preservación hepática, aunque el efecto de esta hormona era controvertido. En un hospital de Hong Kong se realizó un estudio comparando los efectos de una solución UW con insulina y otra sin ella sobre la supervivencia del injerto y la función del mismo que llegó a la conclusión de que la insulina aceleraba el metabolismo hepático y agravaba la lesión por reperfusión¹⁴⁷.

4.- INMUNOSUPRESIÓN EN TRASPLANTE

HEPÁTICO

Desde que en 1954 se realizara el primer trasplante renal con éxito, los trasplantes de órganos han prolongado y mejorado la calidad de vida de muchos pacientes con patologías cardíacas, hepáticas, renales y pulmonares crónicas. Antes de la introducción de las drogas inmunosupresoras, los trasplantes fracasaban debido al rechazo agudo del injerto. Sin embargo, los avances en el conocimiento de las bases celulares y moleculares del proceso de rechazo, así como la disponibilidad de agentes inmunosupresores, han sido fundamentales para el éxito de los trasplantes clínicos.

4.1.- INMUNOLOGÍA DEL TRASPLANTE¹⁴⁸

La puesta en contacto de moléculas extrañas a un organismo con el sistema inmunológico de éste, desencadena una serie de fenómenos dirigidos a la destrucción y eliminación de las mismas. Esta respuesta se basa en un fenómeno fundamental: la capacidad de diferenciación, por parte del sistema inmunológico, entre las células propias del organismo y las células extrañas y, secundariamente, en la puesta en marcha de mecanismos efectoros dirigidos a la destrucción específica de esas células extrañas.

La destrucción de un aloinjerto por el sistema inmune del receptor tiene lugar en dos fases bien diferenciadas: una fase inicial, en la que se produce el reconocimiento de las células del injerto como extrañas (fase de reconocimiento o fase de inducción de la respuesta) y una segunda fase, en la que se produce la activación de los mecanismos de destrucción del injerto (fase efectora).

- FASE DE RECONOCIMIENTO

Las primeras células del receptor que tienen contacto con el injerto son las células presentadoras de antígenos (CPA: células dendríticas, macrófagos y células endoteliales); éstas adquieren los antígenos por pinocitosis, los degradan y los ensamblan junto con moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), formando un complejo que se muestra en la superficie de la célula para su presentación a los linfocitos T y que se fija a un receptor específico de la célula T (TCR). Esta es la señal principal del reconocimiento antigénico; sin embargo, se necesita otra señal accesoria o de coestimulación consistente en la unión de la molécula CD28 del linfocito T con la molécula B7 (CD80-CD86) de la CPA para que se lleve a cabo este reconocimiento. Recientemente se han descubierto otras moléculas de coestimulación como CTLA-4 (CD152); CD40 y CD40L.

- FASE EFECTORA

Esta interacción entre la CPA y la célula T induce la secreción, por parte de esta, de interleucina 2 (IL-2), interferón-gamma (IFN- γ) e IL-4, así como la expresión del receptor de la IL-2 en su superficie. La IL-2 estimula la maduración y proliferación de los linfocitos T citotóxicos, mientras que la IL-4 estimula el crecimiento y la diferenciación de los linfocitos B a células plasmáticas productoras de anticuerpos. El INF- γ activa los macrófagos y estimula la expresión de moléculas de clase II en la superficie de las células endoteliales. La expresión del receptor de la IL-2 permite a dicha citoquina interactuar con los precursores de las células T citotóxicas, así como retroalimentar la estimulación de las células T *helper* para su proliferación.

Tras la activación celular se produce la expansión clonal de los linfocitos efectores, que serán los encargados de infiltrar el injerto para destruirlo. Mientras que los mecanismos efectores celulares (linfocitos T citotóxicos)

se presentan siempre, los mecanismos humorales (anticuerpos) sólo intervienen en algunas ocasiones y, en general, suelen asociarse a rechazo vascular, muy poco frecuente en el trasplante hepático. Los linfocitos T destruyen las células del injerto por citotoxicidad directa. Para ello, liberan perforina, que permeabiliza la membrana celular, y activan los mecanismos de apoptosis (muerte celular programada) de la célula diana.

4.2.- AGENTES INMUNOSUPRESORES

En los primeros años del trasplante hepático la inmunosupresión se basaba en la utilización de azatioprina y esteroides, con pobres resultados. Con la introducción y el desarrollo de nuevos agentes en la práctica clínica, se ha conseguido que hoy en día dispongamos de un buen número de fármacos capaces de manipular el sistema inmune y controlar con eficacia el rechazo e, incluso, provocar tolerancia a largo plazo en algunas ocasiones.

4.2.1.- CORTICOSTEROIDES

Son potentes agentes antiinflamatorios con los siguientes mecanismos de acción: inhibición de la quimiotaxis de los leucocitos y control de la permeabilidad vascular, inhibición de la síntesis de citocinas, interfiriendo en la respuesta celular y humoral, e inhibición de la síntesis de prostaglandinas. Están indicados en la prevención y el tratamiento del rechazo agudo. Producen un gran número de efectos adversos, ya que son muchos los tejidos y genes que reaccionan a ellos; tales efectos incluyen retraso del crecimiento, aumento de la susceptibilidad a las infecciones, obesidad, miopatía, osteonecrosis aséptica, hiperglucemia, hipertensión arterial, dislipemia, hirsutismo y cataratas, entre otros.

CLASIFICACIÓN DE LOS INMUNOSUPRESORES
<p>I. Agentes farmacológicos</p> <p>1) Drogas fijadoras de inmunoglobulinas</p> <ul style="list-style-type: none"> - Inhibidores calcineurina: ciclosporina A y tacrolimus - Independientes calcineurina: rapamicina <p>2) Inhibidores división celular/metabolismo nucleótidos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Drogas antilinfoproliferativas no selectivas y citotóxicas <ul style="list-style-type: none"> ▪ Azatioprina y ciclofosfamida - Drogas específicas y linfoselectivas <ul style="list-style-type: none"> ▪ Micofenolato mofetil ▪ Mizoribina brequinar sódico y leflunomida <p>3) Corticoides</p> <p>4) Mecanismo no bien conocido: deoxiperiguanina</p>
<p>II. Agentes biológicos</p> <p>1) Anticuerpos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Policlonales: antitimocíticos (ATG) y antilinfocíticos (ALG) - Monoclonales murinos: antiCD3 (OKT3) - Monoclonales humanizados: basiliximab y daclizumab <p>2) Proteínas de fusión CTLA 4 Ig y toxina IL-2</p> <p>3) Citocinas y receptores de citocinas</p> <p>4) Péptidos-MHC</p>
<p>III. Agentes físicos</p> <p>1) Irradiación: rayos X y ultravioleta</p> <p>2) Manipulación anatómica/física: esplenectomía, plasmaféresis y leucoféresis.</p>

Tabla 4. Clasificación de los inmunosupresores. Varo Pérez E, Otero Antón E. Trasplante hepático: avances en inmunosupresión e inmunotolerancia. Drug update. Drug Farma, S.L. 2003.

4.2.2.- AZATIOPRINA

Es un derivado imidazólico de la 6-mercaptopurina que actúa inhibiendo la síntesis de purinas y la proliferación de los linfocitos T. Su principal efecto adverso es la mielotoxicidad, además del aumento de susceptibilidad a las infecciones y al desarrollo de neoplasias a largo plazo.

4.2.3.- CICLOSPORINA (CsA)

Es un inmunosupresor del grupo de los inhibidores de la calcineurina. Se une a un receptor intracelular (ciclofilina) formando un complejo activo que inhibe la actividad fosfatasa de la calcineurina y produciendo, de este modo, inhibición de la proliferación de células T y evitando la expansión clonal de las células T *helper* y citotóxicas.

Se utiliza en inmunosupresión primaria en asociación con otros inmunosupresores. Debido a la variabilidad farmacológica es necesario adecuar la dosis mediante la monitorización de los niveles séricos.

Las reacciones adversas más comunes son la disfunción renal, hirsutismo, hiperplasia gingival, hipertensión e hiperlipemia. La nefrotoxicidad es un factor limitante y afecta a la mayor parte de los sujetos tratados. Es la principal indicación para interrumpir el fármaco o modificar su administración.

Cualquier medicamento que modifique las enzimas microsómicas, en particular el sistema del citocromo P-450, puede alterar las concentraciones de ciclosporina en sangre.

4.2.4.- TACROLIMUS (FK506)

El tacrolimus es un antibiótico macrólido producido por el *Streptomyces tsukubaensis* descubierto en 1984 en Japón¹⁴⁹. Tres años más tarde se

demonstraron sus propiedades inmunosupresoras *in vitro*¹⁵⁰. Actualmente, es uno de los inmunosupresores más eficaces de uso clínico y, al igual que la ciclosporina, se clasifica dentro del grupo de los inhibidores de la calcineurina.

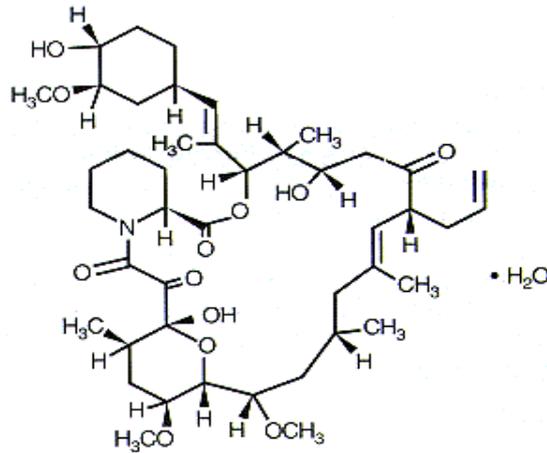


Figura 4. Fórmula química del tacrolimus. www.fugisawa.com

A semejanza de la ciclosporina, el tacrolimus anula la activación de linfocitos T al inhibir la calcineurina¹⁵¹. Se liga a una proteína intracelular, la proteína 12 de unión al FK506 (FKBP-12), que es una inmunofilina estructuralmente similar a la ciclofilina. Se forma en tal situación un complejo de tacrolimus-FKBP 12, calcio, calmodulina y calcineurina, que inhibe la actividad de la fosfatasa de calcineurina. La inhibición de la actividad de la fosfatasa impide la defosforilación y la translocación nuclear de NF-AT (factor nuclear de las células T activadas) y culmina en la inhibición de la activación y proliferación de linfocitos T. Como se puede observar en la Figura 5, la ciclosporina y el tacrolimus difieren en los receptores intracelulares, pero comparten una sola vía común para la inmunosupresión.

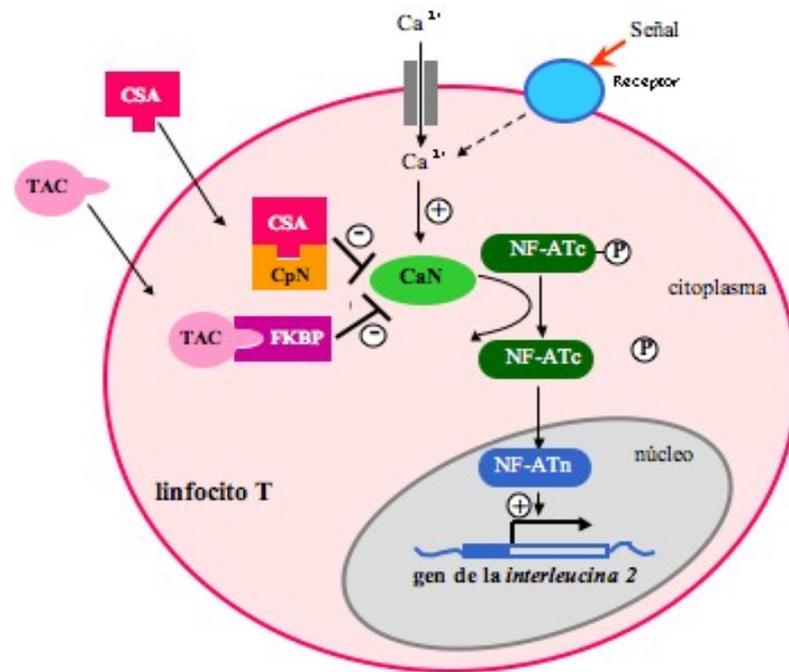


Figura 5. Mecanismo de acción del tacrolimus

Expert Reviews in Molecular Medicine, 2000. Cambridge University Press

Dada la gran variabilidad de la farmacocinética de un sujeto a otro, es necesario individualizar las dosis para obtener resultados óptimos. La absorción por tubo digestivo es incompleta y variable. Los alimentos disminuyen la rapidez y la magnitud de la absorción. La unión del tacrolimus a proteínas plasmáticas es de un 75- 99% y lo hace principalmente con la albúmina y la proteína α_1 -ácida. Su vida media es de unas 12 horas. El sistema del citocromo P-450 metaboliza el tacrolimus en el hígado y algunos de sus metabolitos son activos. La mayor excreción del fármaco original y sus metabolitos ocurre por las heces y menos del 1% del tacrolimus administrado se excreta sin modificaciones por la orina.

A diferencia de la ciclosporina, el tacrolimus no sólo se utiliza para prevenir el rechazo agudo, sino que también se puede utilizar para tratar el rechazo agudo corticorresistente. Además de su eficacia inmunosupresora, el

tacrolimus produce diversos efectos que parecen contribuir a atenuar el daño por isquemia-reperfusión.

El tacrolimus puede producir los siguientes efectos adversos: nefrotoxicidad, neurotoxicidad (temblores, cefalea, alteraciones motoras, convulsiones), molestias gastrointestinales, hipertensión, hiperpotasemia, hiperglucemia y diabetes. Al igual que ocurre con otros inmunosupresores, con el uso de tacrolimus aumenta el riesgo de infecciones y de cáncer.

Debido al riesgo de nefrotoxicidad, es necesario medir de forma precisa y seriada las concentraciones de tacrolimus en sangre y la función renal, en particular cuando el fármaco se utiliza con otros nefrotóxicos. Al igual que ocurre con la ciclosporina, cualquier medicamento que modifique el sistema enzimático citocromo P-450 puede alterar las concentraciones de tacrolimus en sangre.

4.2.5.- MICOFENOLATO MOFETIL

Es un producto de diversas especies de *Penicillium*; su forma activa es el ácido micofenólico (AMF), que es un inhibidor selectivo, no competitivo ni reversible de la deshidrogenasa de monofosfato de inosina, enzima que participa la vía de síntesis de nucleótidos de guanina. Tanto los linfocitos T como los B dependen de forma importante de dicha vía para su proliferación. El AMF inhibe de manera selectiva la proliferación y las funciones de los linfocitos, como la formación de anticuerpos, la adherencia celular y la migración.

Se emplea como fármaco combinado con otros inmunosupresores para prevenir el rechazo agudo y se ha propuesto para el tratamiento del rechazo agudo corticorresistente.

Sus principales efectos tóxicos son gastrointestinales (dolor abdominal, diarrea, vómitos) y hematológicos (anemia, leucopenia, trombopenia), además del aumento de la susceptibilidad a las infecciones.

4.2.6.- RAPAMICINA (SIROLIMUS)

Es un macrólido obtenido del hongo *Streptomyces hygroscopicus* que actúa en una fase tardía de la proliferación celular, inhibiendo las señales específicas para las citoquinas. Este inmunosupresor se une a una inmunofilina (FKBP-12) y actúa sobre una proteína diana, inhibiendo una enzima relacionada con la división celular. Se propone su uso en inmunosupresión primaria asociada con CsA, con la que parece tener un efecto inmunosupresor sinérgico.

En cuanto a sus efectos adversos, puede aparecer trombocitopenia, anemia y dislipemias.

4.2.7.- ANTICUERPOS ANTILINFOCITARIOS

Son productos biológicos dirigidos contra las proteínas de superficie de la membrana linfocitaria. Se dividen en policlonales y monoclonales; de estos últimos los más utilizados son OKT3 y antiCD25 humanizados quiméricos (basiliximab y daclizumab). Sus principales indicaciones son la prevención del rechazo agudo y el tratamiento del rechazo agudo corticorresistente.

Todos los inmunosupresores de los que disponemos tienen ventajas e inconvenientes, tanto por sí mismos como por las características del paciente o de la situación clínica en que van a ser empleados. Cada equipo de trasplante utiliza sus propios protocolos de inmunosupresión. Hoy en día, con el gran número de inmunosupresores de que disponemos sería posible realizar lo que se conoce como inmunosupresión "a la carta", es decir, la individualización del tratamiento para cada enfermo según sus necesidades.

Además de la obtención de nuevos inmunosupresores más eficaces y con menos efectos adversos, el objetivo final de la investigación en el campo de la

inmunosupresión es la inducción de inmunotolerancia, es decir, la ausencia de rechazo sin necesidad de mediación inmunosupresora.

5.- LESIÓN POR ISQUEMIA- REPERFUSIÓN

El daño por isquemia-reperfusión es el trastorno producido en un órgano o tejido por los efectos de una isquemia, más o menos severa, y la posterior reoxigenación. Puede ocurrir en un gran número de situaciones clínicas, como aquellas asociadas a estados de bajo gasto, en intervenciones quirúrgicas o durante la obtención y conservación de órganos para trasplante.

El trasplante de hígado consiste en la extirpación total o parcial del hígado de un individuo y su posterior implante en otro. Este proceso implica que, durante períodos más o menos prolongados de tiempo, el injerto va a sufrir la falta de aporte de sangre adecuadamente oxigenada, lo que ocasiona lesiones específicas de isquemia. Posteriormente, el órgano va a sufrir una reoxigenación, que produce otro tipo de lesiones, durante la reperfusión. A todo este conjunto de trastornos se le conoce con el nombre de lesiones por isquemia-reperfusión.

Estas lesiones se producen siempre en el proceso de la donación y el trasplante, aunque con mayor o menor intensidad, y la preservación de los órganos es un elemento clave para disminuir sus efectos. La lesión por isquemia-reperfusión es un proceso multifactorial que produce daño en la función del injerto hepático. De hecho, es la causa de más del 10% de los casos de disfunción precoz del injerto y puede ocasionar una mayor incidencia tanto de rechazo agudo como crónico^{152,153}. Es más, este tipo de lesión disminuye el número de donantes útiles para trasplante, debido a que los hígados de donantes marginales son más susceptibles al daño isquémico. Por ello, minimizar los efectos adversos del daño por isquemia-reperfusión puede aumentar ostensiblemente el número de enfermos que pueden ser trasplantados con éxito.

Las lesiones por isquemia-reperfusión dependen, fundamentalmente, de tres factores¹⁵⁴:

- La calidad del donante (mayor riesgo en donantes marginales)
- El tiempo de isquemia (a mayor tiempo de isquemia, mayor riesgo, especialmente por encima de las 10-12 h)
- La preservación del órgano (aspectos técnicos y soluciones de preservación y lavado).

Por desgracia, actualmente no existe una profilaxis efectiva para la lesión por isquemia-reperfusión. Es necesario conocer los mecanismos que subyacen al daño hepático para poder actuar de cara a la recuperación del daño tisular y la función orgánica, mejorando, de este modo, el pronóstico del trasplante.

Entre los mecanismos celulares subyacentes a la lesión hepática por isquemia-reperfusión se han propuesto los siguientes:

5.1.- CASCADAS CELULARES

Existe una amplia evidencia que sugiere que la activación de las células de Kupffer, los polimorfonucleares (PMN), las células endoteliales y los radicales libres de oxígeno son críticos en la patogenia del daño por isquemia-reperfusión^{152,153}. La consecuencia final de todos estos procesos interrelacionados entre sí es la alteración de la estructura tisular que conduce a la disfunción hepatocelular.

Los cambios histopatológicos fundamentales que se producen en el hígado isquémico después de la reperfusión son edema celular, vacuolización, alteración de las células endoteliales e infiltración por polimorfonucleares (PMN). Las células no parenquimatosas, como las células de Kupffer y las células endoteliales, parecen ser más susceptibles a la lesión por isquemia-reperfusión que los hepatocitos, observándose, tras el almacenamiento en frío de los

injertos hepáticos y la posterior revascularización, necrosis coagulativa y muerte celular por apoptosis de las células endoteliales del sinusoides¹⁵⁵.

La primera consecuencia de la lesión por isquemia-reperfusión es la anoxia tisular, que altera el metabolismo energético intracelular y la función enzimática, produciendo una depleción del ATP, aumento de la concentración de sodio intracelular y edema¹⁵⁶. La concentración de calcio intracelular también aumenta, lo que produce activación de enzimas proteolíticas y de vías inflamatorias que producirán aún más daño tisular.

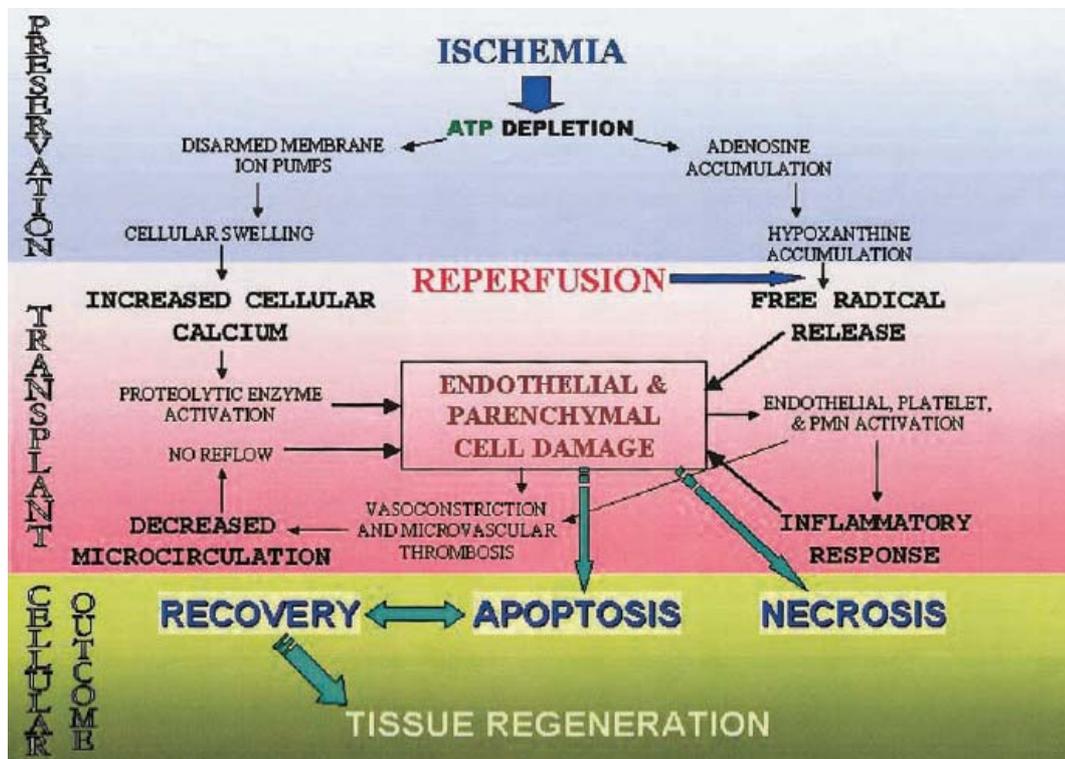


Figura 6. Cascada de la lesión por isquemia-reperfusión. St. Peter SD et al.

Tacrolimus as a liver flush solution to ameliorate the effects of ischemia/reperfusion injury following liver transplantation. Liver transplantation.

2003; Vol 9, n°2: 144-149.

Las células endoteliales activadas expresan en superficie una serie de moléculas de adhesión y antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad

(MHC), preparando el endotelio para nuevas interacciones con los PMN. El acúmulo y la activación de estos PMN aumentan las alteraciones de la microcirculación del tejido lesionado. El daño del hepatocito inducido por los PMN es la consecuencia de la adhesión entre las dos células, mediada probablemente por integrinas y moléculas de adhesión intracelulares (ICAM)¹⁵⁷.

Otras células no parenquimatosas involucradas en el daño hepático por isquemia-reperfusión son las células de Kupffer, los macrófagos de los sinusoides hepáticos, que parecen ser relativamente resistentes a la isquemia y se activan durante la reperfusión. Cuando se activan, sintetizan una serie de factores, como citoquinas proinflamatorias (prostaglandinas-PG, factor activador plaquetario-PAF, IL-1, TNF- α , IL-6, IFN- γ) y radicales libres de oxígeno (RLO), que actúan como citotóxicos directos sobre células endoteliales y hepatocitos. Además, inducen cambios en los receptores de membrana celular de los hepatocitos, células endoteliales y PMN, activan otras células de Kupffer y PMN y pueden inducir gradientes quimiotácticos para los neutrófilos¹⁵⁸.

5.2.- CÉLULAS T

Se ha postulado que la isquemia prolongada hace que el injerto se vuelva más inmunogénico y, por tanto, más susceptible a la repuesta inmune mediada por células T¹⁵⁹. Estas células tienen importancia tanto en la lesión a corto como a largo plazo en el proceso de isquemia-reperfusión¹⁶⁰. Los estudios que sugieren que la inmunosupresión sistémica (ciclosporina, tacrolimus) puede atenuar la lesión durante este proceso sugieren la implicación en él de los linfocitos T. La adherencia de los linfocitos en el sinusoides hepático se produce en la fase precoz de la reperfusión, con daño sobre la función hepática tras períodos de isquemia fría prolongados¹⁶¹. Los efectos protectores de la IL-10 pueden deberse, no solo a la inhibición de la liberación de citoquinas en las células de Kupffer, sino también a la inhibición de las células T¹⁶².

Las células endoteliales sinusoidales del hígado expresan moléculas necesarias para la presentación de antígenos (CD80/ CD86, CD40) y pueden actuar como presentadoras de antígenos para los linfocitos CD4⁺ y CD8⁺¹⁶³. Las células endoteliales no necesitan madurar para adquirir la capacidad de presentar antígenos, porque pueden captar el antígeno por endocitosis y presentarlo a las células T. Además, las células T que infiltran en hígado expresan citoquinas, factores quimiotácticos y moléculas de adhesión que incrementan la adhesión más células T a las células endoteliales. Debido a que el hígado participa en el aclaramiento de sustancias tóxicas procedentes del tracto gastrointestinal, es posible que las células endoteliales presenten a éstas como antígenos y activen así las células T durante el proceso de la isquemia y la reperfusión.

5.3.- RADICALES LIBRES DE OXÍGENO

Los radicales libres de oxígeno (actualmente se prefiere el término especies reactivas de oxígeno) son uno de los factores más importantes y que intervienen de forma más precoz en el daño tisular tras la reperfusión de órganos isquémicos. Los principales radicales libres son el radical superóxido, hidroxilo y el peróxido de hidrógeno y se producen a partir de la hipoxantina mediante la enzima xantin-oxidasa, en las células endoteliales, así como en las células de Kupffer y los PMN¹⁶⁴.

Cuando la célula se encuentra en situaciones de anaerobiosis, el metabolismo se transforma en anaerobio, debido a la ausencia de O₂ para la fosforilación oxidativa (principal vía de obtención de ATP en condiciones fisiológicas). Esta depleción de ATP conduce a una imposibilidad para mantener el citoesqueleto celular y finalmente a la muerte celular. La degradación de ATP para atender las necesidades energéticas conduce al acúmulo de hipoxantina, que habitualmente será degradada a xantina y urea mediante la enzima xantin

deshidrogenasa; pero en situaciones de isquemia, esta enzima se convierte en xantin oxidasa (por el incremento del calcio citosólico y la activación de proteasas), que cataliza la degradación de la hipoxantina en xantina y ácido úrico, con producción de radicales libres¹⁶⁵.

La acción lesiva de las especies reactivas de oxígeno se debe a su capacidad para reaccionar con cualquier componente celular, destacando por su susceptibilidad las proteínas, los lípidos de membrana, y los ácidos nucleicos. Cuando entran en contacto con las membranas de la células producen peroxidación de sus componentes lipídicos (ácidos grasos poliinsaturados y fosfolípidos), ocasionando una importante desestructuración de la membrana que puede desembocar en lisis celular¹⁶⁶.

El daño ocasionado por los radicales libres a las células endoteliales conduce a la pérdida de la integridad microvascular y la disminución del flujo sanguíneo.

Existen sustancias endógenas antioxidantes, como superóxido-dismutasa, catalasa, glutatión y beta-caroteno que pueden disminuir los efectos de los radicales libres, pero que se saturan si se produce gran cantidad de ellos¹⁶⁷.

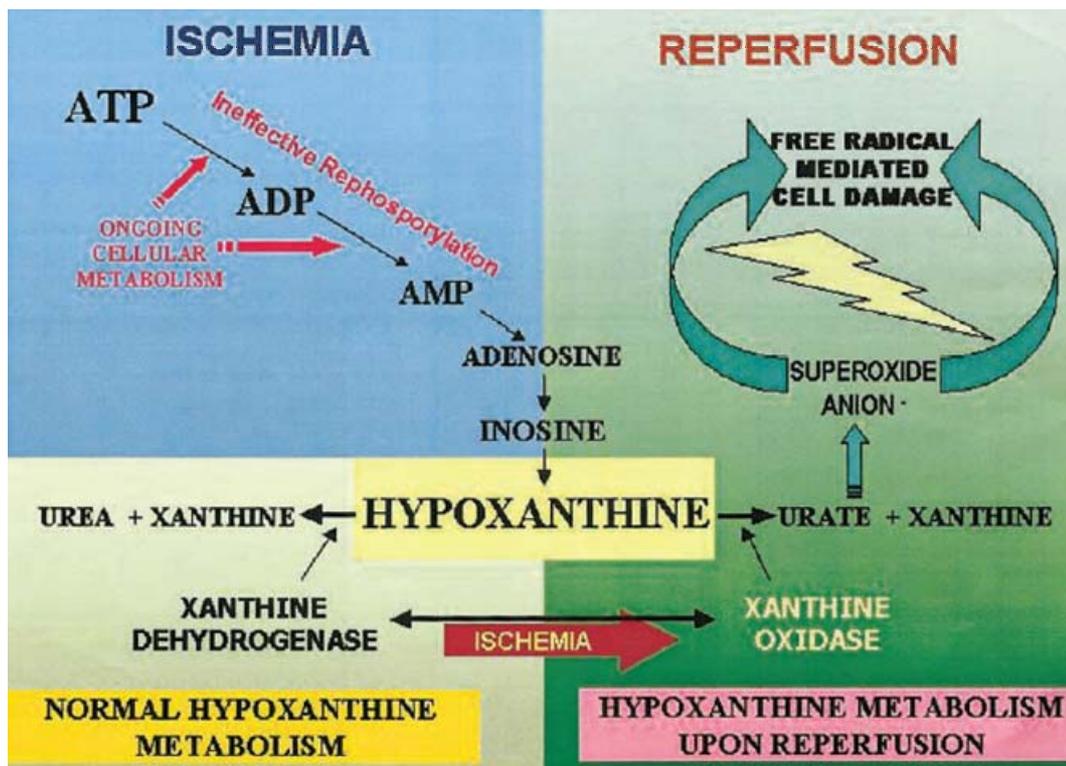


Figura 7. Formación de radicales libres de oxígeno. St. Peter SD et al.

Tacrolimus as a liver flush solution to ameliorate the effects of ischemia/reperfusion injury following liver transplantation. Liver transplantation.

2003; Vol 9, n°2: 144-149.

6.- EFECTOS DE TACROLIMUS SOBRE LA LESIÓN POR ISQUEMIA-REPERFUSIÓN

El tacrolimus o FK506 es un inmunosupresor de probada eficacia que se clasifica dentro del grupo de los inhibidores de la calcineurina. Este fármaco, inicialmente introducido en clínica como alternativa a la ciclosporina A, constituye en la actualidad el pilar fundamental del tratamiento inmunosupresor en el trasplante de hígado^{168,169}, riñón^{170,171} y páncreas^{172,173}.

También se han obtenido resultados favorables en el tratamiento con tacrolimus de varias enfermedades de base inmunológica, como la artritis reumatoide¹⁷⁴, enfermedad inflamatoria intestinal¹⁷⁵ y enfermedades dermatológicas¹⁷⁶ y oftalmológicas¹⁷⁷.

Los inhibidores de la calcineurina, además, poseen diversas características que limitan el daño tisular causado por isquemia-reperfusión y el tacrolimus es el inhibidor de la calcineurina más efectivo y potente en este sentido.

El tacrolimus se une con alta afinidad al complejo calcineurina-calmodulina, bloqueando su participación en la activación o fosforilación calcio-dependiente de un importante regulador de la transcripción intranuclear denominado factor nuclear de las células T activadas (NF-AT)¹⁷⁸. Al ser altamente lipofílico, el tacrolimus atraviesa fácilmente la membrana citoplásmica¹⁷⁹. La inhibición del NF-AT impide la transcripción del gen que codifica la IL-2, impidiendo la activación de la célula T¹⁸⁰. A través del bloqueo de la actividad de la calcineurina, también inhibe la unión del NF-AT a la región amplificadora del gen de la IL-2¹⁸¹. Otros factores de transcripción activados por calcineurina y, por tanto, inhibidos por el tacrolimus son AP-1, AP-3, Oct-1 y factor nuclear kappaB (NF-κB)¹⁸².

La diana intracelular del tacrolimus es una inmunofilina citosólica soluble conocida como proteína de unión al FK (FKBP)¹⁸³. Las inmunofilinas FKBP son

una familia de proteínas de unión independientes de la ciclofilina, la proteína a la que se une la ciclosporina¹⁸⁴. Se han descrito varias proteínas de la familia de las inmunofilinas capaces de interactuar con el tacrolimus, como FKBP12, FKBP12.6, FKBP13, FKBP25, FKBP51 y FKBP59¹⁸⁵. Recientemente, la FKBP12 ha sido definida como la única FKBP activada en la vía responsable del efecto supresor de las células T del tacrolimus¹⁸⁶.

Además de la supresión de la células T, el tacrolimus parece producir muchos más efectos a nivel celular. De hecho, varios estudios sugirieron que ejercía un efecto de protección tisular ante el daño isquémico cuando se administraba por vía intravenosa antes de producirse dicha isquemia^{187,188,189,190}. Esta protección parece deberse a la actuación del fármaco a múltiples niveles: alteraciones de la microcirculación, metabolismo de los radicales libres, vías activadas por calcio, cascadas inflamatorias, estabilidad mitocondrial, apoptosis y regeneración tisular.

6.1.- EFECTOS SOBRE LA MICROCIRCULACIÓN

Uno de los primeros mecanismos que se consideró implicado en el efecto del tacrolimus fue la alteración de la microcirculación hepática¹⁹¹. En un modelo en ratas se demostró una rápida recuperación de la microcirculación periférica hepática al administrar tacrolimus 30 minutos antes de la isquemia caliente¹⁹². En el examen histológico se pudo objetivar menor grado de congestión periportal en el grupo al que se había administrado tacrolimus que en el grupo control.

Posteriormente, se demostró que el tacrolimus era capaz de mejorar la microcirculación ante el deterioro que se producía habitualmente en el momento de la reperfusión mediante la supresión de la expresión endotelial de un potente vasoconstrictor: la endotelina 1¹⁹³.

El tacrolimus también altera la vía del óxido nítrico, inhibiendo la expresión del gen de la óxido nítrico sintetasa (NOS) mediante el bloqueo del NF- κ B¹⁹⁴.

6.2.- DISMINUCIÓN DE FORMACIÓN DE RADICALES LIBRES

Los productos obtenidos de la degradación del ATP son convertidos en urea por la enzima xantina deshidrogenada (XD). En condiciones de isquemia, la XD se convierte en xantina oxidasa (XO) y, en presencia de oxígeno (en el momento de la reperfusión) la XO convierte todos los productos acumulados de la degradación del ATP en xantina y anión superóxido, causando una liberación masiva de radicales libres de O₂ que conducen a la peroxidación lipídica y a la destrucción celular¹⁹⁵. Esta reacción es particularmente importante en el hígado, que contiene la mayor reserva de ATP y XD del organismo¹⁹⁶.

