

11209

23.
25



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION
"SALVADOR ZUBIRAN"**



**ANALISIS DE LA EXPRESION DEL GEN DE LA ALBUMINA EN INJERTOS HEPATICOS
HUMANOS DURANTE SU PRESERVACION Y POSTERIOR A SU TRASPLANTE**

TESIS DE POSTGRADO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

CIRUGIA GENERAL

P R E S E N T A :

DR. JUAN LUIS CONTRERAS RODRIGUEZ

Profesor del Curso: Dr. Hector Orozco Zepeda

MEXICO, D. F. FALLA DE ORIGEN

1996

1995



Universidad Nacional
Autónoma de México

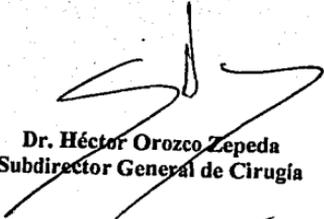


UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

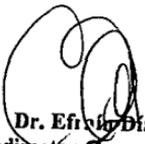
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Dr. Héctor Orozco Zepeda
Subdirector General de Cirugía



Dr. Miguel Angel Mercado Díaz
Revisor de Tesis



Dr. Efrén Díaz-Jouanen
Subdirector General de Enseñanza

INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION
SALVADOR ZUBIRAN
SUB-DIRECCION DE ENSEÑANZA
México, D. F.



Dr. Juan Luis Contreras Rodríguez



**ANALISIS DE LA EXPRESION DEL GEN DE LA ALBUMINA
EN INJERTOS HEPATICOS HUMANOS DURANTE SU
PRESERVACIÓN Y POSTERIOR A SU TRASPLANTE**

**Tesis de Postgrado
Para la Especialidad de
CIRUGIA GENERAL
presenta
DR. Juan Luis Contreras Rodríguez**

**Departamento de Cirugía,
Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"
México, D.F.**

**Profesor del Curso: Dr. Héctor Orozco Zepeda
Revisor de tesis: Dr. Miguel Angel Mercado Díaz**

DEDICATORIA

A Dios

A mis padres y a mis maestros

A mi esposa Guadalupe Bilbao

Al Dr. Joaquín Aldrete

AGRADECIMIENTO

**A la Dra Ana Rosa Rincón y al Dr. Arturo Panduro sin los cuales
no hubiera sido posible la realización de éste trabajo**

**A los Doctores Josefina Alberú, Javier Bordes, Rubén Cortés,
Sergio Cárdenas, Héctor Dfliz, Lorenzo de la Garza, Miguel Herrera,
Miguel A Mercado, Héctor Orozco y Patricio Santillán
por su comprensión y enseñanza.**

INDICE

Introducción	6
-Historia del Trasplante de hígado	6
-Tipos de trasplante de hígado	7
-Indicaciones y selección de pacientes	8
-Contraindicaciones	14
-Preparación general del paciente	15
-Procuración de órganos	16
-Procedimiento quirúrgico	17
-Injertos hepáticos reducidos	22
-Trasplante de hígado heterotópico o auxiliar	23
-Estabilización de la función hepática	23
-Inmunosupresión	24
-Sobrevida y calidad de vida	26
-Complicaciones postoperatorias	27
-Falla primaria del injerto	32
-Alteraciones moleculares durante el daño hepático	38
Objetivo	39
Justificación	40
Material y método	41
Resultados	44
Discusión	47
Bibliografía	48
Tablas	52
Figuras	54

INTRODUCCION

HISTORIA DEL TRASPLANTE DE HIGADO

En 1955, Welch realizó el primer trasplante hepático en perros. Posteriormente, Moore y Murray en Boston, Calne en Cambridge y Starzl en Chicago, Denver y Pittsburgh realizaron los principales estudios experimentales desarrollando y estandarizando el procedimiento. Starzl y colaboradores realizaron en 1963 el primer trasplante de hígado exitoso en humanos. Los ensayos clínicos iniciales presentaron múltiples complicaciones principalmente relacionadas a la ausencia de agentes inmunosupresores eficaces. En la década comprendida entre 1981-1989, con la introducción de la ciclosporina a la práctica clínica, la sobrevida al trasplante hepático se incrementó progresivamente hasta que en 1983, en las Institutos Nacionales de Salud en Estados Unidos, el Concenso para el desarrollo del trasplante de hígado determinó que el trasplante hepático dejaba de ser un procedimiento experimental convirtiéndose en una forma efectiva para el tratamiento de enfermedades hepáticas cambiando por completo la práctica clínica en hepatología. En 1994 la sobrevida a 1 año posterior a un trasplante de hígado se reporta en forma global entre el 75-85%, el incremento en la sobrevida se debió a mejor selección de los pacientes, mejoría en la técnica quirúrgica incluyendo el uso del puente veno-venoso extracorpóreo y cuidado

postoperatorio, al desarrollo de nuevos inmunosupresores y tratamiento de sus complicaciones. Tan solo en los Estados Unidos existen aprobados por lo menos 114 centros en donde se realizan trasplantes de hígado y se realizaron 3408 procedimientos en 1993. Actualmente, se realizan trasplantes de hígado en múltiples centros en los cinco continentes. A pesar del aumento en el número de trasplantes a nivel mundial no se cumplen las necesidades del procedimiento incrementándose constantemente el número de pacientes y el tiempo en lista de espera.

TIPOS DE TRASPLANTE HEPATICO

El trasplante de hígado puede realizarse en forma ortotópica reemplazando el hígado enfermo por un injerto sano colocado en la misma localización, este es el procedimiento más comunmente utilizado. El trasplante de hígado heterotópico o auxiliar consiste en trasplantar un injerto hepático "extra" en la región subhepática derecha sin extirpar el hígado enfermo. Se pueden realizar trasplantes de hígado parciales o segmentarios en donde se utiliza una porción del hígado (lóbulo derecho, lóbulo izquierdo o segmento lateral izquierdo). Actualmente existe la atractiva posibilidad de realizar trasplantes hepaticos de donador vivo-relacionado en donde se realiza una hepatectomía izquierda en el

donador y se implanta ortotópicamente en el receptor, por ejemplo, de madre a hijo.

INDICACIONES Y SELECCION DE PACIENTES

El paciente seleccionado para trasplante de hígado debe padecer una hepatopatía irreversible en la que no exista otra alternativa de tratamiento en ausencia de contraindicaciones para el mismo (ver adelante). La decisión de cuando realizar un trasplante de hígado es muy difícil siendo el candidato ideal aquel que es transportado desde su casa al hospital para realizar el procedimiento. El paciente hospitalizado o en terapia intensiva tiene mayor incidencia de complicaciones y menor sobrevida. Los parámetros que normalmente se toman para decidir cuando realizar un trasplante hepático son: ascitis refractaria a tratamiento, encefalopatía progresiva, sangrado recurrente por hipertensión portal, peritonitis bacteriana espontánea, incremento en la ictericia mayor 2mg cada 6 meses, hipoprotrombinemia refractaria, fatiga progresiva y prurito incontrolable. La presencia de cualquiera de los primeros cinco criterios indican una mortalidad estimada en 50% en 6 meses, la fatiga y el prurito severos afecta en gran medida la calidad de vida por lo que se consideran indicativos de trasplante de hígado. Además, el paciente debe contar con buena función cardiopulmonar y renal, no infección activa o cáncer extrahepático, estabilidad social y en general menos de 65 años (aunque se ha

realizado el procedimiento en forma exitosa en pacientes con 70 años). En ausencia de contraindicaciones, virtualmente cualquier enfermedad hepática que produzca insuficiencia hepática es candidata a ser tratada con trasplante hepático. Algunas de las enfermedades que has sido tratadas en forma exitosa se enumeran en la tabla #1. Actualmente, las principales causas de trasplante hepático en adultos son cirrosis hepática inducida por virus, cirrosis por alcohol y enfermedades colestásicas. En la población pediátrica la atresia de vías biliares y errores congénitos del metabolismo representan las principales indicaciones.

1) Hepatitis crónica autoinmune:

Está indicado el trasplante de hígado cuando se documenta cirrosis o cuando se presentan efectos adversos importantes por esteroides como lo son osteoporosis importante e infecciones recurrentes, los resultados son excelentes y la enfermedad no parece recurrir en el injerto.

2) Hepatopatías colestásicas:

En general son excelentes indicaciones para trasplante hepático ya que la función hepatocelular esta usualmente preservada. La cirrosis biliar primaria tiene un curso clínico relativamente predecible incrementandose progresivamente los niveles de bilirrubina y fatiga. La presencia de sintomatología importante puede desarrollarse en un período hasta de 20 años.

Se considera, en general, apropiada la indicación de trasplante cuando los niveles de bilirrubina son $>10\text{mg/dl}$. La sobrevida es excelente.

En la colangitis esclerosante primaria, además de las indicaciones habituales de trasplante, la presencia de colangitis debe acelerar la decisión de trasplante. La sobrevida a un año de del 85-90% aproximadamente. Existen casos aislados reportados con recurrencia de la enfermedad en el injerto.

