

# 23. Trasplantes

M. D. AUMENTE

El trasplante es uno de los grandes logros de la medicina del siglo veinte, habiéndose incorporado a la rutina terapéutica en un número cada vez mayor de centros en casi todos los países desarrollados. Ello ha sido posible gracias a una selección de los receptores más rigurosa, a una mejor técnica quirúrgica y anestésica, a los mejores cuidados postoperatorios y al desarrollo de la Inmunología y de la Farmacoterapia, con la aparición de nuevos y más potentes medicamentos inmunosupresores, antibacterianos, antivíricos y antimicóticos.

El objetivo de este capítulo es proporcionar una base general para entender la inmunología del trasplante, el proceso del rechazo, los métodos farmacológicos y no farmacológicos de la inmunosupresión y, los principales problemas y complicaciones que surgen en los pacientes trasplantados a corto y largo plazo. Para finalmente, destacar la importante aportación del farmacéutico clínico en el cuidado del paciente trasplantado.

## 1 BASES FISIOLÓGICAS: INMUNOLOGÍA DEL TRASPLANTE. MECANISMO DE RECHAZO Y TOLERANCIA

En el organismo humano existen proteínas que son polimórficas, es decir que presentan pequeñas diferencias en la secuencia de aminoácidos de unos in-

dividuos a otros. Estas proteínas pueden ser reconocidas como extrañas por el sistema inmunológico de otro individuo desencadenando una respuesta cuyo objetivo es la eliminación de los elementos extraños. Las proteínas más polimórficas son las del sistema HLA<sup>(1)</sup>.

La función fisiológica de las proteínas del sistema HLA está relacionada con la presentación de los antígenos extraños al sistema inmunológico, son como las “bandejas” en que son presentados los antígenos a los linfocitos T en la célula presentadora de antígeno (APC). Existen muchos tipos de APC, pero los principales son los macrófagos y las células dendríticas.

Las moléculas del sistema HLA son de dos tipos: las de clase-I presentes en casi todas las células del organismo (excepto en los hematíes), cuya función es presentar péptidos de antígenos intracelulares a los linfocitos T, y las de clase-II, presentes solo en los macrófagos, linfocitos B, células dendríticas y algunos endotelios, y cuya función es presentar los péptidos en que son fraccionadas las proteínas exógenas extrañas. El sistema inmunitario consigue respuestas antígeno específicas gracias a que dispone de receptores específicos, es decir con capacidad para distinguir unas configuraciones peptídicas de otras, son los receptores de los linfocitos T (TCR) y las inmunoglobulinas específicas (Ig)<sup>(2)</sup>.

## 1.1. Reconocimiento alogénico

El trasplante de un órgano implica que el sistema inmunitario del receptor se enfrentará a células vivas con moléculas HLA distintas de las suyas propias y por tanto susceptibles de ser reconocidas como extrañas. El reconocimiento alogénico se produce probablemente en los ganglios linfáticos del receptor por la migración de células dendríticas del donante. Este reconocimiento puede realizarse por tres vías diferentes<sup>(3,4)</sup>:

- 1) Las moléculas del sistema HLA del donante, debido a su función de moléculas presentadoras de péptidos extraños, pueden ser reconocidas directamente sobre las APC del donante, mediante el llamado reconocimiento directo, que no precisa procesamiento del antígeno. En estas circunstancias podría decirse que el TCR confunde a la molécula HLA extraña con una molécula propia, presentando un péptido extraño (Figura 1). Este mecanismo directo determina que el número de linfocitos T que reconocen a un aloantígeno sea aproximadamente 100 veces mayor que el que reconoce a un antígeno no alogénico<sup>(1)</sup>.
- 2) Las moléculas HLA del donante pueden ser procesadas por las APC del receptor, estas células las fraccionan en péptidos igual que a otros antígenos bacterianos y los presentan como péptidos extraños en el seno del HLA propio, es lo que se llama reconocimiento indirecto. Inicialmente se consideró al reconocimiento indirecto poco importante en el trasplante, datos más recientes indican que es casi tan importante como el directo<sup>(3,5)</sup>.

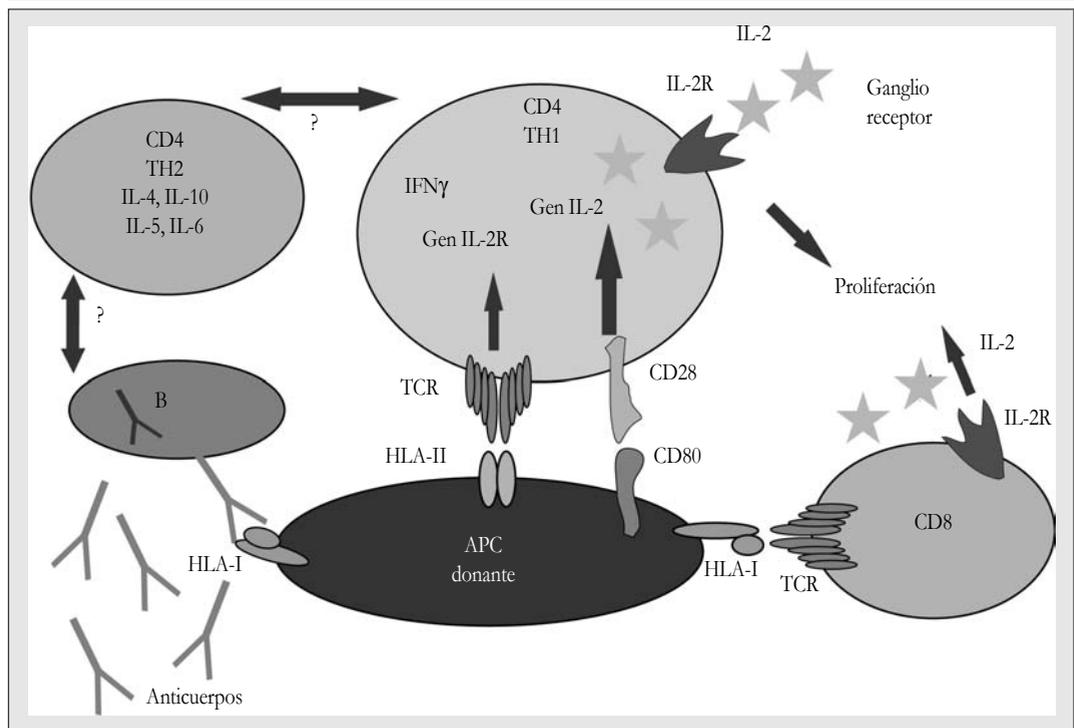
- 3) Un último mecanismo de trascendencia aún poco conocida es el reconocimiento por KIR. Las células NK (natural Killer) y CTL (cytotoxic T lymphocytes) poseen unos receptores llamados KIR (killer Inhibitory Receptor) que inhiben la actividad citotóxica. Estos receptores reconocen en la célula diana el polimorfismo HLA<sup>(6)</sup>.

## 1.2. Mecanismo del rechazo

El reconocimiento alogénico induce la activación de diferentes tipos celulares, entre ellos<sup>(2)</sup>:

- 1) Los linfocitos T colaboradores o TH1, que secretan mayoritariamente IL-2 e IFN $\gamma$ . Son los primeros en activarse en la respuesta alogénica, facilitan la expansión

Figura 1. Reconocimiento alogénico<sup>(1)</sup>.



clonal y la respuesta inflamatoria.

- 2) Los linfocitos T colaboradores o TH2, que secretan mayoritariamente IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. Son de activación más tardía. Colaboran en la producción de Ig.
- 3) Los linfocitos T citotóxicos (CTL), generalmente CD8 pero también CD4, con actividad citolítica mediada por TCR, que matan a otras células por mecanismos que implican la fragmentación del ADN.
- 4) Y en ocasiones, los linfocitos B aloantígenos específicos que producen Ig.

La respuesta desencadenada por los antígenos HLA tiene dos componentes: el celular y el humoral. La respuesta celular ocurre casi siempre, es difícil de monitorizar y relativamente sensible a los inmunosupresores clásicos. La respuesta humoral, por el contrario, sólo es evidenciable en aproximadamente en una cuarta parte de los receptores, es fácilmente monitorizable *in vitro*, especialmente pretrasplante, y se inhibe poco por los inmunosupresores clásicos.

#### a) Componente celular:

El órgano injertado puede verse atacado por tres tipos de mecanismos celulares<sup>(9)</sup>:

- 1) Linfocitos T citotóxicos específicos (CTL): pueden ser CD8 o CD4. Su mecanismo básico de reconocimiento es el TCR. Inducen la fragmentación del ADN y la apoptosis de la célula diana.
- 2) Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC): en presencia de anticuerpos, las células con receptores para la Fc de las Ig, los pueden utilizar como elementos de reconocimiento, provocando la lisis de la célula diana por un mecanismo independiente del complemento.
- 3) Actividad citotóxica natural o NK: las células NK, al detectar mediante sus receptores la ausencia de determinadas secuencias de aminoácidos en los antígenos HLA de las células del donante, podrían desencadenar su actividad citotóxica natural.

#### b) Componente humoral:

Cuando el sistema inmunitario de un individuo entra en contacto con los antígenos HLA de otro individuo, por embarazo, transfusión o trasplante, el receptor desencadena en un 25% de los casos, una respuesta con producción de anticuerpos. Es posible que la capacidad de producir anticuerpos esté relacionada con las señales accesorias que acompañan a la

presentación antigénica a los linfocitos T colaboradores o a los linfocitos B. También se ha asociado al predominio del reconocimiento directo sobre el indirecto<sup>(7)</sup>.

La existencia en el receptor de anticuerpos capaces de reaccionar contra el donante en el momento del trasplante determina la aparición del rechazo hiperagudo, en el que se acumulan polimorfonucleares y en el que posiblemente interviene el fenómeno de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC)<sup>(7)</sup>.