Varios investigadores han documentado una disminución de radicales libres paralela a la disminución del daño por isquemia-reperfusión al administrar tacrolimus antes de que se produzca la isquemia^{144,197}.

El tacrolimus, mediante el mantenimiento del contenido de ATP celular y, por tanto, la disminución de radicales libres y quizás mediante un efecto antioxidante parece capaz de disminuir el daño por isquemia-reperfusión.

6.3.- VÍAS MEDIADAS POR CALCIO

Durante la isquemia, el déficit de oxígeno desencadena un mecanismo anaerobio, impidiendo la recuperación del ATP y acumulándose productos ácidos. Las bombas iónicas de membrana dejan de funcionar y se genera un desequilibrio en los gradientes electrolíticos entre los espacios intra y

extracelular, así como entre los distintos compartimentos intracelulares. Con la pérdida de la integridad de la membrana celular, se produce edema y aumento de calcio intracelular. Este calcio intracelular es capaz de poner en marcha las vías que conducen a la inflamación y la muerte celular¹⁹⁸.

El tacrolimus administrado antes de la isquemia ha demostrado disminuir la concentración de calcio intracelular, mantener la función mitocondrial y regular los sistemas enzimáticos que inician la vía de la inflamación¹⁹⁹.

6.4.- RESPUESTA INFLAMATORIA A LA ISQUEMIA

La interacción entre las células inflamatorias del parénquima, el endotelio vascular y las células inflamatorias circulantes es clave en la lesión por isquemia-reperfusión. Al producirse este daño en el parénquima y el endotelio, se precipita una cadena de eventos que incluyen la expresión de moléculas de adhesión endoteliales, la activación plaquetaria y leucocitaria y la activación de todo el dispositivo de defensa inflamatoria, que produce como resultado el daño tisular^{200,201}.

Se ha demostrado que la adhesión de las plaquetas al endotelio vascular induce daño microvascular y apoptosis hepatocelular tras el daño por isquemia y posterior perfusión. Tras la isquemia, aumenta la producción de factor activador plaquetario (PAF), que estimula la activación de las plaquetas. En un modelo cardíaco, se observó una acción sinérgica del tacrolimus con un antagonista del receptor del PAF, que podría explicar en parte la reducción del daño por isquemia-reperfusión²⁰².

6.5.- RESPUESTA CELULAR A LA LESIÓN.

La producción de radicales libres de O₂, los cambios en el pH y las elevadas concentraciones de calcio estimulan la apertura de los poros y producen la despolarización de la membrana mitocondrial, impidiendo la fosforilación oxidativa del ATP. La recuperación de la polaridad de la membrana se correlaciona con la viabilidad celular. La ciclosporina parece capaz de bloquear la despolarización mitocondrial y sería interesante investigar el efecto del tacrolimus en este sentido.

El tacrolimus parece capaz, tanto de proteger a las células de la necrosis producida por el daño por isquemia-reperfusión, como de alterar las vías que conducen a la apoptosis.

Por otro lado, el hígado es el único órgano sólido con capacidad de regeneración tisular. Así, cuando se produce daño severo por isquemia-reperfusión, es posible la regeneración de aquellas células que finalmente se perdieron por necrosis o apoptosis. El tacrolimus, además de minimizar el daño por isquemia-reperfusión, fomenta la regeneración²⁰³, como han demostrado estudios en los que se ha observado un aumento de la mitosis al tratar con este fármaco. La ciclosporina A también ha demostrado poseer efectos hepatotrópicos^{204,205}, pero cuando se usan a dosis altas, la eficacia del tacrolimus en cuanto a la estimulación de la mitosis es mucho mayor²⁰⁶.

Los efectos del tacrolimus sobre la lesión por isquemia-reperfusión habían sido estudiados fundamentalmente en modelos animales. St. Peter y colaboradores publicaron en 2003 el primer estudio clínico prospectivo randomizado para evaluar el efecto sobre la lesión por isquemia-reperfusión del uso de tacrolimus añadido al líquido de lavado de los injertos hepáticos pre-trasplante, observando una mejoría en la función primaria del injerto y una disminución del daño hepatocelular en el grupo de pacientes que recibieron

órganos lavados con solución con tacrolimus, comparado con el grupo de pacientes que recibieron órganos lavados con la solución habitual sin este fármaco²⁰⁷.

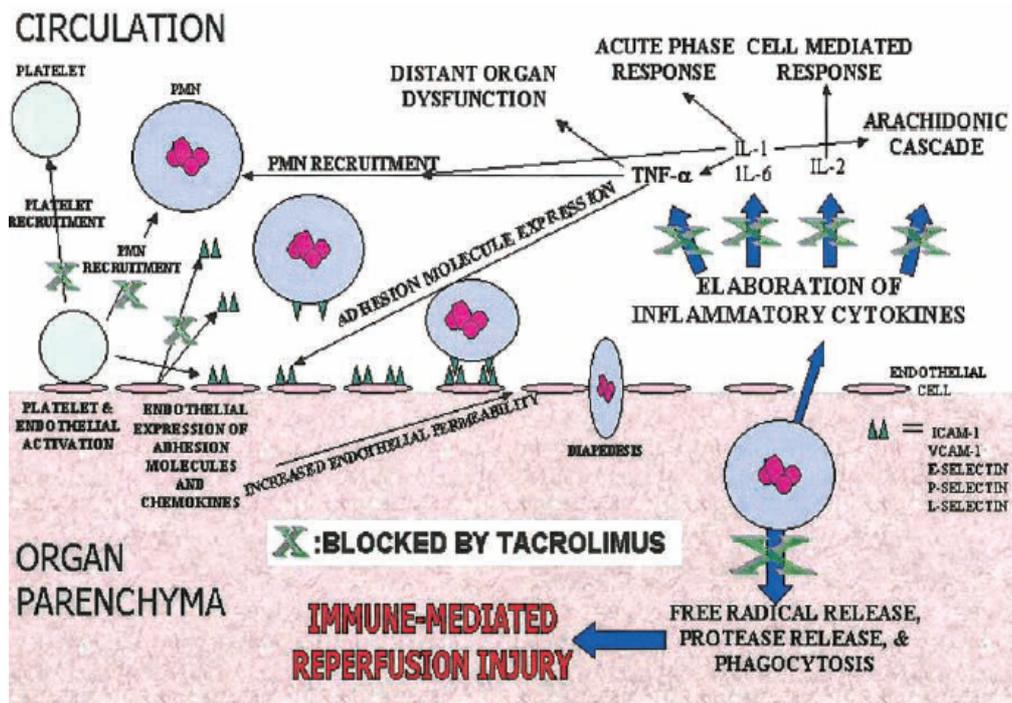


Figura 8. Efectos del tacrolimus en la respuesta inflamatoria ante la lesión por isquemia-reperfusión. St. Peter y cols. Effects of tacrolimus on ischemia-reperfusion injury. Liver Transplantation. 2003; 9(2):105-116.

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO

Justificación y objetivo

Los excelentes resultados obtenidos en trasplante hepático, tanto en la supervivencia como en la calidad de vida de los pacientes trasplantados, ha desencadenado un aumento en el número de candidatos a esta terapia.

España es el país con el índice de donación más alto del mundo pero, aún con esto, el número de donantes es insuficiente para cubrir esta creciente demanda de órganos para trasplante. La consecuencia de esta discrepancia entre el número de donantes y el número de pacientes candidatos a trasplante es el acúmulo de enfermos en lista de espera, con el consecuente aumento del riesgo de progresión de su enfermedad o de fallecimiento.

Además, el perfil del donante de órganos ha cambiado mucho en los últimos años. Con el aumento de las medidas de seguridad de los vehículos, las campañas para promover el uso de casco y la mejora en la atención al paciente con traumatismo craneoencefálico, el número de donantes jóvenes sanos es cada vez menor.

Todos estos factores han obligado a los equipos de trasplante hepático a ampliar los criterios de aceptación de los donantes mediante la utilización de los denominados órganos "subóptimos" o "marginales" (procedentes de donantes "añosos", con antecedentes patológicos, con estancia prolongada en UCI, hemodinámicamente inestables, con cierto grado de esteatosis, etc) para poder trasplantar al mayor número posible de aquellos pacientes que se encuentran en lista de espera.

Este cambio cualitativo en los donantes hepáticos demanda un método óptimo de preservación para mejorar la función tras la revascularización en el receptor, dado que son estos órganos "marginales" los más susceptibles al desarrollo de lesión por isquemia-reperusión severa.

Basándose en estudios preliminares realizados en animales, que postulaban el beneficio de la administración de tacrolimus pretrasplante en

cuanto a la disminución de la lesión por isquemia-reperfusión en el órgano trasplantado, St. Peter y colaboradores realizaron el primer estudio clínico prospectivo randomizado para evaluar el efecto del lavado de los injertos hepáticos con una solución con tacrolimus antes del trasplante, con la hipótesis de que el uso de este inmunosupresor podía disminuir el daño hepatocelular en la reperfusión del injerto hepático preservado, mejorando la función primaria tras la realización de trasplante ortotópico²⁰⁷. Se incluyeron en el estudio 20 pacientes que se trasplantaron entre octubre de 2000 y octubre de 2001 y se randomizaron en dos grupos. El grupo 1 (grupo de tratamiento) recibió órganos perfundidos con una solución de lavado con tacrolimus pretrasplante y el grupo 2 (grupo placebo) recibió injertos perfundidos con la solución de lavado sin este fármaco. Se evaluó la lesión por isquemia-reperfusión en ambos grupos tras el trasplante a través de la medida de parámetros de laboratorio que reflejaban daño hepatocelular y función sintética y, comparando los dos grupos de tratamiento, se concluyó que el lavado del hígado antes del trasplante con una solución con tacrolimus mejoraba la función primaria del injerto y disminuía el daño hepatocelular tras la reperfusión en comparación con el lavado con la misma solución sin tacrolimus.

El **objetivo** de este trabajo es corroborar la hipótesis de St. Peter y colaboradores, evaluando el efecto de la perfusión de aloinjertos hepáticos con tacrolimus antes del trasplante sobre la lesión por isquemia-reperfusión.

Para ello se compara el daño hepático producido por isquemia reperfusión en pacientes que reciben un injerto perfundido con una solución de lavado que contiene tacrolimus frente a pacientes cuyo injerto se perfunde con una solución de lavado convencional sin tacrolimus.

Como variable principal de eficacia se cuantifica el porcentaje de reducción en el pico máximo de GPT en las primeras 48 horas postrasplante de

para valorar el daño hepatocelular producido por la isquemia y posterior reperfusión en el órgano trasplantado y se realiza un subanálisis en pacientes que reciben órganos con determinados criterios de marginalidad. También se realiza una estratificación de la muestra según la edad del donante (donantes mayores y menores de 50 años), comparando asimismo la lesión hepática producida por isquemia reperfusión en cada uno de los grupos, mediante de análisis de la variable principal, en función de que reciban un injerto perfundido con una solución de lavado con tacrolimus o un injerto perfundido con una solución de lavado convencional.

Como variables secundarias, se estudian y se comparan entre pacientes tratados y no tratados, otros parámetros capaces de cuantificar el daño hepatocelular y la función sintética del órgano trasplantado: GOT, GGT, bilirrubina, actividad de protrombina, INR.

Finalmente se estudia la incidencia y gravedad del primer episodio de rechazo agudo (probado mediante biopsia y que requiere tratamiento) en los tres meses posteriores al trasplante, el tiempo transcurrido hasta la aparición del primer episodio de rechazo agudo, la supervivencia del injerto y del paciente y la incidencia general de efectos adversos.

Justificación y objetivo

III. MATERIAL Y MÉTODO

1.- DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio abierto, multicéntrico, randomizado 1:1, con dos ramas. Los pacientes se asignaron de forma aleatoria a uno de los siguientes brazos de tratamiento:

- Grupo I: Los pacientes de este grupo recibieron un injerto hepático perfundido con 1 litro de una solución de lavado Plasmalyte 148[®] con tacrolimus a una concentración de 20 ng/mL.
- Grupo II: Los pacientes de este grupo recibieron un injerto hepático perfundido con 1 litro de una solución de lavado convencional Plasmalyte 148[®] sin tacrolimus.

2.- PACIENTES

2.1- TAMAÑO MUESTRAL

La muestra inicial era de 140 pacientes, 70 en cada grupo de estudio. Finalmente se estudiaron 137 pacientes, al cumplirse alguno de los criterios de exclusión en tres de los enfermos. Participaron en la inclusión de enfermos y la recogida de datos varios centros españoles y portugueses, que se especifican más adelante.

2.2.- CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes de ambos sexos, de cualquier raza, de edad igual o superior a 18 años.

- Primer trasplante hepático ortotópico.
- Pacientes en edad fértil con prueba de embarazo negativo; utilización de método anticonceptivo eficaz durante el estudio.
- Todos los pacientes fueron completamente informados y otorgaron un consentimiento informado por escrito.

2.3.- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Tiempo de isquemia fría total del hígado donante >12 horas.
- Receptores de trasplante multiorgánico o trasplantes de órganos previos (incluyendo re-trasplante hepático).
- Receptores de un injerto auxiliar o enfermos en que se había utilizado un hígado bioartificial.
- Receptores de un trasplante parcial de hígado.
- Receptores de un trasplante de hígado de donante vivo.
- Receptores de un injerto ABO incompatible.
- Receptores de un injerto procedente de un donante en asistolia.
- Hepatitis fulminante como causa de trasplante hepático.
- Creatinina sérica en el momento del trasplante superior a 1.5 mg/dL.
- Pacientes para los que la terapia inmunosupresora post-trasplante de elección, según criterio del investigador, fuera distinta a la estandarizada en el protocolo de este estudio.
- Receptores con síntomas o antecedentes de neoplasia de cualquier tipo (incluyendo leucemia).
- Receptores con infecciones concomitantes no controladas significativas y/o diarrea, vómito o úlcera péptica activa severas.
- Paciente o donante VIH positivos.
- Alergia o intolerancia a HCO-60 o compuestos relacionados estructuralmente, esteroides, antibióticos macrólidos o tacrolimus.

- Pacientes embarazadas o en período de lactancia.
- Pacientes que estuvieran participando o hubieran participado en otro ensayo clínico y/o estuvieran tomando o hubieran tomado un fármaco experimental en los 28 días previos.
- Pacientes con cualquier manifestación de abuso de sustancias, trastorno psiquiátrico o afección que, a criterio del investigador, pudiese invalidar la comunicación entre enfermo e investigador.
- Baja probabilidad de cumplimiento del programa de visitas del protocolo.

2.4.- RETIRADA PRECOZ DEL ESTUDIO

- Muerte del paciente
- Re-trasplante
- Acontecimiento adverso que, a criterio del investigador, interfiriese con el desarrollo del estudio
- Retirada del consentimiento
- Embarazo

3.- DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO

3.1.- TRATAMIENTO ADMINISTRADO A CADA

GRUPO DE PACIENTES:

- MEDICACION EXPERIMENTAL (Grupo I): **Tacrolimus: Prograf®** (laboratorio Fugisawa) añadido a 1 litro de una solución de lavado **Plasmalyte 148®** (laboratorio Baxter), a una concentración de 20 ng de tacrolimus/mL de solución de lavado.

- MEDICACION CONTROL (Grupo II): Solución de lavado **Plasmalyte 148[®]**: 1 litro.

3.2.- LÍQUIDOS DE PRESERVACIÓN Y LAVADO

- Como **LÍQUIDO DE PRESERVACIÓN** se utilizó la **solución de la Universidad de Wisconsin: ViaSpan[®]** (laboratorio Bristol-Myers Squibb), con la siguiente composición: Poli (O-2-hidroxietil) almidón 0.4-0.5 (pentafracción): 50 g/L, ácido lactobiónico: 35.83 g/L (105 mmol/L), hidróxido de potasio 56%: 14.5 g/L (100 mmol/L), hidróxido de sodio 40%: 3.679 g/L (27 mol/L), adenosina: 1.34 g/L (5 mmol/L), alopurinol: 0.136 g/L (1 mmol/L), dihidrógeno fosfato de potasio: 3.4 g/L (25 mmol/L), sulfato de magnesio x 7 H₂O: 1.23 g/L (5 mmol/L), rafinosa x 5 H₂O: 17.83 g/L (30 mmol/L), glutation: 0.922 g/L (3 mmol/L), hidróxido de sodio 20%, ácido clorhídrico 14.6% y H₂O. Osmolaridad: 320 mOsm/L.
- La **SOLUCIÓN DE LAVADO** utilizada fue **Plasmalyte 148[®]** (laboratorio Baxter), con la siguiente composición: cloruro sódico: 5.26 g/L, cloruro potásico: 0.37 g/L, cloruro magnésico hexahidratado: 0.30 g/L, acetato sódico trihidratado: 3.68 g/L, gluconato sódico: 5.02 g/L y H₂O para ajuste de pH a 7.4. Sodio: 140 mmol/L, cloruro: 98 mmol/L, potasio: 5 mmol/L, acetato: 27 mmol/L, magnesio: 1.5 mmol/L, gluconato: 23 mmol/L. Osmolaridad: 295 mOsm/L.

3.3.- TÉCNICA QUIRÚRGICA Y PROCEDIMIENTO DE LAVADO

- Realización de la hepatectomía del donante (sin anastomosis porto-cava).
- Perfusión con solución de preservación (solución de Wisconsin).
- Anastomosis de venas suprahepáticas a vena cava.
- Perfusión del injerto con 1 litro de la solución de lavado:
 - o Grupo I: solución Plasmalyte 148[®] con tacrolimus (20 ng/mL).
 - o Grupo II: solución Plasmalyte 148[®] sin tacrolimus.
- Retirada de la cavidad abdominal de la solución de lavado, mezclada con la solución de preservación contenida originalmente en el órgano, mediante succión continua situada en la fosa retrohepática.
- Anastomosis portal y reperfusión con sangre venosa portal.
- Anastomosis arterial y reperfusión con sangre arterial.

3.4.- DURACIÓN DEL TRATAMIENTO

La duración del tratamiento fue el tiempo necesario para lavar el órgano con cada solución, experimental y control: aproximadamente unos 15 minutos.

El tiempo de seguimiento fue de tres meses.

3.5.- TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR

POSTRASPLANTE

- TACROLIMUS a dosis inicial de 0.10-0.15 mg/Kg/día, con niveles valle durante las seis primeras semanas de 10-20 ng/mL (preferiblemente 15 ng/mL) y posteriormente de 5-15 ng/mL.
- ESTEROIDES: metilprednisolona 500 mg en bolo único antes de la reperfusión y después prednisona oral a dosis de 15-20 mg/día durante

el primer mes, 10-15 mg/día durante el segundo mes y 5-10 mg/día durante el tercer mes.

En caso de rechazo, metilprednisolona: 3 bolos de 500 mg i.v. durante tres días consecutivos. A continuación, a criterio del investigador.

3.6.- MEDICACIÓN CONCOMITANTE

Se registró la medicación concomitante recibida en los 7 días previos a la inclusión y durante el tiempo de estudio.

4.- VARIABLES DE EFICACIA

4.1.- VARIABLE PRINCIPAL:

Evaluación de la lesión por isquemia-reperusión mediante la valoración del daño hepatocelular del órgano trasplantado, por medio de la cuantificación del porcentaje de reducción en el pico máximo de GPT en las primeras 48 horas postrasplante.

4.2.- VARIABLES SECUNDARIAS:

- Otros parámetros que cuantifican el daño por isquemia-reperusión: GOT, LDH, bilirrubina total, actividad de protrombina, INR.
- Incidencia y severidad del primer episodio de rechazo agudo (demostrado histológicamente y que requiere tratamiento específico) en los primeros tres meses postrasplante y tiempo hasta la aparición del primer episodio.

- Supervivencia del injerto.
- Supervivencia del paciente.
- Incidencia de efectos adversos.

5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se han realizado pruebas de normalidad para todas las variables cuantitativas (test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors) con el fin de aplicar las pruebas paramétricas o no paramétricas correspondientes en función del ajuste o no de estas variables a una distribución normal.

5.1.- POBLACIÓN DE ANÁLISIS

El análisis principal incluye a todos los pacientes randomizados que recibieron las soluciones de perfusión del estudio.

El análisis de las variables secundarias se basa en los principios de intención de tratar, definidos como todos los pacientes randomizados que recibieron las soluciones de lavado del estudio y al menos una dosis de la terapia postrasplante recomendada.

5.2.- ANÁLISIS GLOBAL DE LA VARIABLE PRINCIPAL

El tratamiento estadístico de la variable principal (descenso en el pico máximo de GPT en las primeras 48 horas postrasplante) consiste en:

- Estadística descriptiva: media, desviación típica, mediana, rango intercuartil.

- Evaluación del cambio entre el valor máximo de GPT obtenido en las primeras 48 horas postrasplante con respecto a los valores basales iniciales en el grupo control y en el grupo experimental, mediante la prueba de Wilcoxon.
- Comparación, entre los grupos control y experimental, de los valores máximos obtenidos de GPT en las primeras 48 horas postrasplante y del cambio de la variable principal a lo largo del seguimiento, mediante la prueba de Mann-Whitney.
- Comparación, entre ambos grupos, del porcentaje de pacientes normalizados en cada una de las visitas y al final del estudio mediante tablas de contingencia y prueba de Chi-cuadrado. Diferencias en la normalización de los valores de la variable principal al final del estudio, mediante el método de Kaplan-Meier.

5.3.- ANÁLISIS DE LA VARIABLE PRINCIPAL EN FUNCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL DONANTE (ÓPTIMOS-SUBÓPTIMOS/ AÑOSOS-NO AÑOSOS)

- Análisis de la distribución del porcentaje de pacientes con donantes óptimos/"subóptimos" y añosos/no añosos en los grupos control y experimental mediante las tablas de contingencia y prueba de Chi-cuadrado.
- Estudio del comportamiento de la variable principal en los grupos resultantes consistente en:
 - o Estadística descriptiva: media, desviación típica, mediana, rango intercuartil.
 - o Evaluación del cambio entre el valor máximo de GPT obtenido en las primeras horas postrasplante con respecto a los valores

basales iniciales en los distintos grupos mediante la prueba de Wilcoxon.

- o Comparaciones entre los grupos de los valores máximos obtenidos de GPT en las primeras 48 horas postrasplante y del cambio de la variable principal a lo largo del seguimiento, mediante la prueba de Mann-Whitney o de Kruskal Wallis (cuando el nº de grupos a comparar es mayor de 2).
- o Comparación del porcentaje de pacientes normalizados en cada una de las visitas y al final del estudio mediante tablas de contingencia y prueba de Chi-cuadrado.

5.4.- ANALISIS DE LAS VARIABLES SECUNDARIAS CUANTITATIVAS

El tratamiento estadístico sigue los tres primeros puntos descritos para la variable principal.

- Estadística descriptiva: media, desviación típica, mediana, rango intercuartil.
- Evaluación del cambio entre el valor máximo de cada variable en las primeras horas postrasplante con respecto a los valores basales iniciales en el grupo control y en el grupo experimental mediante la prueba de Wilcoxon.
- Comparación, entre los grupos control y experimental, de los valores máximos obtenidos en las primeras 48 horas postrasplante y del cambio a lo largo del estudio, mediante la prueba de Mann-Whitney.

5.5.- ANÁLISIS DE LAS VARIABLES SECUNDARIAS CUALITATIVAS

Las variables cualitativas se han expresado en forma de frecuencias y porcentajes. Las pruebas de contraste para analizar las diferencias en estas variables han sido la Chi-cuadrado y la prueba exacta de Fisher para las variables dicotómicas.

5.6.- INCIDENCIA GENERAL DE ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

Descripción de los acontecimientos adversos, gravedad y causalidad de los mismos; comparación de la prevalencia de acontecimientos adversos entre ambos grupos mediante las tablas de contingencia y prueba de Chi-cuadrado.

La realización de este análisis estadístico se ha llevado a cabo utilizando el programa Statistical Package for Social Sciences (SPSS) en su versión 13.5. Se han considerado estadísticamente significativos aquellos valores de $p < 0,05$.

6.- INVESTIGADORES PRINCIPALES Y CENTROS

PARTICIPANTES

- **Dr. Evaristo Varo. Promotor del estudio.** Hospital Clínico Universitario. Santiago de Compostela (A Coruña, España).
- Dr. Ignacio González-Pinto. Hospital Central de Asturias. Oviedo (Asturias, España).
- Dr. Jorge Ortiz de Ubina. Hospital de Cruces. Barakaldo (Vizcaya, España).
- Dr. Andrés Valdivieso. Hospital de Cruces. Barakaldo (Vizcaya, España).
- Dr. Fernando Pardo. Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona (Navarra, España).
- Dr. Guillermo Solórzano. Hospital Reina Sofía (Córdoba, España).
- Dr. Eduardo Barroso. Hospital Curry Carral (Lisboa, Portugal).
- Dr. Javier Calleja. Hospital Gregorio Marañón (Madrid, España).
- Dr. Juan Carlos García Valdecasas. Hospital Clinic (Barcelona, España).
- Dr. Fernando José Oliveira. Hospital de la Universidade de Coimbra (Coimbra Portugal).
- Dr. Victor Ribeiro. Hospital de Santo Antonio (Porto, Portugal).
- Dr. Fernando San Juan. Hospital La Fe (Valencia, España).
- Dr. Victor Sánchez Turrión. Clínica Puerta de Hierro (Madrid, España).
- Dr. Julio Santoyo. Hospital Carlos Haya (Málaga, España).
- Dr. Eloy Tejero. Hospital Clínico de Zaragoza (Zaragoza, España).

IV. RESULTADOS

1.- DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA MUESTRA

La muestra está compuesta por un total de 137 pacientes. El 48% de ellos (N= 66) recibió un injerto hepático perfundido con una solución de lavado que contenía tacrolimus a una concentración de 20 ng/ml (grupo experimental). El 52% restante (N= 71) recibió un injerto hepático perfundido con una solución de lavado sin tacrolimus (grupo control).

1.1.- DATOS DEL ÓRGANO Y DEL DONANTE

EDAD: La edad del donante está comprendida entre los 15 y los 84 años, con un valor medio de 51.35 años (desviación típica: 17.08) y una mediana de 52.2 años. La edad media de cada uno de los grupos de estudio no difiere significativamente entre sí (grupo experimental: 53.15 años; grupo control: 49.66 años; $p= 0.254$). La distribución de la edad del donante se detalla en la tabla 1:

GRUPO DE EDAD	PORCENTAJE	GRUPO DE EDAD	PORCENTAJE
≤ 20 años	5.1	51-60 años	25.0
21-30 años	12.5	61-70 años	11.0
31-40 años	9.6	71-80 años	16.2
41-50 años	17.6	> 80 años	2.9

Tabla 1: Distribución de la edad del donante

SEXO: El 68.4% de los donantes son hombres y el 31.6% mujeres. Esta distribución es equivalente a la obtenida en los grupos control y experimental, de manera que las diferencias no son estadísticamente significativas (Tabla 2).

GRUPO DE TRATAMIENTO	HOMBRES	MUJERES
Control	66.2%	33.8%
Experimental	71.2%	28.8%

Tabla 2: Sexo del donante. Chi-cuadrado: 0.324; $p= 0.351$

ESTADO VIRAL DEL DONANTE: En la tabla 3 se detalla el porcentaje de donantes con resultados positivos para cada una de las determinaciones virales, tanto en el total de la muestra como en los grupos de tratamiento.

ESTADO VIRAL +	TOTAL %	EXPERIMENTAL %	CONTROL %	Chi-cuadrado (p)
CMV	73.5	72.7	74.3	0.16 (0.922)
VEB	9.6	4.5	14.5	3.86 (0.145)
VHB (anticore)	3.7	7.6	0.0	5.50 (0.025)*
VHC	2.2	3.0	1.4	0.40 (0.478)
VIH	0.0	0.0	0.0	-----

Tabla 3: Estado viral del donante. * Significación obtenida en el estadístico exacto de Fisher

No se han obtenido diferencias estadísticamente significativas entre el grupo experimental y control, excepto en el porcentaje de donantes VHB positivo, ya que en el grupo control ningún donante es anticore positivo.

CRITERIOS "UNOS" MODIFICADOS: En la siguiente tabla (Tabla 4) se presenta el porcentaje de donantes que cumplen cada uno de los criterios de marginalidad, así como el porcentaje de donantes marginales/ subóptimos en el total de la muestra y en los grupos de estudio.

CRITERIOS "UNOS"	TOTAL	EXPERIMENTAL	CONTROL	Chi-cuadrado
	%	%	%	(p)
Tiempo de estancia hospitalaria > 5 días	8.8	12.1	5.6	1.80 (0.149)
Transaminasas > 3 veces el límite normal superior	2.9	3.0	2.8	0.01 (0.662)
Esteatosis macrovesicular > 30%	4.6	6.5	2.9	2.05 (0.358)
Dosis dopamina > 15 µg/kg/min durante más de 24 h	4.4	4.5	4.2	0.01 (0.624)
Sodio plasmático en la hepatectomía > 160 mmol/L	5.8	6.1	5.6	0.01 (0.599)
Donante marginal/subóptimo	8.0	7.6	8.5	0.04 (0.551)

Tabla 4: Porcentaje de donantes que cumplen los criterios UNOS definidos en el protocolo y porcentaje de donantes marginales/ subóptimos

Como se puede observar, no se han obtenido diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de donantes subóptimos/marginales entre los grupos control y experimental.

El conjunto de los resultados obtenidos en los datos del donante pone de manifiesto que no existen diferencias estadísticamente significativas en las características del donante entre los grupos control y experimental.

1.2.-DATOS DEL RECEPTOR

EDAD: La edad del paciente está comprendida entre los 27 y los 69 años, con un valor medio de 55.64 años (Desv. Típica: 8.79) y una mediana de 56.75 años. No se han obtenido diferencias estadísticamente significativas en la edad media del paciente en función de los grupos de tratamiento (grupo experimental: 56.48 años; grupo control: 54.85 años; p= 0.28). La distribución de la edad del receptor se muestra en la Tabla 5:

21-30 años	31-40 años	41-50 años	51-60 años	61-70 años
2.2%	1.5 %	21.3 %	40.4 %	34.6 %

Tabla 5: Distribución de la edad del receptor

SEXO: El 73.2% de los pacientes son hombres y el 26.8% mujeres. Esta distribución es similar a la obtenida en los grupos control y experimental, de manera que las diferencias no son estadísticamente significativas (Tabla 6).

GRUPO DE TRATAMIENTO	HOMBRES	MUJERES
Control	69.0 %	31.0 %
Experimental	77.3 %	22.7 %

Tabla 6: Sexo del receptor. Chi-cuadrado: 1.183; $p= 0.185$

ESTADO VIRAL DEL RECEPTOR: en la Tabla 7 se detalla el porcentaje de donantes con resultado positivos para cada una de las determinaciones virales, tanto en el total de la muestra como en los grupos de tratamiento. No se han obtenido diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

ESTADO VIRAL +	TOTAL %	EXPERIMENTAL %	CONTROL %	Chi-cuadrado (p)
CMV	76.3	80.3	72.5	1.59 (0.451)
VEB	55.6	61.5	50.0	1.82 (0.404)
VHB	11.1	12.1	10.1	0.41 (0.814)
VHC	43.7	43.9	43.5	0.004 (0.998)
VIH	0.0	0.0	0.0	-----

Tabla 7: Estado viral del paciente

DIAGNÓSTICO PRINCIPAL DEL PACIENTE: el diagnóstico principal de la mayoría de los pacientes trasplantados es **cirrosis** (75.9%). El siguiente diagnóstico más frecuente es el **carcinoma** (21.2%). El resto de los diagnósticos descritos en el Cuaderno de Recogida de Datos (CRD) está escasamente representado: tan sólo en un 1.5% de los pacientes el diagnóstico principal es colangitis, en un 0.7% la enfermedad metabólica y en el 0.7% restante está calificado como "otros" (concretamente, metástasis hepáticas de tumor endocrino). En ninguno de los pacientes se ha diagnosticado la enfermedad de Budd-Chiari.

DIAGNÓSTICO PRINCIPAL	EXPERIMENTAL	CONTROL
	%	%
Cirrosis	72.7	78.9
Carcinoma	22.7	19.7
Enfermedad Metabólica	1.5	0.0
Colangitis	1.5	1.5
Otros	1.5	0.0

Tabla 8: Diagnóstico principal del paciente. Chi-cuadrado: 2.471; $p= 0.65$

Esta distribución es similar a la observada en cada uno de los grupos de tratamiento y las diferencias no resultan estadísticamente significativas (Tabla 8).

Dentro del grupo de pacientes a los que se les ha diagnosticado **cirrosis** (N= 104; 75.9% de la muestra), el tipo más frecuente es la cirrosis vírica seguida por la cirrosis alcohólica. En la siguiente tabla (Tabla 9) se muestran los porcentajes obtenidos en el total de la muestra y en los grupos de estudio. Como en casos anteriores, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la distribución del tipo de cirrosis entre los grupos de estudio.

DIAGNÓSTICO PRINCIPAL: CIRROSIS	TOTAL %	EXPERIMENTAL %	CONTROL %
Cirrosis biliar primaria	7.8	6.4	9.1
Cirrosis biliar secundaria	1.0	2.1	0.0
Cirrosis vírica	44.1	51.1	38.2
Cirrosis autoinmune	1.0	0.0	1.8
Cirrosis alcohólica	40.2	36.2	43.6
Cirrosis criptogénica	4.9	4.3	5.5
Otros tipos de cirrosis	1.0	0.0	1.8

Tabla 9: Tipos de cirrosis en el subgrupo de pacientes cuyo diagnóstico principal es la cirrosis. Chi-cuadrado: 4.495; p= 0.610

En el subgrupo de pacientes con cirrosis vírica (N= 45), la mayoría está producida por Hepatitis C (86.7%) y, en menor proporción, por Hepatitis B (13.3%). En ningún paciente se ha diagnosticado Hepatitis B delta. En los grupos de tratamiento los porcentajes se distribuyen de manera similar y las diferencias no son estadísticamente significativas (Tabla 10).

Por último, en el subgrupo de pacientes cuyo diagnóstico principal es el **carcinoma** (N= 29), en el 100% de los casos es un carcinoma hepatocelular.

PACIENTES CON CIRROSIS VÍRICA	EXPERIMENTAL %	CONTROL %
Hepatitis B	12.5	14.2
Hepatitis C	87.5	85.7
Hepatitis B delta	0.0	0.0

Tabla 10: Tipos de cirrosis vírica en el subgrupo de pacientes cuyo diagnóstico principal es la cirrosis vírica. Chi-cuadrado: 0.031; p= 0.600

HISTORIAL MÉDICO: En la Tabla 11 se detalla el porcentaje de pacientes en cuyo historial médico figura cada una de las características descritas en el CRD.

HISTORIAL MÉDICO	TOTAL %	EXPERIMENTAL %	CONTROL %
Cirugía torácica	2.2	0.0	4.2
Cirugía abdominal	16.8	15.2	18.3
Cirugía para tumores	5.8	9.1	2.8
Anomalías congénitas	2.2	3.0	1.4
Otro	78.1	75.7	80.3

Tabla 11: Historial médico del paciente

DIAGNÓSTICO SECUNDARIO: el 34.3% de los pacientes incluidos en la muestra no presenta ninguna de las patologías definidas en el CRD en el apartado de Diagnóstico Secundario. En el 65.7% restante las distintas patologías se presentan con la siguiente frecuencia (Tabla 12):

DIAGNÓSTICO SECUNDARIO	TOTAL %	EXPERIMENTAL %	CONTROL %
Diabetes	33.3	38.1	29.2
Hipertensión arterial	24.2	19.0	29.2
Enfermedad coronaria	2.2	2.4	2.1
Trastornos psiquiátricos	8.9	4.8	12.5
Discapacidad	1.1	0.0	2.1
Insuficiencia renal	6.7	4.8	8.3
Otros diagnósticos	72.2	76.2	68.8

Tabla 12: Diagnóstico secundario del paciente

La suma de los porcentajes en cada columna es superior al 100% ya que en muchos casos se da más de un diagnóstico secundario. Concretamente, en el 44% de los pacientes se ha diagnosticado una única patología, en el 37.8% dos, en el 11.1% 3 y en el 6.7% hasta 4 enfermedades distintas.