3) Hepatitis viral:

Los pacientes portadores del virus B de la hepatitis son candidatos en general cuando no tienen evidencia de infección o replicación viral (HBsAg -, HBV DNA-) ya que de otra forma la incidencia de reinfección y falla hepática temprana son altas. Algunos centros de trasplante administran inmunoprofilaxis pasiva con inmunoglobulina contra el virus de la hepatitis B. Los casos con hepatitis fulminante por virus B y los asociados con el virus Delta tienen menor incidencia de reinfección postrasplante. La hepatitis por virus C representa actualmente una de las principales indicaciones de trasplante hepático en adultos, aunque la incidencia de reinfección es alta, su comportamiento clínico es benigno siendo poco frecuente la insuficiencia hepática temprana posterior al procedimiento. En casos con disfunción hepática importante posttrasplante puede administrarse interferón.

4) Hepatitis Fulminante:

Las casusas más frecuentes son hepatitis por virus (A,B,C,D,E) y la inducida por drogas principalmente acetaminofén. La sobrevida al procedimiento es del 70% aproximadamente siendo la encefalopatía grado IV una contraindicación para el procedimiento. Centros con gran experiencia y trasplante hepatico en estadios tempranos reportan una sobrevida del 85% a un año.

5) Enfermedad hepática por alcohol:

Se requiere un período de abstinencia de 6-12 meses para ser candidato a trasplante, algunos centros además exigen rehabilitación en programas especiales previo al procedimiento y valoración psiquiátrica especializada. La sobrevida es similar a la reportada en trasplante hepatico por otras enfermedades.

6) Cáncer:

Los tumores hepáticos primarios son indicaciones de trasplante hepático aunque la sobrevida es mucho menor por recurrencia de la enfermedad. Se requiere de una extensa evaluación pretrasplante para estadificar la enfermedad. Los pacientes en los que se decide realizar el procedimiento antes de realizar la hepatectomía debe evaluarse completamente la cavidad abdominal. La presencia de enfermedad fuera del hígado es una contraindicación absoluta para el procedimiento. La sobrevida depende del tamaño del tumor por lo que tumores mayores de 5 cm o estadios III y IV no deben trasplantarse. Algunos criterios clínicos e histológicos de potencial ventaja en cuanto a sobrevida son: ausencia de lesiones multifocales o satélites,

no afección de la vena porta, no afección de ganglios linfáticos y presencia de tumor encapsulado. El carcinoma fibrolaminar es el tumor hepático de mejor pronóstico por su baja incidencia de recidiva. El hepatoblastoma tiene una supervivencia del 50% a 24-70 meses siendo la invasión vascular un criterio de mal pronóstico. El colangiocarcinoma en general no se considera una indicación para trasplante hepático por su alta incidencia de recurrencia y muerte temprana. Algunos pacientes con tumores carcinoides o con hemangioendoteliooma epitelioide con enfermedad extrahepática pueden ser candidatos a trasplante. Se están actualmente estudiando diferentes protocolos de quimioterapia pre, trans y postoperatoria para tratar de aumentar la supervivencia y el número de pacientes que puedan ser tratados con trasplante hepático.

7) Atresia de vías biliares:

El tratamiento recomendado es portoenterostomía (procedimiento de Kasai) especialmente antes de los 3 meses de edad cuando puede realizarse, desgraciadamente, existen casos que no pueden corregirse quirúrgicamente. La supervivencia a 5 años es del 37-45%. El retardo en el crecimiento, desnutrición, sangrado secundario a hipertensión portal y colangitis recurrente son indicaciones de trasplante.

8) Enfermedades metabólicas:

Existen enfermedades metabólicas en donde el hígado tiende a la cirrosis como en la enfermedad de Wilson y otras en donde el hígado es morfológicamente normal como en la oxaluria primaria. En las primeras existe la posibilidad de desarrollo de carcinoma hepatocelular. En general, estos pacientes son muy buenos candidatos para trasplante por su buena función sintética. La deficiencia de alfa-1 antitripsina representa la principal causa metabólica de trasplante de hígado, aproximadamente el 15% de los pacientes desarrollan cirrosis a la edad de 20 años. La enfermedad pulmonar se estabiliza posterior al trasplante hepático, en casos con enfermedad pulmonar avanzada está indicado el trasplante de pulmón inicialmente y posteriormente de hígado. Las indicaciones de trasplante hepático en la enfermedad de Wilson son: hepatitis fulminante, descompensación hepática severa en pacientes con 3 meses de tratamiento con D-penicilamina o aquellos con insuficiencia hepática importante después de suspenderla. Las manifestaciones neurológicas revierten con el tiempo. La glucogenosis tipo I y IV son candidatas a trasplante hepático con sobrevida excelente. Los pacientes con Crigler-Najar tipo I puede ser indicación de trasplante cuando la bilirrubina sérica es muy elevada y no puede controlarse con medidas médicas. Los pacientes con tirosinemia deben trasplantarse en forma temprana para evitar el desarrollo de carcinoma hepatocelular, la enfermedad se cura con el procedimiento. Algunas enfermedades de la coagulación pueden ser completamente corregidas con

trasplante hepático como la hemofilia A y B, deficiencia de proteína C, proteína S, antitrombina III, etc. La oxaluria primaria tipo I se corrige con el trasplante hígado/riñón, las alteraciones cardíacas revierten, actualmente se recomienda el trasplante hepático antes de presencia de falla renal. La hipercolesterolemia familiar tipo IIA también se cura con trasplante hepático, algunas veces se requiere trasplante de corazón el cual se recomienda realizarse en forma inicial.

9) Otras enfermedades:

Los pacientes con Síndrome de Budd-Chiari pueden ser tratados con trasplante hepático, principalmente los que presentan cirrosis. Algunos requieren anticoagulación prolongada, especialmente, los asociados a policitemia vera y enfermedades linfoproliferativas.

CONTRAINDICACIONES

Existen contraindicaciones absolutas como: sepsis, enfermedad neoplásica extrahepática, SIDA, enfermedad cardiopulmonar avanzada, alteraciones psicosociales y falla orgánica múltiple. Las contraindicaciones relativas son: edad avanzada y hepatitis crónica por virus B con evidencia de infección o replicación (HBcAG + ó HBV DNA+).

PREPARACION GENERAL DEL PACIENTE

En condiciones electivas, el paciente candidato a trasplante hepático debe ser seleccionado por un grupo de especialistas incluyendo cirujanos, hepatólogos, anestesiólogos, intensivistas, psiquiatras, etc. Debido al incremento en listas de espera y poca disponibilidad de órganos para trasplante, el paciente portador de alguna hepatopatía potencialmente candidato a trasplante debe referirse en forma temprana a centros en donde se realice el procedimiento. Se realiza una historia clínica, examen físico y de laboratorio para definir la necesidad de trasplante hepático. Posteriormente deben practicarse estudios radiológicos que permitan valorar la vasculatura esplécnica y descartar enfermedad neoplásica. Algunos pacientes requieren estudios endoscópicos para descartar la presencia de neoplasia especialmente portadores de enfermedad inflamatoria intestinal o presencia de sangre en heces. Se realizan estudios serológicos para valorar enfermedades como HIV, citomegalovirus, sífilis, tuberculosis, etc. Debe realizarse una valoración cardiopulmonar detallada y valoración psiquiátrica. Se recomienda aplicar las siguientes vacunas para prevenir infecciones por pneumococo, influenza, difteria/tetanos y hepatitis B. En caso de receptores pediátricos se administran vacunas para prevenir la difteria, tosferina, tétanos, parotiditis, rubeola, sarampión e infección por *haemophilus* y poliovirus, siendo la última dosis por lo menos 30 días antes del trasplante.

PROCURACIÓN DE ORGANOS

El donador debe ser > 2 meses y menor a 65 años, en muerte cerebral (documentada electroencefalograficamente, con potenciales evocados o angiografía cerebral y dictaminada por un neurologo reconocido) y que cumpla los siguientes criterios: estabilidad hemodinámica, oxigenación adecuada, ausencia de infección, exclusión serológica de hepatitis B, C y SIDA, ausencia de disfunción hepática y enfermedad maligna fuera del sistema nervioso central. Las funciones cardiovasculares y respiratorias son mantenidas artificialmente hasta que el hígado pueda ser extirpado, generalmente junto con otros órganos como corazón, pulmones, páncreas, riñones, etc. La compatibilidad sanguínea y tamaño del injerto son muy importantes para la selección del receptor. La tipificación de HLA no se requiere en trasplante de hígado y la presencia de anticuerpos citotóxicos contra HLA preformados no contraindica el trasplante. Durante la procuración se perfunden los órganos con solución de preservación, en caso del hígado, la mejor es la desarrollada por Belzer en la Universidad de Wisconsin y es llamada UW, gracias a su alto contenido en rabinosa y lactobionato el tiempo de preservación puede ser hasta por 24 hrs. Debe explorarse cuidadosamente el injerto hepatico analizando su aporte sanguineo teniendo especial cuidado en la identificación de variantes anatómicas de la

arteria hepática. Recientemente se ha demostrado que puede utilizarse injertos hepáticos de donadores cuyo latido cardiaco se ha detenido relizandose una procuración multivisceral en bloque con administración inmediata de solución de preservación con resultados similares a los injertos de donadores con corazón funcionante. La selección del receptor se realiza además valorando su estado clínico y tiempo de espera. El injerto hepático se termina de preparar antes de realizar la hepatectomía del receptor, esta preparación conciste en la identificación y sutura de pequeñas colaterales de la vena cava inferior, vena porta y arteria hepática del receptor y debe realizarse un parche de Carrel para la anastomosis de la arteria hepática.