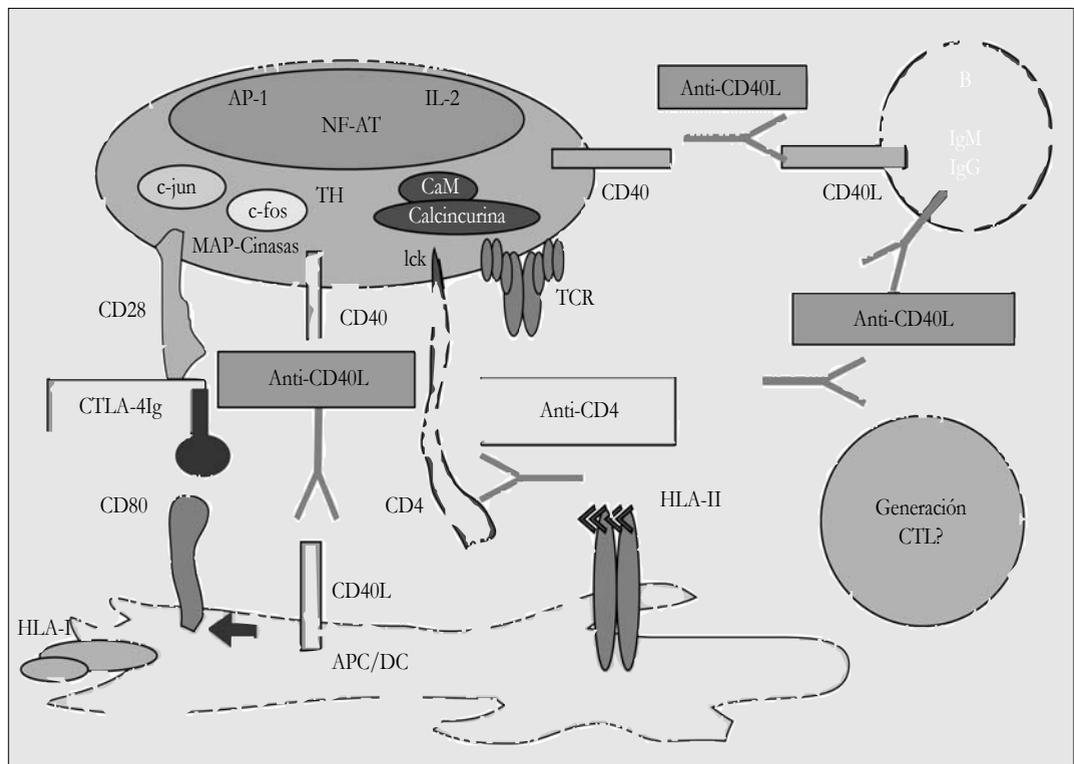
### 1.3. Mecanismo de tolerancia

Se entiende por tolerancia la aceptación de un órgano alogénico en ausencia de terapia inmunosupresora. La respuesta linfocitaria depende no solo de la interacción del antígeno con el TCR, sino también de las señales accesorias que recibe el linfocito T a través de la APC. Estas señales pueden determinar que el linfocito T proliferare, muera por apoptosis o pase a un estado de anergia clonal con incapacidad para responder al mismo antígeno en el futuro.

El desarrollo de una respuesta eficaz por parte de los linfocitos T requiere que su TCR reconozca al complejo HLA+péptido sobre la APC. Pero la señal mediada por el TCR por sí sola no es suficiente para desencadenar una respuesta, es preciso que el linfocito reciba una segunda señal, generalmente a través del CD28<sup>(8)</sup>. Sólo la simultaneidad de ambas señales, TCR y CD28, activa en los linfocitos los genes que codifican los factores de crecimiento de los linfocitos T, cuyo principal representante es la IL-2 (Figura 2). La señal CD28 es necesaria para la activación del linfocito T y su ausencia determina que este se vuelva anérgico<sup>(9)</sup>.

Los ligandos con capacidad de activar la vía CD28 son CD80 y CD86, el CD80 está constitutivamente expresado en las células dendríticas. La expresión de CD80 y CD86 es variable y puede incrementarse gracias a la señal proporcionada por la interacción de CD40 y CD40L. Datos más recientes apuntan que la señal CD40-CD40L es fundamental en la generación de células citotóxicas (CTL)<sup>(10,11)</sup>. CD4 y CD8 son correceptores que interactúan con zonas no polimórficas de HLA-II y HLA-I, respectivamente. Esta interacción estabiliza la unión intercelular (Figura 2). Numerosos modelos de tolerancia se basan en la interferencia de las señales accesorias, concretamente CD28-CD80, CD40-CD40L y CD40-HLA-II, bien sea con anticuerpos monoclonales o moléculas híbridas que las bloquean (CTLA4-Ig).

Figura 2. Señales accesorias que cooperan con la señal proporcionada por el receptor T específico (TCR)<sup>(9)</sup>.



Existe un cierto acuerdo sobre el hecho de que, en ausencia de inmunosupresión, el rechazo del órgano trasplantado es mediado por mecanismos que suponen la secreción de IL-2 e IFN $\gamma$ , es decir, interleucinas características de una respuesta TH1 o inflamatoria. Sin embargo, utilizando ratones Knock-out (incapaces de secretar determinadas interleucinas) se ha demostrado que en ausencia de IL-2, se produce un retraso pero no una ausencia de rechazo<sup>(12)</sup> y que la tolerancia no puede producirse en completa ausencia de IL-2. Para la apoptosis se requiere algo de IL-2<sup>(12-14)</sup>. Paradójicamente la IL-2 es considerada un “factor de crecimiento” del linfocito T, pero también un “factor de muerte”. La importancia de este hecho es la posibilidad de que los nuevos inmunosupresores, sirolimus y micofenolato de mofetilo que actúan después de que se halla producido la activación de la célula T y secreción de IL-2, puedan tener resultados a largo plazo mejores que la ciclosporina o el tacrolimus que actúan antes en el ciclo celular<sup>(15)</sup>.

## 2 FISIOPATOLOGÍA: RECHAZO DEL INJERTO

### 2.1. Rechazo hiperagudo

La existencia en el receptor de anticuerpos capaces de reaccionar contra el donante en el momento del trasplante determina la aparición del rechazo hiperagudo. Este rechazo se produce rápidamente, y origina una microtrombosis masiva del injerto y un deterioro rápido de la función del órgano, lo que puede obligar a la retirada del injerto. Los inmunosupresores clásicos son poco eficaces en este tipo de rechazo<sup>(16)</sup>.

El rechazo mediado por anticuerpos se asocia a un rechazo de componente eminentemente vascular, con vasculitis e infiltrado perivascular, y en el que en fases avanzadas pueden verse pequeños infartos y hemorragias<sup>(7)</sup>. Recientemente, la aparición de aloanticuerpos también se ha asociado con el rechazo crónico, pues al parecer los anticuerpos anti-HLA podrían proporcionar señales que inducirían la hiperplasia de la íntima y facilitarían la obliteración

de los vasos del injerto<sup>(17,18)</sup>.

Los anticuerpos preformados se pueden producir de forma natural, como en el caso de las ABO isohemaglutininas, o pueden desarrollarse en el paciente por sensibilización a través de trasplantes previos, transfusiones de sangre o embarazo<sup>(16)</sup>. Una de las pocas estrategias eficaces para evitar el rechazo hiperagudo es monitorizarlos y buscar para los receptores, órganos que no posean los alelos con los cuales reaccionan estos anticuerpos<sup>(19)</sup>.

La monitorización de los aloanticuerpos se realiza in vitro enfrentando el suero del receptor en lista de espera a un conjunto (o panel) de células procedentes de individuos de alelos HLA conocidos, lo que se conoce como anticuerpos frente a panel o PRA (de Panel Reacting Antibodies). En el momento previo al trasplante con un donante en concreto, se confirma in vitro si los anticuerpos del receptor reaccionan con alguno de los antígenos HLA del donante, mediante una prueba cruzada (o cross-Match), que consiste en enfrentar suero del receptor con células vivas del donante en presencia de una fuente de complemento. Si las células mueren, prueba positiva el trasplante está contraindicado para casi todos los órganos, excepto el hígado. El riñón y el páncreas son muy susceptibles al rechazo hiperagudo, corazón y pulmón también, aunque la bibliografía es menos uniforme. Sin embargo, el hígado es poco sensible al rechazo hiperagudo y una prueba cruzada positiva no contraindica la realización del trasplante<sup>(20)</sup>.

## 2.2. Rechazo agudo (RA)

El proceso de rechazo celular es lo que se conoce como rechazo agudo. Este rechazo está mediado fundamentalmente por la reacción de las células T del receptor frente a los antígenos alogénicos expresados en el órgano trasplantado. El reconocimiento de estos aloantígenos pone en marcha la liberación de IL-1 y de IL-2, con la consiguiente activación y proliferación de células CD4 y CD8<sup>(21,22)</sup>.

La mayoría de los RA se producen en los primeros meses postrasplante. En general, estos episodios de rechazo se asocian a alteraciones funcionales del órgano en cuestión, como por ejemplo aumento de las cifras de creatinina plasmática en el trasplante renal, elevación de las enzimas hepáticas en el trasplante hepático, y alteraciones en el ECG y/o ecocardiograma en el cardíaco. Pero, la biopsia del órgano trasplantado es el método más fiable y objetivo de diagnosticar el RA.

Las lesiones histológicas del rechazo son muy parecidas en los distintos tipos de trasplantes, destacando un infiltrado intersticial por linfocitos, predominantemente T, que provoca una lesión del parénquima correspondiente. En las fases iniciales del rechazo se puede observar la presencia de polimorfonucleares y eosinófilos en el infiltrado intersticial, en fases más evolucionadas con destrucción celular se observa un infiltrado por macrófago-monocitos. En casos graves pueden asociarse lesiones de endotelitis y/o arteritis, que pueden ir acompañadas de mayor grado de lesiones parenquimatosas<sup>(23)</sup>.

En todos los trasplantes existe una clasificación anatomopatológica de la severidad del rechazo, que permite su gradación, y también poder establecer un pronóstico y tratamiento adecuado. Las lesiones que aparecen durante el RA son potencialmente reversibles, pero en ocasiones se mantienen y determinan una forma de rechazo que puede evolucionar hacia las formas de rechazo crónico. La reversibilidad del rechazo se hace menos probable a medida que desaparece componente celular y predomina el de fibrosis intersticial.

La incidencia de RA es variable según el tipo de trasplante, cifrándose en unos porcentajes del 60-70% en trasplante cardíaco, del 10-20% en trasplante renal, del 30-40% en hepático y del 40-75% en pulmonar. Diversas razones podrían justificar esta diferencia entre órganos: un factor decisivo podría ser la práctica de biopsias por protocolo en el trasplante cardíaco, lo que aumentaría la posibilidad de su diagnóstico, pero también pueden intervenir factores inmunológicos entre el donante y receptor, que condicionarían una respuesta alogénica distinta, así como factores propios del órgano en cuestión, siendo más o menos inmunogénico.

En la actualidad, rara vez un episodio de RA ocasiona fallo del injerto trasplantado, ya que los tratamientos inmunosupresores disponibles permiten revertir la mayoría de estos episodios. Sin embargo, el RA de aparición tardía es de peor pronóstico, posiblemente porque obedece a mecanismos inmunológicos distintos, pero también porque su diagnóstico y tratamiento se suelen retrasar. Efectivamente, su identificación histológica es más difícil porque no siempre están presentes los signos clásicos de infiltrado intersticial con lesión parequimatosas, la respuesta al tratamiento no es tan alta como en el rechazo de las primeras semanas postrasplante (50% frente al 75%) y la

evolución a la cronicidad es netamente superior (27% frente al 5%)<sup>(23)</sup>.