ANÁLISIS DE LABORATORIO: en la Tabla 13 se muestran los estadísticos descriptivos de las variables de laboratorio de la visita basal en el total de la muestra. Se ha realizado el test de Kolmogorov-Smirnov para comprobar si la distribución de las variables se ajusta a una normal y, de este modo, aplicar las pruebas paramétricas o no paramétricas que correspondan.

Según los resultados obtenidos, tan sólo la Actividad de Protrombina, el INR y el Fibrinógeno siguen una distribución normal, el resto de las variables, no. En consecuencia, para comparar los resultados obtenidos entre los grupos control y experimental se utilizará la T de Student para las variables normales y la Prueba de Mann-Whitney para las no normales.

Los análisis descriptivos de las pruebas de laboratorio en los dos grupos de estudio se presentan en la Tabla 14. En ningún caso se han observado diferencias estadísticamente significativas.

	N	Media	Desv. típ.	Mínimo	Máximo	Percentiles		
						25	50 (mediana)	75
GOT/AST	129	102.16	197.19	12.00	1649.00	35.50	58.00	98.60
GPT/ALT	132	74.03	139.78	13.00	1128.00	25.85	41.00	71.75
γGT	118	101.82	131.53	7.20	798.00	34.15	63.50	111.00
Fosfatasa alcalina	117	227.05	173.05	35.00	1123.00	113.00	185.00	272.50
Bilirrubina total	136	3.51	4.57	0.10	39.50	1.10	1.90	4.40
LDH	75	366.75	298.85	2.55	1919.00	204.00	290.00	425.00
Creatinina	136	0.88	0.25	0.40	1.80	0.70	0.87	1.00
Urea	130	34.83	23.81	5.32	183.00	21.75	31.65	39.00
Activ. protrombina	96	65.65	17.79	16.30	105.00	53.00	65.00	77.50
INR	106	1.44	0.34	0.95	2.86	1.20	1.36	1.60
TTPA	131	33.89	24.19	0.99	240.00	27.00	33.80	40.60
Fibrinógeno	101	243.53	118.86	64.00	610.00	152.00	221.00	299.50

Tabla 13: Estadística descriptiva de los análisis de laboratorio en el total de la muestra. Visita basal

	GRUPO EXPERIMENTAL						GRUPO CONTROL						p
	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Mínimo	Máximo	N	Media	Mediana	Desv. típ.	Mínimo	Máximo	
GOT/AST	62	98.42	59.20	167.98	12.00	1130.00	67	105.62	58.00	222.05	13.00	1649.00	0.902
GPT/ALT	64	74.36	41.00	131.22	13.00	1030.00	68	73.72	41.00	148.36	13.00	1128.00	0.527
γGT	58	101.27	58.50	132.73	7.20	663.00	60	102.35	64.00	131.48	10.00	798.00	0.895
Fosfatasa alcalina	57	206.40	183.00	122.35	48.00	726.00	60	246.67	189.50	209.44	35.00	1123.00	0.924
Bilirrubina total	66	3.97	2.00	5.67	0.30	39.50	70	3.07	1.90	3.18	0.10	15.24	0.559
LDH	36	324.89	254.50	179.28	156.00	1038.00	39	405.40	338.00	375.67	2.55	1919.00	0.433
Creatinina	66	0.87	0.81	0.23	0.45	1.73	70	0.90	0.90	0.27	0.40	1.80	0.368
Urea	62	35.82	31.00	25.54	5.32	183.00	68	33.93	32.50	22.28	9.80	161.00	0.790
Activ. protrombina	47	67.28	69.00	17.88	29.00	105.00	49	64.08	64.00	17.75	16.30	100.00	0.373
INR	51	1.41	1.33	0.31	1.00	2.37	55	1.46	1.40	0.37	0.95	2.86	0.552
TTPA	64	33.35	33.73	18.54	0.99	120.00	67	34.40	34.00	28.70	0.99	240.00	0.894
Fibrinógeno	43	244.05	216.00	132.88	64.00	610.00	58	243.14	223.30	108.51	95.00	600.00	0.658

Tabla 14: Estadística descriptiva de los análisis de laboratorio en los grupos de estudio. Visita basal.

DATOS DE LA CIRUGÍA Y NECROSIS: el tiempo medio de isquemia fría total es de 6.09 horas (Desv. Típica: 2.18 horas; Mínimo-Máximo: 0.58-13.50 horas). No se han obtenido diferencias estadísticamente significativas en el tiempo medio de isquemia entre los grupos de estudio (Tiempo medio grupo experimental: 6.02 horas; tiempo medio grupo control: 6.16 horas; $p= 0.7$).

La necrosis del injerto es ausente en el 60.3% de los casos, leve en el 31.4% y moderada en el 8.3% restante. No se ha diagnosticado necrosis severa en ninguno de los injertos. En los grupos de estudio los porcentajes obtenidos son similares tal y como se refleja en la Tabla 15:

Necrosis	EXPERIMENTAL	CONTROL
Ausente	61.0	59.7
Leve	28.8	33.9
Moderada	10.2	6.5

Tabla 15: Necrosis del injerto evaluada histológicamente en biopsia. Chi-cuadrado:

0.761; $p= 0.84$

En conclusión, los resultados obtenidos en el análisis descriptivo de las características basales del donante y del receptor, ponen de manifiesto que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control y experimental. Por tanto, en principio no existe sesgo alguno en la muestra que pueda influir en los resultados posteriores.

2.- ANÁLISIS DE LA VARIABLE PRINCIPAL

2.1.- EVALUACIÓN DEL VALOR MÁXIMO DE LA GPT (UI/L) OBTENIDO EN LAS PRIMERAS 48 HORAS POSTRASPLANTE

El valor máximo de la GPT en las 48 horas postrasplante (GPT-máx) se ha definido como el dato más desfavorable de los referidos en la visita 2 (24 horas) y en la visita 3 (48 horas). En el 68.9% de los pacientes el pico máximo se ha obtenido a las 24 horas, en el 31.1% restante, a las 48 horas.

EVALUACIÓN DEL CAMBIO ENTRE GPT-MÁX Y LOS VALORES BASALES INICIALES EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO

En primer lugar, se han analizado las posibles diferencias entre los valores de GPT en la visita basal y GPT-máx tanto en el total de la muestra como en los grupos de estudio. Para ello, se ha aplicado la prueba de Wilcoxon, test estadístico indicado para evaluar las diferencias en datos pareados, es decir, una misma variable medida en un mismo sujeto en distintos momentos del tiempo.

En la Tabla 16 se presentan los estadísticos descriptivos de la GPT basal y GPT-máx.

La prueba de Wilcoxon ha resultado estadísticamente significativa en los 3 casos ($p < 0.05$). Es decir, como era de esperar, los valores de GPT-máx son significativamente más altos que los valores de GPT basal, tanto en el total de la muestra como en los grupos control y experimental.

	TOTAL DE LA MUESTRA		GRUPO EXPERIMENTAL		GRUPO CONTROL	
	GPT BASAL	GPT- máx	GPT BASAL	GPT- máx	GPT BASAL	GPT- máx
N	132	135	64	66	68	69
Media	74.03	602.63	74.36	623.29	73.72	582.87
Desv. Típica	139.78	625.15	131.22	690.26	148.36	560.27
Mínimo	13.00	44.00	13.00	44.00	13.00	108.00
Máximo	1128.00	3527.00	1030.00	3527.00	1128.00	2294.00
Percentil 25	25.85	203.00	25.25	225.75	26.35	190.00
Percentil 50 (mediana)	41.00	389.00	41.00	397.50	41.00	376.00
Percentil 75	71.75	756.00	78.00	796.50	65.82	705.5
p (prueba de Wilcoxon)	< 0.001		< 0.001		< 0.001	

Tabla 16: Estadísticos descriptivos de la GPT basal y GPT-máx

COMPARACIÓN, ENTRE LOS GRUPOS DE ESTUDIO, DE LOS VALORES DE GPT-MÁX

En este caso, se han aplicado las pruebas de Mann-Whitney y de la mediana con el fin de analizar si existen diferencias significativas en el valor de GPT-máx entre los grupos de estudio. Los resultados obtenidos en ambas pruebas ponen de manifiesto que no puede afirmarse que existan diferencias estadísticamente significativas en el valor de GPT-máx entre los grupos control y experimental (Prueba de Mann-Whitney: $p= 0.914$; Prueba de la mediana: $p= 0.798$).

COMPARACIÓN, ENTRE LOS GRUPOS DE ESTUDIO, DEL CAMBIO OBSERVADO ENTRE LOS VALORES DE GPT BASALES Y GPT-MÁX

A continuación se ha estudiado el cambio producido en los niveles de GPT en las primeras 48 horas postrasplante evaluando la variación observada entre los valores basales de este parámetro y GPT-máx. Dicha variación se ha cuantificado tanto en términos absolutos (GPTmáx - GPT basal) como en porcentaje (incremento de GPT con respecto al valor basal * 100).

Por término medio, y en el total de la muestra, el **incremento absoluto** entre los niveles basales de GPT y el pico máximo es de 535.9 UI/L (desv. Típica: 628.73). Esta variable no se distribuye como una normal, por lo que es más correcto utilizar el valor de la mediana para cuantificar el cambio producido. Dicho valor es de 294.0 UI/L. En los grupos de estudio, los resultados son los siguientes (Tabla 17):

	GPT máx - GPT BASAL	
	EXPERIMENTAL	CONTROL
N	64	66
Media	551.97	520.30
Desv. Típica	715.11	537.00
Mínimo	-563.00	-83.00
Máximo	3397.00	2145.00
Percentil 25	121.50	155.25
Percentil 50 (mediana)	286.40	301.00
Percentil 75	815.00	649.00

Tabla 17: Estadísticos descriptivos del incremento absoluto de GPT en las primeras 48 horas postrasplante

Los estadísticos de contraste realizados para analizar si existen diferencias en el incremento de GPT entre los grupos control y experimental no han resultado estadísticamente significativos (Prueba de Mann-Whitney: $p= 0.684$; Prueba de la mediana: $p= 0.861$).

Posteriormente se ha evaluado el aumento de la GPT en las primeras 48 horas postrasplante en términos de **porcentaje** con respecto a los valores basales. En la Tabla 18 se muestran los resultados obtenidos en el total de la muestra y en los grupos de tratamiento. Como en el caso anterior, es una variable con una gran dispersión que no se comporta como una distribución normal, por lo que es más conveniente medir el cambio mediante la mediana. Esto supone que en el grupo control el 50% de los pacientes ha experimentado un aumento en los niveles de GPT superior al 705.40% y el otro 50% un aumento inferior a esta cifra (valor de la mediana). En el grupo experimental este dato es del 790.70%.

Las pruebas no paramétricas realizadas para comprobar si existen diferencias entre los grupos control y experimental no han resultado estadísticamente significativas (Prueba de Mann-Whitney: $p = 0.562$; Prueba de la mediana: $p = 0.599$).

En conjunto, los resultados obtenidos en este punto ponen de manifiesto que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio en la magnitud del cambio en la GPT entre los valores basales iniciales y el pico máximo en las 48 horas postrasplante, tanto en términos absolutos como relativos.

	TOTAL	EXPERIMENTAL	CONTROL
N	130	64	66
Media	1581.65	1609.08	1555.05
Desv. Típica	2376.20	2583.60	2175.96
Mínimo	-54.66	-54.66	-37.73
Máximo	17450.00	17450.00	11546.70
Percentil 25	282.08	207.40	369.48
Percentil 50 (mediana)	769.76	705.40	790.7
Percentil 75	2020.80	2081.40	2013.86

Tabla 18: Estadísticos descriptivos del incremento, en porcentaje, de GPT en las primeras 48 horas postrasplante

CAMBIO EN LOS NIVELES DE GPT A LO LARGO DEL SEGUIMIENTO

Se ha analizado el cambio en los niveles de GPT a lo largo del estudio desde distintos puntos de vista:

1. Cambio en términos absolutos de los niveles de GPT desde la visita inicial hasta el final de estudio.
2. Cambio en términos absolutos del pico máximo de GPT en las primeras 48 horas postrasplante (GPT-máx) en las siguientes visitas del estudio (GPTmáx - GPT de cada visita).
3. Cambio en porcentaje de GPT en las siguientes visitas del estudio (cambio de GPT en cada visita con respecto al valor de GPT-máx * 100)

En todos los casos el test estadístico realizado para comparar las diferencias entre los grupos es la prueba de Mann-Whitney.

En el Gráfico 1 se representa la evolución de la GPT en términos absolutos (punto 1). Se ha representado el valor de la mediana puesto que es el parámetro estadístico que mejor describe una variable cuantitativa que no se distribuye de manera normal. En él se puede observar que la tendencia de cambio en los grupos de estudio es paralela y las pruebas no paramétricas realizadas no han mostrado significación estadística en ninguna de las visitas ($p > 0.05$).

La diferencia, en términos absolutos, entre GPT-máx y las determinaciones de GPT de cada una de las visitas se representa en el Gráfico 2. En él se representa la diferencia entre GPT-máx y el valor de GPT de las visitas 4, 5 6 y 7. No se muestra la diferencia de GPT-máx con las visitas 2 y 3 (24 y 48 horas) ya que el valor de GPT-máx se obtiene, precisamente, del dato más alto observado en cualquiera de estas dos visitas. Como en el caso anterior, el valor representado es el de la mediana.

Si bien se observa que en los meses 1 y 3 la diferencia en el grupo experimental es mayor que en el control (y, por tanto, que el descenso de la GPT ha sido mayor) estas diferencias no alcanzan la significación estadística.

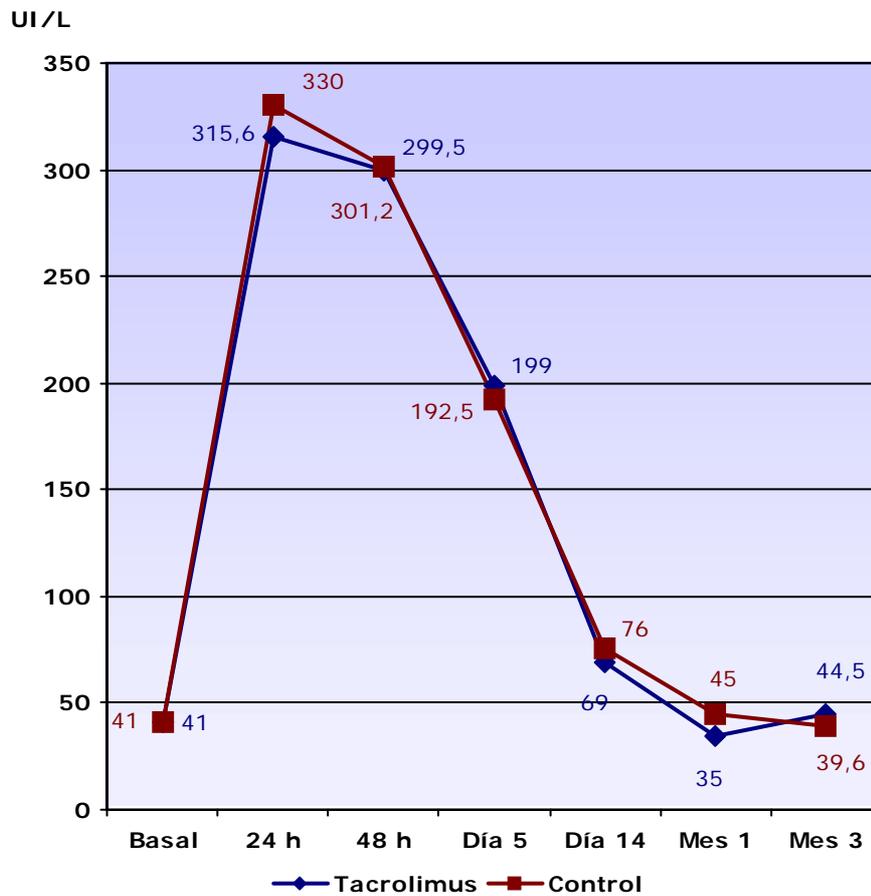


Gráfico 1: Evolución de los niveles de GPT a lo largo del estudio. Mediana. Visita basal: $p = 0.527$. 24 horas: $p = 0.998$. 48 horas: $p = 0.923$. Día 5: $p = 0.831$. Día 14: $p = 0.961$. Mes 1: $p = 0.127$. Mes 3: $p = 0.377$

Por último, en el Gráfico 3 se representa el porcentaje de la reducción de la GPT a lo largo del período de seguimiento con respecto a GPT-máx. En él se observa que al cabo de 5 días, la GPT-máx se ha reducido en un 57.25% en el grupo control y en un 54.21% en el experimental (diferencias no significativas: $p = 0.878$). Al cabo de 2 semanas, la reducción es ligeramente superior al 80% en ambos grupos ($p = 0.649$). Transcurrido un mes desde el trasplante, la reducción en la GPT se sitúa en torno al

90% en los dos grupos ($p= 0.222$), porcentaje muy similar al de los tres meses postrasplante, donde la diferencia entre los grupos de estudio tampoco es estadísticamente significativa ($p= 0.687$).

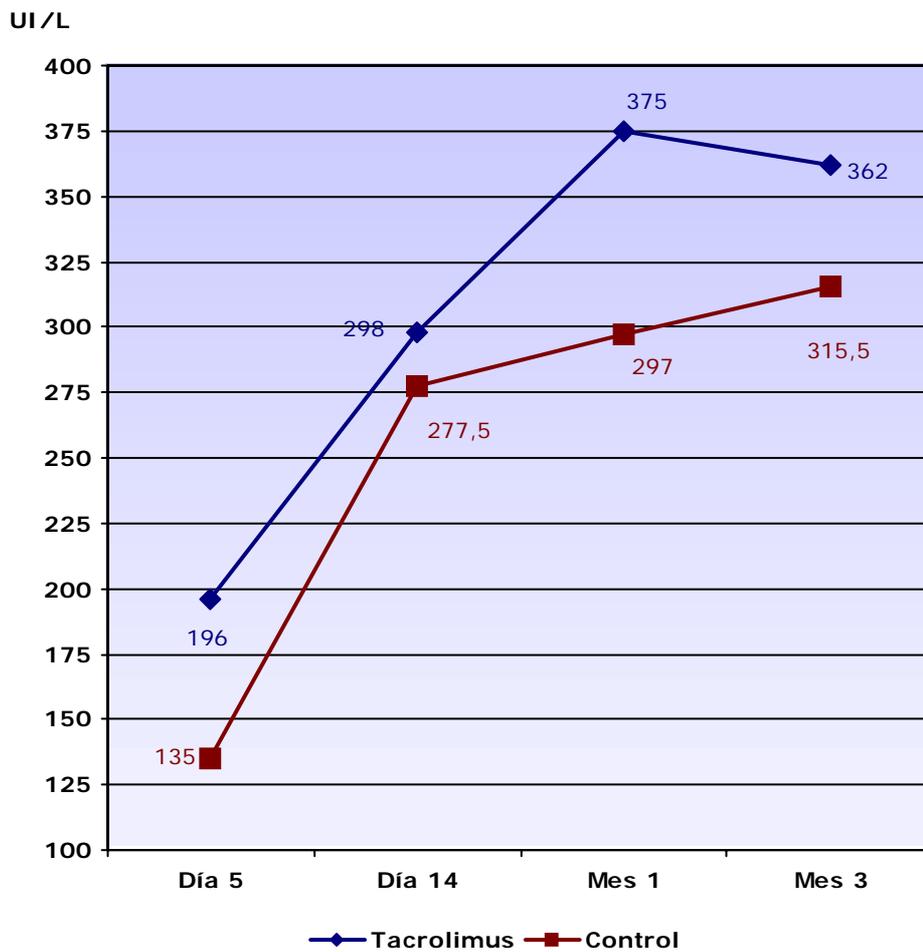


Gráfico 2: Diferencia entre GPT- máx y GPT en el resto de las visitas. Mediana.

Día 5: $p= 0.447$. Día 14: $p= 0.845$. Mes 1: $p= 0.786$. Mes 3: $p= 0.772$

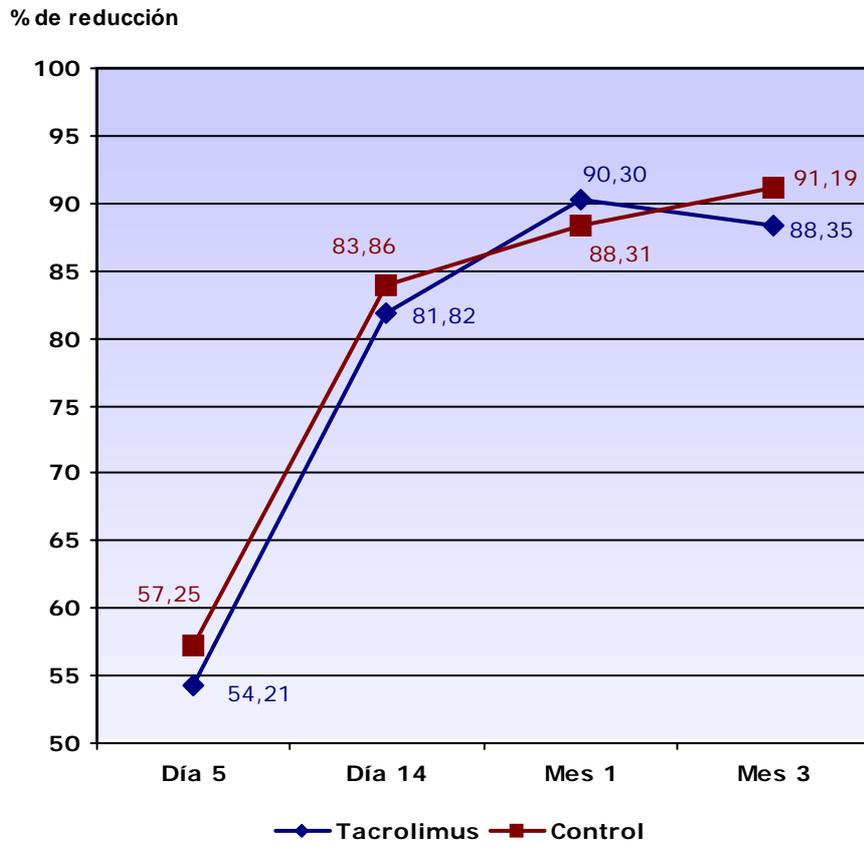


Gráfico 3: Porcentaje de reducción de la GPT a lo largo del estudio desde el valor de GPT- máx. Mediana

NORMALIZACIÓN DE LA GPT

Se ha definido que un paciente "ha normalizado la variable principal de eficacia (GPT)" cuando alcanza valores normales de acuerdo con las referencias del laboratorio.

Se ha calculado el porcentaje acumulado de pacientes que han alcanzado valores normales de GPT en cada momento del estudio: por ejemplo, el porcentaje obtenido en el día 14 incluye a todos aquellos pacientes que han normalizado la GPT a los 14 días postrasplante o en cualquier momento previo a dicha visita.

De este modo, los resultados obtenidos se muestran en el Gráfico 4.

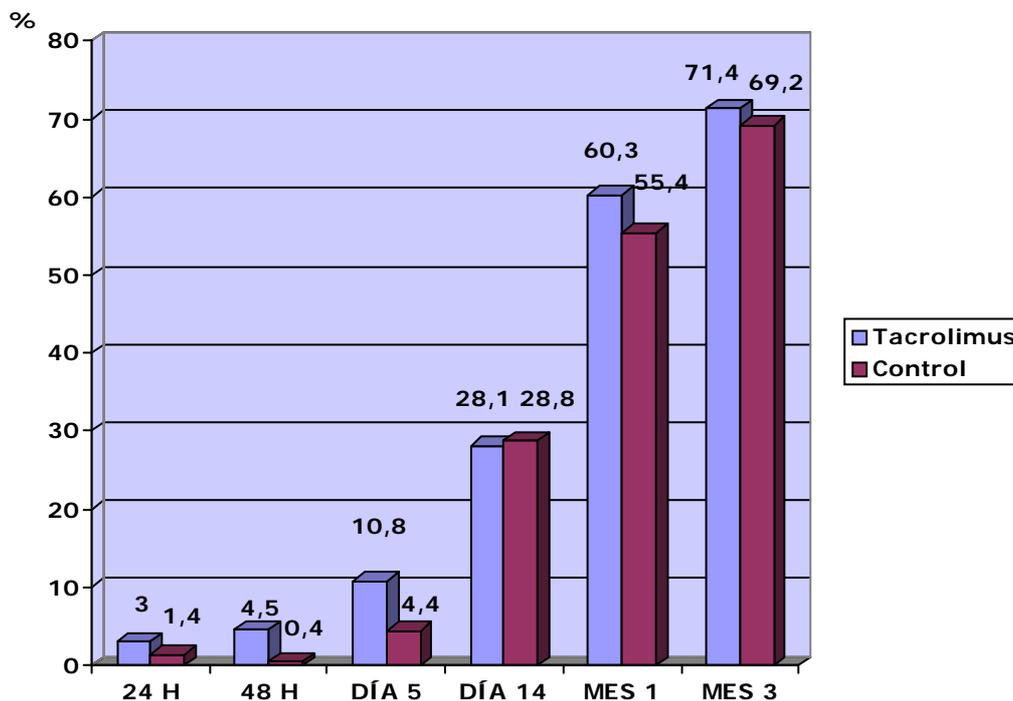


Gráfico 4: Porcentaje acumulado de pacientes que han normalizado la GPT en cada una de las visitas del estudio

Aunque no se han obtenido diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en ninguna de las visitas ($p > 0.05$), el porcentaje acumulado de pacientes que han normalizado la GPT en cualquier momento del estudio previo a cada visita señalada, es superior en el grupo experimental en prácticamente todos los casos.

Sin embargo, es conveniente señalar que en ocasiones, pacientes con valores normales de GPT en una de las visitas, en la o las siguientes vuelven a tener valores superiores a lo normal, por lo que sería adecuado definir claramente el criterio de normalización, es decir, si con una única determinación con valores normales se considera que el paciente "ha normalizado la GPT" aunque posteriormente haya un ascenso de la misma, o si es necesario confirmar la normalización en varias visitas consecutivas.

A continuación se han realizado curvas de supervivencia mediante el método de Kaplan-Meier con el fin de evaluar si existen diferencias en la velocidad de normalización de la GPT en los grupos de estudio. Se ha considerado que "el tiempo hasta la normalización" son los días transcurridos entre la visita basal y la primera determinación normal de la GPT obtenida a lo largo del seguimiento. Como en el caso anterior, cabe resaltar que algunos pacientes que normalizan la GPT en un día determinado del estudio, vuelven a tener valores superiores a lo normal en visitas posteriores.

Los resultados obtenidos se representan a continuación en el gráfico 5

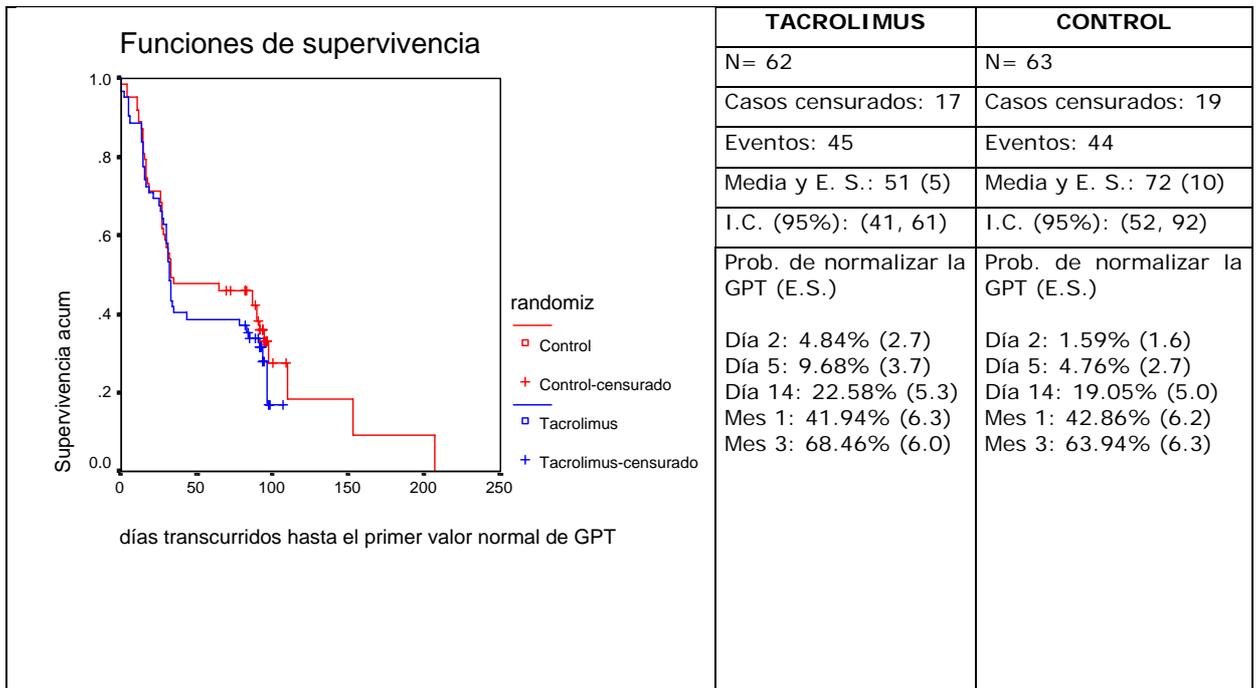


Gráfico 5: Normalización de la GPT. Curvas de supervivencia en los grupos de tratamiento

En este gráfico se observa que la velocidad de normalización de la GPT en los primeros días de seguimiento es muy similar en ambos grupos. A partir del día 40-50 aproximadamente, la velocidad de normalización es mayor en el grupo experimental, sin embargo, según el test de log-rank realizado, estas diferencias no son estadísticamente significativas (test de log-rank: 0.79; $p= 0.3727$).

En consecuencia con estos resultados, no existen diferencias estadísticamente significativas, entre los grupos de estudio, en los días transcurridos entre la visita basal y la primera determinación normal de la GPT en aquellos pacientes que han normalizado la GPT en cualquier momento del estudio (N= 90; 70.3% del total de la muestra) (Tabla 19):

	Tacrolimus	Control
N	45	45
Media	31.58	41.40
Desv. Típica	27.19	42.67
Mínimo	0	0
Máximo	96	207
Mediana	28.0	27.0

Tabla 19: Estadísticos descriptivos del tiempo transcurrido (en días) desde la visita basal hasta la primera determinación normal de GPT. Selección de pacientes que han normalizado la GPT en cualquier momento del estudio. t-Student: $p= 0.197$; prueba de Mann-Whitney: $p= 0.622$

2.2.- ANÁLISIS DE LA VARIABLE PRINCIPAL EN FUNCIÓN DEL TIPO DE DONANTE (ÓPTIMO/MARGINAL-SUBÓPTIMO)

La muestra inicial se ha segmentado atendiendo a la condición del donante (óptimo o marginal/subóptimo) y al grupo de estudio (control o experimental).

En primer lugar, se han analizado las posibles diferencias en la variable principal entre pacientes con donante óptimo y pacientes con donante marginal.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 20.

Se ha realizado la prueba de Mann-Whitney para analizar las diferencias entre ambos grupos y los resultados han puesto de manifiesto que en el grupo de pacientes con donantes marginales/subóptimos el cambio entre la GPT basal y el pico máximo de GPT en las primeras 48 horas postrasplante es significativamente inferior que en el grupo con donantes óptimos, tanto en términos absolutos como en porcentaje ($p < 0.05$). Este menor aumento parece ser consecuencia de que el pico máximo de la GPT en las primeras 48 horas es inferior en el grupo con donantes subóptimos/marginales (260 UI/L frente a 396 UI/L en el grupo con donantes óptimos) y esta diferencia roza la significación estadística ($p = 0.056$).

	DONANTE ÓPTIMO	DONANTE MARGINAL / SUBÓPTIMO	p
N	126	11	
GPT basal	38.30	47.00	0.279
GPT-máx	396.00	260.00	0.056
Diferencia absoluta entre GPT-máx y GPT basal	315.00	176.00	0.012
Diferencia en % entre GPT-máx y GPT basal	834.38	488.89	0.032

Tabla 20: Mediana de la variable principal y de la variación de la misma en función del tipo de donante. p: significación obtenida en la prueba de Mann-Whitney

Si se realizan los mismos análisis en cada uno de los grupos de estudio, los resultados son los detallados en la Tabla 21. Como en el total de la muestra, los valores de la mediana del pico máximo de GPT, y de la diferencia entre la GPT basal y la GPT-máx, son inferiores en los pacientes con donantes marginales/subóptimos, tanto en el grupo control como el experimental. Sin embargo, tan sólo se obtienen diferencias estadísticamente significativas en el grupo control en el cambio de la GPT-máx con respecto a la GPT basal en términos absolutos.

En cualquier caso, estos resultados deben interpretarse con cautela debido a la heterogeneidad en los tamaños muestrales de los grupos resultantes, sobre todo debido al escaso nº de pacientes con donantes subóptimos/marginales.

	GRUPO CONTROL			GRUPO EXPERIMENTAL		
	1	2	p	1	2	p
N	65	6		61	5	
GPT basal	38.00	46.00	0.367	41.00	58.00	0.644
GPT-máx	384.00	283.50	0.280	411.00	260.00	0.124
Diferencia absoluta entre GPT-máx y GPT basal	319.00	185.00	0.044	301.00	176.00	0.166
Diferencia en % entre GPT-máx y GPT basal	868.29	548.99	0.118	834.38	446.58	0.218

Tabla 21: Mediana de la variable principal y de la variación de la misma en función del tipo de donante. Grupos control y experimental. p: significación obtenida en la prueba de Mann-Whitney. 1. Donante óptimo. 2. Donante marginal / subóptimo

NORMALIZACIÓN DE LA GPT EN FUNCIÓN DEL GRUPO DE ESTUDIO Y DEL TIPO DE DONANTE

El porcentaje acumulado de pacientes que han alcanzado valores normales de GPT en cada una de las visitas del seguimiento (o en momentos previos a las mismas) en función del grupo de estudio y el tipo de donante se representa en el Gráfico 6.

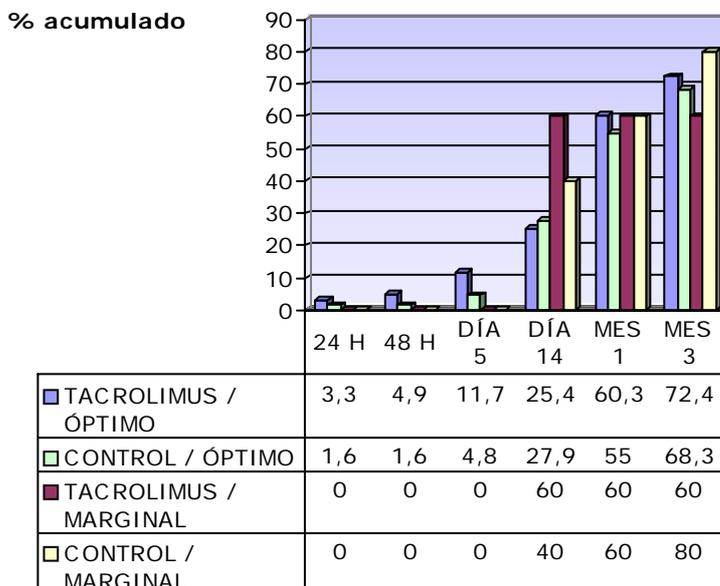


Gráfico 6: Porcentaje acumulado de pacientes con valores de GPT normales en cada una de las visitas del estudio en función del grupo de estudio y tipo de donante

En ningún caso los resultados han sido estadísticamente significativos a pesar de que, dentro del grupo con donantes óptimos, el porcentaje de pacientes normalizados es superior en aquellos tratados con tacrolimus. En el grupo con donantes marginales no se aprecia una tendencia clara y hay que considerar que el número de pacientes con donantes marginales es muy bajo.