PROCEDIMIENTO QUIRURGICO

El trasplante hepático es uno de los procedimientos quirúrgicos con mayor dificultad técnica y de manejo trans y postoperatorio. Conceptualmente se realiza en 3 fases: disección y extirpación del hígado enfermo (hepatectomía), posteriormente una fase llamada anhepática que comprende desde la hepatectomía hasta la revascularización del nuevo injerto y finalmente una fase postreperusión del hígado implantado en donde se reconstruye la vía biliar y sutura de la pared abdominal.

1) Disección del hígado enfermo:

El paciente es colocado en posición supina, se coloca una sonda de Foley, sonda nasogástrica, 2 vías venosas (central y periférica) de alto flujo, línea arterial, monitoreo cardíaco y sistema de infusión rápida. Se prepara desde el tercio superior de ambos muslos hasta el tercio medio del tórax y reguión axilar izquierda. La incisión más frecuentemente utilizada es subcostal bilateral con la opción de extensión superior en línea media hasta el proceso xifoides. Se aborda la cavidad abdominal aspirando el líquido de ascitis. Se divide el ligamento de teres colocando cuidadosamente suturas o puntos de transfixión ya que la vena umbilical frecuentemente se encuentra recanalizada por hipertensión portal. Se explora el hígado con la idea de descartar enfermedad maligna y se procede a seccionar el ligamento falciforme, triangulares y coronal hasta liberar completamente la vena cava inferior suprahepática. Debe tenerse cuidado de no lesionar venas frénicas y hepáticas. Se coloca un separador como el Thompson para rechazar el borde costal hacia arriba y en dirección cefálica. Se procede a diseccionar las estructuras del hilio hepático. La arteria hepática generalmente puede palparse en la porción anteromedial de la triada portal, la arteria hepática propia se esqueletoniza desde la emergencia de la arteria gastroduodenal hasta su bifurcación. El conducto biliar es seccionado en forma proximal al hígado evitando su devascularización. Se aísla la vena porta desde su emergencia en el borde superior del páncreas hasta su bifurcación. En caso de trombosis portal debe extenderse la disección hasta identificar la vena

mesentérica superior y esplénica para reconstruir la vena porta. Posteriormente, la vena cava infrahepática es liberada teniéndose cuidado de seccionar y ligar la vena suprarrenal derecha. Hasta este punto el hígado está completamente liberado y listo para su extirpación.

2) Fase anhepática:

Se procede entonces a colocar el puente veno-venoso extracorporeo que permite a la sangre del sistema esplácnico y miembros inferiores regresar al corazón durante el periodo de oclusión de la vena cava inferior y la porta. Esto disminuye la congestión esplácnica, edema intestinal y lesión renal. Además, permite realizar el procedimiento con mayor estabilidad hemodinámica siendo menos severo el síndrome de reperfusión. Está indicado utilizarlo cuando el cirujano no tiene gran experiencia con el procedimiento, función cardiopulmonar limitrofe, edad avanzada, disfunción renal pre-existente, trombosis portal o necesidad de reconstrucción de otros vasos sanguíneos. Actualmente no se utiliza rutinariamente en centros con gran experiencia en trasplante hepático ya que la fase anhepática es de poca duración, tampoco se utiliza en receptores pediátricos. El puente veno-venoso requiere la colocación de cánulas en la vena femoral y vena porta conduciendo la sangre hacia una bomba mecánica que regresa la sangre del paciente a través de la vena axilar (Figura # 1). Inicialmente, la inserción de éstas cánulas se realizaba bajo visión directa, actualmente se pueden colocar por vía percutánea disminuyendo el

tiempo operatorio y necesidad de incisiones adicionales. El sistema no requiere de heparinización sistémica y el flujo recomendado es 2 L/min. Una vez colocado el puente veno-venoso, se ocluye la vena cava inferior supra e infrahepática y se completa la extirpación del hígado enfermo. Se realiza hemostasia y se inicia el implante del nuevo injerto. La vena cava inferior y porta se anastomosan con sus vasos homólogos del receptor en forma termino-terminal (Figura # 2). Se realiza inicialmente la anastomosis de la vena cava inferior suprahepática con material inabsorbible 4-0, iniciando por los bordes posteriores con sutura continua. Posteriormente, se realiza la anastomosis de la vena cava inferior infrahepática con el mismo material y en la misma forma. Durante esta etapa, se perfunde el injerto hepática con solución salina y albúmina (1 L) para extraer la solución de preservación (muy alto contenido en potasio) y productos tóxicos acumulados durante la preservación. Se extrae la canula del puente venoso colocado en la vena porta y se procede a su reconstrucción utilizando material inabsorbible 6-0. En casos de trombosis portal se requiere de un injerto de vena iliaca del donador y se realiza un "puente" conectando la vena porta del injerto con la vena mesenterica superior del receptor. La arteria hepática del receptor se prepara elaborando un "parche" en el sitio de origen de la arteria gastroduodenal. En algunas ocasiones es muy pequeña por lo que se puede utilizar el origen de la arteria esplénica o colocando un injerto de arteria iliaca del donador realizando una

anastomosis directamente con la aorta del receptor. Las pinzas vasculares son liberadas permitiéndose la reperfusión del injerto. En algunos centros se liberan las pinzas vasculares de la vena cava inferior y vena porta antes de realizarse la reconstrucción arterial permitiendo en forma más temprana la reperfusión del injerto hepático con sangre proveniente del sistema esplácnico.

3) Fase postrevascularización:

Después de la revascularización, el injerto toma color y consistencia normal en 5-15 minutos. Deben identificarse los sitios de sangrado y revisarse las anastomosis vasculares. El resto de las cánulas del puente veno-venoso son extraídas y se procede a la reconstrucción biliar. Se extirpa la vesícula biliar realizándose una hemostasis cuidadosa. La gran mayoría de los centros actualmente realizan para reconstruir la vía biliar una coledoco-coledoco anastomosis, con monofilamento absorbible 6-0, puntos separados (Figura # 2). La anastomosis puede ser ferulizada con una sonda en "T" o mediante una pequeña sonda introducida a través del conducto cístico. Debe asegurarse que las porciones terminales del coledoco tanto del donador como del receptor tengan un aporte sanguíneo adecuado. Otra opción de reconstrucción es la coledoco-yeyuno-anastomosis a una asa ciega en Y de Roux, esta indicada cuando no es posible realizar una coledoco-coledoco anastomosis y en el caso de receptores pediátricos (Figura # 3). La operación termina con la colocación de drenajes tipo Jackson-Pratts y cierre de la pared abdominal.

INJERTOS HEPATICOS SEGMENTARIOS

Por la dificultad de obtener injertos hepaticos para receptores pediátricos, especialmente menores de 3 años, se han desarrollado técnicas para utilizar un segmento hepático y así permitir el uso de injertos de donadores cuyo peso es 10-15 veces mayor que el receptor. Puede utilizarse los segmentos II y III, el lóbulo izquierdo completo o lóbulo derecho dependiendo de la diferencia de tamaño entre donador y receptor (Figura # 4 y 5). La preparación de los injertos reducidos se realiza dividiendo el parénquima hepático sobre el plano apropiado para obtener el segmento requerido, los vasos sanguíneos y conductos biliares transectados son ligados con sutura fina inabsorbible, esta sección evita los riesgos que implica la disección del hilio hepático. Algunos grupos realizan este procedimiento durante la procuración del injerto hepatico controlando progresivamente vasos y conductos biliares.

En el caso del trasplante de donador vivo relacionado, se realiza una hepatectomia del lóbulo izquierdo y se implanta ortotopicamente en el receptor, por ejemplo madre a hijo, este procedimiento se realiza en casos casos urgentes o en países como Japón en donde el concepto de muerte cerebral no es aceptado. Se utiliza un injerto venoso para reconstruir la vena porta. La arteria hepática se anastomosa con la homóloga del receptor o directamente a la aorta utilizando un injerto de safena del donador (figura # 6). Pueden utilizarse también

injertos vasculares obtenidos en procuraciones multiorganicas. Los resultados actualmente son, similares a los obtenidos con injertos completos pero tienen mayor incidencia de complicaciones vasculares y biliares.

TRASPLANTE DE HIGADO HETEROTOPICO O AUXILIAR

Esta técnica se realiza trasplantando un injerto reducido ya sea el lóbulo derecho o los segmentos II y III en el espacio subhepático o un injerto hepático completo. La ventaja de este procedimiento es que es de menor magnitud que el trasplante ortotópico. Puede utilizarse en pacientes en estado muy crítico o en aquellos cuya hepatopatía es potencialmente reversible como hepatitis fulminante. También se ha realizado este procedimiento en forma exitosa en pacientes con errores congénitos del metabolismo en donde el hígado es normal excepto por la deficiencia congénita aislada de alguna enzima o producto metabólico.