Uno de los aspectos no totalmente dilucidados respecto al RA es su repercusión sobre la supervivencia a largo plazo del injerto y del paciente. En general, se considera que el RA tiene un impacto negativo en los resultados del trasplante, ya que favorece el desarrollo de rechazo crónico. Sin embargo, en el trasplante hepático las cosas no son tan evidentes, ya que los episodios de rechazo parecen tener un impacto negativo únicamente en relación con la infección por VHC, siendo importante evitarlos en el trasplante hepático VHC+ pero no en los VHC-, donde el RA podría tener un papel positivo en la inducción de tolerancia<sup>(24)</sup>.

### 2.3. Rechazo crónico (RC)

La definición de rechazo crónico no se ha establecido con exactitud, y se ha acordado caracterizarlo por la aparición de una serie de cambios clínicos y funcionales en el órgano trasplantado, acompañados de hallazgos histopatológicos específicos en el mismo. La evolución clínica característica del rechazo crónico es un deterioro lento, progresivo y gradual de la función del injerto, cuyo inicio suele ser asintomático en la mayor parte de los casos. Actualmente, se tiende a abandonar el término rechazo crónico y, dependiendo de cada tipo de trasplante se utiliza una terminología más genérica, como nefropatía crónica del injerto (riñón), enfermedad vascular del injerto (corazón) o bronquiolitis obliterante (pulmón)<sup>(25)</sup>.

Desde el punto de vista histológico, la característica común del rechazo crónico en todos los órganos es el desarrollo de una fibrosis obliterante en las estructuras huecas del injerto (vasos, bronquiolos, conductos biliares), con aparición de signos inflamatorios crónicos, fibrosis intersticial y arteriosclerosis.

En todos los trasplantes la prevalencia de rechazo crónico a los 5 años oscila alrededor del 20-70%. La amplitud de este intervalo depende del efecto centro y, naturalmente del órgano en cuestión. Así en pulmón es del 35-50%<sup>(26)</sup>, en corazón del 50% (aunque el 100% muestran lesiones típicas de rechazo crónico tras biopsia)<sup>(27)</sup>, en riñón del 15-35% y en hígado del 15-50%. En general, cuando el primer trasplante ha fracasado por el desarrollo de rechazo crónico, la recidiva de esta entidad tras el retraspante es mayor, en torno al 25-90%<sup>(28,29)</sup>.

En la medida en que se va adquiriendo más seguridad en el manejo de los enfermos trasplantados, el rechazo agudo y las infecciones, hasta ahora graves problemas, reducen su frecuencia y el rechazo crónico emerge como la causa más importante de disfunción y fracaso del injerto a largo plazo.

Existen una serie de factores de riesgo para el desarrollo de rechazo crónico, como son la infección por citomegalovirus (CMV), la nefrotoxicidad crónica por inmunosupresores, las alteraciones del metabolismo lipídico, la hipertensión arterial, las lesiones derivadas del síndrome de isquemia-reperusión, y la necrosis tubular aguda en el caso del injerto renal. Y factores inmunológicos como son, el grado de incompatibilidad HLA, el grado de inmunosupresión y los episodios previos de rechazo agudo (número, intensidad, y sí son o no corticorresistentes). Dado que en la actualidad no se dispone de una terapia eficaz para el tratamiento del rechazo crónico, la prevención y control de estos factores podría jugar un papel fundamental para disminuir el fracaso del órgano injertado<sup>(25,30)</sup>.

## 3 PRINCIPALES PATOLOGÍAS: TIPOS ESPECÍFICOS DE TRASPLANTES

### 3.1. Trasplante renal (TR)

El trasplante renal (TR), es la terapéutica de elección para la mayoría de los enfermos con insuficiencia renal terminal en diálisis. Consiste en implantar en un receptor uno, o a veces los dos riñones. El donante renal puede ser un cadáver o, dado que el riñón es un órgano par, también puede ser un vivo, emparentado o no emparentado, aunque en España la donación de vivo es prácticamente testimonial<sup>(31)</sup>. El riñón injertado puede iniciar la diuresis en el mismo acto quirúrgico, o retrasarla durante un periodo de días o semanas hasta que se recupere de la necrosis tubular aguda (NTA). (la NTA es una alteración que si se presenta produce oligoanuria, siendo necesaria la diálisis en los primeros días postrasplante, y que se resuelve espontáneamente en días o semanas).

Los resultados del trasplante renal dependen de varios factores entre los que destacan la compatibilidad HLA-DR, la edad del donante y del receptor, donante vivo o cadáver, el porcentaje de anticuerpos citotóxicos, primero o segundo trasplante, el efecto centro y fundamentalmente la inmunosupresión. Por ello, se debe buscar la mejor compatibilidad HLA-DR posible y las mínimas diferencias de edad y peso entre donante y re-

ceptor. No existen muchos criterios de exclusión para TR, y realmente sólo la arteriosclerosis generalizada, de alta incidencia en el enfermo renal crónico, y la enfermedad tumoral maligna contraindican absolutamente el TR<sup>(32,33)</sup>.

El rechazo inmunológico es la principal complicación tras el trasplante renal. Puede ser clasificado de cuatro formas: hiperagudo, acelerado, agudo, y crónico:

- El rechazo hiperagudo puede ocurrir durante o inmediatamente después de la revascularización del injerto, generalmente en las primeras 48 horas, siendo necesaria la extirpación del injerto (incidencia: 0,1-1%); Mientras que el rechazo acelerado, de características patogénicas similares al hiperagudo, aparece generalmente en la primera semana postrasplante.
- El RA, se produce generalmente entre la primera y la duodécima semana postrasplante, aunque puede aparecer después de meses e incluso años. Si aparece después del tercer mes se denomina RA tardío. El diagnóstico se puede realizar por ecografía, aunque la exploración fundamental para el diagnóstico correcto es la biopsia renal. Existen dos tipos de rechazo desde el punto de vista histológico: tubulointersticial y vascular, con cuatro graduaciones cada uno: incipiente, grado I, II, y III (clasificación de BANFF). Los síntomas clásicos son fiebre, oliguria y dolor en el área del injerto. A veces, únicamente existe un aumento de la creatinina sérica, sin otra sintomatología, y el diagnóstico diferencial debe hacerse fundamentalmente con la nefrotoxicidad por ciclosporina. Otras, no existe función renal del injerto, y el paciente está en necrosis tubular aguda (NTA), siendo el diagnóstico más complicado, ya que si la oligoanuria persiste hay que realizar una biopsia para confirmar que se trata de un RA sobreimpuesto a la NTA y descartar la nefrotoxicidad por ciclosporina, cuyo efecto vasoconstrictor también puede prolongar la NTA.
- El rechazo crónico es la pérdida lenta, progresiva e inexorable de la función renal del injerto. En la actualidad recibe el nombre de nefropatía crónica del injerto y es la principal causa de pérdida del injerto después del primer año del trasplante. Es un problema inmunológico siendo el rechazo agudo (su incidencia, tiempo de aparición y recuperación) el principal factor de riesgo, aunque factores no inmunológicos y de adaptación (edad, sexo, peso, infección por CMV) pueden jugar un papel secundario pero importante. Clínicamente se presenta como un deterioro de la función

renal acompañado de proteinuria e hipertensión arterial. El diagnóstico diferencial debe realizarse con la hipertensión arterial (estenosis de la arteria renal del injerto), la nefrotoxicidad crónica por ciclosporina, que también produce fibrosis intersticial y con las glomerulonefritis de novo o de recidiva<sup>(29,30)</sup>. Uno de los graves problemas que complica el manejo clínico del paciente es la nefrotoxicidad crónica de los anticalcineurínicos, ciclosporina y tacrolimus, que a veces es indistinguible del rechazo crónico, además de contribuir a su desarrollo<sup>(34,35)</sup>.

Aunque hoy se considera que con el TR, se puede alcanzar una supervivencia del injerto a un año en torno al 90%, la pérdida posterior del injerto, con una tasa de aproximadamente un 5% al año, sigue constituyendo un problema de difícil solución, por lo que aún se precisa estrategias más selectivas, con menos efectos secundarios y que prevengan el rechazo crónico a largo plazo.

### 3.2. Trasplante cardiaco

El trasplante cardiaco (TC) es un tratamiento muy complejo que en los últimos años de ha convertido en una opción válida para determinados pacientes con cardiopatías graves. Existen dos modos de realizar un TC: 1) TC ortotópico, en el cual el corazón del receptor se extrae y se reemplaza por el corazón del donante en su correcta posición anatómica. 2) TC heterotópico en el cual el corazón del donante se coloca en paralelo al corazón del receptor, anastomosándose a éste de tal manera que permite que la sangre pase a través de uno y/o ambos corazones. Este procedimiento está prácticamente en desuso y sólo se utiliza cuando existe una gran desproporción entre las superficies corporales del donante y receptor, o en situaciones de disfunción cardiaca severa potencialmente reversibles, en que se espera que el corazón enfermo recupere su normofunción<sup>(36)</sup>.

La indicación de un TC es una cardiopatía grave en situación terminal, sin otra opción terapéutica posible y sin contraindicaciones para el mismo. Se debe restringir el TC a los pacientes con insuficiencia cardiaca avanzada, invalidante y refractaria a todo tipo de terapia<sup>(37-39)</sup>. Las causas más frecuentes de mortalidad en el primer año son el rechazo histológico y la infección, mientras que a largo plazo son la enfermedad vascular del injerto (rechazo crónico) y las neoplasias. Desde el punto de vista práctico se puede clasificar el rechazo en tres tipos, hiperagudo, agudo, y crónico<sup>(40)</sup>:

- El rechazo hiperagudo se manifiesta en los minutos siguientes al desclampaje aórtico. El cuadro clínico es catastrófico apreciándose, incluso en el mismo acto quirúrgico, una tumefacción progresiva del órgano con imposibilidad total de la función contráctil.
- El RA es el habitual, no suele ser tan severo como el anterior, y si aparece, es a partir de los primeros días postrasplante, ya que se necesitan varios días (con la inmunosupresión habitual) para que se produzca la respuesta inmunitaria completa contra el injerto. Las manifestaciones clínicas son variables, en los estadios iniciales están ausentes, y luego puede aparecer febrícula, molestias inespecíficas, y progresivamente datos de disfunción del injerto. El enfermo puede sentirse bien hasta que el episodio de rechazo a progresado, en tal cuantía que el daño es irreversible. Por ello el éxito en el manejo del rechazo es su detección precoz antes de que existan síntomas de disfunción cardíaca. La biopsia endomiocárdica (BEM) es el método diagnóstico de elección, y estratifica la severidad del mismo de acuerdo con la extensión del infiltrado linfóide y la destrucción de las fibras miocárdicas, en siete grados: 0, 1A, 1B, 2, 3A, 3B, y 4. Frente a este tipo de rechazo denominado celular, existe una segunda forma llamada RA vascular o humoral, donde el daño va dirigido preferentemente al endotelio vascular. Comparado con el celular, el humoral es menos frecuente, tiene peor respuesta al tratamiento inmunosupresor, se asocia con compromiso hemodinámico severo, disfunción irreversible del injerto y mayor mortalidad.
- El rechazo crónico o enfermedad vascular del injerto (EVI), es una forma acelerada de arteriopatía coronaria y la causa más importante de mortalidad tardía. Las lesiones vasculares se caracterizan por un engrosamiento intimal difuso, longitudinal, concéntrico e hiper celular que implica a todos los vasos del órgano trasplantado, desde las arterias epicárdicas, a pequeñas arteriolas y conduce de forma progresiva a la oclusión completa del vaso. Su prevalencia es de un 19-36% al año y del 50% a los 5 años<sup>(28)</sup>. En la actualidad no existe ninguna medida preventiva eficaz para el desarrollo de la EVI, los fármacos inmunosupresores no son efectivos. Algunos estudios han encontrado que el empleo de diltiazem o la pravastatina pueden reducir la progresión de la enfermedad<sup>(40)</sup>.