En cualquier caso, es conveniente recordar la enorme heterogeneidad de los tamaños muestrales de los 4 grupos resultantes, así como el hecho de que se ha considerado la normalización con una única determinación de GPT a pesar de que muchos pacientes presentan valores normales en una visita y posteriormente, no. Por tanto, hay que interpretar estos resultados con cautela.

La velocidad de normalización de la GPT en cada uno de los 4 grupos no muestra una tendencia clara (Gráfico 7) y los resultados no son estadísticamente significativos (test de log-rank: 0.95; $p= 0.8128$).

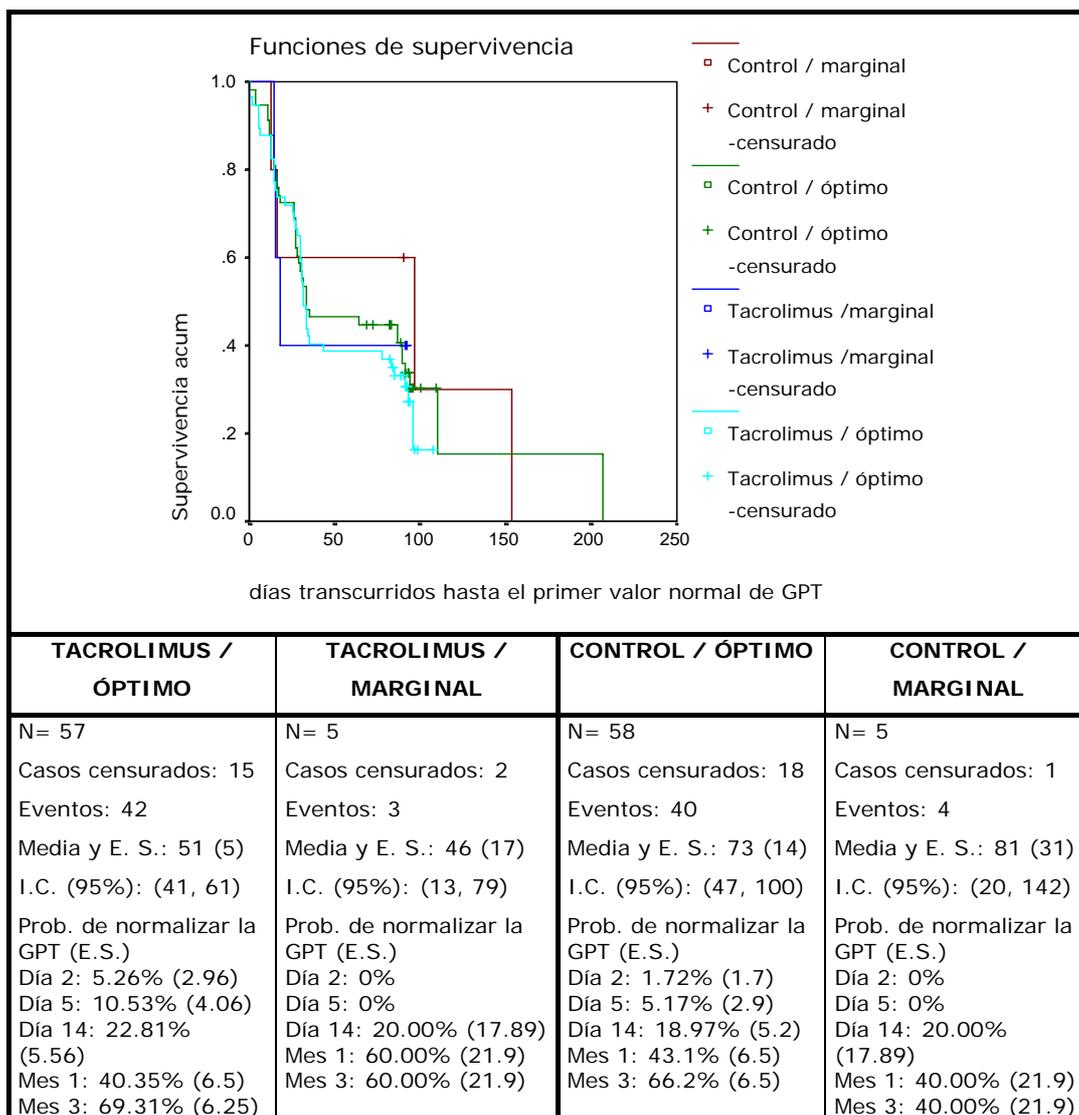


Gráfico 7: Normalización de la GPT. Curvas de supervivencia en función de los grupos de tratamiento y tipo de donante

2.3.- ANÁLISIS DE LA VARIABLE PRINCIPAL EN FUNCIÓN DE LA EDAD DEL DONANTE

Se ha analizado el comportamiento de la variable principal entre pacientes con donantes mayores de 50 años (donantes "añosos") o menores de 50 años (donantes "no añosos"), así como entre los 4 grupos resultantes del cruce entre la edad del donante y de grupo de estudio (control o experimental).

Los análisis realizados han sido los mismos que los efectuados con la variable principal.

CAMBIO ENTRE GPT-MÁX Y LOS VALORES BASALES INICIALES EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO

En primer lugar, se han analizado las posibles diferencias entre los valores de GPT en la visita basal y GPT-máx tanto en el total de la muestra como en los grupos de estudio. En la Tabla 22 se presentan los estadísticos descriptivos de la GPT basal y GPT-máx.

	Donante ≤ 50 años		Donante > 50 años	
	GPT BASAL	GPT-máx	GPT BASAL	GPT-máx
N	60	61	71	74
Media	62.18	547.40	84.30	648.99
Desv. Típica	51.90	655.80	184.60	598.90
Mínimo	13.00	44.00	13.00	73.00
Máximo	271.00	3527.00	1128.00	3159.00
Mediana	48.00	321.10	34.00	425.00
p (prueba de Wilcoxon)	< 0.001		< 0.001	

Tabla 22: Estadísticos descriptivos de la GPT basal y GPT-máx en función de la edad del donante

En la tabla 23 se muestran los estadísticos descriptivos de estas mismas variables en los 4 grupos resultantes de la segmentación de la muestra por edad del donante y tipo de tratamiento.

La prueba de Wilcoxon ha resultado estadísticamente significativa en todos los casos ($p < 0.05$). Es decir, como era de esperar, los valores de GPT-máx son significativamente más altos que los valores de GPT basal en todos los subgrupos analizados.

	Donante \leq 50 años				Donante $>$ 50 años			
	GPT BASAL		GPT-máx		GPT BASAL		GPT-máx	
	Tacrolimus	Control	Tacrolimus	Control	Tacrolimus	Control	Tacrolimus	Control
N	27	33	27	34	37	34	39	35
Media	69.10	56.60	563.30	534.70	78.20	90.90	664.80	631.30
D. Típica	58.20	46.30	798.00	528.90	166.30	204.96	612.30	591.90
Mínimo	18.00	13.00	44.00	109.00	13.00	14.00	73.00	108.00
Máximo	275.00	220.00	3527.00	2217.00	1030.00	1128.00	3159.00	2294.00
Mediana	51.00	45.00	261.00	380.00	33.60	35.50	462.00	367.00
p (Mann-Whitney)	0.298		0.380		0.945		0.506	

Tabla 23: Estadísticos descriptivos de la GPT basal y GPT-máx en función de la edad del donante y del grupo de tratamiento

COMPARACIÓN, ENTRE LOS GRUPOS DE ESTUDIO, DE LOS VALORES DE GPT BASAL Y GPT-MÁX

Como en análisis anteriores, se ha aplicado la prueba de Mann-Whitney con objeto de analizar las diferencias en los valores de la GPT basal y la GPT-máx entre los grupos de estudio.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que, lógicamente, no existen diferencias estadísticamente significativas en la **GPT basal** entre pacientes que han recibido un trasplante de un donante menor de 50 años y los pacientes con un donante

mayor de 50 años ($p= 0.264$). Tampoco se obtienen diferencias entre los grupos control y experimental en pacientes con donantes añosos y no añosos como se aprecia en los niveles de significación obtenidos (Tabla 23).

Sin embargo, sí se han obtenido diferencias estadísticamente significativas en el valor de la **GPT-máx** entre los grupos "añoso" y "no añoso" ($p= 0.049$). Como se aprecia en la tabla 22, la mediana de la GPT-máx es superior en el subgrupo de pacientes con donantes mayores de 50 años, que la mediana de GPT-máx en el de pacientes con donantes menores de esta edad (425 UI/L frente a 321.10 UI/L).

Las diferencias observadas entre los 4 grupos resultantes del cruce entre la edad del donante y el tipo de solución de lavado del injerto pueden analizarse desde distintos punto de vista:

1. Analizar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los 4 grupos simultáneamente (prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para varias muestras independientes).

2. Analizar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control y experimental en el subgrupo con donantes menos de 50 años y en el subgrupo con donantes mayores de 50 años de forma independiente (prueba de Mann-Whitney para dos muestras independientes).

3. Analizar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con donantes añosos y no añosos en el subgrupo de pacientes control y en el subgrupo de pacientes experimental de forma independiente (prueba de Mann-Whitney para dos muestras independientes).

De este modo, los resultados son los siguientes:

1. La prueba de Kruskal-Wallis pone de manifiesto que no existen diferencias estadísticamente significativas ni en los valores de GPT basal ($p= 0.481$) ni de GPT-máx ($p= 0.172$) entre los 4 grupos simultáneamente.

2. En el **subgrupo con donantes menores de 50 años**, la mediana de la GPT-máx es superior en el grupo control (380 UI/L frente a 261 UI/L) aunque no de forma estadísticamente significativa ($p= 0.38$).

Por el contrario, en el **subgrupo con donantes mayores de 50 años**, la mediana de la GPT-máx es superior en el grupo tratado con tacrolimus (462 UI/L frente a 367 UI/L) aunque, como en el caso anterior, esta diferencia no es estadísticamente significativa ($p= 0.56$).

3. En el grupo de **pacientes tratados con Tacrolimus**, la mediana de la GPT-máx es significativamente inferior en el grupo con donantes menores de 50 años (261 UI/L frente a 462 UI/L) ($p= 0.043$).

En el **grupo control**, los valores de la mediana de la GPT-máx son similares en los grupos definidos por la edad del donante (380 UI/L en pacientes con donantes ≤ 50 años y 367 UI/L en pacientes con donantes >50 años), de forma que las diferencias no son estadísticamente significativas ($p= 0.432$).

COMPARACIÓN DEL CAMBIO OBSERVADO ENTRE LOS VALORES DE GPT BASALES Y GPT-MÁX

Posteriormente se ha estudiado el cambio producido en los niveles de GPT en las primeras 48 horas postrasplante con respecto a la GPT basal cuantificada en términos absolutos (GPTmáx - GPT basal) y en porcentaje (incremento de GPT con respecto al valor basal * 100).

El valor de la mediana del **incremento absoluto** entre los niveles basales de GPT y el pico máximo en el grupo de pacientes con donantes no añosos es de 264.5 UI/L y en el de pacientes con donantes mayores de 50 años de 374.5 UI/L. Estas diferencias alcanzan la significación estadística ($p= 0.047$).

Sin embargo, el **incremento porcentual** es muy similar en ambos grupos (722.8 en pacientes con donantes no añosos y 793.2 en pacientes con donantes añosos) y no se obtienen diferencias estadísticamente significativas ($p= 0.07$).

En la Tabla 24 se presentan los estadísticos descriptivos del cambio absoluto y porcentual de la GPT en los 4 grupos resultantes del cruce entre grupo de tratamiento y edad del donante.

	Donante \leq 50 años				Donante $>$ 50 años			
	Absoluto		Porcentual		Absoluto		Porcentual	
	Tacro	Control	Tacro	Control	Tacro	Control	Tacro	Control
N	27	33	27	33	37	33	37	33
Media	494.00	476.50	1035.00	1399.00	594.10	564.10	2027.00	1710.80
D. Típica	793.80	533.40	1498.60	2092.00	659.90	545.20	3103.70	2278.40
Mínimo	-2.00	-83.00	-2.67	-37.70	-563.00	-63.00	-54.70	-11.41
Máximo	3397.00	2145.00	6038.90	11546.7	3141.00	1848.00	17450.0	10852.9
Mediana	176.00	298.00	303.45	791.10	418.00	304.00	834.40	771.90
P(Mann-Whitney)	0.295		0.160		0.860		0.755	

Tabla 24: Estadísticos descriptivos del incremento absoluto y porcentual de la GPT en las primeras 48 horas postrasplante en función de la edad del donante y del grupo de tratamiento

1. El incremento absoluto y porcentual no difiere de forma estadísticamente significativa entre los 4 grupos de estudio ($p= 0.171$ y $p= 0.145$, respectivamente).

2. En el grupo de pacientes con **donantes menores de 50 años**, el incremento de la GPT en las primeras 48 horas postrasplante (tanto absoluto como porcentual) es mayor en el grupo control que en el tratado con tacrolimus. Esta diferencia es especialmente notable en términos porcentuales (303.5 en el grupo

con tacrolimus frente a 791.1 en el grupo control), aunque no alcanza la significación estadística ($p= 0.16$).

En el grupo con **donantes mayores de 50 años**, no se obtienen diferencias apreciables en términos absolutos ni, especialmente, en porcentuales.

3. En el grupo tratado con **tacrolimus**, el incremento absoluto es significativamente superior en el subgrupo con donantes añosos (418 UI/L frente a 176 UI/L; $p=0.047$), al igual que el porcentual (834.4 frente a 303.5; $p= 0.035$).

Por el contrario, en el grupo **control**, apenas se observan diferencias ni en términos absolutos (298 UI/L en el grupo con donantes menores de 50 frente a 304 UI/L en el grupo con donantes mayores de 50 años; $p= 0.383$), ni porcentuales (791 en el grupo con donantes menores de 50 frente a 771.9 en el grupo con donantes mayores de 50 años; $p= 0.621$).

CAMBIO EN LOS NIVELES DE GPT A LO LARGO DEL SEGUIMIENTO

Al igual que en el total de la muestra, se ha analizado el cambio en los niveles de GPT a lo largo del estudio desde los siguientes distintos puntos de vista:

- 1. Evolución de la GPT en términos absolutos** desde la visita inicial hasta el final de estudio.
- 2. Cambio en términos absolutos del pico máximo de GPT** en las primeras 48 horas postrasplante en las siguientes visitas del estudio.
- 3. Cambio en porcentaje de GPT** en las siguientes visitas del estudio.

1. En el Gráfico 8 se representa la **evolución de la GPT en términos absolutos** en los grupos definidos por la edad del donante. El test estadístico realizado es la prueba de Mann-Whitney.

Los valores de GPT son significativamente superiores en el grupo de pacientes con donantes mayores de 50 años en las primeras etapas de seguimiento, concretamente desde las 48 horas postrasplante hasta el día 14. Al cabo de un mes, las diferencias desaparecen.

En el gráfico 9 se muestran los valores obtenidos en los 4 grupos definidos por la edad del donante y el grupo de tratamiento.

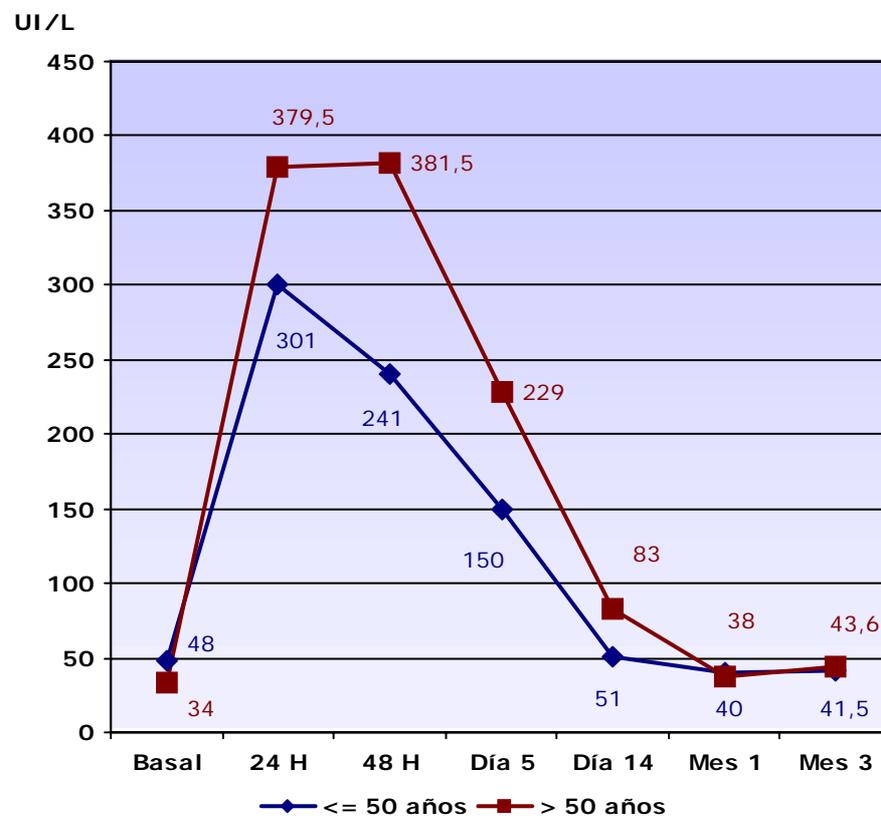


Gráfico 8: Evolución de los niveles de GPT a lo largo del estudio en función de la edad del donante. Mediana. Visita basal: $p= 0.264$. 24 horas: $p= 0.142$. 48 horas: $p= 0.012$. Día 5: $p= 0.021$. Día 14: $p= 0.021$. Mes 1: $p= 0.813$. Mes 3: $p= 0.756$

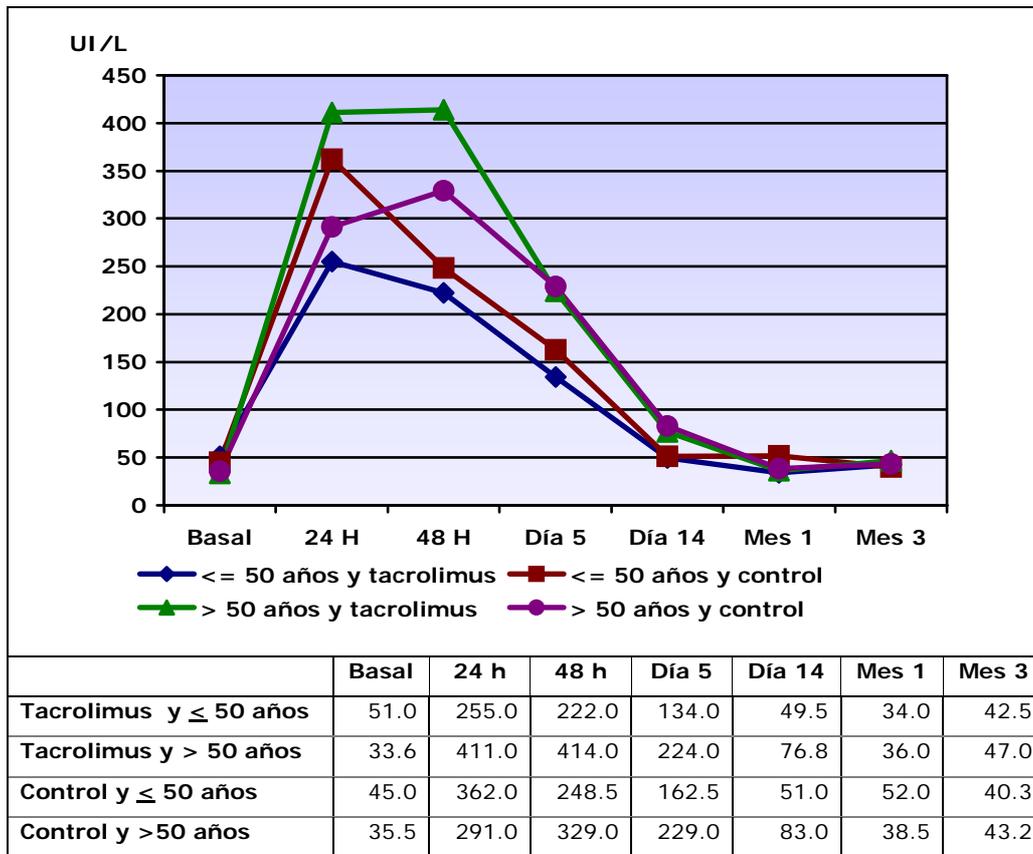


Gráfico 9: Evolución de los niveles de GPT a lo largo del estudio en función de la edad del donante y el tipo de tratamiento. Mediana

- La prueba de Kruskal- Wallis para varias muestras independientes pone de manifiesto que no existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de GPT a lo largo del estudio entre los 4 grupos simultáneamente.

P (Kruskal- Wallis)	Visita basal	24 h	48 h	Día 5	Día 14	Mes 1	Mes 3
	0.481	0.467	0.087	0.136	0.136	0.502	0.852

- En el grupo de pacientes con **donantes menores de 50 años**, no se han obtenido diferencias estadísticamente significativas en los valores de GPT en cada uno de los momentos del estudio en función de la solución de lavado ($p > 0.05$), si bien se aprecia que los valores a lo largo de los primeros 5 días postrasplante son ligeramente superiores en el grupo control.

Tampoco se han obtenido diferencias entre los grupos control y experimental en aquellos pacientes que han recibido el injerto de un **donante mayor de 50 años** ($p > 0.05$), aunque los valores en las primeras 24 y 48 horas postrasplante sean superiores en el grupo tratado con tacrolimus.

P (Mann-Whitney)	Visita basal	24 h	48 h	Día 5	Día 14	Mes 1	Mes 3
	≤ 50 años	0.298	0.500	0.606	0.799	0.813	0.352
> 50 años	0.945	0.820	0.791	0.656	0.631	0.231	0.377

- En el grupo **experimental**, los niveles de GPT desde las 24 horas hasta el primer mes postrasplante, son superiores en el subgrupo de pacientes con donantes mayores de 50 años. Sin embargo, estas diferencias sólo han resultado estadísticamente significativas a las 48 horas postrasplante, en que la mediana de la GPT de los pacientes con donantes menores de 50 años es de 222 UI/L, frente a las 414 UI/L obtenidas en pacientes con donantes añosos ($p = 0.041$).

Por su parte, en el grupo **control**, los niveles de GPT desde las 48 horas hasta el primer mes postrasplante, también son mayores en el

subgrupo de pacientes con donantes de más de 50 años, aunque en ningún caso alcanzan la significación estadística.

P (Mann-Whitney)		Visita	24 h	48 h	Día 5	Día 14	Mes 1	Mes 3
		basal						
	Tacrolimus	0.149	0.163	0.041	0.158	0.206	0.894	0.810
	Control	0.721	0.479	0.150	0.070	0.053	0.922	0.500

2. La mediana de las **diferencias entre la GPT-máx y la GPT en cada una de las visitas en términos absolutos** del estudio, en los grupos definidos por la edad del donante, se representa en el gráfico 10. Si bien se aprecia que estas diferencias son mayores en el grupo con donantes mayores de 50 años (y, por tanto, el descenso de la GPT ha sido superior), no han resultado estadísticamente significativas.

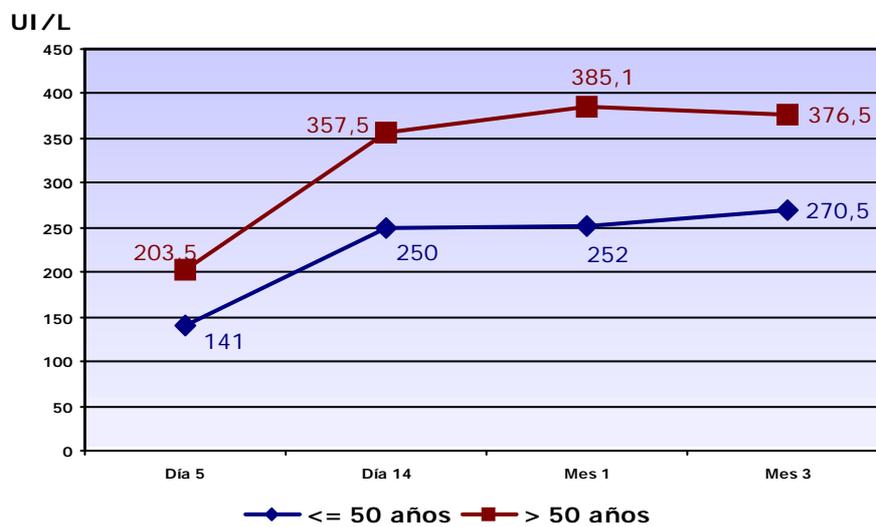


Gráfico 10: Diferencia entre GPT-máx y GPT en el resto de las visitas en función de la edad del donante. Mediana. Día 5: $p= 0.320$. Día 14: $p= 0.222$. Mes 1: $p= 0.058$. Mes 3: $p= 0.104$

Los resultados obtenidos en cada uno de los cuatro grupos resultantes de la división de la muestra inicial por la edad del donante y el tipo de tratamiento, se muestran en el gráfico 11.

- No hay diferencias estadísticamente significativas entre los 4 grupos simultáneamente en la diferencia absoluta entre el pico máximo de la GPT en las primeras 48 horas postrasplante y los valores de GPT a lo largo del estudio.

P (Kruskal-Wallis)	Día 5	Día 14	Mes 1	Mes 3
	0.315	0.440	0.219	0.332

- En el grupo de pacientes con **donantes menores de 50 años**, la diferencia absoluta entre el valor máximo de la GPT en las primeras 48 horas postrasplante y la GPT en cada una de las visitas, es ligeramente superior en el grupo control, pero en ningún caso se alcanza la significación estadística.

En aquellos pacientes con **donantes mayores de 50 años**, por el contrario, la diferencia entre GPT- máx y la GPT medida en cada una de las visitas es superior en el grupo tratado con tacrolimus, lo que significa que el descenso de la GPT ha sido mayor. Sin embargo, las diferencias tampoco son estadísticamente significativas.

P (Mann-Whitney)		Día 5	Día 14	Mes 1	Mes 3
	≤ 50 años	0.523	0.243	0.531	0.393
	> 50 años	0.200	0.651	0.535	0.787

- En el grupo tratado con **tacrolimus** la diferencia entre GPT-máx y la GPT a lo largo del seguimiento es mayor en el subgrupo de pacientes con donante mayor de 50 años y, por tanto, el descenso de la GPT ha sido mayor, aunque no alcanza la significación estadística salvo en el mes 1 en que se roza dicha significación ($p= 0.05$).

P (Mann-Whitney)		Día 5	Día 14	Mes 1	Mes 3
	Tacrolimus	0.064	0.114	0.050	0.085
	Control	0.717	0.798	0.512	0.509

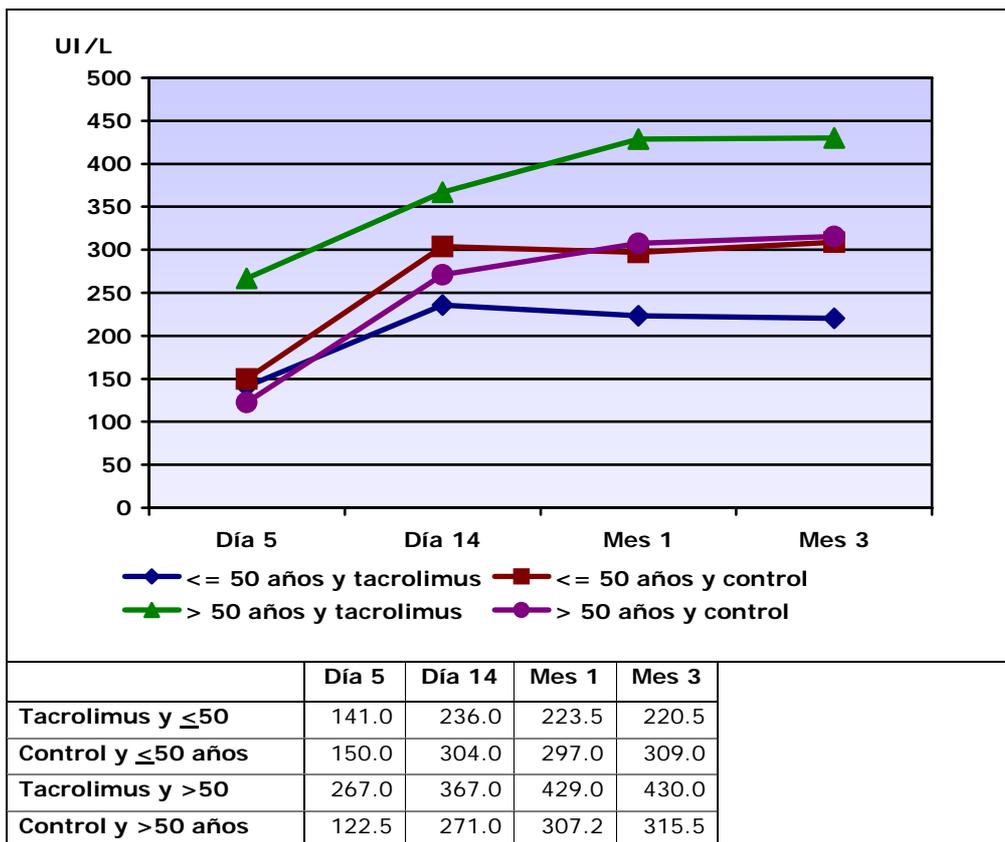


Gráfico 11: Diferencia entre GPT-máx y GPT en el resto de las visitas en función de la edad del donante y el tipo de tratamiento. Mediana.

En el grupo **control** apenas se observan diferencias en función de la edad del donante, y en ningún caso se obtienen diferencias estadísticamente significativas.

3. Por último, se ha evaluado el **cambio en la GPT a lo largo del seguimiento** desde el valor máximo obtenido en las primeras 48 horas en términos **porcentuales**. Los análisis realizados ponen de manifiesto que no hay diferencias estadísticamente significativas en función de la edad del donante (Gráfico 12).

En el Gráfico 13 se representan los resultados obtenidos en los 4 grupos de estudio.

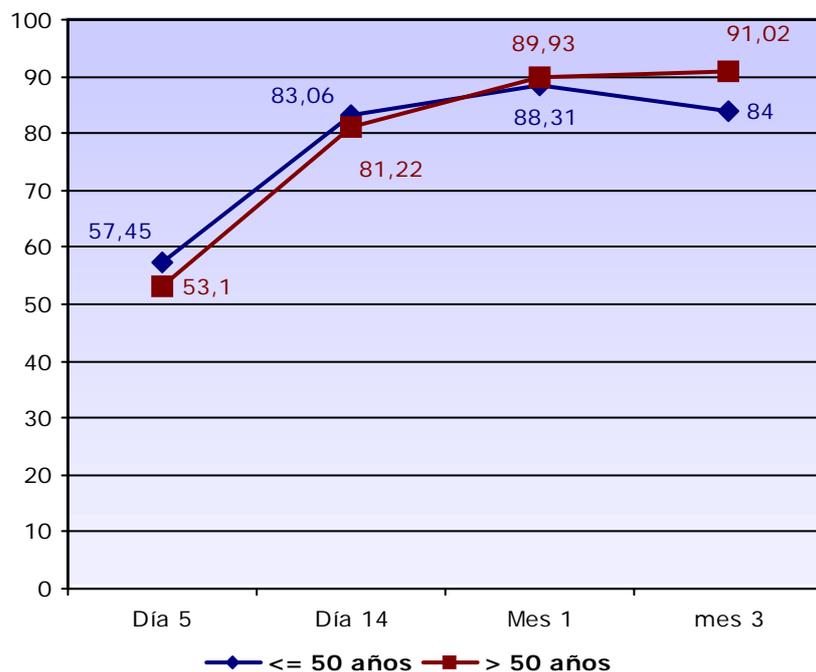


Gráfico 12: Diferencia entre GPT-máx y GPT en el resto de las visitas en términos porcentuales en función de la edad del donante. Mediana. Día 5: $p= 0.536$.

Día 14: $p= 0.585$. Mes 1: $p= 0.118$. Mes 3: $p= 0.175$

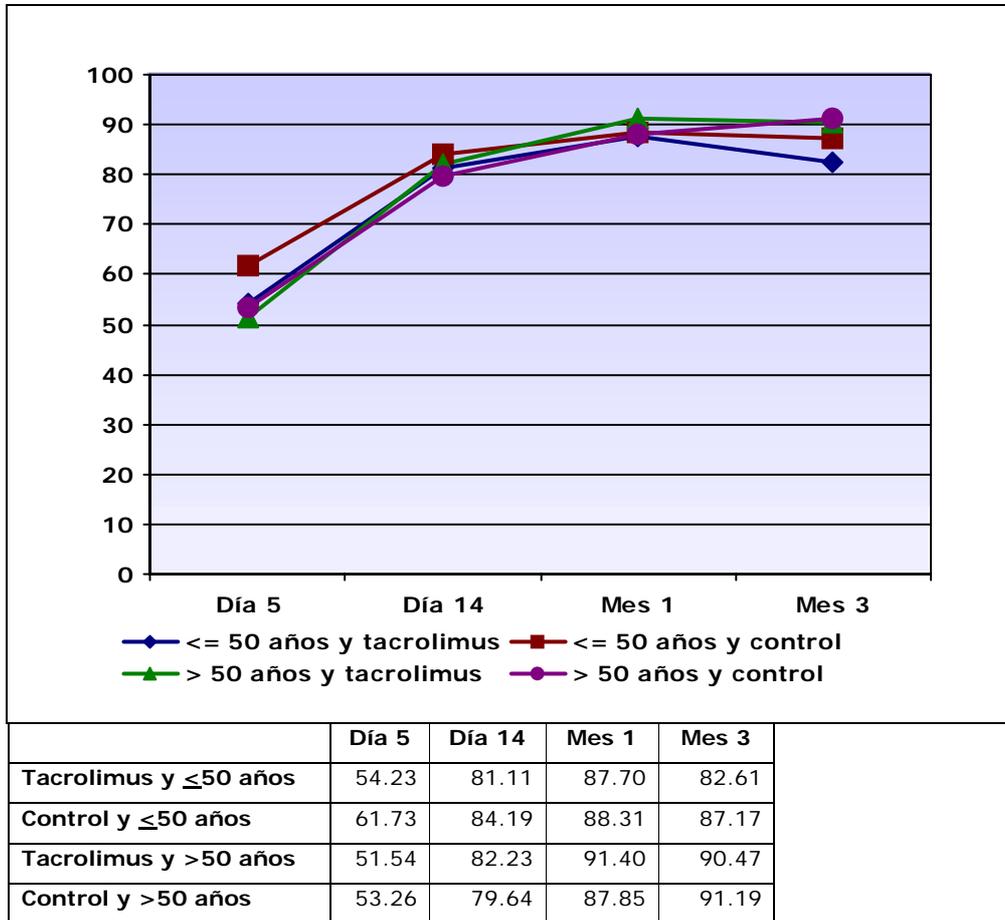


Gráfico 13: Diferencia entre GPT-máx y GPT en el resto de las visitas en términos porcentuales en función de la edad del donante y el grupo de tratamiento. Mediana.

- No se han obtenido diferencias estadísticamente significativas en los grupos definidos por la edad del donante y el grupo de tratamiento.

P (Kruskal-Wallis)	Día 5	Día 14	Mes 1	Mes 3
	0.727	0.589	0.259	0.550

- En el grupo de pacientes con **donantes menores de 50 años**, el cambio porcentual en el pico máximo de la GPT con respecto a los valores de GPT de cada visita no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control y experimental ($p > 0,05$).