ESTABILIZACION DE LA FUNCION HEPATICA

Una vez reperfundido el injerto, comienza a funcionar en pocos minutos. Los signos intra-operatorios de función hepática son: estabilidad hemodinámica, buena función renal, estabilización ácido-base, tendencia a la normalización del

sistema de coagulación, normalización en la temperatura corporal y buena producción de bilis. En el postoperatorio inmediato, los criterios son: estabilidad hemodinámica, recuperación del estado de alerta, aclaramiento de lactato, resolución de hiperglicemia, mejoría en el sistema de coagulación, gasto biliar adecuado, disminución transaminasas y de la hiperbilirrubinemia. En los injertos preservados en solución UW, los niveles de AST y ALT se incrementan alcanzando un pico a las 24-72 hrs postoperatorias, generalmente menores a 2000 mg%. Niveles mayores o por mayor tiempo indican daño del injerto, rechazo, complicaciones técnicas o falla primaria del injerto (ver adelante).

INMUNOSUPRESION

Se utilizan diferentes esquemas de inmunosupresión dependiendo de la experiencia de cada centro con los inmunosupresores. En general, se utiliza triple esquema inmunosupresor: ciclosporina, prednisona y azathioprina. La ciclosporina se administra en general antes del procedimiento cuando la depuración de creatinina es $>$ a 30ml/min, 10mg/kg vía oral; en el postoperatorio y cuando existe adecuada función renal se administra hasta alcanzar 800-1200 ng/ml de ciclosporina en sangre total determinada por TDX, estos niveles se van disminuyendo hasta 400-600 ng/ml a los seis meses. Cuando la función renal no

es adecuada se administra ciclosporina hasta el cuarto día y en algunas ocasiones hasta la segunda semana (ver adelante). Los principales efectos adversos de la droga son nefrotoxicidad, neurotoxicidad, hipertensión arterial, hipercalemia, infección, etc. Tiene interacción con muchas drogas y los requerimientos en cuanto a dosis varían entre individuo e individuo por lo que debe monitorizarse sus niveles en sangre. Los esteroides se administran desde la operación, inicialmente metilprednisolona 1 gr/IV durante la fase anhepática, posteriormente se reduce la dosis a 20mg/día al quinto día, se convierte a prednisona 15mg/día y finalmente se reduce la dosis hasta 5mg/día al sexto mes postoperatorio. Los efectos colaterales son hipertensión, retención de sodio, infección, incremento de peso, alcalosis hipocalemica, hiperglicemia, retardo en el crecimiento, etc. La azathioprina se administra en el postoperatorio inmediato a una dosis de 1 mg/kg/día, debe monitorizarse la cifra de globulos blancos y plaquetas, sus efectos colaterales son depresión de la medula ósea, hepatotoxicidad, infección, etc. Recientemente se ha introducido el uso de nuevas drogas como el FK-506, más potente que la ciclosporina, efectos colaterales similares. Esta droga ha disminuído la incidencia de rechazo agudo y su enorme ventaja es que permite el destete de los esteroides con mayor velocidad y seguridad, algunos centros utilizan exclusivamente FK-506 y esteroides, estos últimos pueden suspenderse a los 12 meses postrasplante. Los pacientes con enfermedad renal preexistente o que se presenta como

complicación postoperatoria deben recibir anticuerpos monoclonales (OKT3) o globulina antilinfocítica (ALG) durante 14 días en combinación con esteroides para permitir la recuperación renal y eventual administración de ciclosporina o FK 506. En casos de nefropatía inducida por ciclosporina, FK 506 u otros factores se está utilizando dosis bajas de los mismos en combinación de prednisona y RS-61443 con resultados iniciales alentadores.

SOBREVIDA Y CALIDAD DE VIDA

La sobrevida y calidad de vida de los pacientes con trasplante hepático se ha incrementado progresivamente publicándose consistentemente sobrevidas a un año del 80-85%. En centros de gran experiencia y en casos de trasplantes electivos (pacientes no hospitalizados) se reportan sobrevidas hasta del 95% a un año y >75% a 5 años. En casos de hepatitis fulminante la sobrevida es del 65-75% a un año. Aproximadamente el 85% de los pacientes trasplantados regresan al trabajo y realizan una vida normal. Los pacientes con trasplante hepático pueden cursar con embarazo normal y no se reportado incremento significativo en defectos congénitos en el producto.

COMPLICACIONES POSTOPERATORIAS

Los receptores de un trasplante hepático generalmente experimentaron las complicaciones de enfermedad crónica como desnutrición y pérdida de peso. El impacto de la enfermedad crónica en pacientes con trasplante hepático también se refleja en el período postoperatorio. Las principales complicaciones postoperatorias son: rechazo, infección, complicaciones técnicas y falla primaria del injerto. Las manifestaciones clínicas y bioquímicas pueden ser muy parecidas: hepatomegalia con dolor en el cuadrante superior derecho, ictericia, fiebre y leucocitosis. Las manifestaciones bioquímicas también son muy inespecíficas por lo que se requiere del apoyo de tomografía axial computada, ultrasonido, gammagrafía y endoscopia para tratar de establecer el diagnóstico. Desgraciadamente, este se establece generalmente con biopsias hepáticas.

La gran mayoría de los pacientes presentan en el postoperatorio inmediato oliguria cuya etiología parece ser multifactorial, esta generalmente se resuelve durante los 3 primeros días posteriores al procedimiento. Debe valorarse estrechamente la función pulmonar ya que los pacientes con trasplante hepático tienen gran predisposición para el desarrollo de complicaciones pulmonares. El derrame pleural derecho es virtualmente constante en estos pacientes requiriéndose toracocentesis en algunos casos, generalmente se resuelve durante los primeros días postoperatorios cuando se incrementa la diuresis.

Otras complicaciones pulmonares incluyen infecciones, edema pulmonar y parálisis derecha del diafragma.

1) Falla primaria del injerto:

Esta es una complicación devastadora cuya patofisiología es aún desconocida (ver adelante), su incidencia es del 6-25% de los casos y su tratamiento es el trasplante.

2) Complicaciones técnicas:

Son más frecuentes en receptores pediátricos. Consisten en: a) *sangrado*, generalmente puede controlarse con transfusiones sanguíneas y corrección del sistema de coagulación aunque en algunos casos se requiere de reoperación, b) *complicaciones vasculares*: trombosis de la arteria hepática, es más frecuente en niños, cuando se presenta en el postoperatorio inmediato se manifiesta generalmente como alteraciones en el sistema de coagulación, ácido bazo, alteraciones hemodinámicas y aumento de AST, ALT, fiebre y bacteremia. Cuando se presenta en forma tardía puede ser asintomática o manifestarse como estenosis biliares, fístula biliar necrosis del conducto biliar, bilomas, abscesos hepáticos e infarto hepático. Su tratamiento generalmente es el trasplante, en casos seleccionados cuando se identifica oportunamente se puede realizar angioplastia. La trombosis de la vena porta puede ser asintomática inicialmente o manifestarse como falla del injerto, posteriormente se manifiesta como

sangrado por hipertensión portal. El tratamiento es retrasplante, casos seleccionados pueden ser tratados con derivaciones porto-sistémicas. *C) complicaciones biliares:* incluyen fístulas biliares, fuga a través del orificio de la sonda en "T", estenosis de la anastomosis o estenosis generalizada de las vías biliares intra-extrahepáticas. En el postoperatorio inmediato, la presencia de fístula biliar puede indicar defecto en la anastomosis o trombosis de la arteria hepática, el diagnóstico se establece por medio de una colangiografía a través de la sonda en T, retrógrada por vía endoscópica, trashepática percutánea o gammagrafía con HIDA. Algunos casos pueden tratarse dependiendo de la causa con endoscopia y colocación de férulas o quirúrgicamente. Pueden presentarse complicaciones biliares semanas o meses posteriores al trasplante en forma de estenosis múltiples en vías biliares intra-extrahepáticas, se han asociado a daño durante la preservación o tiempo de isquemia frío prolongado y pueden generalmente controlarse con ferulización transendoscópica o percutánea.

3) Rechazo:

Inmunologicamente, el hígado es un órgano privilegiado teniendo alta resistencia al rechazo, mayor a la que presentan otros órganos.

El rechazo hiperagudo se ha descrito en casos aislados y es extremadamente raro. El rechazo agudo (celular) se puede presentar desde los 5-10 días posteriores al trasplante siendo más frecuente durante los primeros 3 meses

posteriores al procedimiento. Puede cursar asintomático o manifestarse como fiebre, ictericia, alteraciones en las pruebas de funcionamiento hepático. Puede simular infección o complicación vascular por lo que se requiere de biopsia para su diagnóstico. Su tratamiento es con esteroides con lo que se revierte en la gran mayoría de los pacientes. En casos resistentes a esteroides se debe administrar anticuerpos monoclonales OKT3 o globulina antilinfocítica (ALG). Con la introducción del FK 506 la incidencia de rechazo agudo se ha disminuido considerablemente.

En el rechazo crónico (rechazo crónico ductopénico), los conductos biliares se dañan progresivamente hasta desaparecer. El mecanismo del rechazo crónico aún no es bien conocido, parece ser mediado por anticuerpos y tiende a afectar en gran medida la vasculatura hepática. Se presenta generalmente después de los 3 meses postoperatorios y se manifiesta como colestasis progresiva. La angiografía hepática demuestra disminución de calibre de las arterias, la colangiografía estenosis y esclerosis similar a la colangitis esclerosante primaria y el diagnóstico definitivo se establece con biopsia hepática. Este tipo de rechazo no se revierte al incrementar la inmunosupresión, el único tratamiento es el trasplante. Drogas experimentales como la rapamicina y leflunamida parecen tener efecto en la prevención del rechazo crónico.