La supervivencia actual del TC es del 80% al final del primer año, del 65% a los 5 años y, del 45% a los 10 años y la vida media (momento en que la supervivencia

es del 50%) es de 8 años y 7 meses. No obstante estos datos son globales, incluyen todos los periodos desde que se inicio el trasplante y todos los tipos de trasplante (cardiopulmonar, retrasplantes, neonatos...). Actualmente, y para el trasplante cardíaco estándar, la supervivencia es mucho mayor<sup>(41)</sup>.

### 3.3. Trasplante hepático (TH)

El trasplante hepático ortotópico (TH), consiste en la extirpación del hígado enfermo del paciente y su sustitución, en la misma localización anatómica, por otro sano procedente de un donante cadáver o vivo. En los últimos años, el TH se ha convertido en la mejor alternativa terapéutica de los enfermos con hepatopatías crónicas graves e irreversibles<sup>(42)</sup>.

Las principales indicaciones para un TH, son enfermedades irreversibles crónicas del hígado ya sean vasculares (síndrome de Budd-chiari), hepatocelulares (hepatitis vírica, producida por un fármaco o alcohol) o colestásicas (cirrosis biliar, colangitis esclerosante primaria), fallos hepáticos fulminantes (inducidos por virus, fármacos, toxinas, enfermedad de Wilson), tumores (hepatocarcinoma, colangiocarcinoma, adenocarcinoma) y por último, enfermedades genéticas metabólicas<sup>(43)</sup>.

En el TH se pueden diferenciar tres tipos de rechazo: el hiperagudo o humoral, el agudo o celular y el crónico<sup>(24,29)</sup>:

- El ataque inmune por anticuerpos preformados constituye el rechazo humoral. La denominación de rechazo hiperagudo en el contexto del TH es incorrecta ya que no sucede de forma inmediata al implante sino que, por el contrario, suele manifestarse después de días o incluso después de un rechazo celular. Se caracteriza por deterioro brusco de la función del injerto después de un periodo corto de buena función hepática.
- El RA es el más frecuente, ya que lo desarrollan un 40-60% de los pacientes a lo largo del primer año. Se produce en la mayoría de los casos durante el primer mes postrasplante y, de un modo más concreto, entre los días 5º y 10º de la intervención<sup>(23)</sup>. Suele ser escasamente sintomático y sólo en los casos muy graves conduce a la disfunción del injerto hepático. El diagnóstico de rechazo se sospecha por cambios enzimáticos (elevación de transaminasas o de las enzimas de colestasis), con o sin aumento de la bilirrubina, y debe confirmarse mediante biopsia hepática. Se ha estable-

cido una clasificación de la gravedad del rechazo en tres grados, según la intensidad de la inflamación portal y de la necrosis centrolobulillar<sup>(44)</sup>. El RA de aparición tardía (>30 días) es de peor pronóstico, su identificación histológica puede ser difícil porque no siempre están presentes los signos clásicos, la respuesta al tratamiento es peor y la evolución a la cronicidad mayor.

- El rechazo crónico ocurre en el 2-5% de los trasplantes. Aparece entre la tercera semana y el sexto mes postrasplante. En la biopsia hepática se observa colestasis importante y desaparición de conductos biliares, secundaria a arteriopatía obliterativa. La respuesta al tratamiento inmunosupresor es pobre, y la única alternativa terapéutica es el retrasplante. En algunos casos puede controlarse sustituyendo CsA por tacrolimus. Parece que hay una tendencia decreciente en la incidencia de rechazo crónico y que el injerto hepático tiene una cierta resistencia a este tipo de rechazo, contrariamente a lo que ocurre en otro tipo de trasplante como son el corazón, riñón o pulmón. Un problema adicional en los TH son las recidivas de la enfermedad original, donde la inmunosupresión puede ser beneficiosa en enfermedades autoinmunes, pero perjudicial en las víricas.

En el TH la supervivencia del paciente al año es del 75%, y a los 5 años del 65%. El 80-90% de las muertes postrasplante tienen lugar durante los dos primeros meses postrasplante. Las causas de muerte más frecuentes son la infección, el rechazo crónico y la recurrencia de la enfermedad. Si el injerto falla, independientemente de la causa, la única solución es el retrasplante, la supervivencia es un 15-20% inferior al primer trasplante.

### 3.4. Trasplante pulmonar (TP)

El trasplante pulmonar (TP) consiste en la sustitución de unos pulmones que fracasan por uno (unipulmonar), dos pulmones (bipulmonar) o el conjunto de corazón y pulmones (Cardiopulmonar) (TCP). El TP está indicado en toda enfermedad pulmonar o vascular, con una expectativa de vida inferior a uno o dos años, sin tratamiento alternativo, cuando no existan contraindicaciones.

El TP unilateral es más fácil técnicamente y es el de elección en la patología intersticial, y en los pacientes mayores de 55 años con enfermedad pulmonar obs-

tructiva crónica (EPOC) que no tengan grandes bullas. El TP bilateral es imprescindible para aquellos casos donde existen bronquiectasias que puedan actuar como reservorio de futuras infecciones, como en la fibrosis quística. Se utiliza también en la patología obstructiva en pacientes jóvenes o con grandes bullas, y para la hipertensión pulmonar primaria (HPP). Mientras, el TCP, queda restringido para los enfermos con patología pulmonar y grave disfunción del ventrículo izquierdo por HPP, o síndrome de Eisenmenger que no se pueda corregir fácilmente<sup>(45)</sup>.

El pulmón es uno de los órganos más grandes que se puede trasplantar, con una vascularización muy extensa, que recibe el gasto cardíaco total con todo su sistema inmune circulante. Además, el pulmón tiene un aparato inmune intrínseco y el tracto respiratorio está expuesto continuamente a agentes infecciosos y a otros antígenos inhalados que conducen a un aumento en la expresión de aloantígenos en el epitelio bronquial y activación de linfocitos T. Por todo ello, la inmunosupresión debe ser más intensa que otros tipos de trasplante, lo que incrementa aún más el riesgo de infecciones<sup>(47)</sup>.

Existen tres tipos de rechazo: rechazo agudo, con inflamación de la vía aérea, cuyo hallazgo histológico es la bronquitis o bronquiolitis linfocitaria, el rechazo crónico, con la lesión histológica de bronquiolitis obliterante (BO) y el rechazo vascular crónico, con engrosamiento de la íntima de arterias y venas.

El periodo de máximo riesgo del RA es durante el primer año. Presenta una alta incidencia (50-70%), y raramente el desenlace es fatal. Los episodios pueden ser asintomáticos o presentarse como un cuadro de infección de las vías respiratorias altas o una bronquitis. El único método de diagnóstico con certeza es la biopsia transbronquial, clasificando el rechazo en 4 grados.

Pero la mayor limitación para la supervivencia del TP a medio y largo plazo es el desarrollo de rechazo crónico o síndrome de bronquiolitis obliterante (BOS). Este síndrome es la principal causa de disfunción del injerto, a pesar del uso de regímenes de inmunosupresión más intensos que en otro tipo de trasplante. Aproximadamente un 50% de los supervivientes lo desarrollan y se caracteriza por obstrucción progresiva del flujo aéreo y deterioro de la función del injerto, e histológicamente por BO. Una vez desarrollada es normalmente refractaria al tratamiento inmunosupresor, siendo el principal factor de riesgo la frecuencia y gravedad de los episodios de RA. Aunque se ha descrito su aparición a tan solo tres meses del trasplante, la media es entre los 16 y 20 meses<sup>(48)</sup>.

Otra complicación del TP son las infecciones, siendo causa importante de morbi-mortalidad temprana y tardía en el TP. Las infecciones bacterianas constituyen la mitad de las infecciones causantes de muerte, el injerto es la localización más frecuente. A ello contribuye la denervación pulmonar, con la abolición del reflejo tusígeno, la alteración del sistema mucociliar, la interrupción del drenaje linfático, además de la inmunosupresión administrada. Por ello, en el TP es muy importante utilizar una profilaxis amplia.

Actualmente, la supervivencia a los dos años del TP es aproximadamente del 70%, produciendo una mejora espectacular en la calidad del vida del enfermo. Sin embargo la supervivencia a los 5 años es del 50%, más baja que en otro tipo de trasplante<sup>(41)</sup>.

### 3.5. Trasplante de páncreas

El objetivo de un trasplante de páncreas es restablecer el estado de euglucemia, en pacientes diabéticos insulina-dependientes. Existen tres modalidades de trasplante de páncreas:

- 1) Trasplante de páncreas solo, en pacientes no urémicos o preurémicos.
- 2) Trasplante de páncreas tras un trasplante funcional de riñón (trasplante secuencial).
- 3) Trasplante de páncreas de forma simultánea al renal.

En la actualidad más del 90% de los trasplantes de páncreas realizados fueron simultáneos con el riñón<sup>(48)</sup>.

La principal indicación de un trasplante simultáneo páncreas-riñón, son enfermos con diabetes mellitus tipo I, con enfermedad renal terminal o preterminal, y ausencia de enfermedad coronaria significativa. Mientras que la única indicación aceptada para la realización de un trasplante de páncreas sólo, son enfermos diabéticos no urémicos, en situación de especial labilidad metabólica, que se juzguen más serias que los efectos secundarios de la inmunosupresión y que puedan ser revertidas por el trasplante.

Al páncreas se le atribuye una mayor inmunogenicidad que a otros órganos. Por lo que el rechazo es junto a la trombosis venosa, la causa más frecuente de pérdida de injerto pancreático, que se definiría como la recurrencia de la hiperglucemia requiriendo de nuevo insulina tras un periodo de insulino-independencia. El seguimiento de la fun-

ción renal es un marcador precoz para posteriores rechazos del injerto pancreático (los marcadores de rechazo renal casi siempre preceden a los del páncreas), pero esto tiene sus limitaciones ya que el injerto pancreático puede rechazar de forma independiente al riñón del mismo donante. El rechazo agudo ocurre en el 85% de los enfermos sometidos a doble trasplante y la mayoría son reversibles. Los estudios histológicos muestran un infiltrado linfocitario que inicialmente envuelve a los tejido exocrinos de la glándula. La afectación de los islotes endocrinos es más tardía, por lo que la hiperglucemia y el descenso de los niveles de insulina aparecen en situaciones avanzadas.