En los pacientes con **donantes mayores de 50 años**, tampoco se aprecian diferencias entre los tratados con tacrolimus y el grupo control ($p > 0,05$).

P		Día 5	Día 14	Mes 1	Mes 3
(Mann-Whitney)	≤ 50 años	0.408	0.222	0.754	0.646
	> 50 años	0.580	0.615	0.353	0.878

- Por último, ni en el grupo de pacientes con **tacrolimus** ni en el grupo **control** se observan diferencias apreciables entre los subgrupos definidos por la edad del donante.

P		Día 5	Día 14	Mes 1	Mes 3
(Mann-Whitney)	Tacrolimus	0.790	0.639	0.121	0.268
	Control	0.286	0.230	0.600	0.394

En resumen, los resultados ponen de manifiesto que en el grupo de pacientes con donantes añosos, el pico máximo de la GPT en las primeras 48 horas postrasplante y los niveles de GPT a lo largo de las primeras semanas de seguimiento, son significativamente superiores que en el grupo de pacientes con donantes menores de 50 años. Paralelamente, el descenso, en términos absolutos, de la GPT a lo largo del estudio partiendo de la GPT-máx, es superior en pacientes con donantes añosos aunque no de forma estadísticamente significativa. No se observan, sin embargo, diferencias en el descenso porcentual.

Un comportamiento muy similar se obtiene en el grupo de pacientes experimentales, pero no así en el grupo control, donde la variación de la variable principal es muy similar en pacientes con donantes menores de 50 años o mayores de esta edad.

NORMALIZACIÓN DE LA GPT EN FUNCIÓN DEL GRUPO DE ESTUDIO Y LA EDAD DEL DONANTE

El porcentaje acumulado de pacientes con valores normales de GPT en cada una de las visitas del estudio, en función de la edad del donante y el grupo de estudio, se representa en el Gráfico 14.

En ningún caso los resultados han sido estadísticamente significativos a pesar de que en casi todas las visitas de seguimiento, el porcentaje de pacientes que han normalizado la GPT en esa visita o en días anteriores, es ligeramente mayor en el grupo experimental y con donantes menores de 50 años.

En el gráfico 15 se representa el valor de la media y de la mediana del tiempo transcurrido hasta el primer valor normal de GPT en el grupo de pacientes que han normalizado la GPT en algún momento del estudio. Los resultados no son estadísticamente significativos ($p= 0.604$), si bien el tiempo medio es inferior en el grupo experimental tanto en pacientes con donantes añosos como en no añosos). Los valores de la mediana son prácticamente equivalentes en los 4 grupos de estudio (Prueba de Kruskal-Wallis: $p= 0.844$; prueba de la mediana: $p= 0.647$).

Por último, la velocidad de normalización de la GPT en cada uno de los 4 grupos no muestra una tendencia clara (Gráfico 16) aunque los pacientes del grupo control con donantes mayores de 50 años son los que presentan una menor velocidad de normalización. Los resultados, sin embargo, no son estadísticamente significativos (test de log-rank: 1.43; $p= 0.698$).

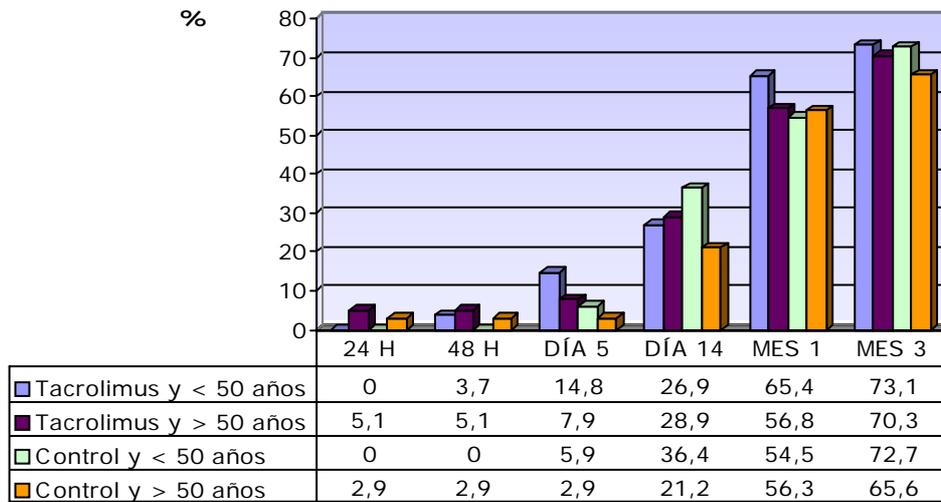


Gráfico 14: Porcentaje acumulado de pacientes con valores de GPT normales en cada una de las visitas del estudio en función del grupo de estudio y la edad del donante

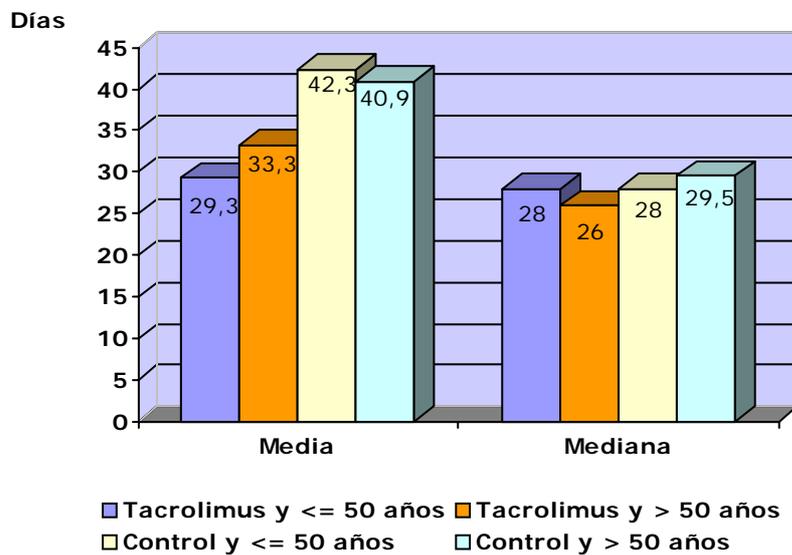


Gráfico 15: Valor de la media y de la mediana en el tiempo transcurrido hasta el primer valor normal de la GPT.

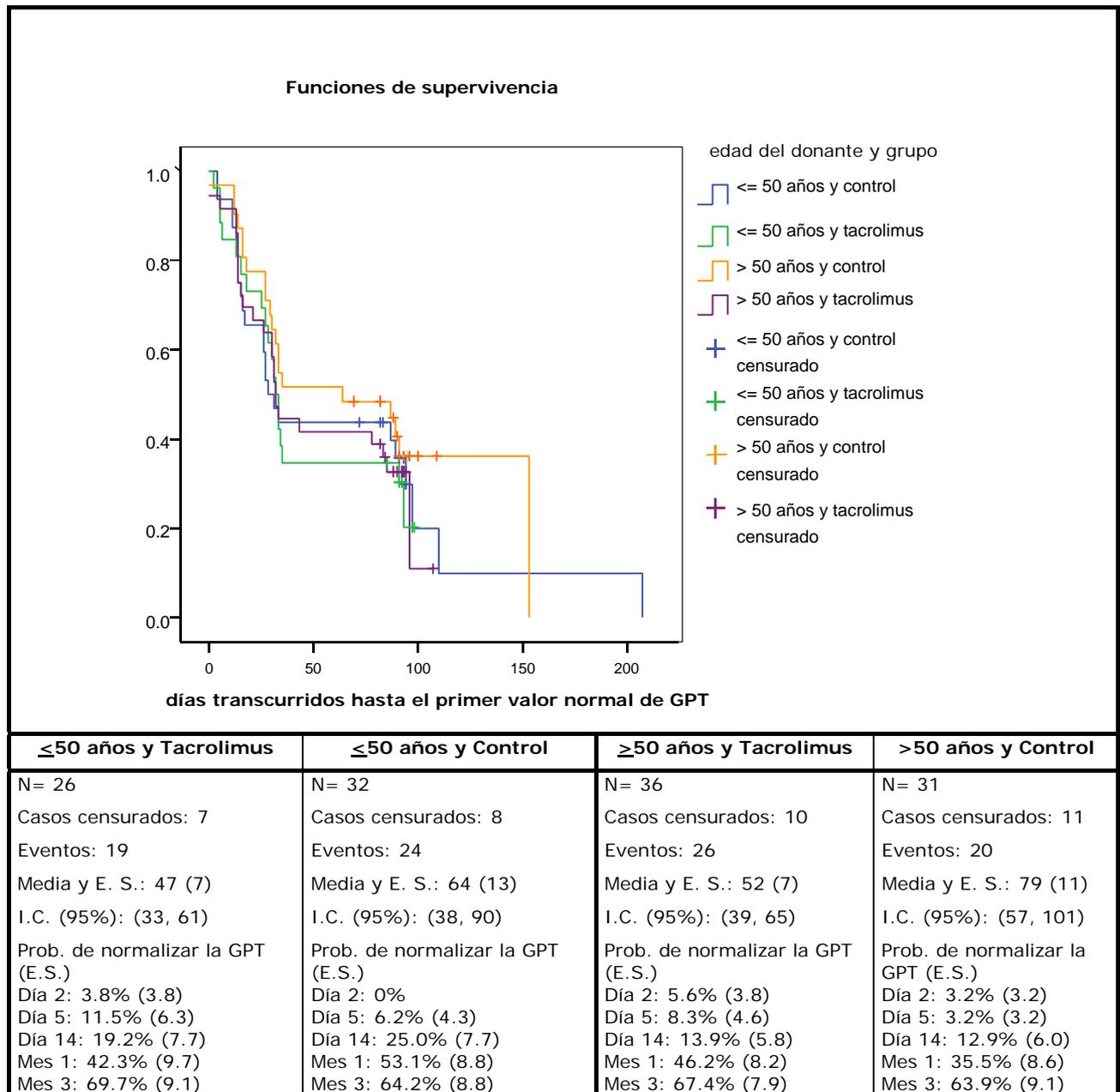


Gráfico 16: Normalización de la GPT. Curvas de supervivencia en función de los grupos de tratamiento y la edad del donante

3.- ANÁLISIS DE LAS VARIABLES SECUNDARIAS

3.1.- ANÁLISIS DE LAS VARIABLES SECUNDARIAS CUANTITATIVAS: EVALUACIÓN DEL VALOR MÁXIMO DE LAS VARIABLES OBTENIDO EN LAS PRIMERAS 48 HORAS POSTRASPLANTE.

Las variables secundarias cuantitativas analizadas son, según se describe en el protocolo, la GOT, γ -GT, bilirrubina, actividad de protrombina e INR. Los pasos seguidos en el tratamiento estadístico de estas variables son los mismos que los realizados para la variable principal.

Los estadísticos descriptivos basales de las variables descritas ya se han mostrado en la Tabla 13. En el Anexo I se detallan los estadísticos descriptivos de todas las determinaciones analíticas en cada una de las visitas del estudio.

El **valor máximo de las variables en las 48 horas postrasplante** se ha definido, al igual que en el caso de la GPT, como el dato más alto de los referidos en la visita 2 (24 horas) o en la visita 3 (48 horas).

Los estadísticos descriptivos de estos valores se detallan en las Tablas 25 (total de la muestra) y 26 (por grupos de estudio), así como los niveles de significación obtenidos en los tests estadísticos.

EVALUACIÓN DEL CAMBIO ENTRE LOS VALORES MÁXIMOS Y LOS VALORES BASALES INICIALES DE LAS VARIABLES SECUNDARIAS EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO

Como en el caso de la GPT, en primer lugar se han analizado las posibles diferencias entre los valores de los parámetros secundarios en la visita basal y los

valores máximos en cada uno de los grupos de estudio. Para ello, se ha aplicado la prueba de Wilcoxon. De este modo, los valores máximos de GOT, bilirrubina e INR han resultado significativamente superiores que los valores basales de estos parámetros ($p < 0.05$). Sin embargo, el pico máximo de γ GT y de la actividad de protrombina no difieren de forma significativa de los valores basales ($p > 0.05$) (Tabla 26).

COMPARACIÓN, ENTRE LOS GRUPOS DE ESTUDIO, DE LOS VALORES DE MÁXIMOS DE LAS VARIABLES SECUNDARIAS

En este caso, se ha aplicado la prueba de Mann-Whitney con el fin de analizar si existen diferencias significativas en los picos máximos de las variables secundarias entre los grupos de estudio.

	GOT (UI/L)	γ GT (UI/L)	Bilirrubina (mg/dL)	protrombina (%)	INR
Media	681.89	127.17	6.74	70.35	1.72
Mínimo	63.00	19.00	0.20	39.00	0.90
Máximo	7888.00	763.00	218.00	150.50	4.21
Desviación típica	1017.39	125.04	23.74	17.80	0.54
Percentil 25	218.25	49.50	1.70	56.60	1.40
Percentil 50 (mediana)	374.50	82.00	3.36	68.60	1.60
Percentil 75	662.75	149.00	5.30	80.00	1.90

Tabla 25: Estadísticos descriptivos de los valores máximos 48 h postrasplante de las variables secundarias. Total de la muestra

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que no puede afirmarse que existan diferencias estadísticamente significativas en los valores máximos de GOT, γ GT, bilirrubina, actividad de la protrombina e INR entre los grupos control y experimental ($p > 0.05$).

	Máximo GOT		Máximo γ GT		Máximo Bilirrubina		Máximo Actividad Protrombina		INR	
	Tacrol.	Control	Tacrol.	Control	Tacrol.	Control	Tacrol.	Control	Tacrol.	Control
Media	793.79	573.49	110.35	143.12	6.62	6.86	70.07	70.63	1.75	1.69
Mínimo	66.00	63.00	19.00	21.00	0.40	0.20	39.00	40.00	0.90	0.99
Máximo	7888.0	2520.0	495.00	763.00	170.00	218.00	113.60	150.50	4.09	4.21
Desviación típ.	1341.3	536.23	109.54	137.19	20.92	26.30	15.81	19.80	0.56	0.53
Percentil 25	208.25	241.25	47.00	64.75	1.75	1.70	56.20	57.45	1.40	1.40
Percentil 50 (mediana)	376.00	374.50	74.00	92.50	3.72	3.30	70.00	67.00	1.61	1.60
Percentil 75	662.75	706.95	109.00	164.55	5.78	5.20	81.25	78.85	1.98	1.90
p (Wilcoxon) *	< 0.001	< 0.001	0.636	0.115	0.013	0.005	0.343	0.146	< 0.001	0.008
p (Mann-Whitney) **	0.270		0.389		0.771		0.659		0.269	

Tabla 26: Estadísticos descriptivos de los valores máximos 48 h postrasplante de las variables secundarias. Grupos de estudio. * Significación obtenida en la Prueba de Wilcoxon (comparación entre los valores basales y el pico máximo de la variable). ** Significación obtenida en la Prueba de Mann-Whitney (comparación entre los grupos de estudio del pico máximo de cada variable)

COMPARACIÓN, ENTRE LOS GRUPOS DE ESTUDIO, DEL CAMBIO OBSERVADO ENTRE LOS VALORES BASALES Y LOS VALORES MÁXIMOS DE LAS VARIABLES SECUNDARIAS

A continuación se ha estudiado el cambio producido en los niveles de GOT, γ GT, bilirrubina, actividad de protrombina e INR en las primeras 48 horas

postrasplante evaluando la variación observada entre los valores basales de estos parámetros y los picos máximos. Dicha variación se ha cuantificado tanto en términos absolutos como en porcentaje con respecto al valor basal.

En los grupos de estudio, los estadísticos descriptivos del **incremento absoluto** de estas variables se detallan en la Tabla 27. Se ha aplicado el test de Mann-Whitney para comprobar si existen diferencias en este incremento entre los grupos de estudio y los resultados no han alcanzado la significación estadística en caso alguno. Por tanto, no se puede afirmar que existan diferencias significativas, entre el grupo control y experimental, en la magnitud del aumento de las variables secundarias en las primeras 48 horas postrasplante con respecto a los valores iniciales.

	GOT		γ GT		Bilirrubina		A. Protrombina		INR	
	Máx - Basal		Máx - Basal		Máx - Basal		Máx - Basal		Máx - Basal	
	Tacrol.	Control	Tacrol.	Control	Tacrol.	Control	Tacrol.	Control	Tacrol.	Control
Media	630.7	508.9	8.6	35.99	2.59	3.82	2.70	6.42	0.31	0.22
Mínimo	-807.0	-269.0	-467.0	-524.00	-30.60	-8.40	-44.00	-33.00	-1.47	-0.82
Máximo	7822.0	2454.0	456.0	729.00	152.90	202.76	42.00	72.70	2.39	2.43
Desviación típ.	1329.3	546.9	134.3	164.73	19.76	25.04	18.05	23.53	0.60	0.54
Percentil 25	123.0	181.2	-31.5	-25.00	-0.33	-0.53	-11.00	-8.80	0.00	-0.06
Percentil 50 (mediana)	255.0	337.0	4.0	9.00	0.72	0.90	5.00	3.50	0.30	0.18
Percentil 75	598.3	677.5	42.8	89.50	2.57	2.71	14.00	22.32	0.52	0.46
p (Mann-Whitney)	0.27		0.389		0.771		0.659		0.269	

Tabla 27: Estadísticos descriptivos del incremento absoluto (respecto a los valores basales) de las variables secundarias en las primeras 48 horas postrasplante.

Similares resultados se han obtenido al evaluar el aumento de las variables en términos porcentuales con respecto a los valores basales (Tabla 28). En consecuencia,

no se obtienen diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de cambio de las variables secundarias entre los grupos de estudio.

En conjunto, estos resultados ponen de manifiesto que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos control y experimental en la magnitud del cambio de la GOT, γ GT, bilirrubina, actividad de protrombina e INR entre los valores basales iniciales y el pico máximo en las 48 horas postrasplante, tanto en términos absolutos como porcentuales.

	GOT		γ GT		Bilirrubina		A. Protrombina		INR	
	Cambio porcentual		Cambio porcentual		Cambio porcentual		Cambio porcentual		Cambio porcentual	
	Tacrol.	Control								
Media	65.6	73.0	-27.0	-1.7	-4.7	-.7	1.3	4.2	11.6	9.1
Mínimo	-84.5	-86.2	-6.3	-12.2	-23.8	-36.8	-7.4	-4.6	-18.1	-12.8
Máximo	249.8	202.3	915.7	191.2	343.8	323.1	112.8	72.5	163.3	41.4
Desviación típ.	99.6	98.0	95.9	95.5	89.9	95.0	54.0	74.9	58.4	57.7
Percentil 25	54.6	45.9	152.0	78.8	101.5	98.5	28.9	31.8	36.6	22.9
Percentil 50 (mediana)	60.4	76.1	-50.8	-47.1	-25.7	-25.6	-19.0	-15.8	-.2	-4.7
Percentil 75	92.0	93.6	52.9	65.3	63.2	61.7	15.4	28.4	28.8	23.1
p (Mann-Whitney) *	0.539		0.469		0.687		0.699		0.241	

Tabla 28: Estadísticos descriptivos del incremento porcentual (respecto a los valores basales) de las variables secundarias en las primeras 48 horas postrasplante

CAMBIO EN LOS NIVELES DE LAS VARIABLES SECUNDARIAS A LO LARGO DEL SEGUIMIENTO

Se ha analizado el cambio en los niveles de las variables secundarias a lo largo del estudio de la misma forma que se realizó con la variable principal, es decir, desde 3 puntos de vista:

1. Cambio en términos absolutos desde la visita inicial hasta el final de estudio.

2. Cambio en términos absolutos de cada variable a lo largo del estudio con respecto al pico máximo de las en las primeras 48 horas postrasplante.

3. Cambio porcentual de cada variable en las siguientes visitas del estudio con respecto al valor máximo.

En los Gráficos 17-21 se representa la evolución de las variables secundarias en términos absolutos. Se ha representado el valor de la mediana en las variables no normales (GOT, γ GT y bilirrubina) y la media en las normales (Actividad de Protrombina e INR).

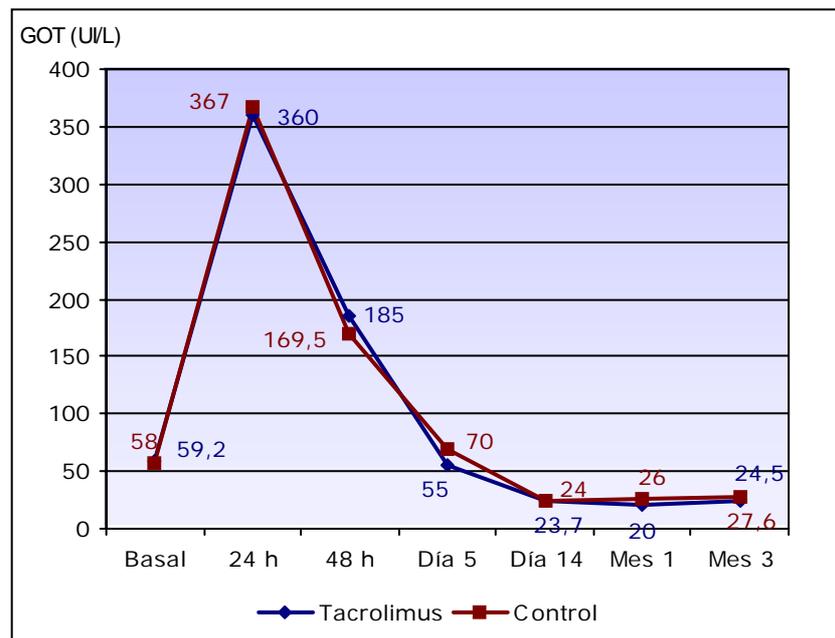


Gráfico 17: Evolución de la GOT a lo largo del estudio. Mediana

En dichos gráficos se observa que indicadores hepáticos como la GOT y la bilirrubina disminuyen progresivamente a lo largo del estudio desde valores máximos iniciales. No ocurre así, sin embargo, con la γ GT, que asciende lentamente en las primeras 48 horas y de manera notable hasta el día 14, para posteriormente disminuir de forma brusca.

Los parámetros de coagulación evolucionan progresivamente hacia valores normales (aumento de la Actividad de la Protrombina hacia valores más cercanos al 100% y descenso del INR hasta cifras muy próximas a 1).

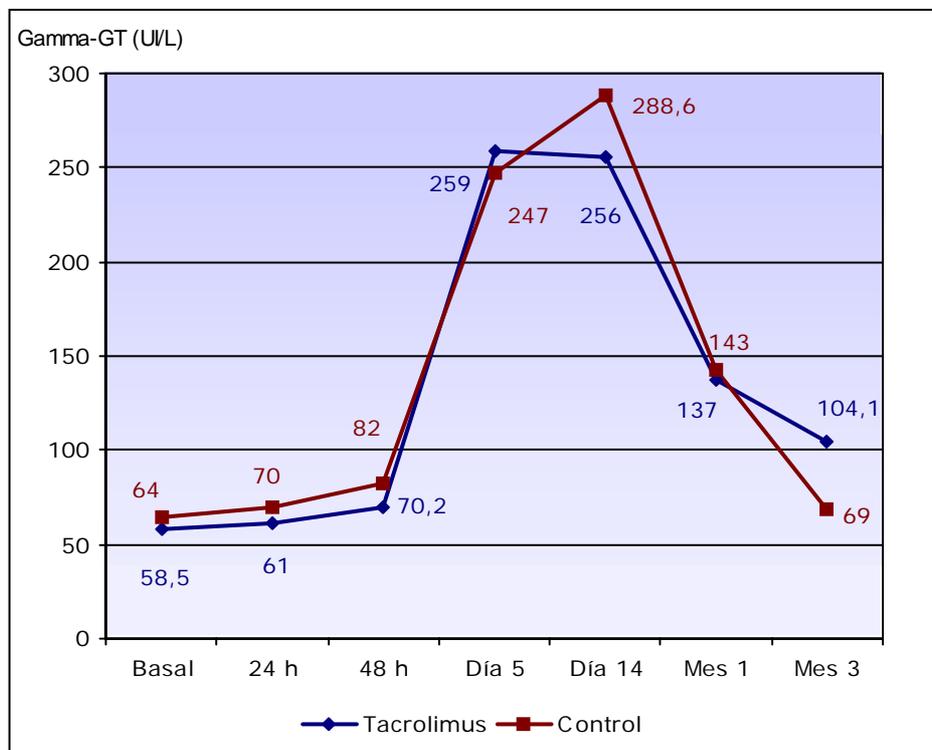


Gráfico 18: Evolución de la γ GT a lo largo del estudio. Mediana

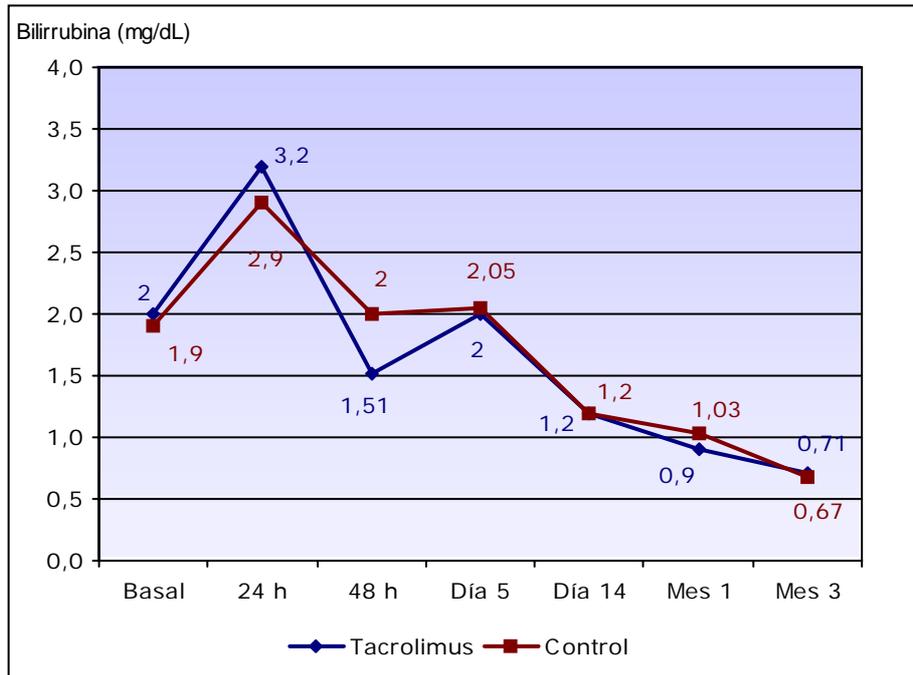


Gráfico 19: Evolución de la bilirrubina a lo largo del estudio. Mediana

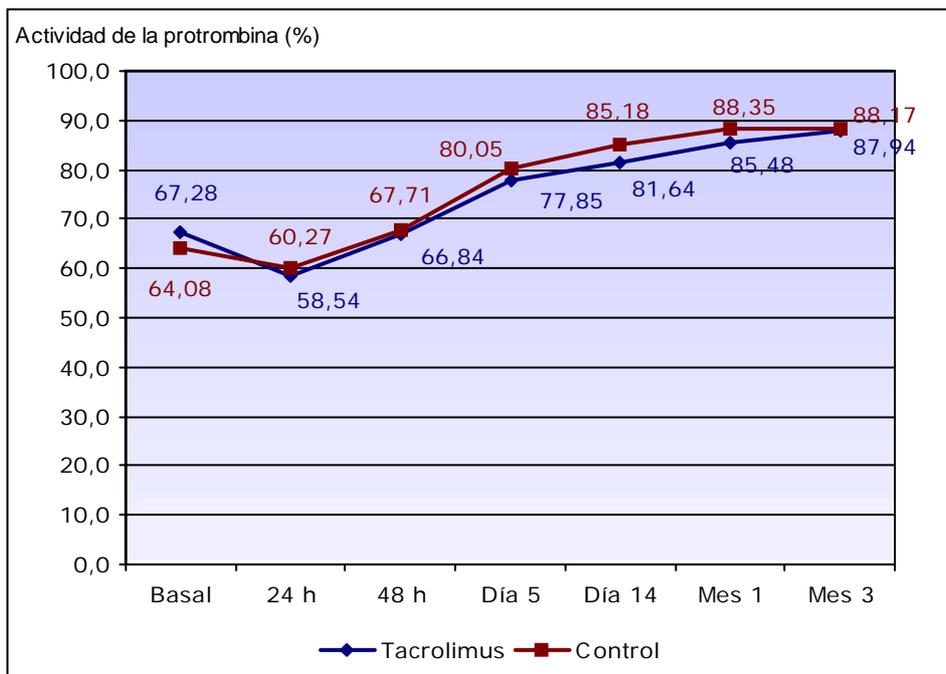


Gráfico 20: Evolución de la actividad de la protrombina a lo largo del estudio. Media

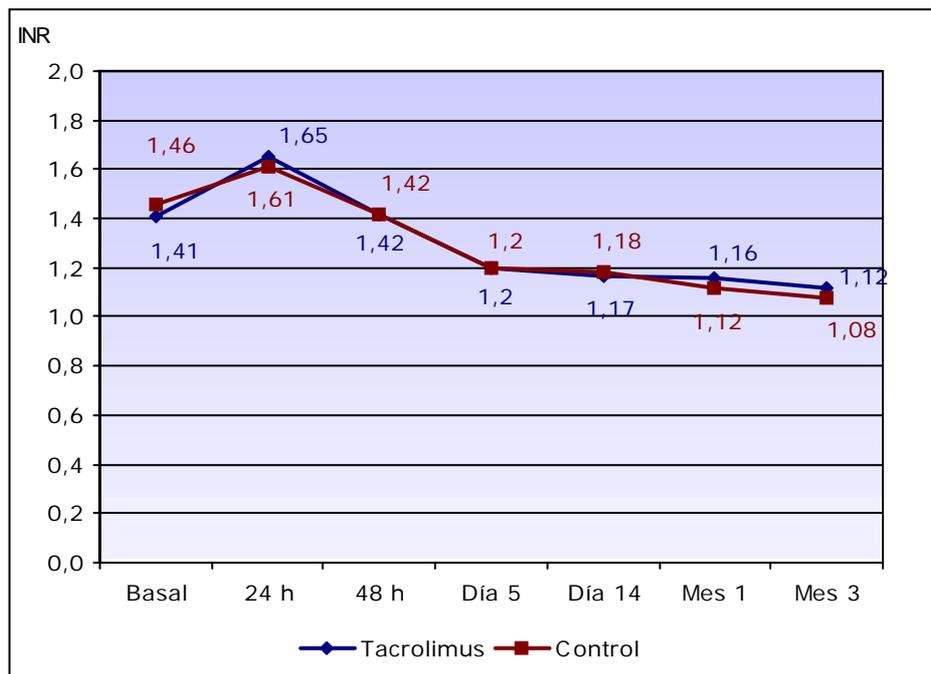


Gráfico 21: Evolución del INR a lo largo del estudio. Media

El test estadístico realizado para comparar las diferencias entre los grupos es la prueba de Mann-Whitney en las variables no normales y la t-Student en las normales. En ningún caso se han obtenido diferencias estadísticamente significativas, como puede observarse en la Tabla 29, donde se resumen los niveles de significación obtenidos en cada una de las pruebas realizadas.

La diferencia, en **términos absolutos**, entre los picos máximos y las determinaciones de cada variable en cada una de las visitas se representa en los Gráficos 22-26. En ellos se representa la diferencia entre el pico máximo de las variables secundarias y el valor de las mismas en las visitas 4, 5 6 y 7. No se muestran las diferencias con las visitas 2 y 3 (24 y 48 horas) ya que el valor máximo se obtiene, precisamente, del dato más alto observado en cualquiera de estas dos visitas. Como en el caso anterior, el valor representado es el de la mediana en las variables no normales y la media en las normales.