4) Infecciones:

Es una complicación frecuente, pueden ser primarias, reactivación o relacionadas a agentes oportunistas.

La infección por citomegalovirus es muy frecuente aunque en pocas ocasiones clínicamente evidente, puede ser primaria o reactivación, el riesgo más importante es donador con serología positiva para citomegalovirus y receptor con serología negativa y pacientes con dosis altas de inmunosupresión. Se puede manifestar como fiebre, leucopenia, trombocitopenia, alteraciones en pruebas de funcionamiento hepático, diarrea y otras alteraciones gastrointestinales, neumonía, retinitis, etc. todos los pacientes reciben profilaxis con aciclovir durante los primeros meses y con ganciclovir en los casos de alto riesgo, cuando se documenta la enfermedad puede ser tratada exitosamente con ganciclovir. Otros agentes virales incluyen Epstein-Barr virus, adenovirus y varicela.

Las complicaciones bacterianas pueden manifestarse como infección en la herida quirúrgica, neumonía, ce'ulitis, colangitis, etc. El paciente recibe profilaxis generalmente con una cefalosporina de primera generación durante 48 horas postoperatorias.

Las infecciones por hongos generalmente se deben a Candida, generalmente en los primeros 2 meses postrasplante, se manifiesta como infecciones en cavidad oral, esofagitis o colangitis, se administran enjuagues bucales con nistatina en forma profiláctica y se trata en caso de infección clínica importante con anfotericina B. Otras infecciones son aspergilosis y criptococosis.

La infección por parásitos más frecuente se debe a *pneumocystis carinii*, se manifiesta como neumonía, se previene con la administración de trimetropin-sulfametoxazol diariamente durante 6-12 meses y en pacientes con altas dosis de inmunosupresores.

4) Neoplasias:

Un pequeño porcentaje puede desarrollar neoplasias malignas *de novo*. Las neoplasias más frecuentes en receptores de órganos son cáncer de piel y labios (especialmente de células escamosas), linfomas no-Hodgkin, sarcoma de Kaposi, carcinomas vulvares y perineales, etc. Entre los desordenes linfoproliferativos post-trasplante se encuentra una alta asociación con infección por virus Epstein-Barr.

FALLA PRIMARIA DEL INJERTO

1) Definición:

La falla primaria del injerto se define como la ausencia de funcionamiento del injerto hepático trasplantado en ausencia de complicaciones técnicas, infecciosas e inmunológicas. La mortalidad es casi del 100% sino se realiza un retrasplante en forma urgente.

2) Incidencia:

Su incidencia se reporta en 6-10% en la mayoría de los centros en los Estados Unidos y hasta 25% en reportes provenientes de países Europeos.

3) Manifestaciones clínicas:

Se manifiesta como ausencia en la regulación metabólica corporal como hipotermia, acidosis metabólica, hipoglucemia, inestabilidad hemodinámica, falta de recuperación de la conciencia, hipertransaminasemia inportante, ausencia de producción de bilis, incremento en los tiempos de coagulación e insuficiencia renal. El injerto no funcionante puede acelerar el deterioro clínico del paciente por lo que algunos autores recomiendan realizar la extirpación del injerto y derivar el flujo portal a la vena cava inferior y así mejorar el estado hemodinámico mientras se tiene un injerto disponible. Recientemente se ha comenzado a utilizar soporte hepático artificial mediante hemoperfusión *ex vivo* en xenoinjertos o perfusión en hígado bioartificial.

4) Factores potencialmente involucrados en la falla primaria del injerto:

La etiología exacta de la falla primaria del injerto es desconocida y por lo tanto no existe forma de predecirla. Algunos factores se han asociado a mayor incidencia de falla primaria del injerto e incluyen: complicaciones en el donador y daño durante la preservación.

a) Complicaciones en el donador: Algunos factores en los donadores se han asociado con mayor incidencia de falla primaria del injerto. La infiltración grasa inportante en el injerto donador es una característica histologica asociada

disfunción del injerto y mayor incidencia de falla primaria del injerto por los que en general no se utilizan estos injertos. A pesar de esta precaución, la incidencia de falla primaria del injerto continua siendo importante. Por otro lado, algunos centros utilizan estos injertos por la escasez de órganos o la urgencia del procedimiento reportando buenos resultados. Otra potencial asociación se ha demostrado en animales experimentales en donde donadores con hipotensión y requerimiento importante de inotrópicos. Clínicamente, los donadores con grandes dosis de inotrópicos o con hipotensión prolongada no son candidatos a donar hígado, a pesar del rechazo de estos injertos, la falla primaria del injerto continua presentandose. Estos injertos "marginales" representan un problema para el cirujano ya que la lista de espera en todos los centros cada día se incrementa siendo por mucho insuficientes los injertos disponibles. Se estima que en Estados Unidos existen aproximadamente 4500 donadores potenciales por año y solo se procuran 3000 injertos deseandose el resto por diferentes criterios de exclusión. Debido a la impresión de los mismos se estima que una proporción importante puede funcionar adecuadamente sin complicaciones. Estudios clínicos y experimentales demuestran que la nutrición del donador es importante en el funcionamiento del injerto una vez transplantado. Modelos experimentales sugieren que la infusión de glucosa con la consiguiente saturación de glucógeno en el injerto se asocia a menor disfunción posttrasplante siendo los injertos depletados de glucógeno más

sensibles al daño hepatocelular por la preservación. Algunos investigadores han demostrado que los injertos humanos con alto contenido en glucógeno correlaciona con buen funcionamiento postrasplante, en contraparte, se sabe por estudios en animales experimentales que el ayuno en el donador se asocia a cierta protección ante la isquemia caliente y fría siendo por lo tanto controversial el papel específico de la nutrición en el funcionamiento del injerto. Hasta el momento, ningún reporte de falla primaria del injerto en humanos a demostrado una asociación específica presentandose esta complicación en injertos de donadores en ayuno como en los alimentados antes de la procuración. En resumen, a pesar de haberse establecido estos factores potencialmente participantes en la falla primaria del injerto, ninguno ha demostrado participación definitiva aunque estos factores definitivamente se asocian a disfunción del injerto.

b) Factores durante la preservación: Otro grupo de investigadores sugiere que el daño hepático responsable de la falla primaria del injerto se presenta durante la preservación. Existe una mayor incidencia de falla primaria del injerto en órganos preservados durante más de 20 hrs. en comparación con los preservados menos de 10. En la literatura se reportan numerosos trabajos que describen los mecanismos de daño durante la preservación describiéndose el daño por hipoxia o anoxia, daño por reperusión, daño en el parénquima hepático y en células no parenquimatosas principalmente endoteliales, isquemia

caliente y fría, etc. Todos estos estudios demuestran que el daño durante la preservación es multifactorial pero análisis histológicos de biopsias de injertos hepáticos justo antes de la reperfusión durante el trasplante no discriminan cuales de los injertos van a ser viables y cuales van a presentar falla primaria del injerto por lo que es difícil sustentar que el daño en la preservación es el principal responsable de la falla primaria del injerto. Además, esta complicación se presenta tanto en injertos preservados durante muy poco tiempo y en injertos con preservación prolongada. Actualmente se recomienda realizar el trasplante hepático antes de 12 horas de preservación ya que preservaciones un poco más prolongada pueden presentar complicaciones biliares como se menciono con anterioridad.

Ante la imposibilidad de poder predecir la incidencia de falla primaria del injerto, se describió un método rápido de valoración de la función hepática del donador basado en la determinación de monoetilglicinexilidina (MEGX), un metabolito de la lidocaina, el cual es producido cuando se tiene una función hepatocelular adecuada, inicialmente se repoto la prueba con alta sensibilidad y especificidad para predecir el funcionamiento del injerto pero estudios más amplios y mejor conducidos no recomiendan su uso por su baja sensibilidad. Posteriormente describió que la determinación de cuerpos cetónicos (razón de cuerpos cetónicos arteriales, acetoacetato/3-hidroxiacetato) refleja el potencial oxido reducción mitocondrial hepático y se correlaciona directamente con los

niveles de energía y finalmente lesión hepática siendo potencialmente útiles para predecir la presencia de falla primaria del injerto, desgraciadamente, no se ha demostrado que determinaciones altas o bajas tengan un valor clínico definitivo. Finalmente, estudios recientes realizados en Inglaterra relacionan la cantidad de transaminasas (AST y ALT), lactato deshidrogenasa (LDH) en el líquido de preservación antes del trasplante con el funcionamiento del injerto después del trasplante, estos autores demuestran que a mayor aspartatoaminotransferasa y en menor correlación deshidrogenasa láctica mayor daño hepatocelular durante la preservación y mayor incidencia de disfunción postrasplante, desgraciadamente, no se estudió en pacientes con falla primaria del injerto ni se estableció la utilidad de la prueba para predecir su presentación.