La supervivencia actual de los pacientes al año es del 91%, con una supervivencia del injerto del 78%. La supervivencia es significativamente mayor cuando el trasplante de páncreas se realizó simultáneo con el riñón, que cuando se implantó solo o de forma secuencial. En un seguimiento a 15 años, publicado recientemente<sup>(49)</sup>, la supervivencia fue de 89% para el trasplante de páncreas-riñón y 84% para páncreas solo, y la del injerto del 69% y 76% respectivamente.

### 3.6. Trasplante alogénico de médula ósea (TMO)

El trasplante alogénico de médula ósea (TMO), consiste en la perfusión intravenosa al receptor, de médula ósea aspirada del donante. Al ser el aspirado rico en células inmunocompetentes, el mecanismo de rechazo es bidireccional, pues ambos sistemas inmunes (el del receptor y el del donante, constituido por los linfocitos presentes en la suspensión medular transfundida) reconocen como extraños al oponente y se puede producir, por un lado, el rechazo de la médula ósea y, por otro, un cuadro denominado enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), en el que los linfocitos del donante reaccionan contra los antígenos de histocompatibilidad del receptor.

El TMO representa un procedimiento duro y complejo, que tiene numerosas complicaciones. Actualmente, se usa en el tratamiento de pacientes con enfermedades de médula ósea congénitas o adquiridas, anemias y para rescatar a pacientes con leucemias u otro tipo de cáncer de los efectos adversos de altas dosis de quimioterapia o radioterapia<sup>(50)</sup>.

Existen principalmente tres tipos de complicaciones en el TMO: la EICH, el rechazo del injerto, y la reconstitución inmune después del TMO<sup>(51)</sup>.

La EICH, es la complicación más temible. Se conocen dos formas clínicas, aguda y crónica. La EICH aguda ocurre en el 30-60% de los pacientes y es causa de muerte en más de un 20% de los casos. Sus órganos diana fundamentales son piel, hígado e intestino. La afección cutánea suele manifestarse por un exantema maculopapular, la hepática por ictericia y la intestinal por un cuadro diarreico. Según el grado de afectación la EICH aguda se clasifica en cuatro grados I, II, III y IV. La EICH crónica se manifiesta como una afección multisistémica que puede aparecer a continuación de una forma aguda, después de la resolución de la misma o bien surgir de novo. La presentan el 20-40% de los supervivientes a largo plazo. Los órganos afectados con mayor frecuencia son piel, boca, hígado, ojos, esófago y aparato respiratorio superior. Según el grado de afectación se reconocen dos formas clínicas, la limitada y la extensa<sup>(51)</sup>. Pero, la EICH también parece asociarse a cierto efecto antileucémico. En diversos estudios se ha demostrado que aquellos pacientes que presentan una EICH aguda y/o crónica tienen menor probabilidad de recidiva leucémica<sup>(52)</sup>.

El rechazo de la médula injertada es bastante infrecuente en un TMO, porque el sistema inmune del receptor se encuentra generalmente muy afectado por las altas dosis de quimioterapia y radioterapia a las que ha sido sometido para erradicar la enfermedad primaria, pero en el caso de que exista este rechazo se debe a las células T del receptor.

Otra complicación importante es la reconstitución inmune después del TMO. Dos o tres semanas después de un tratamiento de quimioterapia y/o radioterapia, todo el sistema sanguíneo está severamente disminuido hasta que los nuevos elementos se formen de las células Stem del donante. Los eritrocitos y las plaquetas se pueden mantener por transfusiones, pero el riesgo más severo de infecciones bacterianas, se produce por la pérdida de granulocitos. Además la restauración de los niveles normales de linfocitos es muy baja, particularmente cuando éstos han sido eliminados y se produce un aumento del riesgo de infecciones y enfermedades autoinmunes a largo plazo.

## 4 TERAPÉUTICA FARMACOLÓGICA Y UTILIZACIÓN CLÍNICA

### 4.1. Preservación de órganos

El objetivo es obtener una preservación perfecta el tiempo necesario. Actualmente existen dos métodos de preservación de órganos:

- 1) El simple almacenamiento hipotérmico después de irrigación vascular, que es el más usado.
- 2) La perfusión continua hipotérmica.

La hipotermia, idealmente mantenida entre 0-5 °C, es la clave de la preservación de órganos. Este hecho es bastante claro considerando que, después de aproximadamente una hora de isquemia caliente la mayoría de los órganos se ven dañados de forma irreversible, mientras estos mismos órganos enfriados a 0° C se pueden conservar hasta 12 horas<sup>(53)</sup>. La hipotermia disminuye la velocidad con que las enzimas intracelulares degradan los componentes necesarios para la viabilidad del órgano. Aun así, este efecto protector es incompleto, dado que la hipotermia no detiene completamente el metabolismo.

Se ha observado que, perfundiendo los órganos con una solución apropiada se prolonga aún más los tiempos de preservación. Es importante señalar que cada órgano y tejido tiene características metabólicas únicas y que los métodos de preservación desarrollados para un órgano pueden no ser aplicables a los demás. Así la glucosa, sustancia utilizada para evitar el edema celular en el trasplante renal, no es muy efectiva ni en el páncreas ni en el hígado ya que penetra fácilmente en la célula. Por ello, existen algunas diferencias entre las soluciones de preservación de los distintos órganos<sup>(53)</sup>.

Preservación renal: existen dos métodos aplicables clínicamente:

- 1) El simple almacenamiento hipotérmico, que incluye la irrigación vascular con una solución apropiada.
- 2) La perfusión hipotérmica.

Existe mucha controversia respecto al método ideal, aunque las ventajas del primero son su simplicidad y bajo costo siendo el más utilizado<sup>(54)</sup>.

Para el almacenamiento hipotérmico se han utilizado distintas soluciones. En 1969, Collins et al.<sup>(55)</sup> describieron una solución hipertónica, con glucosa como agente impermeante que utilizaron con éxito. En 1976

la Organización Europea de Trasplantes, acordó estandarizar la Solución de Collins omitiendo el  $MgSO_4$  e incrementando la concentración de glucosa, denominándola Euro-Collins (EC), utilizándola con excelentes resultados y tiempos de preservación de hasta 50 horas<sup>(56)</sup>. Y finalmente, en 1986 el grupo de Belzer de la Universidad de Wisconsin, introdujo una nueva solución de preservación, la solución de Belzer (UW), que originariamente se había desarrollado para la preservación del páncreas y que después se aplicó al riñón<sup>(57)</sup> (Tabla 1). Parece ser que, la solución de UW da mejor sobrevida al injerto renal que la de Euro-Collins, aunque esta diferencia no es significativa.

**Preservación hepática:** el método más utilizado es el almacenamiento hipotérmico (la perfusión hipotérmica se usa solo en el área experimental), la temperatura óptima es de 4°C y la solución más empleada la de UW (el tiempo de isquemia fría con la solución de Euro-Collins es de 6-8 horas, mientras que con la solución de UW es de 12-24 horas). La composición única de la solución de UW, se basa en 1) la presencia de agentes impermeantes (lactobionato y rafinosa), para minimizar el edema celular inducido por la hipotermia; 2) Buffers apropiados ( $KH_2PO_4$ ), para evitar la acidosis intracelular; 3) Los coloides (HES), para prevenir la expansión del espacio intersticial; 4) Inhibidores o destructores de los radicales libres (glutation y alopurinol), para proteger del daño producido por estos radicales inestables; 5) Precursores del ATP (adenosina y adenina), para proveer a la célula con energía y permitir una función adecuada de la bomba de  $Na^+ - K^+$ , aunque la eficacia de algunos de estos componentes es controvertida<sup>(57-59)</sup>. El glutatión (GSH), se oxida durante el almacenamiento hipotérmico, por lo que añadir GSH a la solución de UW, parece ser importante si el hígado va ser almacenado más de 24h. Incluso se ha sugerido que, la presencia de GSH fresco reduce la incidencia de rechazo agudo en hígados humanos<sup>(60)</sup>.

**Preservación pancreática:** se emplea la solución de UW. El páncreas a menudo se extrae con el hígado y ambos órganos se irrigan con la solución de UW (simple almacenamiento hipotérmico). Es importante no mezclar con otras soluciones, como Ringer o Euro-Collins. Los tiempos de isquemia fría con la solución de UW pueden ser de hasta 30 horas, pero se han obtenido mejores resultados cuando el órgano se ha revascularizado a las 20 horas<sup>(61)</sup>.

**Preservación cardíaca:** en la práctica clínica el método más usado es el almacenamiento hipotérmico con la solución de cardioplejía<sup>(62)</sup>. Aunque existen diversas soluciones cardiopléjicas para producir la parada miocárdica, la más habitual es la solución de cardioplejía de composición extracelular tipo St Thomas II (plegysol<sup>®</sup>), similar a la de utilización en cirugía cardíaca convencional. En pacientes pediátricos se suele emplear la solución electrolítica de tipo intracelular, desarrollada por el Dr. Benson Roe (San Francisco), sin calcio<sup>(63)</sup>. Con estas soluciones el tiempo seguro de isquemia fría puede ser de 4 y 6 horas como máximo.

**Preservación del pulmón:** las soluciones más utilizadas en la preservación del pulmón son la solución de Euro-Collins, la Euro-Collins modificada y la solución de UW. La estructura delicada del pulmón lo hace más susceptible al trauma quirúrgico y al daño isquémico y además el pulmón trasplantado debe funcionar inmediatamente después del trasplante. En nuestro hospital se utiliza la solución de Euro-Collins modificada cuya preparación y validación se realiza en el Servicio de Farmacia (Tabla 1). Esta solución de pulmoplejía sigue un modelo intracelular con bajo contenido en sodio, alta concentración de potasio, y altos aportes de fosfatos<sup>(64,65)</sup>.

La preparación se realiza en cabina de flujo laminar siguiendo una técnica aséptica. Se introduce en una bolsa de 3 l de EVA, 6 frascos de 500 ml de sol. de collins<sup>®</sup> a 4°C, 60ml de glucosa al 50%, medidos con una bureta estéril, y finalmente se añade 20ml de sulmetin, IV por el punto de inyección de la bolsa a través de un filtro de 0,22  $\mu$ . Se agita, se expulsa el aire y después se etiqueta la bolsa. Hasta conocer más datos de estabilidad se le da una caducidad de 24h.

## 4.2. Tratamiento inmunosupresor

El trasplante de órganos se ha convertido en una alternativa terapéutica para aquellos pacientes con enfermedades crónicas y agudas en fase terminal. A ello contribuye directamente el desarrollo de nuevos fármacos inmunosupresores y nuevas pautas y protocolos de inmunosupresión. El objetivo es conseguir la aceptación del órgano trasplantado con la mínima alteración posible de la inmunidad del enfermo. Si alcanzamos esto, no tiene sentido una mayor inmunosupresión, que sólo conseguiría provocar infecciones o desarrollar procesos linfoproliferativos.