	GOT (*)	γ GT (*)	BILIRRUBINA (*)	A. PROTROMBINA (**)	INR (**)
BASAL	0.902	0.895	0.559	0.380	0.520
24 h	0.791	0.263	0.587	0.622	0.685
48 h	0.704	0.105	0.897	0.821	0.960
DÍA 5	0.196	0.830	0.775	0.498	0.875
DÍA 14	0.914	0.489	0.942	0.228	0.891
MES 1	0.117	0.766	0.650	0.382	0.458
MES 3	0.600	0.399	0.103	0.955	0.392

Tabla 29: Nivel de significación obtenido en la comparación entre los grupos de estudio

* Prueba de Mann-Whitney; ** T de Student

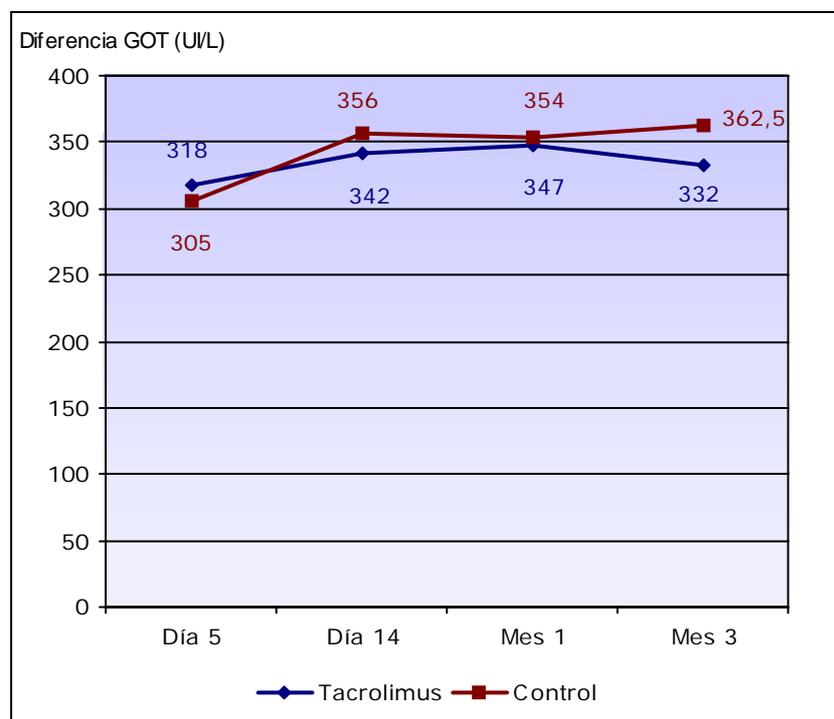


Gráfico 22: Diferencia absoluta entre GOT-máx y GOT a lo largo del estudio. Mediana

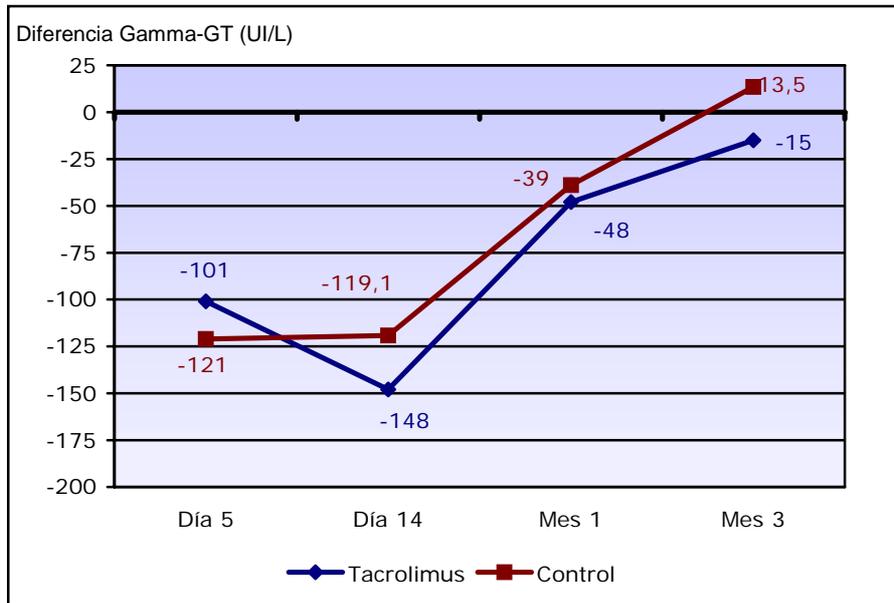


Gráfico 23: Diferencia absoluta entre γ GT -máx y γ GT a lo largo del estudio. Mediana

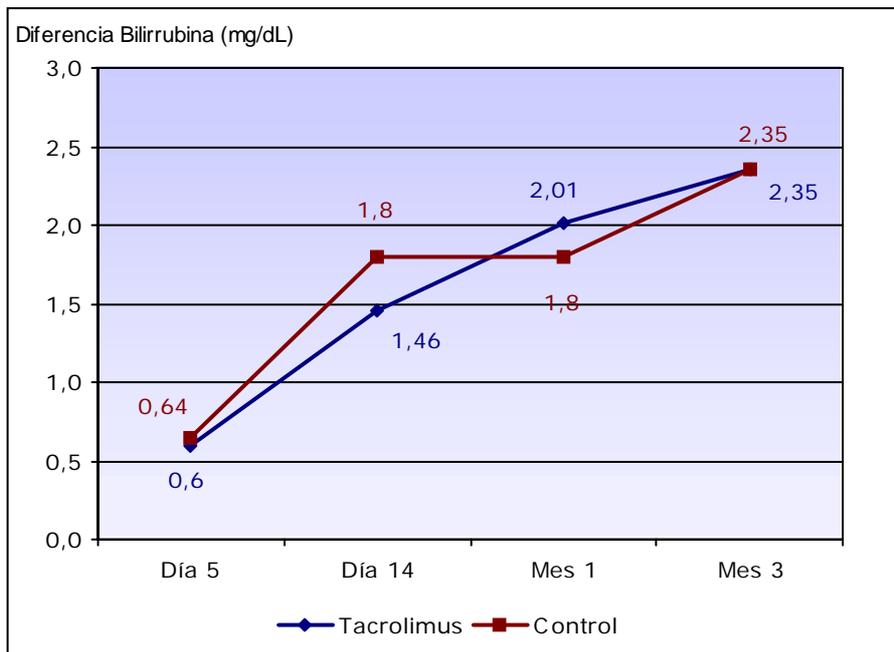


Gráfico 24: Diferencia absoluta entre bilirrubina-máx y bilirrubina a lo largo del estudio. Mediana

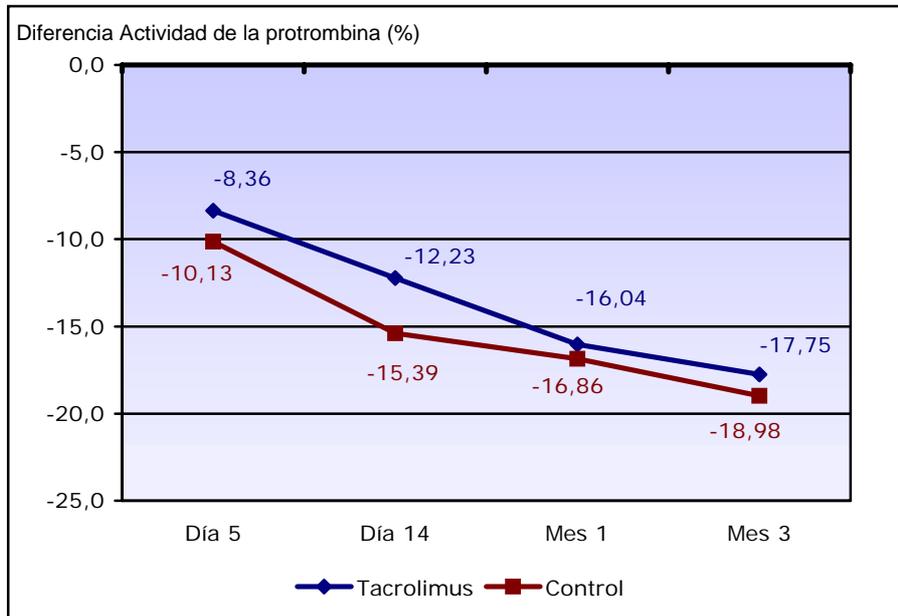


Gráfico 25: Diferencia absoluta entre A. de protrombina-máx y A. de Protrombina a lo largo del estudio. Media

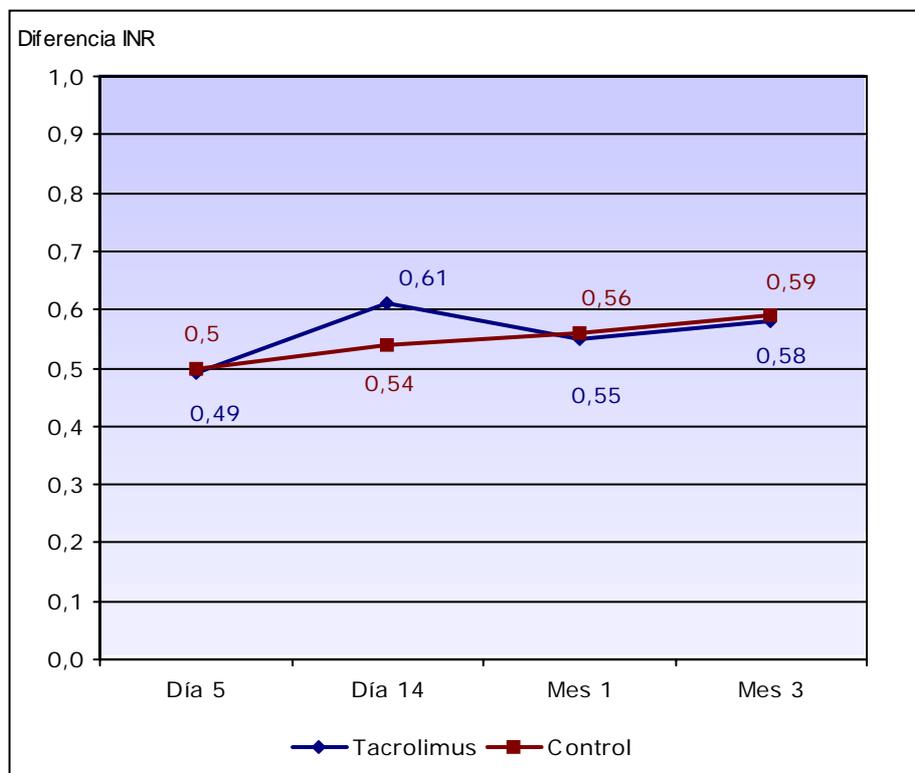


Gráfico 26: Diferencia absoluta entre INR-máx e INR a lo largo del estudio. Media

	GOT (*)	γ GT (*)	BILIRRUBINA (*)	A. PROTROMBINA (**)	INR (**)
DÍA 5	0.642	0.851	0.919	0.533	0.882
DÍA 14	0.639	0.762	0.510	0.392	0.599
MES 1	0.989	0.323	0.777	0.815	0.971
MES 3	0.596	0.214	0.869	0.771	0.981

Tabla 30: Nivel de significación obtenido en la comparación entre los grupos de estudio de la diferencia absoluta entre los picos máximos de cada variable y su valor en cada visita

** Prueba de Mann-Whitney; ** T de Student*

En la tabla 30 se detallan los niveles de significación obtenidos en las pruebas realizadas. Como se puede comprobar, no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en la diferencia absoluta entre los valores máximos y en cada momento del estudio en ninguna de las variables secundarias.

Por último, en los Gráficos 27-31 se representa el **porcentaje** de la reducción de las variables secundarias a lo largo del período de seguimiento con respecto a su pico máximo.

No se han obtenido diferencias estadísticamente significativas en caso alguno como se manifiesta en la Tabla 31.

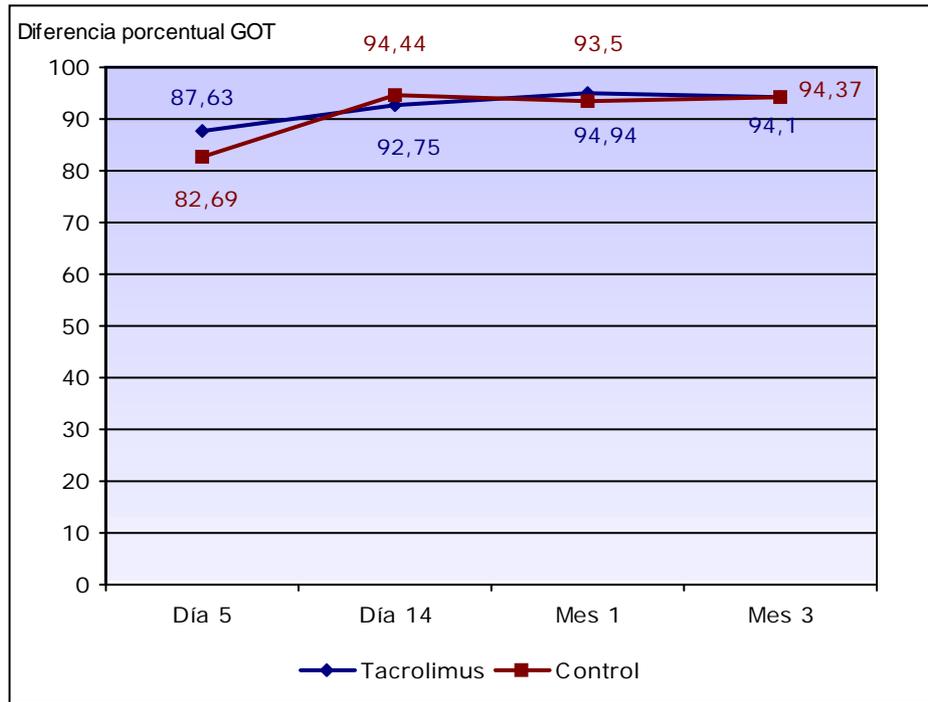


Gráfico 27: Diferencia porcentual entre GOT-máx y GOT a lo largo del estudio.

Mediana

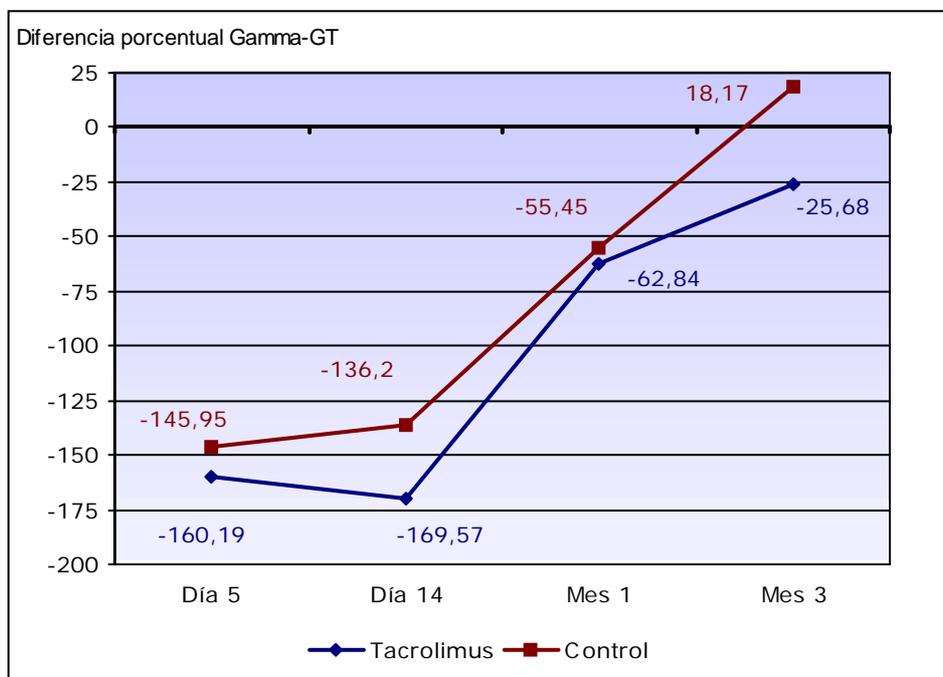


Gráfico 28: Diferencia porcentual entre γ GT -máx y γ GT a lo largo del estudio. Mediana

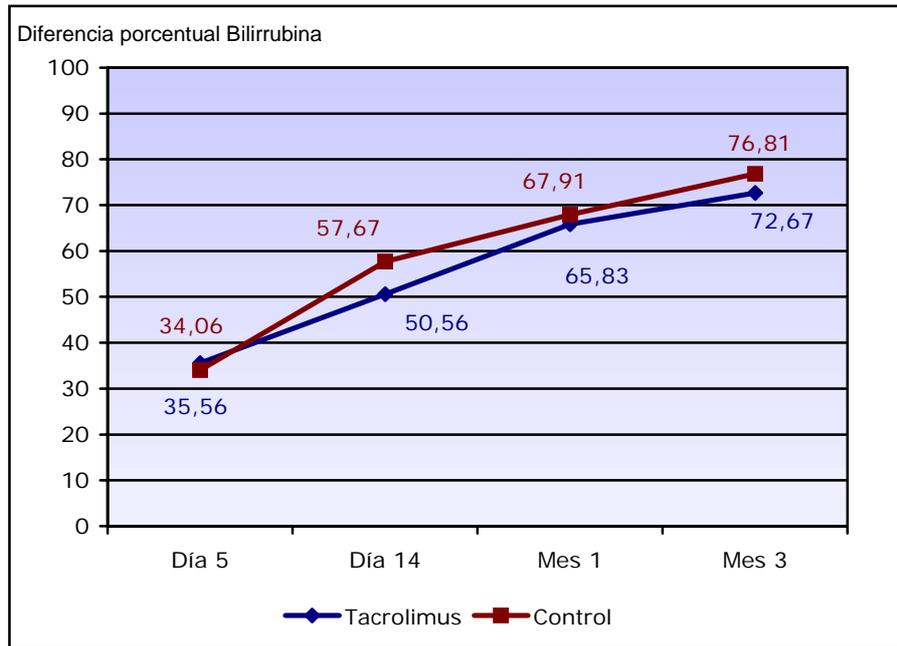


Gráfico 29: Diferencia porcentual entre bilirrubina-máx y bilirrubina a lo largo del estudio. Mediana

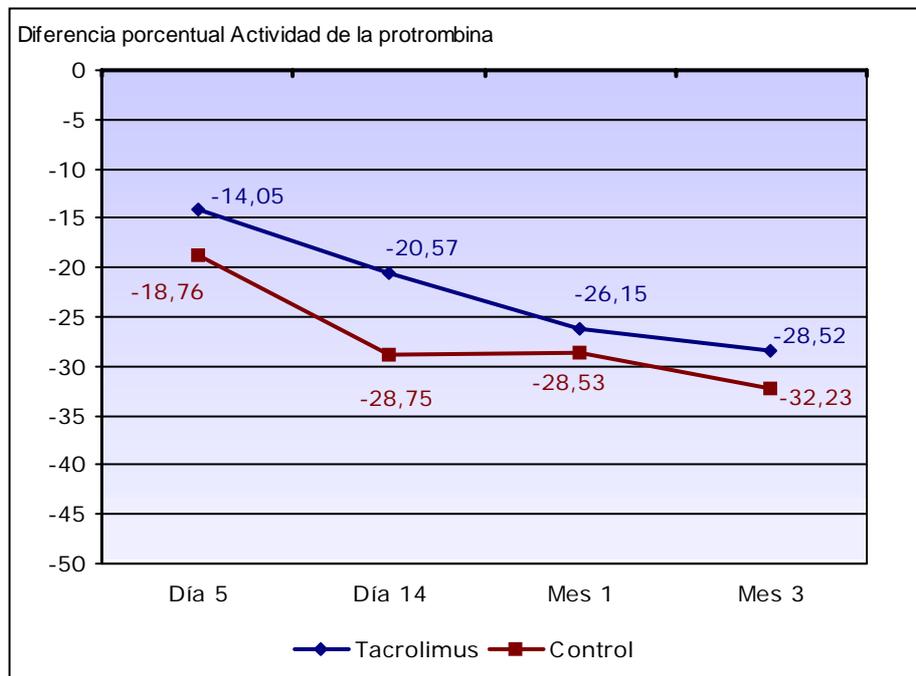


Gráfico 30: Diferencia porcentual entre A. de protrombina-máx y A. de Protrombina a lo largo del estudio. Media

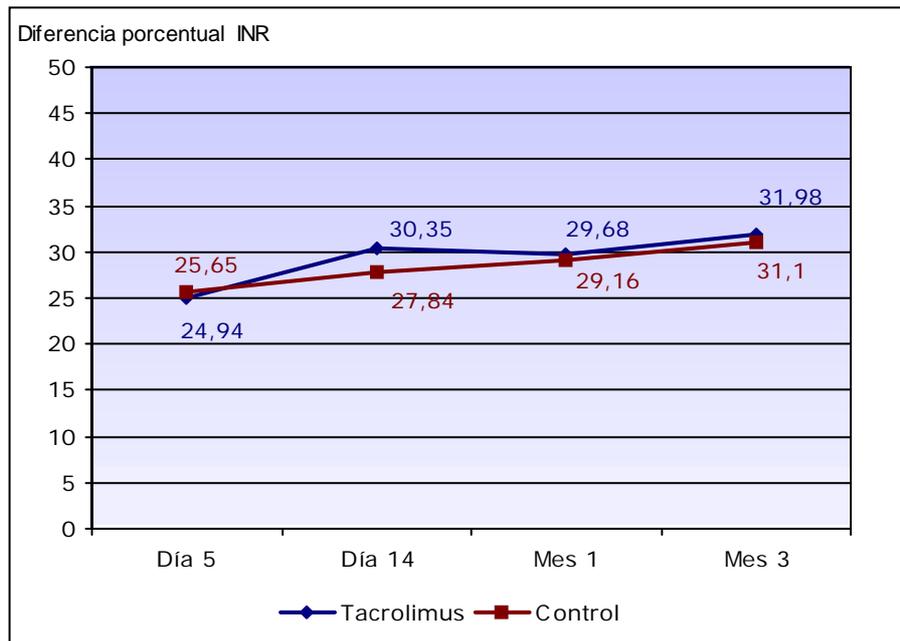


Gráfico 31: Diferencia porcentual entre INR-máx e INR a lo largo del estudio. Media

	GOT (*)	γ GT (*)	BILIRRUBINA (*)	A. PROTROMBINA (**)	INR (**)
DÍA 5	0.085	0.334	0.779	0.278	0.874
DÍA 14	0.322	0.262	0.484	0.174	0.489
MES 1	0.283	0.360	0.665	0.668	0.894
MES 3	0.475	0.219	0.692	0.615	0.827

Tabla 31: Nivel de significación obtenido en la comparación, entre los grupos de estudio, de la diferencia porcentual entre los picos máximos de cada variable y su valor en cada visita

* Prueba de Mann-Whitney; ** T de Student

En definitiva, los análisis realizados ponen de manifiesto que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio, en la evolución

de las variables secundarias cuantitativas a lo largo del seguimiento, ni en términos absolutos ni porcentuales

3.2.- INCIDENCIA Y GRAVEDAD DEL PRIMER EPISODIO DE RECHAZO AGUDO

El 73% de los pacientes de la muestra no ha sufrido episodios de rechazo agudo. El 27% restante, sí.

En función del grupo de estudio, el 30.3% de los pacientes del grupo experimental ha experimentado algún rechazo agudo del injerto, frente al 23.9% de los pacientes del grupo control. Estas diferencias no son estadísticamente significativas (Chi-cuadrado: 0.702; $p= 0.259$).

En el subgrupo de pacientes que han sufrido algún rechazo agudo ($N= 37$), el 83.8% ha experimentado un único episodio, frente al 16.2% que ha experimentado 2. Ningún paciente ha sufrido más de 2 episodios de rechazo.

Estos porcentajes son similares a los obtenidos en cada uno de los grupos de estudio, ya que en el grupo control, el 88.2% ha tenido un único episodio de rechazo y el 80.0% en el grupo experimental. El 11.8% de los pacientes del grupo control y el 20% del grupo experimental ha sufrido 2 episodios. Estas diferencias, sin embargo, no alcanzan la significación estadística (Chi-cuadrado= 0.459; $p= 0.413$).

El 94.6% de los episodios de rechazo evolucionan favorablemente, tan sólo un 5.4% no se resuelven. Estos porcentajes son equivalentes a los observados en los grupos de estudio (95% de episodios de rechazo resueltos en el grupo experimental y 94.1% en el grupo control).

El tiempo medio transcurrido hasta la aparición del primer episodio de rechazo agudo es de 12.7 días (mínimo-máximo: 3-49 días). En el grupo control este valor medio es de 12.7 días (mínimo-máximo: 5-34 días) y en el experimental de 12.67 días

(mínimo-máximo: 3-49 días). No se han obtenido diferencias estadísticamente significativas en el tiempo medio de aparición del primer episodio de rechazo entre los grupos de estudio ($p= 0.577$).

A continuación, se ha realizado, mediante el método de Kaplan-Meier la velocidad de aparición del primer episodio de rechazo agudo y las posibles diferencias entre los grupos de estudio.

Los resultados obtenidos se representan en el Gráfico 32.

El test de log-rank muestra que las diferencias no son estadísticamente significativas (test log-rank: 0.49; $p= 0.4824$).

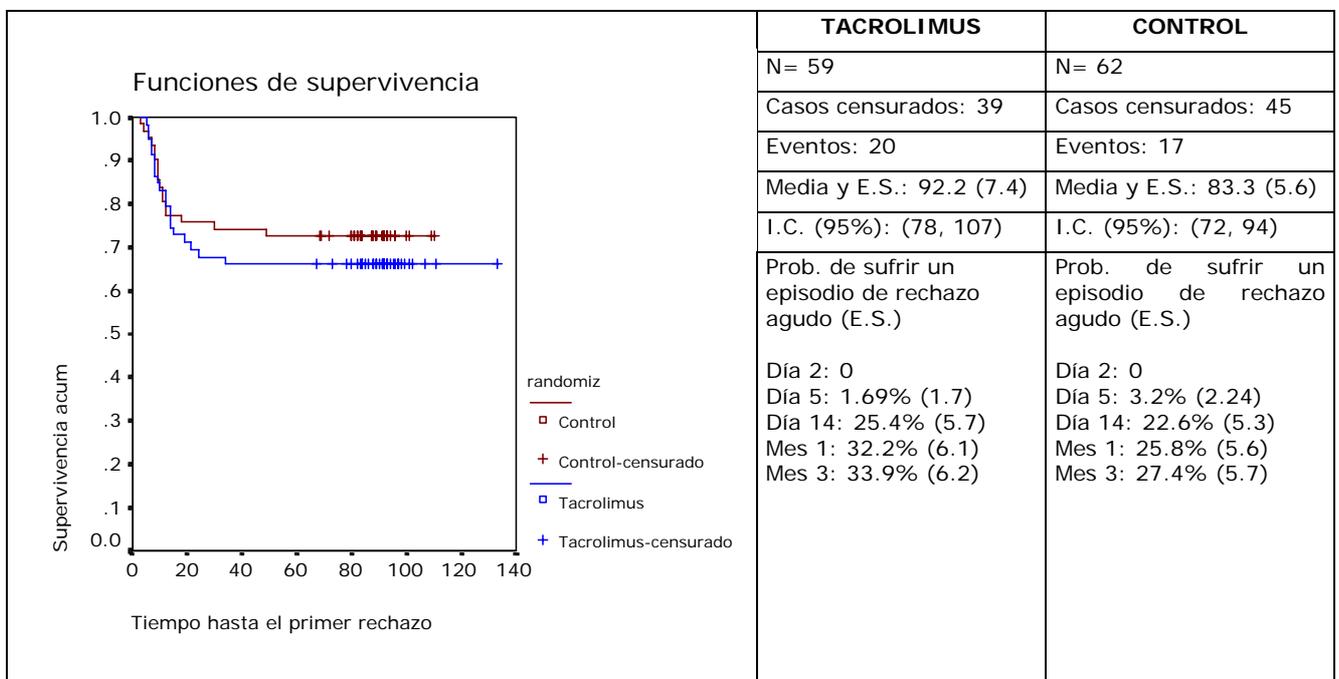


Gráfico 32: Rechazo agudo. Curvas de supervivencia en los grupos de tratamiento

3.3.- SUPERVIVENCIA DEL INJERTO Y DEL PACIENTE

SUPERVIVENCIA DEL INJERTO

Sólo 3 pacientes han sido retrasplantados tras ser retirados del estudio, de los cuales 1 fallece y otro fue retirado del estudio por grave violación del protocolo, por lo que no pueden realizarse análisis estadísticos válidos.

SUPERVIVENCIA DEL PACIENTE

Del total de la muestra, el 5.8% de los pacientes (N= 8) fallecen. En el grupo control fallece un 4.2% de los pacientes y en el grupo experimental un 7.6% (Chi-cuadrado: 0.698; $p= 0.319$).

Las curvas de supervivencia muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio (Gráfico 33) (test de log-rank: 0.5; $p= 0.4793$).

Ninguno de los pacientes fallecidos pertenece al grupo que recibió el injerto de donantes subóptimos/marginales.

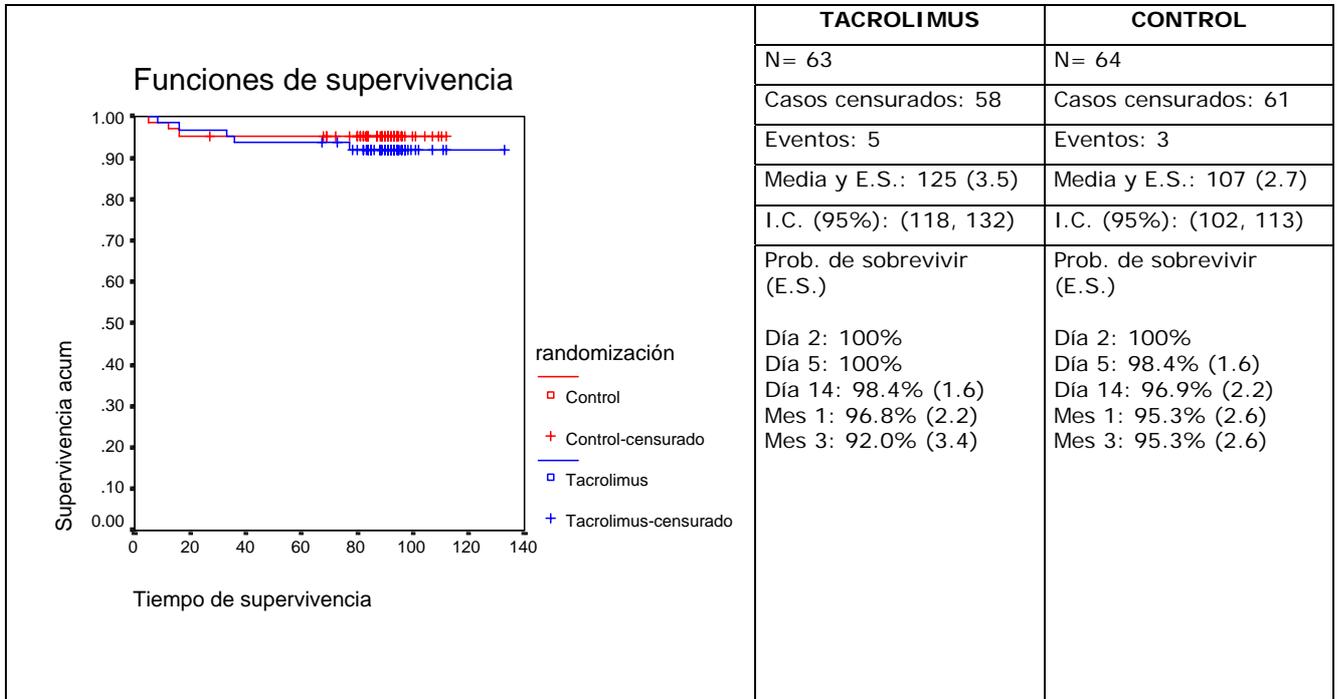


Gráfico 33: Supervivencia del paciente. Curvas de supervivencia en los grupos de tratamiento

3.4.- INCIDENCIA GENERAL DE EFECTOS ADVERSOS

El 83.9% de los pacientes (N= 115) ha experimentado algún acontecimiento adverso (AA) a lo largo del seguimiento del estudio. El 16.1% (N= 22) no ha sufrido efecto adverso alguno.

Estos porcentajes son similares a los observados en cada uno de los grupos de estudio, de manera que en el grupo experimental, el 83.3% de los pacientes ha experimentado algún acontecimiento adverso, frente al 84.5% en el grupo control (Chi-cuadrado: 0.035; p= 0.517).

Por término medio, los pacientes del grupo experimental con acontecimientos adversos han sufrido 3.47 AA distintos, y en el grupo control la media es de 2.83 AA. En la Tabla 32 se detallan los parámetros descriptivos del nº de AA sufridos por los pacientes.

PORCENTAJE DE PACIENTES QUE HAN EXPERIMENTADO		
DISTINTOS AA		
	TACROLIMUS	CONTROL
Sólo 1 AA	25.5	26.7
2 AA distintos	23.6	26.7
3 AA distintos	10.9	21.7
4 AA distintos	7.3	6.7
5 AA distintos	14.5	10.0
6 AA distintos	5.5	5.0
7 AA distintos	1.8	1.7
8 AA distintos	5.5	---
9 AA distintos	3.6	---
10 AA distintos	1.8	---
12 AA distintos	----	1.7
ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS DEL N° DE AA		
DISTINTOS		
	TACROLIMUS	CONTROL
Media	3.47	2.83
Mediana	3.0	2.0
Moda	1	1

Tabla 32: Estadísticos descriptivos del nº de AA distintos sufridos por los pacientes

Como se puede observar, en ambos grupos en torno al 50% de los pacientes han experimentado 2 o menos AA distintos y entre el 30-40% han sufrido entre 3 y 5 AA diferentes.

No se han obtenido diferencias significativas ni en la distribución de pacientes con distinto número de AA (Chi-cuadrado: 10.14; $p= 0.518$) ni en el valor de la media ni de la mediana del nº de AA distintos (t-student: $p= 0.131$; prueba de la mediana: $p= 0.789$; prueba de Mann-Whitney: $p= 0.275$).

DESCRIPCIÓN DE LOS ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

Se han producido un total de 361 AA en los pacientes estudiados. 191 de ellos (52.9%) se han producido en el grupo tratado con tacrolimus y 170 (47.1%) en el grupo experimental.

1. Gravedad: En el Gráfico 34 se representa el porcentaje de los distintos grados de gravedad de los AA en cada uno de los grupos de estudio.

Ninguno de los AA produce incapacidad/discapacidad o defecto congénito.

Los resultados no han sido estadísticamente significativos y la prueba de Chi-cuadrado no es aplicable (en la tabla generada por el cruce entre "grupo de estudio" y "gravedad" más del 20% de las casillas tienen una frecuencia esperada menor que 5, por lo que la prueba de Chi-cuadrado carece de valor).

Si bien se observa un porcentaje ligeramente superior de AA que entrañan un riesgo importante para la vida en el grupo experimental, el porcentaje de pacientes (no de acontecimientos adversos) que han sufrido algún efecto adverso que implica un riesgo inminente para la vida, no difiere de forma estadísticamente significativa entre los grupos de estudio (11.1% en el grupo experimental y 3.3% en el grupo control; $p= 0.104$).

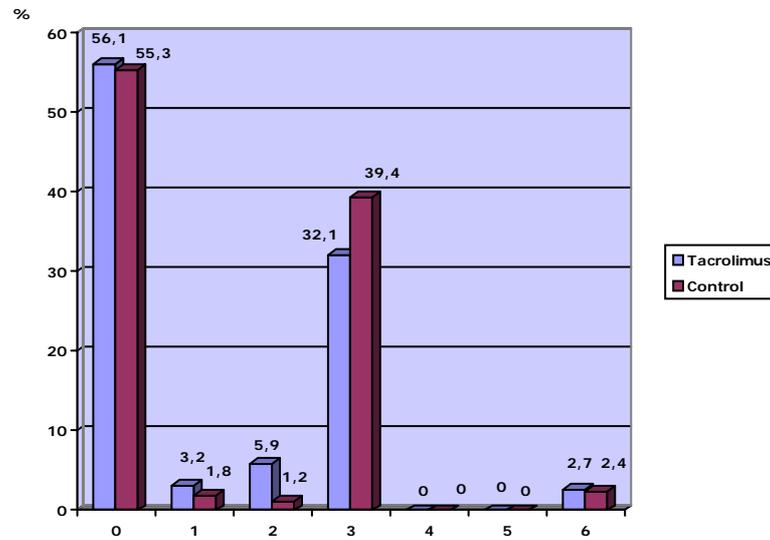


Gráfico 34: Criterios de gravedad de los Acontecimientos Adversos

0: No se trata de un AA grave. 1: Produce la muerte. 2: Entraña un riesgo inminente para la vida. 3: Requiere hospitalización o prolongación de la ya existente. 4: Produce incapacidad/discapacidad. 5: Defecto congénito. 6: Otras patologías importantes

Además, si se seleccionan los AA con una gravedad tal que supone un riesgo importante para la vida del paciente, el 95% de ellos no están relacionados con el tratamiento objeto de estudio, y este porcentaje no difiere significativamente entre los grupos control y experimental (100% y 91% respectivamente; $p = 0.846$). Por tanto, no puede afirmarse que exista diferencia alguna en la gravedad de los acontecimientos adversos experimentados por los pacientes cuyo injerto ha sido perfundido con una solución de lavado con tacrolimus o sin él.

2. Intensidad: Los resultados obtenidos en los grados de intensidad de los AA producidos, se muestran en el Gráfico 35. Las diferencias observadas son estadísticamente significativas (Chi-cuadrado: 11.1; $p = 0.004$). Como se observa en el gráfico, el porcentaje de AA leves producidos en el grupo experimental es

inferior al de AA leves en el grupo control, a expensas de una mayor frecuencia de AA moderados en el grupo tratado con tacrolimus.

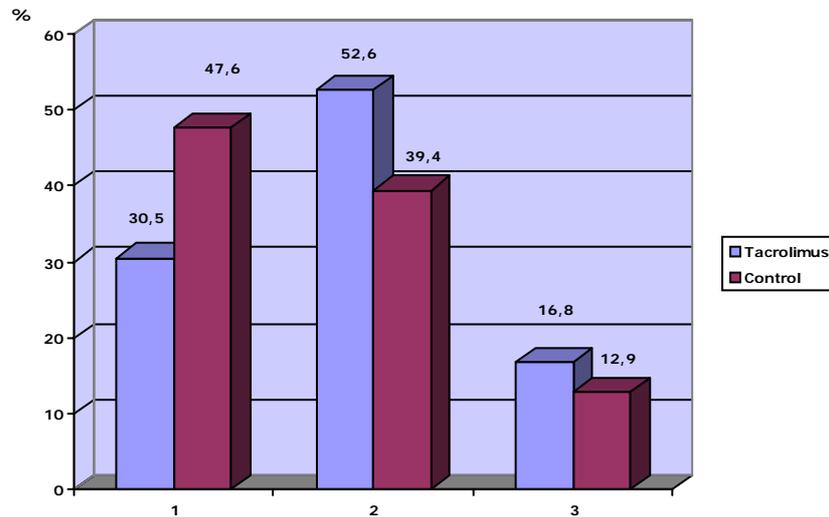


Gráfico 35: Grados de intensidad de los Acontecimientos Adversos

1: Leve. 2: Moderado. 3: Grave

El porcentaje de pacientes que ha sufrido algún AA de intensidad grave es muy similar en ambos grupos de estudio (27.3% en el grupo experimental y 20.0% en el grupo control; $p= 0.315$). Sin embargo, sí se han obtenido diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de pacientes que han experimentado algún AA de intensidad moderada: 53.3% en el grupo control frente a 74.5% en el grupo experimental ($p= 0.015$).