En resumen, no existen en la actualidad pruebas funcionales o bioquímicas ni características histológicas específicas para predecir el funcionamiento del injerto y por lo tanto la presentación de falla primaria del injerto. Los estudios morfológicos como se mencionó tampoco predicen la presentación de esta complicación.

4) Patología:

El análisis histológico de los injertos que presentan falla primaria del injerto muestran diferentes características que van desde un hígado completamente normal, infarto hemorrágico, necrosis isquémica o microesteatosis.

5) Impacto humano y económico de la falla primaria del injerto:

Se estima que la falta de donadores y la incidencia de falla primaria del injerto son los principales obstáculos para el crecimiento de los programas de trasplante de hígado. En 1994 se realizaron más de 3000 trasplantes hepáticos humanos en Estados Unidos con un costo aproximado de 500 millones de dolares, durante este mismo tiempo más de 2500 pacientes esperaron un trasplante siendo de 9 meses el tiempo promedio de espera para el procedimiento, cientos de estos pacientes murieron antes de contarse con un injerto disponible. Se estima que si la incidencia de falla primaria del injerto puede disminuirse a la mitad, más de 450 pacientes "extras" pudieran ser trasplantados ahorrándose más de 30 millones de dolares al año.

ALTERACIONES MOLECULARES DURANTE EL DAÑO HEPATICO

Estudios experimentales demuestran que cuando existe daño hepátocelular, la transcripción del gen que codifica para la síntesis de albúmina disminuye considerablemente reduciéndose un 85% los niveles de RNA mensajero (RNAm) de la albúmina. Cambios similares se han observado al analizar la expresión del gen de la apolipoproteína E. En contraste, durante el daño hepático se induce la expresión del gen que codifica para la síntesis de alfa-fetoproteína y apolipoproteína A-1. Posterior al daño hepático, se incrementa la expresión del

gen de la albúmina y apolipoproteína E disminuyéndose la expresión de los genes de la alfafetoproteína y apolipoproteína A-1. Estos cambios moleculares correlacionan directamente con el daño hepático inducido en diferentes modelos experimentales y son característicos del proceso regenerativo, también son observados durante el desarrollo en animales experimentales. Estas alteraciones moleculares son documentadas antes de que se presenten alteraciones en las pruebas de funcionamiento hepático y antes de que se presenten alteraciones estructurales. Técnicamente, los estudios moleculares pueden realizarse con cantidades muy pequeñas de tejido, por ejemplo en las muestras obtenidas por biosia por Truc-cut. Utilizando estos marcadores moleculares de lesión hepática se demuestra en animales experimentales que estos cambios se presentan durante la preservación convencional del injerto hepático para trasplante. °

OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo fue evaluar molecularmente injertos hepáticos humanos preservados para trasplante y valorar su utilidad para predecir el funcionamiento del injerto.

JUSTIFICACION

Hasta la actualidad, no existe ninguna prueba funcional o bioquímica para predecir el funcionamiento del injerto hepático una vez trasplantado. Las alteraciones en pruebas de funcionamiento hepático, estudios funcionales como gammagrafía y alteraciones histológicas documentan lesión hepática siendo irreversible en pacientes con falla primaria del injerto. En contraparte, los parámetros que se utilizan para definir un injerto hepático "marginal" (microesteatosis, donadores mayores a 65 años, hipotensión o requerimiento elevado de inotrópicos) no son definitivos excluyéndose una cantidad importante de injertos hepáticos que potencialmente pueden funcionar adecuadamente.

Con estos antecedentes, decidimos estudiar el comportamiento molecular de injertos hepáticos humanos para valorar su utilidad en la identificación de injertos de alto riesgo especialmente aquellos que se presentan con estudios estructurales normales. El poder contar con estudios que puedan predecir el funcionamiento del injerto disminuirá la morbi-mortalidad en trasplante hepático, optimizará la selección de injertos para trasplante y disminuirá el número de pacientes y tiempo en lista de espera así como los costos del procedimiento.

MATERIAL Y METODOS

Se tomaron biopsias de 4 injertos hepáticos durante la preservación y después de su trasplante en el Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán". Se obtuvieron los datos clínicos de los 4 pacientes trasplantados, tipo de operación realizada, complicaciones y evolución. Se analizó la expresión del gen que codifica para la síntesis de albúmina en las muestras de tejido hepático obtenido y se estableció una correlación entre los resultados del mismo y evolución postoperatoria.

1) Procuración y preservación de los órganos:

La procuración de los injertos hepáticos se realizó siguiendo las normas del Programa Nacional de Trasplantes de Organos Cadavéricos siendo cirujanos acreditados los que llevaron a cabo el procedimiento. Los donadores fueron evaluados según las normas del programa y no se identificó ninguna contraindicación para la donación. En todos se diagnosticó muerte cerebral y fueron mantenidos con ventilación mecánica, soluciones, regulación de la temperatura corporal, monitoreo cardiovascular, balance de líquidos, etc. Ninguno recibió alimentación parenteral, antibióticos o alguna otra medida especial fuera del soporte necesario para mantener viables los injertos. La técnica quirúrgica de la procuración fue la que se realiza en forma rutinaria descrita por Starzl y colaboradores. En todos los casos se utilizó solución de la

Universidad de Wisconsin (UW) para preservación y se realizó en forma convencional guardando el injerto en bolsas estériles con UW y sumergido en hielo para mantenerlo a 4°C.

2) Estudios histológicos:

Se obtuvo muestra para estudios histológicos los cuales se realizaron con tinciones con hematoxilina y eosina

3) Muestras para estudios moleculares:

Bajo condiciones estériles, se tomó un pequeño fragmento del injerto al final del tiempo de preservación. Las muestras obtenidas después del trasplante se obtuvieron mediante una biopsia hepática por punción convencional utilizando aguja de Tru-cut. Los fragmentos hepáticos fueron congelados inmediatamente a -70°C.

4) Aislamiento del RNA Celular total:

Se realizó el aislamiento del RNA celular total de acuerdo al método de Chomzynski y Sacchi. Se homogeneizó 100 mg de tejido con 2 mL de solución desnaturalizante (solución D: tiocinato de guanidinio 4 mmol/L, citrato de sodio, pH 7.0, 25 mmol/L, sarcosil al 0.05%, 2-mercaptoetanol 0.1 mmol/L). El homogenado se transfirió a tubos de 0.4 mL con acetato de sodio 2 mmol/L, pH 4.0, 0.2 mL de fenol a 65°C y 0.4 mL de cloroformo. La suspensión fue agitada y enfriada en hielo durante 15 minutos. Se tomaron muestras y se

centrifugaron a 10 000 rpm durante 20 minutos a 4°C, el RNA contenido en la fase acuosa fue precipitado con 0.25 mmol/L de cloruro de sodio y 2.5 vol de etanol. El pellet fue resuspendido en 0.4 mL de solución D y la extracción con fenol cloroformo fue repetida. El RNA es finalmente disuelto en 200 microlitros de buffer que contiene Tris-HCL, pH 7.0 y EDTA 1 mmol/L.

5) Analisis del RNA total:

Se desnaturalizaron 10 microgramos del RNA total durante 15 minutos a 60°C en buffer que contiene formamida al 50%, formaldehído al 6% y 1 X MOPS (20 mmol/L de ácido 3-(N-morfolin)-propanesulfónico, acetato de sodio 5 mmol/L y EDTA sódico 1 mmol/L), se colocó en líneas separadas en gel de agarosa al 1% y se realizó electroforesis a 60 mA, posteriormente se colocó en una hoja filtro y se hibridizó con una prueba radiomarcada (New England Nuclear Corp, Boston, Mass). Las clones de Albúmina cDNAs fueron radioactivamente marcadas por extensión del primer como describió Summer utilizando (³²P)-dCTP (actividad específica 3000 Ci/mmol) para obtener una actividad específica de 2-6 X 10⁸ cpm/mg DNA. Después de la hibridización, los filtros fueron labados y expuestos para autoradiografía en película Kodak XAR-5 a -86°C utilizando pantalla intensificadora (Dupont Lightering Plus). Los resultados fueron analizados densitométricamente en porcentaje que refleja el RNAm específico de la albúmina.

RESULTADOS

Las biosias de los injertos para trasplante fueron reportadas como histologicamente sin alteraciones. Los pacientes fueron numerados forma progresiva del 1 al 4. Las características demográficas de los pacientes, tipo de reconstrucción biliar, inmunosupresión y evolución se muestran en la tabla # 2. La edad promedio de los pacientes fue de 42.2 años con un rango de 29-56 años. Los diagnosticos de la enfermedad hepática fueron: cirrosis biliar primaria, con cirrosis hepatica postnecrótica, cirrosis de Laennec y hemocromatosis. Dos de los pacientes fueron trasplantados en estadio B de la clasificación de Child y 2 en estadio C. El tiempo de preservación de los injertos fue de 13, 15, 12 y 8 horas con un promedio de 12 horas, en solución UW. Todos los pacientes recibieron la preparación anestésica y rutina de quirófano en forma convencional para trasplante hepático. En todos los casos se realizó trasplante de hígado ortotópico y se utilizó el puente veno-venoso extracorporeo colocandose las cánulas mediante disección, el flujo fue de 1-2 L/min en todos los casos. La vena cava inferior, porta y arteria hepática se reconstruyeron con sus homologos en el receptor en forma termino-terminal, la reconstrucción biliar se realizó mediante una colédoco-colédoco anastomosis y sonda biliar en T en 4 casos y colédoco-yeyunoanastomosis en una asa ciega en Y de Roux en un caso. En todos se colocó drenajes tipo Jackson-Pratts. El Postoperatorio inmediato fue manejado

en la unidad de cuidados intensivos con los cuidados y monitoreo del paciente en estado crítico. Todos recibieron ciclosporina A desde el primer día postoperatoria y metilprednisolona a dosis convencionales para trasplante hepático.