En nuestro sistema inmune el linfocito T es quien

Tabla 1. Composición de las soluciones de preservación de órganos.

SOLEUROCOLLINS (EC) (TX riñón)		SOL. EUROCOLLINS modificada (TX pulmón)
Glucosa	csp 360 mOsM	34,09 g/l
Fosfatomonopotásico	2,05 g/l	1.996 g/l
Fosfato dipotásico trihidratado	9,7 g/l	9.448 g/l
Cloruro potásico	1,12 g/l	1,09 g/l
Bicarbonato sódico	0,84 g/l	0,818 g/l
Sulfato magnésico heptahidratado	–	0,974 g/l
Agua para inyección	csp 1.000 ml	csp 1.000 ml
Ph = 7,3		Ph = 7,16
Osmolaridad = 360mOsM		Osmolaridad = 360 mOsM
SOL. BELZER (UW) (TX hígado, páncreas, riñón)		
Pentafracción		50g/l
Ac lactobiónico (lactona)		35,83 g/l
Fosfato monopotásico		3,4 g/l
Sulfato magnésico heptahidrato		1,23 g/l
Rafinosa pentahidrato		17,83 g/l
Adenosina		0,136 g/l
Alopurinol		0,136 g/l
Glutation total		0,922 g/l
Hidróxido potásico		5,61 g/l
Hidroxido sódico/CLH		hasta ph=7,4
Penicilina G		200.000 UI
Insulina estandar		40 UI
Dexametasona		16 mg
Agua para inyección		csp 1.000 ml
Ph = 7,4		
Osmolaridad = 320 mOsM		

desarrolla el papel principal de inicio y coordinación de la respuesta inmunitaria responsable del rechazo, por lo que todos los fármacos inmunosupresores disponibles interfieren en un momento u otro con la activación de estas células y la producción de citocinas, la expansión clonal, o ambas a la vez.

Así tenemos en primer lugar, una célula (APC) que reconoce al injerto como extraño y lo presenta como antígeno a un linfocito T. Se produce la primera señal que se transmite a través de la membrana celular gracias a tres cadenas polipeptídicas presentes en

todos los linfocitos maduros, llamadas el complejo CD3, produciéndose la secreción de IL-1 por los macrófagos. El linfocito pasa así, de un estado de reposo (G0) a uno de activación (G1), y como resultado se desatan una serie de reacciones de fosforilación que produce la liberación de calcio del retículo endoplasmático, y la activación de la calcineurina. La calcineurina es una enzima con actividad fosfatasa que se encarga de fosforilar el factor nuclear de las células T activadas (NFAT), esencial para la transcripción del gen que codifica la síntesis de IL-2. La

IL-2 se secreta y el IL-2R se expresa en la superficie celular. Posteriormente la IL-2 secretada se une al IL-2R, y provoca una señal que causa la transición del estado (G1) a la fase (S), se produce la síntesis de ADN y la división celular. El resultado final es proliferación del clon activado de linfocitos T (Figura 3)<sup>(15,66)</sup>.

La aparición en el mercado de nuevos medicamentos inmunosupresores ha modificado el tratamiento inmunosupresor clásico. Conocer el mecanismo de acción de cada uno de ellos es fundamental para elegir la estrategia de tratamiento más adecuada en cada momento (Tabla 2), dado que el grado de inmunosupresión requerido en cada paciente varía considerablemente en función del órgano trasplantado y el tiempo desde el trasplante. Pero además, la combinación de inmunosupresores que actúan en fases secuenciales del ciclo celular, puede permitir con dosis más bajas obtener una eficacia comparable y reducir el riesgo de toxicidad<sup>(15,67)</sup>.

#### 4.2.1. Anticuerpos antilinfocitarios

##### 4.2.1.1. Anticuerpos policlonales

Las globulinas antilinfocíticas (ALG) y antitimocíticas (ATG) equinas (Atgam® y linfoglobulina®) y de conejo (Timoglobulina®) son anticuerpos policlonales obtenidos tras un proceso de purificación del suero de animales hiperinmunizados con timocitos o linfocitos humanos. No se conoce todos los tipos de anticuerpos presentes en estos sueros, y esta variabilidad, aunque siempre dentro de unos límites testados y aceptados, puede explicar la heterogeneidad de la respuesta terapéutica. Un inconveniente, es la diferencia existente en la potencia y toxicidad de un lote a otro. No actúan selectivamente, ya que durante el tratamiento se ofertan una gran cantidad y variedad de anticuerpos que se fijan a diversos determinantes antigénicos de los linfocitos T del paciente provocando la lisis linfocitaria. La mayoría de los efectos adversos se deben a las proteínas heterólogas que se infunden, des-

Figura 3. Nivel de actuación de algunos fármacos inmunosupresores.

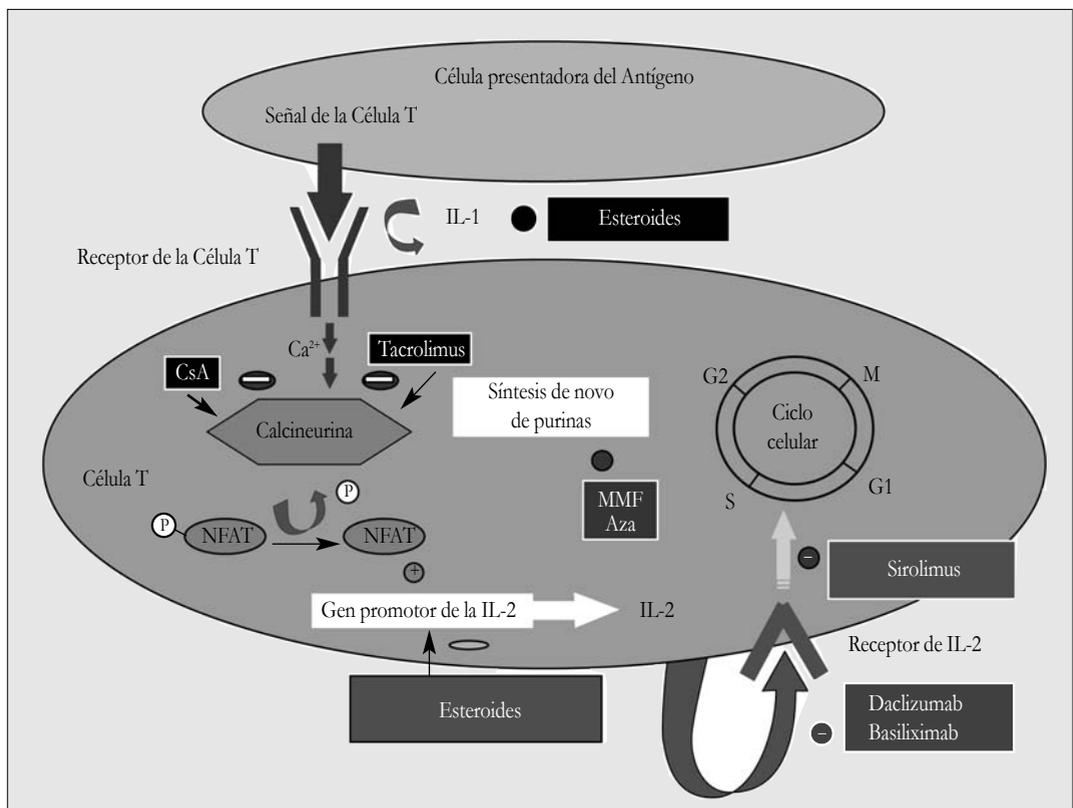


Tabla 2. Clasificación de los inmunosupresores por su mecanismo de acción.

## 1. Inhibición de las señales de activación:

## a) Molécula diana en la membrana

- Anticuerpos policlonales: ALG/ATG (anti múltiples antígenos)
- Anticuerpos monoclonales:
  - anti CD3: OKT3
  - anti IL-2R (o anti CD25): Basiliximab y Daclizumab

## b) Molécula diana en citoplasma/ núcleo:

- Inhibición de IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IF- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ , por bloqueo de los genes productores: corticoides
- Inhibición de la IL-2 (o inhibidores de la calcineurina): Ciclosporina (CsA) y Tacrolimus (TAC).
- Inhibición de la proliferación de linfocitos T por la IL-2 (o inhib. de la TOR): Sirolimus y Everolimus

## 2. Inhibición de las reservas de nucleótidos:

- Inhibición de la síntesis de purinas: Azatioprina (AZA), Micofenolato de mofetil (MMF) y Mizoribina.
- Inhibición de la síntesis de pirimidinas: Brequinar.

tacando la fiebre, los escalofríos, artralgias y en ocasiones reacciones anafilácticas. Un 5-10% de los pacientes desarrollan leucopenia y trombocitopenia<sup>(68)</sup>.

Cuando se comparan los diferentes sueros entre si los resultados son dispares, en parte debido a la heterogeneidad de los productos existentes, pero también por las diferentes pautas concomitantes de inmunosupresión utilizadas. En un reciente estudio prospectivo, aleatorizado y doble ciego, asociados a CsA+AZA+prednisona, la Timoglobulina, resultó más eficaz y segura que el Atgam<sup>®</sup>, presentando menor incidencia y severidad de RA (4% vs 25%), sin incrementar la tasa de procesos linfoproliferativos ni infecciones<sup>(69)</sup>, hecho también probado por otros estudios<sup>(70-72)</sup>.

Los sueros antilinfocitarios tienen una indicación reconocida para la prevención del RA en la terapia de inducción, asociados normalmente a esteroides y CsA, así como AZA o MMF en algunos casos. Se utilizan durante los primeros días postrasplante, no sobrepasando generalmente los 14 días, con la finalidad de proteger al injerto durante esta fase crítica, mientras se consiguen niveles terapéuticos de CsA, sobre todo en pacientes de alto riesgo. También se utilizan en el tratamiento del RA.

#### 4.2.1.2. Anticuerpos monoclonales murinos (Muromonab-CD3 (OKT3))

Fue el primer anticuerpo CD3 aprobado para uso en trasplantes. Se indicó inicialmente para la prevención del RA en la terapia de inducción, el tratamiento de primera línea del RA y para el tratamiento de rescate del RA corticorresistente. Se trata de una Ig2 $\alpha$  dirigida contra la cadena  $\epsilon$  del CD3 del TCR, que bloquea el reconocimiento antigénico conduciendo a una rápida desaparición de los linfocitos T CD3+ de la circulación. Se sintetiza mediante técnicas de hibridación y clonación, obteniendo al final del proceso una solución purificada de inmunoglobulinas homogéneas, con una reactividad contra linfocitos T medible, totalmente constante y reproducible entre lotes.