Aunque estos resultados podrían hacer pensar que la intensidad de los AA sufridos por los pacientes tratados con tacrolimus es más desfavorable, hay que tener en cuenta que la gran mayoría de estos efectos adversos no están relacionados con el tratamiento objeto de estudio, ya que el 88% de los AA de intensidad moderada del grupo experimental y el 85% en el grupo control, no están relacionados con el mismo ($p= 0.373$).

Por consiguiente, no puede afirmarse que existan diferencias en la intensidad de los acontecimientos adversos achacable al tipo de solución de lavado del injerto.

3. Causalidad: En este caso, no puede asegurarse que las diferencias observadas en la causalidad de los AA ocurridos en uno u otro grupo sean estadísticamente significativas, ya que la prueba de Chi-cuadrado no es aplicable, aunque como se observa en el Gráfico 36, no se obtienen diferencias apreciables en la causalidad de los AA entre los grupos de estudio.

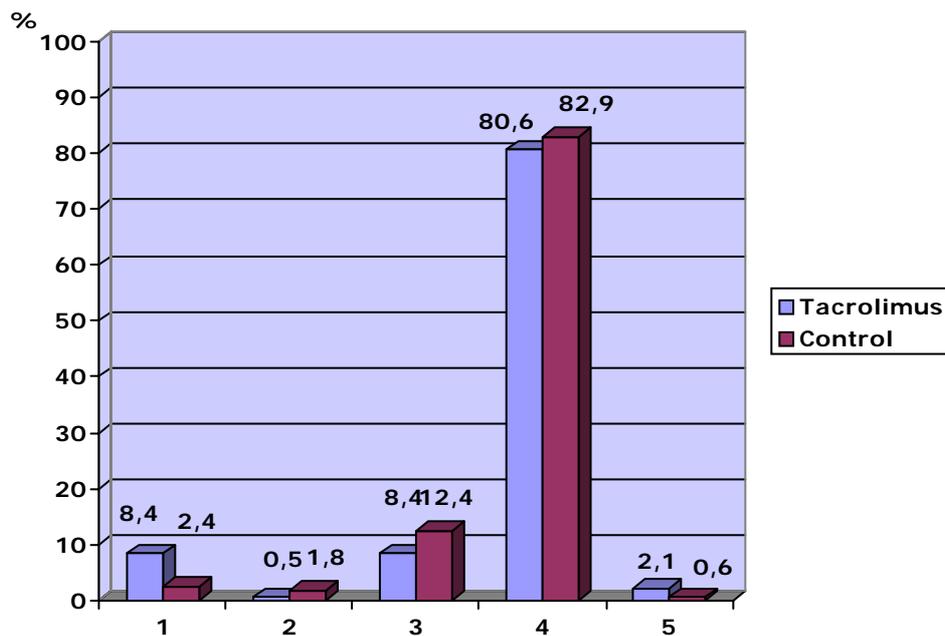


Gráfico 36: Grados de causalidad de los Acontecimientos Adversos

1: Probable. 2: Posible. 3: Poco probable. 4: No relacionado. 5: Inclasificable

4. Desenlace: los resultados obtenidos en relación con el desenlace de los acontecimientos adversos han sido estadísticamente significativos (Chi-cuadrado: 12.64; $p= 0.013$). Se observan diferencias en el porcentaje de AA resueltos (72.4% en el grupo control, frente al 59% en el grupo experimental) y en, menor magnitud, el de AA fatales (7.4% en el grupo control y 1.8% en el grupo experimental) (Gráfico 37).

Sin embargo, como en el caso de la intensidad de los AA, el porcentaje de pacientes que ha sufrido algún AA cuyo desenlace ha sido fatal, no difiere de forma estadísticamente significativa entre los grupos control (3.3%) y experimental (9.1%) ($p= 0.185$).

Además, la gran mayoría de los AA con un desenlace fatal no están relacionados con la solución del estudio (100% en el grupo control y 86% en el experimental; $p= 0.686$).

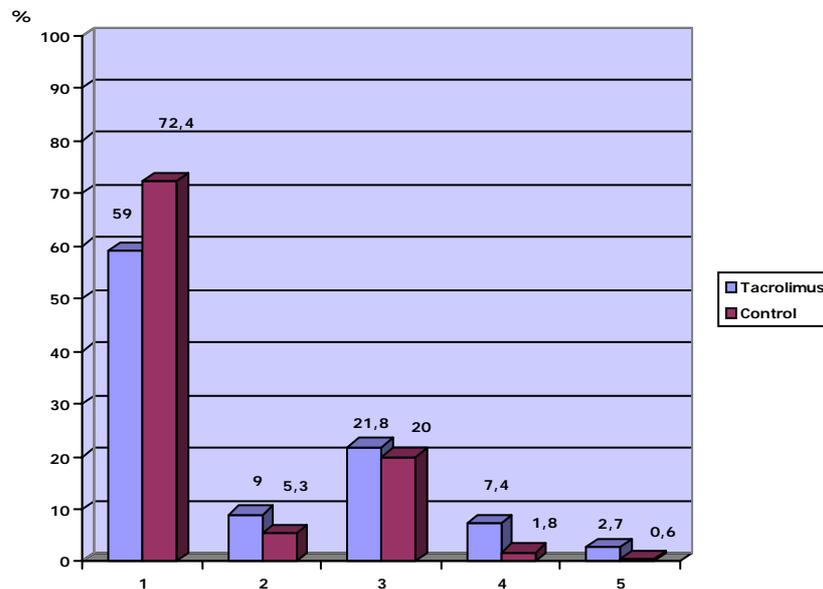


Gráfico 37: Desenlace de los Acontecimientos Adversos

1: Resuelto. 2: En resolución. 3: No resuelto. 4: Fatal. 5: Desconocido

V. DISCUSIÓN

El trasplante hepático se ha consolidado como un recurso terapéutico de gran utilidad en la práctica clínica y constituye el tratamiento de elección para determinados pacientes con hepatopatías terminales, mejorando su supervivencia y su calidad de vida.

Los resultados cada vez mejores de este tratamiento se deben al desarrollo de la inmunosupresión, al perfeccionamiento de las técnicas quirúrgicas y anestésicas, a los avances en conservación de los órganos y al mejor cuidado proporcionado a los pacientes, tanto antes del trasplante como después del mismo. Así, a medida que los resultados mejoran, también se oferta este tipo de terapia a un mayor número de pacientes.

Desgraciadamente, el incremento de receptores en las listas de espera no se ha seguido de un incremento paralelo en el número de donantes, circunstancia que hace imprescindible un mayor aprovechamiento de los órganos de los posibles donantes, de tal modo que en la actualidad se consideran apropiados para trasplante órganos considerados "marginales" o "subóptimos" hace algunos años.

Como se ha comentado más extensamente en la introducción, uno de los factores limitantes fundamentales de cara a la viabilidad de los órganos es la lesión producida por la isquemia y la posterior reperfusión. Esto adquiere cada vez mayor importancia a medida que la calidad de los donantes tiende a disminuir.

Este cambio cualitativo en los donantes hepáticos demanda un método óptimo de preservación para mejorar la función del órgano tras la revascularización en el receptor. Por este motivo, durante décadas, la investigación científica ha encaminado sus esfuerzos hacia la optimización de las soluciones de preservación, sin embargo, se ha prestado poca atención a las soluciones empleadas para lavar el órgano previamente a su implante. Algunos de los primeros estudios en este campo sugirieron un efecto protector sobre la

lesión por isquemia-reperfusión al utilizar una solución de lavado con sustancias vasoactivas y antioxidantes denominada solución de Carolina^{208,209}. Otras investigaciones, realizadas con cultivos de muestras de hepatocitos humanos, mostraron efectos estabilizadores de membrana mediados por tacrolimus, un inhibidor de la calcineurina utilizado en trasplante por sus poderosos efectos inmunosupresores²¹⁰. En modelos animales, el tacrolimus administrado antes de producirse una agresión isquémica ha mostrado una disminución en la intensidad de las lesiones provocadas por dicha isquemia y por la posterior reperfusión^{191,205,211,212}. Su capacidad para reducir el daño parece radicar en el efecto acumulativo de los efectos sobre la microcirculación, el metabolismo de los radicales libres, las vías activadas por calcio, las cascadas inflamatorias, la estabilidad mitocondrial, la apoptosis, las proteínas de respuesta al estrés y la recuperación tisular.

Basándose en estas evidencias, St. Peter y colaboradores²⁰⁷ realizaron el primer estudio clínico para tratar de evaluar los efectos hepatotropos y protectores que podría ejercer el tacrolimus añadido a una solución de lavado hepático, con la hipótesis de que podía disminuir el daño hepatocelular tras la reperfusión del injerto hepático preservado, mejorando la función primaria tras el trasplante ortotópico de hígado.

Para ello estudiaron prospectivamente una muestra de 20 pacientes sometidos a trasplante ortotópico de hígado, randomizándolos en dos grupos: en el grupo I se realizó el lavado del injerto pretrasplante con una solución de perfusión-lavado (Plasmatyte A) con tacrolimus a concentración de 20 ng/mL y en el grupo II el injerto se lavó con la misma solución, pero sin tacrolimus.

Tras la hepatectomía del receptor, el órgano del donante se extraía de la solución de preservación (solución de la universidad de Wisconsin) y se lavaba durante 15 minutos con la solución asignada a cada caso. Todos los pacientes recibieron el mismo tratamiento inmunosupresor postrasplante (tacrolimus +

esteroides). El primer y segundo día postrasplante se obtuvieron niveles séricos de GOT, GPT, bilirrubina, TP, INR y TTPa.

Ambos grupos de estudio no mostraron diferencias significativas en cuanto a la demografía de los donantes, tiempos de isquemia, ni número de donantes "marginales" empleados en cada grupo. Asimismo, no hubo diferencias significativas en cuanto a la edad, sexo, raza, ni causa del trastorno hepático de los receptores.

El análisis estadístico de los cambios máximos de las seis variables a estudio parecía demostrar que el daño hepático había resultado menor, con diferencias estadísticamente significativas, en el grupo en el que se había añadido tacrolimus a la solución de lavado que en el grupo placebo. Concluían los autores que el uso de una solución de lavado con tacrolimus resultaba en una mejoría de la función primaria del injerto y en una disminución del daño hepatocelular.

Este estudio fue el primero realizado prospectivamente y randomizado en el área clínica, de ahí su trascendencia. Sin embargo, presenta como inconveniente haber sido realizado en un solo centro, con un reducido tamaño muestral (20 pacientes).

Nuestro estudio se realizó con el objetivo de tratar de demostrar si, efectivamente, la adición de tacrolimus a la solución de lavado del injerto hepático era capaz de ejercer los efectos protectores sobre la lesión por isquemia-reperfusión tras el trasplante hepático postulados por el grupo de St. Peter, realizando un estudio prospectivo, multicéntrico, randomizado, con inclusión de un mayor número de pacientes (137 en total).

A diferencia de lo que ocurría en el estudio realizado por St. Peter y colaboradores, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el valor del pico máximo de GPT alcanzado en las primeras 48 horas postrasplante,

en la magnitud del cambio entre la GPT basal y el pico máximo, ni en la evolución de la GPT a lo largo del seguimiento y su variación con respecto al pico máximo, entre el grupo control y experimental. Esto lleva a la conclusión de que, estudiando a los receptores en su conjunto, la adición de tacrolimus a la solución de lavado, no resulta en una disminución del daño hepatocelular ocasionado por la isquemia y posterior reperfusión del injerto hepático.

Al estratificar la muestra según la edad del donante, este parámetro sí parecía influir de manera significativa en el comportamiento de la variable principal. De este modo, el conjunto de receptores de injertos hepáticos procedentes de donantes mayores de 50 años, presentaron valores del pico máximo de la GPT en las primeras 48 horas postrasplante superiores a aquellos con donantes menores de 50 años y de forma estadísticamente significativa. El incremento absoluto y porcentual de la GPT en las primeras 48 horas postrasplante desde los valores basales, también fue superior en dicho grupo. Asimismo, pacientes con donantes "añosos" mostraron valores de GPT en las 2 primeras semanas del estudio significativamente superiores que los pacientes con donantes "no añosos". Esto es lo que ocurría al comparar los dos grupos de edad, pero sin tener en cuenta que, dentro de cada grupo, unos estaban siendo tratados y otros no.

Al dividir la muestra inicial según la edad del donante y evaluar los efectos de la solución de lavado sobre la GPT, observamos que en pacientes con donantes menores de 50 años, el pico máximo de la GPT, el incremento absoluto y porcentual de esta variable en las primeras 48 horas y los niveles de la GPT en cada visita, mostraron valores marcadamente inferiores en los pacientes del grupo experimental que en los del grupo control, resultados que, aunque no de forma estadísticamente significativa, ya apuntaban hacia una tendencia al beneficio al utilizar tacrolimus añadido a la solución de lavado.

Por el contrario, en pacientes con donantes añosos, no se observaron diferencias apreciables en el pico máximo de la GPT, ni en el cambio absoluto o

porcentual de la GPT en las primeras 48 horas postrasplante o en los valores de GPT a lo largo del seguimiento, aunque la diferencia entre la GPT-máx y la GPT medida en cada una de las visitas si fue superior en el grupo tratado con tacrolimus, lo que quiere decir que el descenso de la GPT fue algo mayor.

Estratificando la muestra en pacientes tratados y no tratados, en el grupo control apenas se obtuvieron diferencias en el comportamiento de la variable principal en función de la edad del donante. Revisando la literatura, los resultados en este sentido son diversos. Así, la mayor parte de los trabajos muestran una mayor elevación de enzimas de citolisis en el postrasplante inmediato cuando el injerto procede de un donante "añoso"^{64,65,213}, mientras que en otros se obtienen resultados similares a los nuestros, no encontrándose diferencias significativas en cuanto a la elevación enzimática^{72,214} o a la severidad del daño por isquemia-reperfusión²¹⁵ entre ambos grupos (donantes "añosos"/jóvenes). Lo heterogéneo de estos resultados podría deberse a que los estudios también lo son, sobre todo en cuanto a los criterios de aceptación de los donantes en función de otros criterios de marginalidad diferentes de la edad, los tiempos de isquemia fría y el punto de corte de edad a partir del cual se considera que un donante es "añoso", con variaciones que oscilan entre los 50 y los 80 años.

Sin embargo, en el grupo de pacientes que recibió un injerto lavado con una solución de lavado con tacrolimus el pico máximo de la GPT fue significativamente inferior en pacientes con donantes menores de 50 años, en los que el incremento, absoluto y porcentual, de la GPT desde la visita basal y a lo largo de las primeras 48 horas, fue también significativamente menor. La evolución de la GPT a lo largo del seguimiento reflejó niveles de GPT en cada visita superiores en los pacientes con donantes "añosos", si bien las diferencias sólo fueron estadísticamente significativas a las 48 horas.

Los resultados obtenidos parecen indicar que la adición de tacrolimus a la solución de lavado sí parece disminuir el grado de lesión por isquemia

reperusión en aquel subgrupo de pacientes trasplantados con un órgano procedente de un donante menor de 50 años, pero no en los receptores de órganos procedentes de donantes de más edad. Una explicación al hecho de que el beneficio solo se demuestre claramente en las primeras 48 horas podría ser el rápido descenso enzimático que se produce en los receptores de hígados procedentes de donantes jóvenes en los primeros días postraplante. Esta mayor velocidad en la normalización enzimática, observada en nuestro estudio al comparar el subgrupo de donantes jóvenes con el de donantes “añosos”, concuerda con los datos publicados por otros autores⁶⁴.

No existe una definición exacta ni universalmente aceptada de donante “marginal”, pero la mayoría de los autores considera como tal a aquel donante con factores de riesgo (características demográficas, clínicas, de laboratorio y/o datos histológicos) relacionados con una peor evolución del injerto y/o del receptor, a corto o largo plazo ^{68,216,217,218,219}. Varios autores han tratado de elaborar una puntuación o *score* pretrasplante^{68,216,220} que fuera capaz de predecir el riesgo de mala evolución tras el trasplante. Aunque no ha sido posible establecer un sistema universal para predecir la evolución postoperatoria según las características del donante, sí se ha llegado a la conclusión de que la suma de factores incrementa el riesgo de mala evolución postrasplante. En nuestro trabajo, el grupo de pacientes que recibió un injerto procedente de un donante “marginal” o “subóptimo” experimentó un cambio entre la GPT basal y la GPT máxima en las primeras 48 horas significativamente inferior que el grupo de pacientes con injertos procedentes de donantes óptimos. Este menor aumento parece ser consecuencia de que el pico máximo de la GPT en las primeras 48 horas fue inferior en el grupo con donantes “marginales”. Estos resultados resultan contradictorios con los encontrados en la revisión de la literatura y creemos que deben interpretarse con cautela debido a la diferencia de los tamaños muestrales entre ambos grupos de pacientes, ya que solo un 8% de los donantes fueron considerados “subóptimos”, es decir, 11 donantes del total de

137. No nos parece posible, por tanto, extraer conclusiones en este estudio respecto a este subgrupo de pacientes.

En cuanto a las variables secundarias, los resultados también fueron diferentes a los publicados por St. Peter y colaboradores. Mientras ellos obtenían diferencias significativas entre los grupos control y experimental en cuanto a los valores máximos del resto de variables a estudio, nosotros no hallamos diferencia de significación estadística en el valor máximo de las variables secundarias cuantitativas (GOT, GGT, bilirrubina, actividad de protrombina e INR), en la magnitud del cambio entre los valores basales y el pico máximo a las 48 horas postrasplante, en la evolución de dichos parámetros a lo largo del seguimiento, ni en su variación con respecto a los valores pico entre ambos grupos. En el estudio de estas variables no se realizó subanálisis en función de la edad del donante.

Los porcentajes de fallecimientos y las curvas de supervivencia no difirieron entre el grupo control (solución de lavado estándar) y el experimental (solución de lavado con tacrolimus).

Los datos en cuanto a la incidencia de rechazo agudo del injerto resultaron similares en ambos grupos de estudio, con un tiempo medio transcurrido hasta la aparición del primer episodio equivalente.

No observamos un mayor número de acontecimientos adversos en ninguno de los dos grupos de estudio. Sin embargo, el porcentaje de acontecimientos adversos de intensidad moderada o de pacientes que habían sufrido efectos adversos de esta intensidad fue significativamente superior en el grupo experimental. Si bien estos resultados podrían hacer pensar que el tipo de solución de lavado influye en la intensidad de los acontecimientos adversos, hay que tener en cuenta que la gran mayoría de estos efectos adversos no estaban relacionados con el tratamiento objeto de estudio, no pudiendo afirmarse, por

tanto, que existan diferencias en la intensidad de los mismos atribuibles al tipo de solución de lavado del injerto.

Del mismo modo, obtuvimos diferencias entre los grupos de estudio en la distribución de las categorías del desenlace de los acontecimientos adversos, basadas fundamentalmente en un menor porcentaje de acontecimientos resueltos y mayor de fatales en el grupo experimental. No obstante, el porcentaje de pacientes que había sufrido algún efecto adverso con desenlace fatal, no difería de forma estadísticamente significativa y la gran mayoría de los efectos adversos no estaban relacionados con el fármaco añadido a la solución de lavado del injerto, por lo que tampoco puede asociarse de forma significativa el desenlace de los acontecimientos con el grupo de estudio.

En resumen, según los resultados de este estudio, la adición de tacrolimus a la solución de lavado del injerto hepático pretrasplante parece disminuir el daño por isquemia-reperfusión en aquellos hígados procedentes de donantes menores de 50 años, pero no en aquellos que proceden de donantes de mayor edad.

Una posible explicación podrían ser las propias características de los hígados "añosos" y los mecanismos de acción mediante los cuales, teóricamente, el tacrolimus ejerce su beneficio sobre el daño causado por la isquemia y posterior reperfusión.

Como ya se comentó previamente, diferentes trabajos publicados en la literatura apuntan a un beneficio del tacrolimus en cuanto a la disminución de este daño, posiblemente mediado, entre otros, por los siguientes mecanismos: mejoría de la microcirculación ante el deterioro que se produce habitualmente en el momento de la reperfusión^{191,192,193,194}, mantenimiento de los niveles de ATP celular y, por tanto, disminución de la producción de radicales libres de O₂

obtenidos de su degradación^{144,195,196,197}, mantenimiento de la función mitocondrial¹⁹⁹ y mejoría de la regeneración celular²⁰³⁻²⁰⁶.

El hígado envejece más lentamente que otros órganos, posiblemente debido a la gran reserva funcional hepática, la capacidad de regeneración y el doble aporte sanguíneo, que excede sus necesidades metabólicas²²¹. Así y todo, con la edad, se van a ir produciendo una serie de cambios morfológicos y funcionales. Macroscópicamente, el hígado añoso tiende a ser más pequeño, de coloración más oscura y con una cápsula fibrosa gruesa^{69,218}. A partir de los 65 años se observa una caída en el flujo sanguíneo hepático de alrededor de un 40-45%^{222,223}. Los hepatocitos disminuyen en número, aunque aumentan en tamaño para intentar compensar la reducción de la celularidad⁷³, hay una disminución del número de mitocondrias y del contenido de ATP²¹⁸ y la capacidad regenerativa es menor que en hígados más jóvenes²²⁴.

Según este razonamiento, parece lógico pensar que el beneficio del tacrolimus frente al daño por isquemia-reperfusión resulte menor en injertos procedentes de donantes "añosos" debido a que en éstos, por el propio efecto de la edad, se produce una disminución de parte de las "dianas" fundamentales sobre las que se sabe que actúa el fármaco mediante los mecanismos de acción comentados, en comparación con lo que sucede en órganos de menor edad.

Se necesitan más estudios en este campo, con puntos de corte de edad del donante diferentes y quizás con otras dosis de tacrolimus que permitan confirmar los efectos beneficiosos que parece producir este fármaco sobre la lesión por isquemia-reperfusión en trasplante hepático.

VI. CONCLUSIONES

- ✚ El lavado del injerto hepático del donante con una solución con tacrolimus comparado con el lavado con una solución con placebo no disminuye la lesión hepatocelular ocasionada por isquemia-reperfusión al estudiar el total de los receptores tras la realización de trasplante hepático.
- ✚ La adición de tacrolimus a la solución de lavado sí parece disminuir el daño en aquel subgrupo de pacientes que fueron trasplantados con un órgano procedente de un donante < 50 años.
- ✚ No se observa disminución de la lesión cuando se estudia el subgrupo de receptores de órganos procedentes de donantes > 50 años.
- ✚ El lavado del hígado del donante con una solución con tacrolimus no influye en la mortalidad del receptor.
- ✚ El lavado del hígado del donante con una solución con tacrolimus no modifica el riesgo de rechazo.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. López-Navidad A, Kulisevsky J, Caballero F. El donante de órganos y tejidos. Evaluación y manejo. Capítulo 1: Historia de la actitud y conducta en la obtención y extracción de órganos y tejidos para trasplante. Springer-Verlag Ibérica Barcelona 1997.
2. Carrel A. The operative technique for vascular anastomoses and transplantation of viscera. Lyon Med 1902; 98: 859-873.
3. Voronoy U. Blocking the reticuloendotelial system in man in some forms of mercuric chloride intoxication and the transplantation of the cadaver kidney as a method of treatment for the anuria resulting from the intoxication. Siglo Med 1937; 97:296.
4. Welch CS. A note on transplantation of the whole liver in dogs. Transplant Bull 1955; 2:54.
5. Cannon JA. Brief report. Transplant Bull 1956; 3:7.
6. Starzl TE, Bernhard VM, Benvenuto R et al. A new method for on-stage hepatectomy in dogs. Surgery 1959; 46: 880-886.
7. Moore FD, Smith LL, Burnap TK et al. One-stage homotransplantations of the liver following total hepatectomy in dogs. Transplant Bull 1959; 6: 103-110.
8. Moore FD, Wheeler HB, Demissianos HV et al. Experimental whole organ transplantation of the liver and of the spleen. Ann Surg 1960; 152: 374-387.
9. Starzl TE, Kaupp HA Jr, Brock DR et al. Reconstructive problems in canine liver homotransplantations with especial reference to the postoperative role of hepatic venous flow. Surg Gynecol Obstet 1960; 111: 733-743.
10. Groth CG, Porter KA, Otte JB et al. Studies of blood flow and ultrastructural changes in rejecting and nonrejecting canine orthotopic liver homografts. Surgery 1968; 63:31-38.

11. Brettschneider L, Tong JL, Boose DS et al. Specific bacteriologic problems after orthotopic liver transplantation in dogs and pigs. *Arch Surg* 1968; 97:313-322.
12. Starzl TE. Experience in hepatic transplantation. Infectious complications, excluding partial hepatic gangrene. Philadelphia, WB Saunders 1969; 329-347.
13. Wall WJ, Calne RY, Berbertson BM et al. Simple hypothermic preservation for transporting human livers long distance for transplantation. *Transplantation* 1977; 23:210-216.
14. Benichou J, Halgrimson CG, Weil 3rd et al. Canine and human liver preservation for 6 to 18 hours by cold infusion. *Transplantation* 1977; 24:407-411.
15. Jamieson NV, Sundberg R, Lindell S et al. Successful 24 to 30 hour preservation of the canine liver: A preliminary report. *Transplant Proc* 1988; 20 (Suppl 1):945-947.
16. Kalayoglu M, Sollinger WH, Stratta RJ et al. Extended preservation of the liver for clinical transplantation. *Lancet* 1988; 1:617,619.
17. Todo S, Nery J, Yanaga K et al. Extended preservation of human liver grafts with UW solution. *JAMA* 1989; 261:711-714.
18. Starzl TE, Iwatsuki S, Van Thiel DH et al. Evolution of liver transplantation. *Hepatology* 1982; 2:614-636.
19. Cutropia F, Coratolo F, Spinetta A et al. Experimental orthotopic liver transplantation. *Rev Esp Enferm Apar Dig* 1972; 38:553-570.
20. Denmark SW, Shaw BW, Starzl TE et al. Venovenous bypass without systemic anticoagulation in canine and human liver transplantation. *Surg Forum* 1983; 34:380-382.
21. Shaw BW, Martin DJ, Marquez JM et al. Venous bypass in clinical liver transplantation. *Ann Surg* 1984; 200:524-534.

22. Goodrich EO Jr, Welch HF, Nelson JA et al. Homotransplantation of the canine liver. *Surgery* 1956; 39:244-251.
23. Starzl TE, Porter KA, Francavilla A. The Eck fistula in animals and humans. *Curr Probl Surg* 1983; 20:687-752.
24. Mann FC: The William Henry Lectures: II. Restoration and pathologic reactions of the liver. *J Mt Sinai Hosp* 1944; 11:65-74.
25. Bollman JL, The animal with an Eck fistula. *Physiol Rev* 1961; 41:607-621.
26. Starzl TE, Marchioro TL, Rowlands DT Jr et al. Immunosuppression after experimental and clinical homotransplantations of the liver. *Ann Surg* 1964; 160:411-439.
27. Marchioro TL, Porter KA, Brown BI et al. The effect of partial portocaval transposition on the canine liver. *Surgery* 1967; 61:723-732.
28. Starzl TE, Francavilla A, Halgrimon CG et al. The origin, hormonal nature, and action of hepatotropic substances in portal venous blood. *Surg Gynecol Obstet* 1973; 137:179-199.
29. Starzl TE, Lee IY, Porter KA et al. The influence of portal blood upon lipid metabolism in normal and diabetics dogs and baboons. *Surg Gynecol Obstet* 1975; 140:381-396.
30. Starzl TE, Francavilla A, Porter KA et al. The effect upon the liver of evisceration with or without hormone replacement. *Surg Gynecol Obstet* 1978; 146:524,531.
31. Starzl TE, Francavilla A, Porter KA et al. The effect of splachnic viscera removal upon canine liver regeneration. *Surg Gynecol Obstet* 1978; 147:193-207.
32. Starzl TE, Watanabe K Porter KA et al. Effects of insulin, glucagons and insulin/glucagons infusions on liver morphology and cell division after complete portocaval shunt in dogs. *Lancet* 1976; 1:821-825.

33. Medavar PB. The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. *J Anat* 1944; 78:176-199.
34. Medavar PB. Second study of behaviour and fate of skin homografts in rabbits. *J Anat* 1945; 79:157.
35. Marchioro TL, Aztell HK, LaVia MF et al. The role of adrenocortical steroids in reversing established homograft rejection. *Surgery* 1964; 55:421-417.
36. Starzl TE. Experience in renal transplantation. Philadelphia, WB Saunders 1964.
37. Küss R, Bourget P. Una historia ilustrada del trasplante de órganos. Laboratorios Sandoz, Rueil-Malmaison, Francia: Pollina SA 1992.
38. Starzl TE. History of liver and other splachnic organ transplantation. Transplantation of the liver. W.B. Saunders Company 1996.
39. Starzl TE, Demetrio AJ, Van Thiel DH. Medical progress: Liver transplantation. *N Eng J Med* 1989; 321:1014-1022; 1092-1099.
40. Starzl TE. The little drummer girls. In Starzl TE. *Puzzle People: Memoirs of a transplant surgeon*. Pittsburgh, University of Pittsburgh Press 1992; 318-333.
41. Starzl TE, Halgrisom CG, Koep LJ et al. Vascular homografts from cadaveric organ donors. *Surg Gynecol Obstet* 1979; 149:737.
42. Stieber AC, SEIT G, Todo S et al. The spectrum of portal vein trombosis. *Ann Surg* 1991; 213:199-206.
43. Starzl TE, Demetris AJ. Liver transplantation: A 31-Year Perspectiva. Chicago, Year Book 1990; 38-41.
44. Bismuth H, Houssin D. Reduced-size orthotopic liver graft in hepatic transplantation in children. *Surgery* 1984; 95:367-370.
45. Broelsch CE, Neuhaus P, Burdelski M et al. Orthotopic transplantation of hepatic segments in infants with biliary atresia.

- In Kolsowski L, ed. Chirurgisches Forum 1984, F Experim U Klimische Forschung Hrsga. Berlin, pringer-Verlag 1984; 105-109.
46. Strong RW, Lynch SV, Ong TH et al. Successful liver transplantation from a living donor to her son. N Engl J Med 1990; 322:1505-1507.
 47. Broelsch CE, Emond JC, Whittington PF et al. Application of reduced-size liver transplants as split grafos, auxiliary orthotopic grafos and living related segmental transplants. Ann Surg 1990; 212:368-375.
 48. Calne RY, Williams R: Liver transplantation in man. I. Observations on technique and organization in five cases. BMJ 1968; 4:535-550.
 49. Tzakis A, Todo S, Starzl TE. Orthotopic liver transplantation with preservation of the inferior vena cava. Ann Surg 1989; 210:649-652.
 50. ONT. Organización Nacional de Trasplantes. www.ont.org.
 51. Rodés Teixidor J. Trasplante de órganos y células. Dimensiones éticas reguladoras. Fundación BBVA ed. 2006
 52. Detre KM, Lombardero M, Belle S et al. Influence of donor age on graft survival after liver transplantation- United Network for organ Sharing (UNOS) Registry. Liver Transpl Surg 1995; 1:311-319
 53. Busquets J, Xiol X, Figueras J et al. The impact of donor age on liver transplantation: influence of donor age on early liver function and on subsequent patient and graft survival. Transplantation 2001; 72:1765-1771.
 54. Markman JF, Markman JW, Markman DA et al. Preoperative factors associated with outcome and their impact on resource use in 1148 consecutive liver transplants. Transplantation 2001; 72:1113-1122.
 55. Russo MW, Galanzo JA, Zacks SL et al. Impact of donor age and year of transplant on graft survival in liver transplant recipients with chronic hepatitis C. Am J Transplant 2004; 4:1133-1138.

56. Berenguer M, Prieto M, San Juan F et al. Contribution of donor age to the recent decrease in patient survival among HCV-infected liver transplant recipients. *Hepatology* 2002; 36:202-210.
57. Marino IR, Doyle HR, Aldrighetti L et al. Effect of donor age and sex on the outcome of liver transplantation. *Hepatology* 1995; 22:1754-1762.
58. Brooks BK, Levy MF, Jennings LW et al. Influence of donor and recipient gender on the outcome of liver transplantation. *Transplantation* 1996; 62:1784-1787.
59. Briceño J, Marchal T, Padillo J et al. Influence of marginal donors on liver preservation injury. *Transplantation* 2002; 74:522-526.
60. Mor E, Klintmalm GB, Gonwa TA et al. The use of marginal donors for liver transplantation. A retrospective study of 365 liver donors. *Transplantation* 1992; 53:383-386.
61. Desheenes M, Belle SH, Krom RA et al. Early allograft dysfunction after liver transplantation: a definition and predictors outcome. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Transplantation* 1998; 66:302-310.
62. Cuende N, Miranda B, Cañón JF et al. Donor characteristics associated with liver graft survival. *Transplantation* 2005; 79:1445-1452.
63. Castellví JM, Xiol X, Guardiola J et al. Pretransplantation risk factors for graft loss after liver transplantation in cirrhotic patients; effect of cytomegalovirus serologic status. *Transpl Int* 2004; 17:131-137.
64. Grazi GL, Cescon M, Ravaioli M et al. A revised consideration on the use of very aged donors for liver transplantation. *Am J Transplant* 2001; 1:61-68.
65. Hoofnagle JH, Lombardero M, Zetterman RK et al. Donor age and outcome of liver transplantation. *Hepatology* 1996; 24:89-96.

66. Koneru B, Dikdan G. Hepatic steatosis and liver transplantation current clinical and experimental perspectives. *Transplantation* 2002; 73:325-330.
67. Ureña MA, Ruiz-Delgado FC, González EM et al. Assessing risk of the use of livers with macro and microsteatosis in a liver transplant program. *Transplant Proc* 1998; 30:3288-3291.
68. Briceño J, Solorzano G, Pera C. A proposal for scoring marginal liver grafts. *Transpl Int* 2000; 13 Suppl 1:S249-252.
69. Jiménez Romero C, Moreno González E et al. Use of octogenarian livers safely expands the donor pool. *Transplantation* 1999; 68:572-575.
70. Washburn WK, Johnson LB, Lewis WD et al. Graft function and outcome of older (≥ 60 years) donor livers. *Transplantation* 1996; 61:1062-1066.
71. Emre S, Schwartz ME, Altaca G et al. Safe use of hepatic allografts from donors older than 70 years. *Transplantation* 1996; 62:62-65.
72. Nardo B, Masetti M, Urbani L et al. Liver transplantation from donors aged 80 years and over: pushing the limit. *Am J Transplant* 2004; 4:1139-1147.
73. Wakabayashi H, Nishiyama Y, Ushiyama T et al. Evaluation of the effect of age on functioning hepatocyte mass and liver flow using liver scintigraphy in preoperative estimations for surgical patients: comparison with CT volumetry. *J Surg Res* 2002; 106:246-253.
74. Detry O, Bonnet P, Honore P et al. What is the risk of transferral of an undetected neoplasm during organ transplantation? *Transplant Proc* 1997; 29:2410-2411.
75. Healey PJ, Davis CL. Transmission of tumors by transplantation. *Lancet* 1998; 352:2-3.

76. Neipp M, Betkas H, Lueck R et al. Liver transplantation using organs from donors older than 60 years. *Transpl Int* 2004; 17:416-423.
77. Tector AJ, Mangus RS, Chestovich P et al. Use of extended criteria livers decreases wait time for liver transplantation without adversely impacting posttransplant survival. *Ann Surg* 2006; 244:439-450.
78. Moore DE, Feurer ID, Speroff T et al. Impact of donor, technical and recipient risk factors on survival and quality of life after transplantation. *Arch Surg* 2005; 140:273-277.
79. Wali M, Harrison RF, Gow PJ et al. Advancing donor liver age and rapid fibrosis progression following transplantation for hepatitis C. *Gut* 2002; 51:248-252.
80. Kahpra AP, Agarwal K, Fiel MI et al. Impact of donor age on survival and fibrosis progression in patients with hepatitis C undergoing liver transplantation using HCV+ allografts. *Liver Transpl* 2006; 12:1496,1503.
81. Nickkholgh A, Weitz J, Encke J et al. Utilization of extended donor criteria in liver transplantation: a comprehensive review of the literature. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22 (Suppl 8):29-36.
82. Cameron A, Bussutil RW. AASLD/ILTS transplant course: is there an extended donor suitable for everyone?. *Liver transpl* 2005; 11(Suppl 2):S2-S5.
83. Marsman WA, Wiesner RH, Rodríguez L et al. Use of fatty donor liver is associated with diminished early patient and graft survival. *Transplantation* 1996; 62:1246-1251.
84. Chavin KD, Yang S, Lin HZ et al. Obesity induces expression of uncoupling protein 2 in hepatocytes and promotes liver ATP depletion. *J Biol Chem* 1999. 274:5692-5700.