El paciente 1 y 2 presentaron disfunción del injerto manifestado como acidosis, oliguria, hipotermia, acidosis, falta de recuperación del estado de conciencia, dependencia de ventilación mecánica e inotropicos, niveles de transaminasa séricas mayores a 2000, tiempos de coagulación sin corrección y que requirieron de la transfusión continua de plasma fresco congelado, en ninguno se identificó ninguna complicación técnica, infecciosa o inmunologica (donador y receptor con mismo grupo sanguíneo). Ambos pacientes fueron retrasplantados sin presentarse complicaciones técnicas durante el mismo. La evolución de ambos se complicó con sepsis muriendo el primer paciente a los 40 días después del primer trasplante por hemorragia pulmonar y sepsis con funcionamiento del injerto y el paciente 2 a los 22 días por hematoma epidural postraumático y sepsis. El paciente 3 presentó discreto incremento en los niveles de bilirrubina, transaminasas y fosfatasa alcalina a los 30 días POP por lo que se realizó biopsia demostrandose rechazo agudo celular mínimo recibiendo tratamiento convencional con metilprednisolona con reversión de estas alteraciones. El paciente número 4 presento discreto incremento en la fosfatasa alcalina y

gamma-glutamyl-transpeptidasa por lo que se realizó biopsia al 15avo. reportandose como sin alteraciones.

Los resultados de los estudios moleculares se observan en la figura # 7. La expresión del gen de la albúmina en los pacientes 1 y 2 (expresión relativa de RNAm = 25 y 30 respectivamente) durante la preservación fue extremadamente baja en comparación con la expresión observada en los pacientes 3 y 4 (expresión relativa = 400 y 600 respectivamente). Los niveles de RNAm para la síntesis de albúmina documentados en los pacientes con falla primaria del injerto (pacientes 1 y 2) fueron similares a los niveles observados durante la preservación y extremadamente bajos en comparación con los niveles documentados en los pacientes con trasplante de hígado con adecuado funcionamiento del injerto (pacientes 3 y 4). En resumen, la expresión del gen que codifica para la síntesis de la albúmina durante la preservación y posterior a la implantación del injerto en los pacientes que presentaron falla primaria del injerto fue mucho menor que la observada en pacientes con trasplante hepático exitoso. Estos cambios a nivel molecular indican que existió lesión hepática importante desde la preservación del injerto en los pacientes que posteriormente presentaron falla del mismo. En forma interesante, los estudios histológicos de rutina de evaluación del injerto hepático para trasplante fueron reportados como sin alteraciones. Las muestras porcesadas para estudios moleculares están siendo procesadas para analizar la expresión de otros genes, inicialmente,

la expresión del gen para la síntesis de apolipoproteína A-1 en muestras de los pacientes con falla primaria del injerto se encontró muy elevada indicando que las muestras procesadas no presentaron degradación del RNAm durante su almacenamiento y proceso.

DISCUSION

En estudios realizados con anterioridad en animales indican que cuando existe disminución en la expresión del gen de la albúmina correlaciona adecuadamente con el daño hepático. Los niveles de expresión del gen de la albúmina durante la preservación de injertos hepáticos que posteriormente presentaron falla primaria indican que existía lesión hepática antes de su implantación a pesar de presentar morfología histológica convencional sin alteraciones. Los niveles de expresión de albúmina encontrados durante la preservación en los injertos que posteriormente funcionaron indican una preservación adecuada. Los resultados del presente estudio son potencialmente útiles para predecir el funcionamiento del injerto y por lo tanto tratar de disminuir la incidencia de falla primaria del injerto y la morbi-mortalidad por la misma. Actualmente, nuestro objetivo es incrementar el número de casos para poder establecer conclusiones más sólidas. Además, queremos valorar el comportamiento molecular del hígado humano preservado analizándolo a diferentes horas durante su preservación. Los

estudios moleculares actualmente son sofisticados técnicamente para su realización pero con el tiempo se espera se simplifique su realización al igual que su costo.

Los resultados de los estudios moleculares de injeretos hepaticos humanos que fueron preservados y posteriormente trasplantados en esta serie inicial indican que son potencialmente útiles para valorar el estado del injerto hepatico durante la preservación y antes de su implantación.

BIBLIOGRAFIA

- 1.-Starzl TE, Demetris AJ. Liver Transplantation: a 31-year perspective (Parts I-III). *Curr Probl Surg* 1990; 27:51-204.
- 2.-Todo S, Fung JJ, Starzl TE, et al: Single center experience with primary orthotopic liver transplantation with FK 506 immunosuppression. *Ann Surg* 1994;220:297-309.
- 3.-Broelsch CE, Lloyd DM: Living related donors for liver transplants. *Adv Surg* 1993;26:209-231.
- 4.-Sherlock S, Dooley J: Liver transplantation, en *Diseases of the liver and biliary system*, Sherlock S, Dooley J (eds), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 9a edición, 1993, 613-630.

- 5.-Gordon RD, Van Thiel D, Starzl TE: Orthotopic liver transplantation, en Bockus, Gastroenterology, Haubrich WS, Schaffner F, Berk JE (Eds), W.B. Saunders, Philadelphia, 5a. edición, 1995, 2509-2544.
- 6.-Díliz H, Marín E, Contreras JL: Trasplante de Hígado, en Gastroenterología, Villalobos JJ (ed), Méndez Oteo, México, 2a edición, 1993,
- 7.-Turcotte JG, Campbell DA, Bromberg JS, et al. Hepatic transplantation, en Shackelford's surgery of the alimentary tract, Zuidema GD (de), W.B. Saunders, Philadelphia, 4a. edición, 1996, 600-618.
- 8.-Ramos-Márquez ME, Mendoza T, Contreras Rodríguez JL, Diliz H, Panduro A. Hepatic gene expression en liver and isolated rat hepatocytes preserved with the University of Wisconsin (UW) solution, Transplant Proc 1995;27(1)715-717.
- 9.-Ramos Márquez ME, Mendoza T, Contreras Rodríguez JL, Diliz H, Panduro A. Extended cold preservation in the University of Wisconsin (UW) solution, Leibovitz L-15 and DMEM mediums and culture of isolated hepatocytes for transplantation. Hepatology 1994;20(4):1172A.
- 10.-Ramos Márquez ME, Mendoza T, Contreras Rodríguez JL, Diliz H, Panduro A. Expression of Albumin, Apolipoprotein E and Apolipoprotein A-1 genes during long-term hepatocytes preservation for transplantation in the University of Wisconsin Solution, Leibowitz L-15 and DMEM mediums. Hepatology 1994; 20(4) 389A.

- 11.-Contreras Rodríguez JL, Diliz H, Rincón AR, Orozco H, Mercado MA, Panduro A, Kershenobich D. Alterations in the albumin gene expression in liver transplant patients with primary non-funtion. *Memorias del The World Congresses of Gastroenterology, Los Angeles, Ca., 7 de Octubre de 1994.*
- 12.-Diliz H, Orozco H, Kershenobich D, Mercado MA, Contreras Rodríguez JL. Trasplante de Hígado, estado actual y experiencia en el Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán, Cirujano General 1994;26(4):510-534.
- 13.-Panduro A, Contreras Rodríguez JL, Sigler A, González L, Diliz H. Molecular markers of liver damage in liver transplantation: effect of rapid cooling on the expression of hepatic genes, *Transplant Proc* 1992; 24(5): 1976.
- 14.-Devlin J, Wendon J, Heaton N, Tan KC, Williams R. Pretransplantation clinical status and outcome of emergency transplantation for acute liver failure. *Hepatology* 1995; 21: 1018-1024.
- 15.-Clavien PA, Harvey PRC, Strasberg SM: Preservation and reperfusion injuries of liver allografts. *Transplantation* 1992;53:957-978.
- 16.-D'Allessandro AM, Kalayoglu M, Sollinger HW, et al: The predictive value of donor liver biopsies for the development of primary dysfunction after orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 1991;51:157-163.
- 17.-Makowka L, Gordon R, Todo S, et al: Analysis of donor criteria for the prediction of outcome in clinical liver transplantation. *Transplant Proc* 1987;19:2378.