Una de las reacciones adversas más frecuentes, que suele ocurrir tras las primeras administraciones, es el síndrome de liberación de citocinas, que cursa con fiebre, náuseas, hipotensión y disnea. Más grave aunque menos frecuente, son el edema pulmonar y las reacciones de anafilaxia, también produce un aumento de la incidencia de reacciones oportunistas y procesos linfoproliferativos a los 12 meses de tratamiento. La inmunogenicidad de

la proteína de ratón genera un alto título de anticuerpos antimurinos (HAMA) lo que pueden limitar su utilización posterior en el mismo enfermo<sup>(72)</sup>.

No se han detectado diferencias significativas en los varios ensayos clínicos que comparan la eficacia de la Timoglobulina frente a OKT3, tanto en la inducción como el tratamiento del RA, sin embargo el OKT3 ha dado mayor tasa de infecciones<sup>(73-75)</sup>. Todo ello ha propiciado que su uso en la actualidad sea muy escaso, siendo reservado básicamente para el tratamiento del rechazo agudo severo instaurado refractario a corticoides o cuando estos están contraindicados<sup>(76)</sup>.

#### 4.2.1.3. Anticuerpos monoclonales humanizados y quiméricos

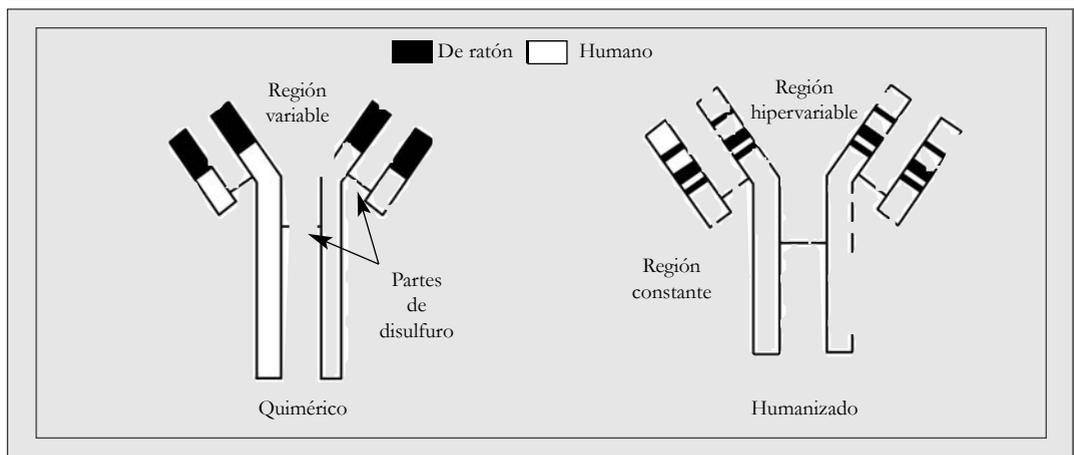
Mediante técnicas de ingeniería genética se han diseñado dos tipos de anticuerpos mixtos, murinos-humanos, que se caracterizan por su menor inmunogenicidad gracias a su reducida porción xenogénica. Basiliximab (Simulect<sup>®</sup>) es un anticuerpo quimérico cuya región constante es humana y la región variable murina, mientras que el Daclizumab (Zenapax<sup>®</sup>) es un anticuerpo humanizado, dado que únicamente las regiones determinantes de complementariedad de la región variable son de origen murino (Figura 4). Son más específicos que OKT3 puesto que actúan sobre la subunidad  $\alpha$  (TaC/CD25) del receptor para la IL-2 (IL-2R), presente únicamente en los linfocitos T activados. Este bloqueo evitará la proliferación y diferenciación de los linfocitos T una vez expuestos al antígeno, paso crucial en el desarrollo del rechazo<sup>(77)</sup>.

Varios ensayos clínicos han probado la eficacia de los inhibidores de la IL-2R (o anticuerpos anti-CD25), añadidos a un régimen inmunosupresor estándar en la inducción. Basiliximab y Daclizumab han reducido la tasa de rechazo frente a placebo a los 6 y 12 meses, aunque sin modificar la supervivencia del injerto ni del paciente al año. Ambos han sido bien tolerados, y tampoco se ha detectado un incremento en la tasa de infecciones ni de procesos linfoproliferativos<sup>(78-79)</sup>. Debido a su baja inmunogenicidad, rara vez producen anticuerpos antixenogénicos. Pero, quizás lo más sorprendente es que se haya conseguido una mejora de los resultados sin incrementar los efectos adversos, lo cual ya es un hecho imprecendente con los fármacos inmunosupresores. Ante la falta de estudios comparativos entre Basiliximab y Daclizumab actualmente se considera que tienen una eficacia similar. Se han indicado para la prevención del RA en trasplante renal de novo junto a un régimen inmunosupresor de CsA y esteroides. Actualmente hay varios ensayos en curso, que valoran la posibilidad de utilizarlos para retrasar o eliminar los inhibidores de la calcineurina en la inducción y también pueden ser un arma excelente para evitar o retirar los corticoides.

#### 4.2.1.4. Otros anticuerpos monoclonales

Se han desarrollado un número considerable de anticuerpos monoclonales dirigidos contra receptores de membrana específicos de las células directamente implicadas en la reacción inmunológica, con la finalidad de conseguir una inmunosupresión más selectiva. Los más relevantes son:

Figura 4. Anticuerpos monoclonales humanizados y quiméricos.



- Humanizados anti-CD3: están en varios estados de desarrollo preclínico, algunos de ellos ya en fase 1, como el HuM291, el HuOKT3gamma1, y el aglycosyl gamma 1 CD3 mAB. Estos anticuerpos son más específicos que los murinos, seguros y menos inmunogénicos, y tienen vidas medias más largas<sup>(80)</sup>.
- Fármacos inductores de tolerancia: como la Inmunotoxina Anti-CD3 ( $\alpha$ -CD3-IT) que ha conseguido buenos resultados en la inducción de tolerancia en monos y cerdos y el Campath-1H, anticuerpo dirigido directamente contra el antígeno de superficie CD52, cuyos resultados preliminares en humanos son esperanzadores (aunque no consiguió la tolerancia completa, permitió que los requerimientos de inmunosupresión en los participantes del estudio permanecieran al mínimo durante 2 semanas, gracias a mantener una baja respuesta inmunitaria<sup>(81)</sup>). Y otros, como los anticuerpos monoclonales contra co-receptores (anti-CD4) o co-estimuladores (anti-CD28, anti-CD80), y el CTLA4Ig, molécula híbrida que se une a CD80 impidiendo su unión al CD28, imprescindible para la activación del linfocito T (Figura 2).

#### 4.2.2. Corticosteroides

Los corticosteroides han sido y son en la actualidad un componente esencial en todos los protocolos de inmunosupresión. Inhiben la producción de IL-1 por los macrófagos y, en consecuencia inhiben también la elaboración de IL-2 por los linfocitos T activados. Además de este efecto inmunosupresor presentan un potente efecto antiinflamatorio. Se utilizan de tres maneras diferentes: a) intraoperatoriamente, a altas dosis, aunque su utilidad es discutible; b) como tratamiento del rechazo, a dosis que oscilan entre 250-1.000 mg diarios durante 3-5 días; c) en asociación a otros fármacos, durante las fases de inducción y mantenimiento.

Se metabolizan en el hígado, mediante glucuronización, excretándose los metabolitos inactivos por orina. Debido al gran número de efectos secundarios, tanto agudos: euforia, depresión, intensificación de hipertensión arterial previa etc., como crónicos: síndrome de cushing, acné, hirsutismo, osteoporosis, cataratas etc.; se está investigando su posible retirada después del trasplante, sobre todo con la introducción de nuevos los inmunosupresores más potentes. Sin embargo este aspecto es todavía controvertido ya que la mayor parte de los estudios apuntan a que su supresión incrementa el riesgo de sufrir un episodio de rechazo agudo<sup>(83)</sup>.

#### 4.2.3. Inhibidores de la calcineurina

##### 4.2.3.1. Ciclosporina (CsA)

La introducción de la CsA en la década de los 80 supuso un gran avance en la supervivencia de la mayoría de los trasplantes, tanto por disminuir la tasa de rechazos, como la de infecciones. La actividad de la CsA depende de su unión a una inmunofilina, la ciclofilina. El complejo fármaco-inmunofilina inhibe la actividad fosfatasa de la calcineurina y produce la supresión de la transcripción génica de varias linfocinas, entre ellas la IL-2, que desempeña un papel esencial en el crecimiento y proliferación de células T citotóxicas. En resumen, es un fármaco específico de los linfocitos T, que bloquea la división calcio-dependiente de las células T entre la fase de reposo (G0) y la fase de activación (G1) del ciclo celular<sup>(15,84)</sup>.

La CsA es un fármaco muy lipofílico, que presenta un perfil farmacocinético complejo caracterizado por una absorción variable e incompleta, amplia distribución, transformación en el hígado por la vía de las isoenzimas 3A4 del citocromo P450 (CYP3A), lo que da lugar a múltiples interacciones (Tabla 3), y lento aclaramiento (CL) (vida media entre 12 y 17 horas)<sup>(85)</sup>. Para evitar los inconvenientes de la CsA convencional, se ha desarrollado la CsA en microemulsión (CsA Neoral), una nueva formulación galénica con una absorción intestinal más regular que no depende tanto de la bilis, y con un perfil farmacocinético más predecible. Las mayores diferencias se observan en trasplante hepático donde la CsA Neoral permite su absorción en pacientes con drenaje externo de bilis, y en situaciones de colestásis. La CsA Neoral, aunque da lugar a concentraciones máximas (C<sub>max</sub>) y áreas bajo la curva (AUC) más elevadas que la formulación convencional (37% vs 23%), produce concentraciones mínimas (C<sub>min</sub>) comparables, por ello la conversión de dosis de una formulación a otra se realizó 1:1. El mejor perfil farmacocinético de la nueva formulación se ha traducido en la optimización del régimen posológico y en la reducción de la incidencia de RA comparado con la formulación inicial (del 25% al 56% inferior)<sup>(86,87)</sup>.