85. Cortez-Pinto H, Zhi Lin H, Qi Yang S et al. Lipids up-regulate uncoupling protein 2 expression in rat hepatocytes. *Gastroenterology* 1999; 116:1184-1193.
86. Cisneros C, Guillen F, Gómez R et al. Analysis of warm ischemia time for prediction of primary nonfunction of the hepatic graft. *Transplant Proc* 1991; 23:1976.
87. Fukumori T, Ohkohchi N, Tsukamoto S et al. The mechanism of injury in a steatotic liver graft during cold preservation. *Transplantation* 1999; 67:195-200.
88. Hui AM, Kawasaki S, Makuuchi M et al. Liver injury following normothermic ischemia in steatotic rat liver. *Hepatology* 1994; 20:1287-1293.
89. Letteron P, Fromenty B, Terris B et al. Acute and chronic hepatic steatosis lead to in vivo lipid peroxidation in mice. *J Hepatol* 1996; 24:20-208.
90. Laight DW, Desai KM, Gopaul NK et al. F2-isoprostane evidence of oxidant stress in the insulin resistant, obese Zucker rat: effects of vitamin E. *Eur J Pharmacol* 1999; 377:89-92.
91. Soltys K, Dikdan G, Koneru B. Oxidative stress in fatty livers of obese Zucker rats: rapid amelioration and improved tolerance to warm ischemia with tocoferol. *Hepatology* 2001; 34:13-18.
92. Schemmer P, Schoonhoven R, Swenberg JA et al. Gentle organ manipulation during harvest as a key determinant of survival of fatty livers after transplantation in the rat. *Transpl Int* 1999; 12:351-359.
93. Fukumori T, Ohkohchi N, Tsukamoto S et al. Why is a liver with steatosis susceptible to cold ischemic injury? *Transplant Proc* 1999; 31:548-549.

94. Briceño J, Padillo J, Rufian S et al. Assignment of esteatotic livers by the Mayo model for end-stage liver disease. *Transpl Int* 2005; 18:577-583.
95. Verran D, Kusyk T, Painter D et al. Clinical experience gained from the use of 120 steatotic donor livers for orthotopic liver transplantation. *Liver Transplantation* 2003; 9:500-505.
96. D'Alessandro AM, Kalayoglu M, Sollinger HW et al. The predictive value of donor liver biopsies for the development of primary nonfunction after orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc* 1991; 51:157-163.
97. Burke A, Lucey MR. Non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and orthotopic liver transplantation. *Am J Transplant* 2004; 4:686-693.
98. Adam R, Cailliez V, Majno P et al. Normalised intrinsic mortality risk in liver transplantation: European Liver Transplant Registry study. *Lancet* 2000; 356:621-627.
99. Burroughs AK, Sabin CA, Rolles K et al. European liver transplant association. 3-month and 12-month mortality after first liver transplant in adults in Europe: predictive models for outcome. *Lancet* 2006; 367:225-232.
100. Cerutti E, Stratta C, Romagnoli R et al. Bacterial-and fungal-positive cultures in organ donors: clinical impact in liver transplantation. *Liver Transpl* 2006; 12:1253-1259.
101. Little D, Farrell J, Cunningham P et al. Donor sepsis is not a contraindication to cadaveric organ donation. *Q J Med* 1997. 90:641-642.
102. Zibary G, Lipka J, Zizzi A et al. The use of contaminated donor organs in transplantation. *Clinic Transplant* 2000; 14:397-400.

103. Angelis M, Cooper JT, Freeman RB. Impact of donor infections on outcome of orthotopic liver transplantation. *Liver Transplant* 2003; 9:451-462.
104. Marroquin CE, Marino G, Kuo PC et al. Transplantation of hepatitis C-positive patients is equivalent to transplanting hepatitis C-negative livers. *Liver Transpl* 2001; 7:762-768.
105. Vargas HE, Laskus T, Wang LF et al. Outcome of liver transplantation in hepatitis C virus-infected patients who received hepatitis C virus-infected grafts. *Gastroenterology* 1999; 117:149-153.
106. Saab S, Ghobrial RM, Ibrahim AB et al. HCV positive grafts may be used in orthotopic liver transplantation: a matched analysis. *Am J Transplant* 2003; 3:1167-1172.
107. Grob P, Jilg W, Bornhak H et al. Serological pattern "anti-HBc alone": report on a workshop. *J Med Virol* 2000; 62:450-455.
108. Anselmo DM, Ghobrial RM, Jung LC et al. New era of liver transplantation for hepatitis B: a 17-year single-center experience. *Ann Surg* 2002; 235:611-619.
109. Boyacioglu S, Arslan H, Demirhan B et al. Is there risk of transmitting hepatitis B virus in accepting hepatitis B core antibody-positive donors for living related liver transplantation? *Transplant Proc* 2001; 33:2802-2803
110. Castells L, Vargas V, Rodríguez-Frías F et al. Transmission of hepatitis B virus by transplantation of livers from donors positive for antibody to hepatitis core antigen. *Transplant Proc* 1999; 31:2464-2465.
111. Feng S, Buell JF, Chari RS et al. Tumors and transplantation: The 2003 Third Annual ASTS State-of-the-Art Winter Symposium. *Am J Transplant* 2003; 3:1481-1487.

112. Martínez Castro J, Varo Pérez E. Donante con enfermedad hepática benigna subyacente: hemangioma, hidatidosis, quistes simples y traumatismos. *Medicina Clinica* 2006;7(5):8-10.
113. Ramos E, Torras J, Fabregat J et al. Trasplante dominó. *Medicina Clinica* 2006;7(5):46-49.
114. Southard JH, Belzer FO. Principles of organ preservation. *Transplantation of the liver*. W.B. Saunders Company 1996.
115. Belzer FO, Ashby BS, Dumphy JE. 24- and 72-hours preservation of canine kidneys. *Lancet* 1967; 2:536,539.
116. Hoffman RM, Southard JH, Lutz MF et al. Synthetic perfusate for kidney preservation: Its use in 72 hour preservation of dogs kidneys. *Arch Surg* 1983; 118:919-921.
117. McAnulty JF, Ploeg RJ, Southard JH et al. Successful five-day perfusion preservative of the canine kidney. *Transplantation* 1989. 47:37-41.
118. Schilling M, Saunder A, Ametani M et al. Prolonged kidney preservation by inhibition of arachidonic acid metabolism. *Transplant Proc* 1993; 25:1629-1630.
119. Collins GM, Bravo-Shugarman MB, Terasaki PI. Kidney preservation for transplantation: initial perfusion and 30 hour ice storage. *Lancet* 1969; 2:1219-1225.
120. Ross H, Marshall VC, Escott ML. 72-hr canine kidney preservation without continuous perfusion. *Transplantation* 1976; 21:498-501.
121. Lam FT, Mavor AID, Potts DJ et al. Improved 72-hour renal preservation with phosphate buffered sucrose. *Transplantation* 1989; 47:767-770.
122. Jamieson NV, Sundberg R, Lindell S et al. Preservation of the canine liver for 24-48 hours using simple cold storage with UW solution. *Transplantation* 1988; 46:517-525.

123. Ploeg RJ, Goosens D, McAnulty JF et al. Successful 72-hour cold storage of dogs kidneys with UW solution. *Transplantation* 1988; 46:191-196.
124. Wahlberg JA, Love R, Landegaard L et al. 72-hour preservation of the canine pancreas. *Transplantation* 1987; 43:5-10.
125. Holloway CMB, Harvey PRC, Strasberg SM. Viability of sinusoidal lining cells in cold-preserved rat liver allografts. *Transplantation* 1990; 49:225-229.
126. Caldwell-Kenkel JC, Thurman RG, Lemasters JJ. Kupffer cell activation and endothelial cell damage after storage of rats livers: Effects of reperfusion. *Hepatology* 1991; 13:83-95.
127. McKeown CMB, Edwards V, Phillips MJ et al. Sinusoidal lining cell damage: The critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation* 1988; 46:178-191.
128. Moreno Sierra J, Jimenez Penick FJ, Redondo González E et al. *Clínicas urológicas de la Complutense*, 7, 209- 218. Servicio de Publicaciones. UCM, Madrid 1999
129. Takaoka F, Brown MR, Ramsay MAE et al. Intraoperative evaluation of EuroCollins and University of Wisconsin preservation solutions in patients undergoing hepatic transplantation. *Transplantation* 1989; 49:544-547.
130. Sumimoto R, Kamada N. Lactobionate as the most important component in UW solution for liver transplantation. *Transplant Proc* 1990; 22:2198-2199.
131. Boudjema K, van Gulik TM, Lindell SL et al. Effect of oxidized and reduced glutathione in liver preservation. *Transplantation* 1990; 50:948-951.

132. Ploeg RJ, vanBockel JH, Langendijk PT et al. Effect of preservation solution on results of cadaveric kidney transplantation. The European Multicentre Study Group. *Lancet* 1992; 18:129-137.
133. Pokorny H, Rasoul-Rockenschaub S, Langer F et al. Histidina-Tryptofan-Ketoglutarate solution for organ preservation in human liver transplantation. A prospective multicentre observation study. *Transpl Int* 2004; 17:256-260.
134. Mangus RS, Tector AJ, Agarwal A et al. Comparison of histidine-tryptofan-ketoglutarate solution (HTK) and University of Wisconsin Solution (UW) in adult liver transplantation. *Liver transpl* 2006; 12:226-230.
135. Testa G, Malago M, Nadalin S. Histidine-tryptofan-ketoglutarate vs University of Wisconsin solution in living donor liver transplantation: results of a prospective study. *Liver transpl* 2003; 9:822-826.
136. Mühlbacher F, Langer F and Mittermayer C. Preservation solutions for transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31, 2069- 2070
137. Ohwada S, Sunose Y, Tsutsumi H et al. Celsior is superior to UW for graft preservation from non-heart-beating donors in a canine liver transplantation model. *Transplant Proc* 2001; 33:922-923.
138. Nardo B, Beltempo P, Bertelli R et al. Comparison of Celsior and University of Wisconsin solutions in cold preservation of liver from octogenarian donors. *Transplant Proc* 2004; 36:523-524.
139. Xiao-Ning Feng, Xiao Xu and Shu-Sen Zheng. Current status and perspective of liver preservation solutions. Review article. *Hepatobiliary and pancreat dis int* 2006; 5:490- 494
140. Chmiel B, Cierpka L. Organ preservation solutions impair deformability of erythrocytes in vitro. *Transplant Proc* 2003; 35:2163-2164.

141. Van de Plaats A, Hart NA, Morariu AM. Effect of University of Wisconsin organ-preservation solution on haemorheology. *Transplant Int* 2004; 17:227-233.
142. Franco-Gou R, Mosbah IB, Serafin A et al. New preservation strategies for preventing liver grafts against cold ischemia reperfusion injury. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22, 1120- 1126
143. Ben-Ari Z, Hochhauser E, Burstein I et al. Role of anti-tumor necrosis factor-alpha in ischemia/reperfusion injury in isolated rat liver in a blood-free environment. *Transplantation* 2002; 73:1875-1880.
144. García-Criado FJ, Palma-Vargas JM, Vanduciel-García JJ et al. Tacrolimus (FK506) down-regulates free radical tissue levels, serum cytokines and neutrophil infiltration after severe liver ischemia. *Transplantation* 1997; 64:594-598.
145. Hirokawa F, Nakai T, Yamaue H. Storage solution containing fructose 1,6 bifosphate inhibits the excess activation of Kupffer cells in cold liver preservation. *Transplantation* 2002; 74:779-781.
146. Sano W, Watanabe F, Tamai H et al. Beneficial effect of fructose 1,6 bifosphate on mitochondrial function during ischemia-reperfusion on rat liver. *Gastroenterology* 1995; 108:1785-1792.
147. Li XL, Man K, Liu YF. Insulin in University of Wisconsin solution exacerbates the ischemic injury and decreases the graft survival rate in rat liver transplantation. *Transplantation* 2003; 76:44-49.
148. Varo Pérez E, Otero Antón E. Trasplante hepático: avances en inmunosupresión e inmunotolerancia. *Drug update. Drug Farma, S.L.* 2003.
149. Goto T, Kino T, Hatanaka H et al. FK506: Historical perspectives. *Transplant Proc* 1991; 23:27113-2717.

150. Kino T, Hatanaka H, Miyata S et al. FK506, a novel immunosuppressant isolated from a *Streptomyces*. Immunosuppressive effect of FK506 in vitro. J Antibiot (Tokio) 1987; 40:1256-1265.
151. Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics. 10a edición. McGraw- Hill 2002.
152. Farmer DG, Amersi F, Kupiec-Weglinski JW et al. Current status of ischemia and reperfusion injury in the liver. Transplant Rev 2000; 14:106.
153. Fondevila C, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Hepatic ischemia-reperfusion injury- a fresh look. Exp MI Pathol 2003; 74:86.
154. Santoyo J, Suárez MA, Fernández-Aguilar JL y cols. Influencia de las diferentes soluciones de preservación en el trasplante hepático. Medicina Clinica 2006; 7(5):50-53.
155. Gao W, Bentley RC, Aden JF et al. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells is a critical mechanism of preservation injury in rat liver transplantation. Hepatology 1998; 27:1652
156. Belzer FO, Southard JH. Principles of solid-organ preservation by cold storage. Transplantation 1998; 45:673.
157. Nagendra AR, Mickelson JK, Smith CW. CD18 integrin and CD54-dependent neutrophil adhesion to cytokine-stimulated human hepatocytes. Am J Physiol 1997; 272:408.
158. Decker K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells). Eur J Biochem 1990; 192:245.
159. Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA et al. Improved graft survival after renal transplantation in the United States. N Engl J Med 2000; 342:605.

160. Zwacka RM, Zhang Y, Halldorson J et al. CD4+ T- lymphocytes mediate ischemia/reperfusion- induced inflammatory responses in mouse liver. *J Clin Invest* 1997; 100:279.
161. Clavien PA, Harvey PR, Sanabria JR et al. Lymphocyte adherence in the reperfused rat liver: mechanisms and effects. *Hepatology* 1993; 17:131.
162. Le Moine O, Louis H, Demols A et al. Cold liver ischemia-reperfusion injury critically depends on liver T cells and is improved by donor pre-treatment with interleukin 10 in mice. *Hepatology* 2000; 31:1266.
163. Knolle PA, Uhrig A, Hegenbart et al. IL-10 down- regulates T cell activation by antigen- presenting liver sinusoidal endothelial cells through decreased antigen uptake via the man-nose receptor and lowered surface expression of accessory molecules. *Clin Exp Immunol* 1998; 114:427-433.
164. Jaeschke H. Reactive oxygen and ischemia-reperfusion injury of the liver. *Chem Biol Interact* 1991; 79:115.
165. St. Peter SD, Moss AA, Mulligan DC. Effects of tacrolimus on ischemia-reperfusion injury. *Liver transpl* 2003; 9 (2):105-116.
166. Kupiec-Weglinski JW, Busuttill RW. Ischemia and reperfusion in liver transplantation. *Transpl Proc* 2005; 37:1653-1656.
167. Atalla SL, Toledo- Pereyra LH, MacKenzie GH et al. Influence of oxygen-derived free radical scavengers on ischemic livers. *Transplantation* 1985; 40:584-590.
168. Canzanello VJ, Schwartz L, Taler SJ et al . Evolution of cardiovascular risk after liver transplantation: a comparison of cyclosporine A and tacrolimus (FK506). *Liver Transpl Surg* 1997; 3:1-9.

169. Wiesner RH et al. A long-term comparison of tacrolimus (FK506) versus cyclosporine in liver transplantation: A report of the United States FK506 Study Group. *Transplantation* 1998; 66:493-499.
170. Margreiter R et al. European tacrolimus vs ciclosporin microemulsion renal transplantation study group. Efficacy and safety of tacrolimus compared with cyclosporin microemulsion in renal transplantation: A randomised multicentre study. *Lancet* 2002; 359:741-746.
171. Vicenti F, Jensik SC, Filo RS et al. A long-term comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine in kidney transplantation: Evidence for improved allograft survival at five years. *Transplantation* 2002; 73:775-782.
172. Jordan ML, Shapiro R, Gritsch HA et al. Long-term results of pancreas transplantation under tacrolimus immunosuppression. *Transplantation* 1999; 67:266-272.
173. Peddi VR, Kamath S, Munda R et al. Use of tacrolimus eliminates acute rejection as a major complication following simultaneous kidney and pancreas transplantation. *Clin Transplant* 1998; 12:401-405.
174. Drosos AA et al. Newer immunosuppressive drugs: Their potential role in rheumatoid arthritis therapy. *Drugs* 2002; 62:891-907.
175. Sandborn WJ et al. Transcending conventional therapies: The role of biologic and others novel therapies. *Inflamm Bowel Dis* 2001; 7(suppl 1):S9-S16.
176. Gupta AK, Adamiak A, Chow M. tacrolimus: A review of this use for the management of dermatoses. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002; 16:100-114.
177. Mochizucki M, Ikeda E, Shirao M et al. Preclinical and clinical study of FK506 in uveitis. *Curr Eye Res* 1992; 11(suppl):S87-S95.

178. Frantz B, Nordby EC, Bren G et al. Calcineurin acts in synergy with PMA to inactivate IkappaB/MAD3, an inhibitor of NF-kappaB. *EMBO J* 1994; 13:861-870.
179. Bultynck G, De Smedt H, Parys JB et al. Washing out of lipophilic compounds induces a transient increase in the passive Ca (2+) leak in permeabilized A7r5cells. *Cell Calcium* 2002; 31:229-233.
180. Fruman DA, Klee CB, Bierer BE et al. Calcineurin phosphatase activity in T lymphocytes is inhibited by FK506 and cyclosporin A. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:3686-3690.
181. Bieter BE, Mattila PS, Standaert RF et al. Two distinct signal transmission pathways in T lymphocytes are inhibited by complexes formed between an immunophilin and either FK506 or rapamycin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:9231-9235.
182. Emmel EA, Verweij CL, Durand DB et al. Cyclosporin A specifically inhibits function of nuclear proteins involved in T activation. *Science* 1989; 246:1617-1620.
183. Harding MW, Galat A, Uehling DE et al. A receptor for the immunosuppressant FK506 is a cis-trans peptidyl-prolyl isomerase. *Nature* 1989; 341:758-760.
184. Siekierka JJ, Hung SH, Poe M et al. A cytosolic binding protein for the immunosuppressant FK506 has peptidyl-prolyl isomerase activity but is distinct from cyclophilin. *Nature* 1989; 341:755-757.
185. Schreiber SL et al. Chemistry and biology of the immunophilins and their immunosuppressive ligands. *Science* 1991; 251:283-287.
186. Xu X, Su B, Barndt RJ et al. FKBP12 is the only FK506 binding protein mediating T-cell inhibition by the immunosuppressant FK506. *Transplantation* 2002; 73:1835-1838.

187. Dhar DK, Nagasue N, Uchida M et al. Effective prevention of ischemic injury of the dearterialized canine by FK506 pretreatment. *Transplantation* 1993; 56:1555-1558.
188. Dhar DK, Nagasue N, Kimoto T et al. The salutary effect of FK506 in ischemia-reperfusion injury of the canine liver. *Transplantation* 1992; 54:583-588.
189. Sakr MF, Hassanein TI, Zetti GM et al. FK506 ameliorates the hepatic injury associated with ischemia. *Life Sci* 1990; 47:687-691.
190. Sakr MF, Zetti GM, Hassanein TI et al. FK506 ameliorates the hepatic injury associated with ischemia and reperfusion in rats. *Hepatology* 1991; 13:947-951.
191. Kawano K, Bowers JL, Clouse ME. Protective effect of FK506 on hepatic injury following cold ischemic preservation and transplantation: Influence on hepatic microcirculation. *Transplant Proc* 1995; 27:362-363.
192. Wakabayashi H, Harasawa Y, Tanaka S et al. The effect of FK506 on warm ischemia and reperfusion injury in the rat liver. *Surg Today* 1994; 24:994-1002.
193. Soda Y, el-Assal ON, Yu L et al. Suppressed endothelin-1 production by FK506 and cyclosporine A in ischemia/reperfusion of rat small intestine. *Surgery* 1999; 125:23-32.
194. Kaibori M, Sakitani K, Oda M et al. Immunosuppressant FK506 inhibits inducible nitric oxide synthase gene expression at a step of NF-kappaB activation in rat hepatocytes. *J Hepatol* 1999; 30:1138-1145.
195. Schroeder RA, Kuo PC. Local consequences of reperfusion following transplantation. In: Grace PA, Mathie RT (eds). *Ischaemia-reperfusion injury*. London: Blackwell 1999; 113-122.

196. St. Peter SD, Imber CJ, Friend PJ. Kidney and liver preservation by perfusion. *Lancet* 2002; 359:604-613.
197. Kawano K, Bowers JL, Kim YI et al. FK506 reduces oxidative hepatic injury following cold ischemic preservation and transplantation. *Transplant Proc*; 1996;28:1902-1903.
198. Bonventre JV, Weinberg JM. Kidney preservation ex vivo for transplantation. *Annu Rev Med* 1992; 43:523-553.
199. Dhar DK, Takemoto Y, Nagasue N et al. FK506 maintains cellular calcium homeostasis in ischemia-reperfusion injury of the canine liver. *J Surg Res* 1996; 60:142-146.
200. Clavien PA, Harvey PR, Strasberg SM. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. *Transplantation* 1992; 53:957-978.
201. Kurose I, Anderson DC, Miyasaka M et al. Molecular determinants of reperfusion-induced leukocyte adhesion and vascular protein leakage. *Circ Res* 1994; 74:336-343.
202. Haines DD, Bak I, Ferdinandy P et al. Cardioprotective effects of the calcineurin inhibitor FK506 and the PAF receptor antagonist and free radical scavenger, EGb 761, in isolated ischemic/reperfused rat hearts. *J. Cardiovascular Pharmacol* 2000; 35:37-44.
203. Starzl TE, Porter KA, Mazaferro V et al. Hepatotrophic effects of FK506 in dogs. *Transplantation* 1991; 51:67-70.
204. Kahn D, Lai HS, Romovacek H et al. Cyclosporine A augments the regenerative response after partial hepatectomy in the rat. *Transplant Proc* 1988; 20 (Suppl 3):S850-S852.
205. Kim YI, Salvini P, Auxilia F et al. Effect of cyclosporin A on hepatocyte proliferation after partial hepatectomy in rats: Comparison with standard immunosuppressive agents. *Am J Surg* 1988; 15:245-249.

206. Mazzaferro V, Scotti- Foglieni CL, Porter KA et al. Studies of the hepatotrophic qualities of FK506 and CyA. *Transplant Proc* 1990; 22:93-95.
207. St. Peter SD, Moss AA, Mulligan DC. Tacrolimus as a liver flush solution to ameliorate the effects of ischemia/reperfusion injury following liver transplantation. *Liver transpl* 2003; 9 (2):144-149.
208. Currin RT, Caldwell-Kenkel JC, Lichtman SN et al. Protection by Carolina rinse solution, acidotic pH and glycine against lethal reperfusion injury to sinusoidal endothelial cells of rat livers stored for transplantation. *Transplantation* 1996; 62:1549-1558.
209. Sanchez-Urdazpal L, Gores GJ, Lemasters JJ et al. Carolina rinse solution decreases liver injury during clinical liver transplantation. *Transplant Proc* 1993; 25:1574-1575.
210. Viebahn R, Metzdorf B, de Groot H et al. Simulation of hypoxic and preservation injury in human hepatocyte cultures: Influence of FK 506 and cyclosporine. *Transplant Proc* 1993; 25:2691-2692.
211. Takada Y, Fukunaga K, Taniguchi H et al. Energy metabolism of hepatic allografts subjected to prolonged warm ischemia and pharmacologic modulation with FK 506 and platelet activating factor antagonist. *Transplant Proc* 1996; 30:3694-3695.
212. Jin MB, Yamagishi H, Ochiai T et al. Protective effect of FK 506 on hepatic energy metabolism in warm ischemic canine livers induced by total hepatic vascular exclusion. *Transplant Proc* 1998; 28:1108-1110.
213. Yersiz H, Shaked A, Olthoff K et al. Correlation between donor age and the pattern of liver graft recovery after transplantation. *Transplantation* 1995; 60:790-794.

214. Zapletal Ch, Faust D, Wullstein C et al. Does the liver ever age? Results of liver transplantation with donors above 80 years of age. *Transplant Proc* 2005; 37:1182-1185.
215. Borchert D, Glanemann M, Mogl M et al. *Transpl Int* 2005; 18:709-715.
216. Briceño J. Puntuación (score) para hígados marginales. *Medicina Clínica* 2006; 7(5):32-36.
217. Loinaz C, González EM. Marginal donors in liver transplantation. *Hepatogastroenterology* 2000; 47:256-263.
218. Busuttil RW, Tanaka K. The utility of marginal donors in liver transplantation. *Liver Transpl* 2003; 9:651-653.
219. López-Navidad A, Caballero F. Extended criteria for organ acceptance. Strategies for achieving organ safety and for increasing organ pool. *Clin Transplant* 2003; 17:308-324.
220. Tekin K, Imber CJ, Atli M et al. A simple scoring system to evaluate the effects of cold ischemia on marginal liver donors. *Transplantation* 2004; 77:411-416.
221. Popper H. Aging and the liver. *Prog Liver Dis* 1986; 8:659,683.
222. Bender AD. The effect of increasing age on the distribution of peripheral blood in man. *J Am Geriatr Soc* 1965; 13:192-198.
223. Regev A, Schiff ER. Liver disease in the elderly. *Gastroenterol Clin North Am* 2001; 30:547-563.
224. Tsukamoto I, Nakata R, Kojo S. Effect of ageing on rat liver regeneration after partial hepatectomy. *Biochem Mol Biol Int* 1993; 30:773-778.

VIII. APÉNDICE

**1.- TABLAS RESUMEN DE LAS
PRINCIPALES VARIABLES DE VALORACIÓN**

GPT

	TACROLIMUS	CONTROL	p
Pico máximo en las primeras 48 horas postrasplante	623.29	583.72	0.715
Basal	74.36	73.72	0.979
24 horas	546.68	528.68	0.858
48 horas	519.45	487.36	0.740
Día 5	248.44	244.95	0.930
Día 14	99.23	90.42	0.593
Cambio entre valor máximo y visita basal	551.97	520.30	0.775
Cambio entre 24 horas y visita basal	473.86	463.64	0.922
Cambio entre 48 horas y visita basal	445.03	424.36	0.834
Cambio entre día 5 y visita basal	173.87	178.29	0.924
Cambio entre día 14 y visita basal	22.91	27.0	0.959

Valores expresados como media. Prueba de contraste: t-student

	TACROLIMUS	CONTROL	p
Pico máximo en las primeras 48 horas postrasplante	41.00	41.00	0.798
Basal	315.55	330.00	0.853
24 horas	299.50	301.20	0.930
48 horas	199.00	192.50	0.930
Día 5	69.00	76.00	0.932
Día 14	397.50	376.00	0.540
Cambio entre valor máximo y visita basal	286.40	301.00	0.861
Cambio entre 24 horas y visita basal	236.35	266.50	0.861
Cambio entre 48 horas y visita basal	251.00	235.00	0.861
Cambio entre día 5 y visita basal	137.00	133.00	1.000
Cambio entre día 14 y visita basal	19.00	27.00	0.476

Valores expresados como mediana. Prueba de contraste: prueba de la mediana

GOT

	TACROLIMUS	CONTROL	p
Pico máximo en las primeras 48 horas postrasplante	793.79	573.49	0.232
Basal	98.42	105.62	0.837
24 horas	753.70	549.92	0.262
48 horas	380.88	271.25	0.174
Día 5	67.18	89.74	0'083
Día 14	40.92	35.58	0.480
Cambio entre valor máximo y visita basal	630.73	508.91	0.529
Cambio entre 24 horas y visita basal	603.84	487.78	0.529
Cambio entre 48 horas y visita basal	253.08	195.02	0.498
Cambio entre día 5 y visita basal	-32.34	-5.96	0.472
Cambio entre día 14 y visita basal	-57.57	-61.92	0.901

Valores expresados como media. Prueba de contraste t-student

	TACROLIMUS	CONTROL	p
Pico máximo en las primeras 48 horas postrasplante	376.00	374.50	1.000
Basal	59.20	58.00	0.799
24 horas	360.00	367.00	0.860
48 horas	185.00	169.50	0.483
Día 5	55.00	70.00	0.140
Día 14	23.70	24.00	0.789
Cambio entre valor máximo y visita basal	255.00	337.00	0.269
Cambio entre 24 horas y visita basal	247.00	329.00	0.201
Cambio entre 48 horas y visita basal	93.00	127.50	0.717
Cambio entre día 5 y visita basal	-3.00	5.00	0.244
Cambio entre día 14 y visita basal	-24.00	-28.00	0.469

Valores expresados como mediana. Prueba de contraste: prueba de la mediana

GGT

	TACROLIMUS	CONTROL	p
Pico máximo en las primeras 48 horas postrasplante	110.35	143.12	0.165
Basal	101.27	102.35	0.965
24 horas	84.57	96.03	0.470
48 horas	105.65	137.17	0.144
Día 5	308.17	351.50	0.375
Día 14	326.47	338.76	0.792
Cambio entre valor máximo y visita basal	8.60	35.99	0.353
Cambio entre 24 horas y visita basal	-15.85	-4.98	0.631
Cambio entre 48 horas y visita basal	0.35	26.19	0.382
Cambio entre día 5 y visita basal	204.59	232.71	0.586
Cambio entre día 14 y visita basal	231.59	236.67	0.923

Valores expresados como media. Prueba de contraste: t-student

	TACROLIMUS	CONTROL	p
Pico máximo en las primeras 48 horas postrasplante	74.00	92.50	0.299
Basal	58.50	64.00	0.854
24 horas	61.00	70.00	0.409
48 horas	70.20	82.00	0.368
Día 5	259.00	247.00	0.661
Día 14	256.00	288.60	0.428
Cambio entre valor máximo y visita basal	4.00	9.00	0.922
Cambio entre 24 horas y visita basal	-10.00	-7.80	0.923
Cambio entre 48 horas y visita basal	1.50	5.00	0.850
Cambio entre día 5 y visita basal	124.00	133.00	1.000
Cambio entre día 14 y visita basal	171.00	188.00	0.450

Valores expresados como mediana. Prueba de contraste: prueba de la mediana

BILIRRUBINA

	TACROLIMUS	CONTROL	p
Pico máximo en las primeras 48 horas postrasplante	6.62	6.86	0.955
Basal	3.97	3.07	0.254
24 horas	3.54	3.30	0.553
48 horas	5.29	5.71	0.918
Día 5	8.69	2.77	0.291
Día 14	3.48	2.27	0.163
Cambio entre valor máximo y visita basal	2.59	3.82	0.758
Cambio entre 24 horas y visita basal	-0.43	0.26	0.356
Cambio entre 48 horas y visita basal	1.30	2.72	0.717
Cambio entre día 5 y visita basal	4.70	-0.31	0.378
Cambio entre día 14 y visita basal	-0.52	-0.87	0.755

Valores expresados como media. Prueba de contraste: t-student

	TACROLIMUS	CONTROL	p
Pico máximo en las primeras 48 horas postrasplante	3.72	3.30	0.664
Basal	2.00	1.90	0.610
24 horas	3.20	2.90	0.668
48 horas	1.51	2.00	0.387
Día 5	2.00	2.05	0.790
Día 14	1.20	1.20	0.861
Cambio entre valor máximo y visita basal	0.72	0.90	1.000
Cambio entre 24 horas y visita basal	0.30	0.54	0.489
Cambio entre 48 horas y visita basal	-0.35	-0.05	0.255
Cambio entre día 5 y visita basal	-0.12	0.00	0.601
Cambio entre día 14 y visita basal	-0.51	-0.65	0.791

Valores expresados como mediana. Prueba de contraste: prueba de la mediana

ACTIVIDAD PROTROMBINA

	TACROLIMUS	CONTROL	p
Pico máximo en las primeras 48 horas postrasplante	70.07	70.63	0.881
Basal	67.28	64.08	0.380
24 horas	58.54	64.08	0.380
48 horas	66.84	67.71	0.822
Día 5	77.85	80.05	0.498
Día 14	81.64	85.18	0.228
Cambio entre valor máximo y visita basal	2.70	6.42	0.410
Cambio entre 24 horas y visita basal	-8.70	-2.94	0.190
Cambio entre 48 horas y visita basal	-0.86	3.52	0.351
Cambio entre día 5 y visita basal	10.58	18.01	0.082
Cambio entre día 14 y visita basal	13.15	21.88	0.054

Valores expresados como media. Prueba de contraste: t-student

	TACROLIMUS	CONTROL	P
Pico máximo en las primeras 48 horas postrasplante	70.00	67.00	0.462
Basal	69.00	64.00	0.223
24 horas	60.70	57.00	0.611
48 horas	66.50	66.60	0.922
Día 5	76.00	81.35	0.761
Día 14	84.00	85.60	0.677
Cambio entre valor máximo y visita basal	5.00	3.50	0.750
Cambio entre 24 horas y visita basal	-8.30	-5.00	0.456
Cambio entre 48 horas y visita basal	2.00	-0.60	0.993
Cambio entre día 5 y visita basal	11.75	16.05	0.210
Cambio entre día 14 y visita basal	16.00	23.00	0.164

Valores expresados como mediana. Prueba de contraste: prueba de la mediana

INR

	TACROLIMUS	CONTROL	p
Pico máximo en las primeras 48 horas postrasplante	1.75	1.69	0.593
Basal	1.41	1.46	0.516
24 horas	1.65	1.61	0.685
48 horas	1.42	1.42	0.960
Día 5	1.20	1.20	0.875
Día 14	1.17	1.18	0.891
Cambio entre valor máximo y visita basal	0.31	0.22	0.479
Cambio entre 24 horas y visita basal	0.20	0.10	0.402
Cambio entre 48 horas y visita basal	0.02	-0.02	0.656
Cambio entre día 5 y visita basal	-0.20	-0.29	0.220
Cambio entre día 14 y visita basal	-0.22	-0.32	0.179

Valores expresados como media. Prueba de contraste: t-student

	TACROLIMUS	CONTROL	P
Pico máximo en las primeras 48 horas postrasplante	1.61	1.60	0.385
Basal	1.33	1.40	0.331
24 horas	1.51	1.50	0.704
48 horas	1.30	1.30	0.840
Día 5	1.20	1.20	0.915
Día 14	1.15	1.17	0.676
Cambio entre valor máximo y visita basal	0.30	0.18	0.306
Cambio entre 24 horas y visita basal	0.10	0.10	0.627
Cambio entre 48 horas y visita basal	-0.02	0.00	0.742
Cambio entre día 5 y visita basal	-0.19	-0.21	0.689
Cambio entre día 14 y visita basal	-0.22	-0.26	0.595

Valores expresados como mediana. Prueba de contraste: prueba de la mediana

FE DE ERRATAS

Pág. 131. En las tablas 25 y 26 el valor máximo de actividad de protrombina es 105,50, no 150,50 y el valor máximo de bilirrubina no es correcto, ya que es un valor expresado en mmol/L en vez de mg/dL.