- 18.-Shayeb J, Plevak D, Rettke S, et al: Predictors of primary nonfunction (PNF)-is donor liver fat content (DLFC) important?. Transplant Proc 1993;25:1974.**
- 19.-Devlin J, Dunne B, Sherwood EA, et al: Relationship between early liver graft viability and enzyme activities in effluent preservation solution. Transplantation 1995;60:627-631.**
- 20.-González FX, Rimola A, Grande L, et al: Predictive factors of early postoperative graft function in human liver transplantation. Hepatology 1994;20:565-573.**

TABLA # 1

I.-Cirrosis:

Criptogenica
Autoinmune
Viral (B,C,D)
Alcohol

II.-Enfermedades colestasicas:

Cirrosis biliar primaria
Atresia de vias biliares
Colangitis esclerosante primaria
Colangitis esclerosante secundaria
Síndromes colestasicos familiares
Enfermedad injerto contra huesped

III.-Enfermedades metabólicas:

Deficiencia de alfa-1-antitripsina
Fibrosis quística
Enfermedad de Wilson
Desordenes primarios de la coagulación como hemofilia
Tirosinemia
Hemocromatosis
Galactosemia
Deficiencias en el ciclo de la urea
Criggler Najjar
Enfermedades por almacenamiento de glucogeno
Oxalosis
Deficiencia dde proteina C
Deficiencia de antitrombina III

IV.-Enfermedades vasculares:

Síndrome de Budd-Chiari

V.-Falla Hepática fulminante:

Hepatitis viral A, B, C, D, E, no A no B no C
Inducida por drogas
Enfermedades metabolicas como síndrome de Reye, Wilson, etc.

VI.-Neoplasicas:

Carcinoma hepatocelular
Sarcomas
Colangiocarcinoma
Neuroendocrinos

TABLA #2

	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4
Edad	34	29	56	50
Diagnóstico	CBP	CHPN	CHAN	H
Child	C	B	C	B
Preservación	13	12	15	8
Rec. biliar	C-C	C-C	C-C	CYA
Inmunosupresión	CyA+P	CyA+P	CyA+P	CyA+P
Biopsia POP	-	-	30 días	15 días
Complicaciones	FPI	FPI	RAC mínimo	-
Retrasplante	Si	Si	-	-
Muerte	40 días POP	22 días POP	Vivo	Vivo
Causa muerte	Hemorragia pulmonar, Sepsis	Hematoma epidural postrauma		

CBP=Cirrosis biliar primaria, CHPN=Cirrosis hepática postnecrótica,CHAN=Cirrosis hepática alcohólica-nutricional, H= Hemocromatosis, C-C Coledoco-coledoco anastomosis, CYA=Coledoco-yeyuno anastomosis en una asa ciega en Y de Roux, CyA= Ciclosporina A, P=Prednisona, FPI=Falla primaria del injerto, RAC= Rechazo agudo celular, POP=Postoperatorio.

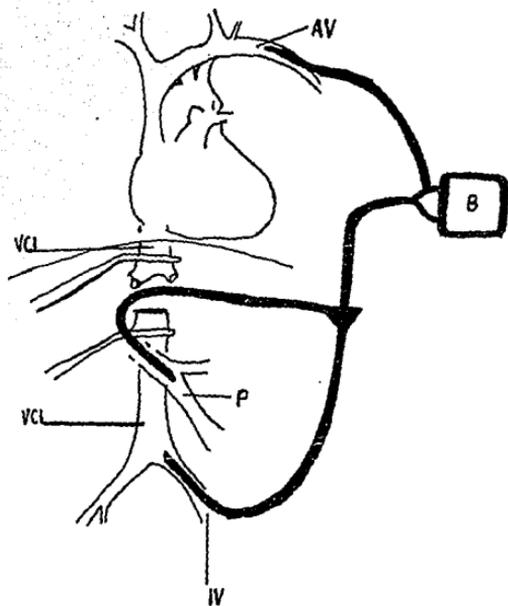


Figura # 1: Puente veno-venoso extracorpóreo. Se utiliza una bomba mecánica (B) para derivar la sangre de miembros inferiores y la circulación esplácnica de regreso al corazón. Se introduce una cánula hasta la vena iliaca (VI) y otra en la vena porta (P) conformando el brazo aferente del sistema y finalmente otra cánula en la vena axilar que forma el brazo eferente del sistema. La vena cava inferior (VCI) y arteria hepática están ocluidas durante la fase anhepática.

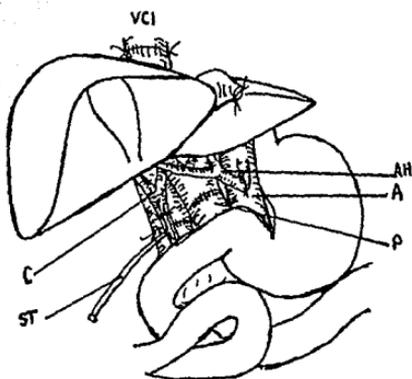


Figura # 2: Trasplante ortotópico de hígado. Los vasos sanguíneos se unen con sus homologos del receptor, generalmente se reconstruye la vía biliar mediante una colédoco-coleodoco anastomosis utilizando una sonda biliar en T. VCI= vena cava inferior, AH=arteria hepática, A=aorta, P=vena porta, C=colédoco, ST=sonda biliar en T.

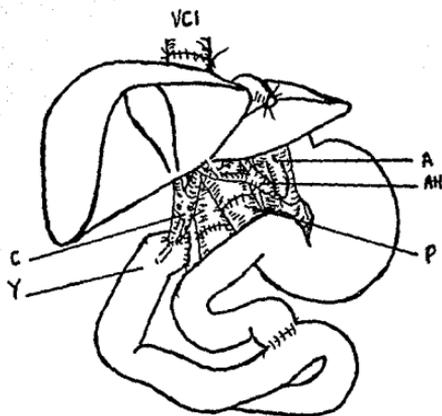


Figura # 3: Trasplante ortotópico de hígado con reconstrucción de la vía biliar mediante una colédoco-yeyuno anastomosis. VCI= vena cava inferior, AH=arteria hepática, A=aorta, P=vena porta, C=colédoco, Y=asa ciega "Y" de Roux.

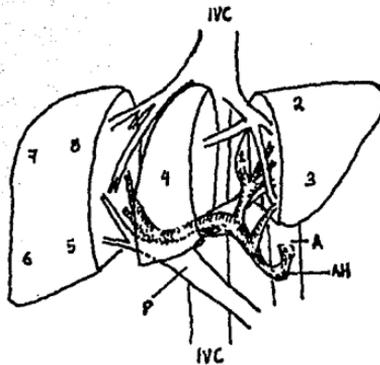


Figura # 4: División de los segmentos hepáticos, base para la formación de injertos hepáticos reducidos. VCI= vena cava inferior, AH=arteria hepática, A=aorta, P=vena porta, 1,2,3.. segmentos hepáticos.

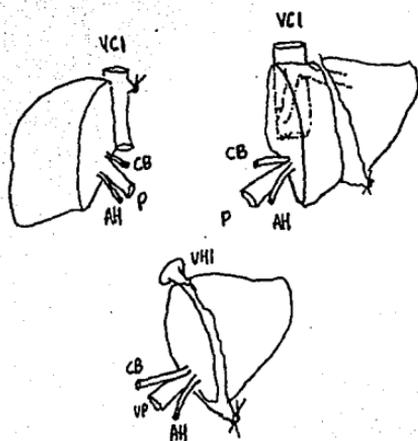


Figura # 5: Injertos hepáticos reducidos. VCI= vena cava inferior, AH=arteria hepática, A=aorta, P=vena porta, CB= conducto biliar.

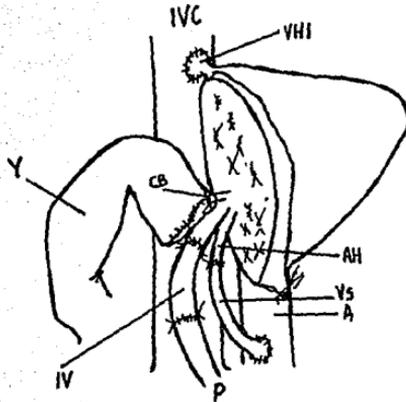


Figura # 6: Trasplante de hígado de donador vivo relacionado, se utiliza un injerto reducido, VCI= vena cava inferior, AH=arteria hepática, A=aorta, P=vena porta, CB= conducto biliar, Y= asa ciega en "Y" de Roux, IV= injerto venoso, VS= vena safena.

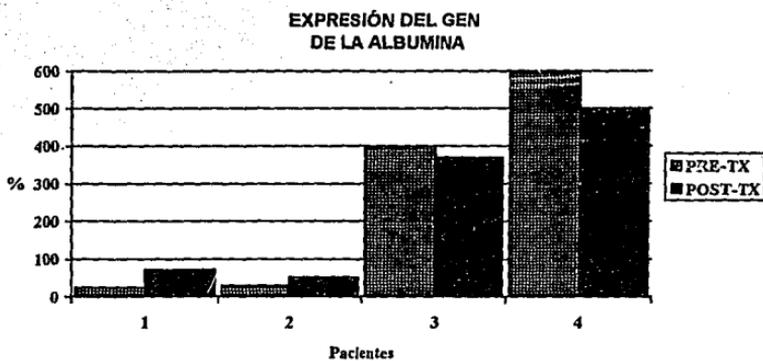


Figura # 7: Analisis densitométrico de la expresión del gen de la albúmina. 1,2,3 y 4 =número de paciente, expresión del gen de la albúmina en unidades densitométricas (%), barras negras= estudios post-trasplante, barras punteadas= estudios pretrasplante.