Los efectos secundarios más importantes son la nefrotoxicidad y neurotoxicidad, ambos estrechamente relacionados con su mecanismo de acción, de modo que no es posible diferenciar entre acción y toxicidad (dosis y nivel dependientes). La nefrotoxicidad puede ser aguda y crónica. La primera es reversible, pero la se-

**Tabla 3. Interacciones más destacables de los fármacos inmunosupresores: ciclosporina<sup>1</sup>, tacrolimus<sup>2</sup>, sirolimus<sup>3</sup>.**

AUMENTAN LA CONC: – Inhiben el citocromo P450 – Aumentan la absorción		DISMINUYEN LA CONC: – Estimulan el citocromo P450 – Diminuyen la absorción
	Cardiovasculares:	
Diltiazem <sup>1,2,3</sup> Nicardipino <sup>1,2,3</sup> Verapamilo <sup>1,2,3</sup> Amiodarona <sup>1</sup> Losartan <sup>1</sup>		Ticlopidina <sup>1</sup>
	Antiinfecciosos:	
Eitromicina <sup>1,2,3</sup> Claritromicina <sup>1,3</sup> Troleandomicina <sup>1,3</sup> Ticarcilina <sup>1</sup> Doxiciclina <sup>1</sup> Ketoconazol <sup>1,2,3</sup> Itraconazol <sup>1,2,3</sup> Fluconazol <sup>1,2,3</sup> Miconazol <sup>1</sup> Clotrimazol <sup>2,3</sup> Nelfinavir <sup>2</sup> Cloranfenicol <sup>2</sup> Ritonavir <sup>3</sup> Indinavir <sup>3</sup>		Nafcilina <sup>1</sup> Clotrimoxazol IV <sup>1</sup> Isoniacida <sup>1</sup> Rifampicina <sup>1,2,3</sup> Rifabutina <sup>3</sup>
	Anticonvulsivantes:	
		Fenitoína <sup>1,2,3</sup> Fenobarbital <sup>1,2,3</sup> Carbamazepina <sup>1,2,3</sup> Primidona <sup>1</sup> Ác. valproico <sup>3</sup>
	Inhibidores de la HMG-CoA reductasa:	
Atorvastatina <sup>1</sup> Cerivastatina <sup>1</sup> Lovastatina <sup>1</sup> Simvastatina <sup>1</sup>		
	Otros:	
Anticonceptivos orales <sup>1</sup> Cimetidina <sup>1,2,3</sup> Metoclopramida <sup>1</sup> Cisapride <sup>1,3</sup> Glipicida <sup>1</sup> Bromocriptina <sup>1</sup> Digoxina <sup>1</sup> Colchicina <sup>1</sup> Danazol <sup>1,2,3</sup> Colchicina <sup>1</sup> Tamoxifen <sup>1</sup> Sertralina <sup>1</sup> Bromocriptina <sup>3</sup>		Glucocorticoides <sup>1,2</sup> Probuco <sup>1</sup> Octeotrido <sup>1</sup>

1 = Interacción CsA; 2 = Interacción TAC; 3 = Interacción sirolimus.

gunda no, y se produce a largo plazo tras 6-12 meses de tratamiento. La nefrotoxicidad es su principal limitación, se ha relacionado claramente con la nefropatía crónica del injerto en trasplante renal, pero también se produce en riñones nativos en el caso de otros trasplantes, en corazón, pulmón, hígado etc.; Otros efectos adversos son la hipertensión, hiperlipidemia, intolerancia a la glucosa, hiperplasia gingival, hirsutismo y hepatotoxicidad. Muchos de los efectos adversos de la CsA, son comunes a los de los corticoides y contribuyen al desarrollo y progresión de enfermedad cardiovascular en enfermos trasplantados.

La mayor parte de los protocolos de inmunosupresión hasta la segunda mitad de la década de los 90, incluyen la CsA combinada con corticoides y AZA (triple terapia). Sin embargo, con la introducción de nuevos fármacos tales como el MMF y el sirolimus, se ha incrementado el interés por minimizar los efectos a largo plazo de los inhibidores de la calcineurina, sobre todo la nefropatía crónica del injerto y la hipertensión arterial sistémica, proponiendo diferentes estrategias para reducir o conseguir la retirada total de los mismos<sup>(88)</sup>.

#### 4.3.2.2. Tacrolimus (TAC)

Es un antibiótico macrólido introducido en clínica como alternativa a la CsA. Su mecanismo de acción es similar al de la CsA, inhiben la actividad calcineurina y, especialmente su actividad fosfatasa, solo que se une a una inmunofilina diferente la FK-binding protein (FK-PB)<sup>(15,66,84)</sup>. Su farmacocinética es también muy variable, presentando una absorción errática (F = 25%, rango 4-89%), elevada unión a proteínas plasmáticas (98%) y gran volumen de distribución (5-60l/kg). Se metaboliza en el hígado, vía CYP3A, lo que como la CsA da lugar a múltiples interacciones (Tabla 3). Se han identificado 8 metabolitos, pero a diferencia de la CsA, presentan una escasa concentración en la circulación sistémica, aunque en caso de colestasis o disfunción hepática estos metabolitos pueden acumularse. Su vida media es de 8,7 a 16,6 horas<sup>(89)</sup>.

En cuanto a los efectos adversos, presenta una elevada nefrotoxicidad similar a la CsA, y una mayor incidencia de diabetes mellitus y de efectos neurotóxicos. Pero la incidencia de hipertensión e hiperlipidemia es menor presentando mejor perfil sobre el riesgo cardiovascular. Una ventaja adicional es que presenta menor incidencia de hirsutismo e hiperpla-

sia gingival lo que ha favorecido su utilización en niños.

En cuanto a la eficacia comparada con CsA, en la mayoría de los estudios no se han hallado diferencias significativas<sup>(90,91)</sup>, aunque otros han hallado superioridad del TAC<sup>(92-96)</sup>. De todos modos, aunque los resultados a largo plazo no muestran diferencias entre CsA y TAC, a corto plazo parece que el TAC presenta menos incidencia de RA y riesgo cardiovascular, lo que ha motivado que muchas unidades de trasplantes se inclinen por su utilización. Falta plantearse la posibilidad de que cada fármaco tenga indicaciones específicas en subpoblaciones de pacientes. Por ejemplo, que la CsA sea superior al TAC en pacientes diabéticos, o que el TAC sea más aceptable en pacientes con hipertensión arterial importante. Además de cómo inmunosupresor primario, el TAC también es útil en el tratamiento de RA en pacientes tratados con CsA y en el control del rechazo resistente a esteroides y OKT3, así como en las etapas iniciales del rechazo crónico.

#### 4.2.4. Agentes antiproliferativos

##### 4.2.4.1. Azatioprina (AZA)

Es un análogo de la 6-mercaptopurina. Se introdujo como inmunosupresor en 1963. Asociada a CsA y esteroides es eficaz en la prevención del rechazo pero no tiene efecto sobre el rechazo establecido. La AZA inhibe la producción y metabolismo de las purinas y altera la síntesis y función del ADN, en consecuencia inhibe la proliferación de los linfocitos T y B, pero no es medicamento que actúe específicamente sobre los linfocitos, sino que inhibe la síntesis de todas las células en crecimiento rápido. La dosis se ajusta dependiendo del recuento de leucocitos y plaquetas, y se disminuye en insuficiencia renal. Los efectos adversos más relevantes son la mielosupresión y la hepatotoxicidad<sup>(15,60)</sup>.

##### 4.2.4.2. Micofenolato de mofetilo (MMF)

El MMF, es un éster del ácido micofenólico (MPA), su forma activa. Se introdujo en clínica como alternativa a la AZA. El MPA actúa inhibiendo de forma selectiva reversible y no competitiva la inosina monofosfato deshidrogenasa (IMPDH), enzima que interviene en la síntesis de novo de la guanina, y concretamente en la

conversión de IMP a GMP. Como consecuencia se produce una depleción de los depósitos intracelulares de GMP, inhibición de la síntesis de ADN y, por tanto inhibición de la proliferación de linfocitos T y B<sup>(15,66)</sup>.

Después de su administración oral, se absorbe de forma rápida y completa, hidrolizándose a MPA. Se une notablemente a proteínas plasmáticas (97-98%), principalmente a la albumina. En el hígado el MPA es glucuronizado formando MPAG, metabolito mayoritario e inactivo. La eliminación es un 93% por vía renal en forma de MPAG y un 6% en heces. La presencia de un segundo pico de absorción 6-12 horas del primero parece indicar la existencia de recirculación enterohepática<sup>(97)</sup>. La insuficiencia renal, que disminuye la eliminación de MPAG, la hipoalbuminemia y la hiperbilirrubinemia se asocian a incrementos de la fracción libre (forma activa) y más peligro de toxicidad<sup>(98-100)</sup>.

Entre los efectos adversos destaca la diarrea dosis-limitante y la mielosupresión (fundamentalmente anemia y leucopenia). Los episodios de dolor abdominal, náuseas, vómitos y diarreas obligan a veces a suspender temporalmente el tratamiento.

La sustitución de AZA por MMF ha demostrado ser muy eficaz en la reducción del RA (40,8% con AZA vs 19,8% con MMF 2g/d y 16,5% con MMF 3g/d), aunque no se encontraron diferencias en la supervivencia del injerto al año y a los 3 años de evolución<sup>(101-103)</sup>. Posteriormente, un análisis multivariable<sup>(104)</sup>, sobre los datos registrados de 13.000 pacientes, observó que los pacientes tratados con MMF presentaban no sólo menor incidencia de RA, sino también menor riesgo de pérdida del injerto (el 83% del riesgo con AZA). Ojo et al.<sup>(105)</sup>, también observaron que, la utilización de MMF tiene un efecto beneficioso en la prevención de la nefropatía crónica del injerto, que en parte es independiente de la reducción de la tasa de RA. La utilización de AZA, como terapia de primera línea, es en la actualidad anecdótica.

Recientemente ha aparecido una formulación entérica de MMF (EC-MPS), diseñada para reducir los efectos adversos sobre el intestino mientras se libera el MPA y permitir una absorción más controlada. Como resultado los niveles terapéuticos de MPA se alcanzan más rápidamente y se mantienen durante periodos más largos. Dos importantes ensayos clínicos (ERL B301 y el ERL B302) comparan la eficacia y tolerabilidad del EC-MPS vs MMF. En ambos estudios el EC-MPS consigue una exposición sistémica al MPA más alta, aunque no por esto mayor eficacia. Como los efectos adversos también son similares, por el momento no hay motivo suficien-

te para cambiar a los pacientes estables a esta nueva formulación<sup>(106)</sup>.

#### 4.2.4.3. Sirolimus (Rapamicina) (SRL)

El sirolimus es el inmunosupresor de incorporación más reciente. Fue aprobado por la FDA en 1999 y en España en el 2001, con la única indicación de profilaxis del rechazo en trasplante renal de adultos. Su mecanismo de acción es diferente al resto de los inmunosupresores. Actúa interfiriendo la transducción de la señal intracelular provocada por la unión de la IL-2 a su receptor IL-2R. En el citoplasma, el sirolimus se une a una inmunofilina de la misma familia que el TAC (FK-PB), pero inhibe una vía de señalización independiente del calcio, la inhibición de dos enzimas específicas: TOR1 y TOR2 (targets of rapamycin) que impiden la transición del ciclo celular de la fase G1 a S, inhibiendo la proliferación de linfocitos T. El mayor interés de este fármaco es que también inhibe la proliferación de células no hematopoyéticas, incluyendo células musculares lisas vasculares (lo que podría ser una potencial ventaja para la prevención del rechazo crónico), y que también parece tener propiedades anticancerígenas<sup>(107)</sup>.

El sirolimus es una sustancia muy liposoluble. Presenta una biodisponibilidad baja y variable (media 14%), una elevada unión a hematies (95%), y un alto volumen de distribución. Se metaboliza en el hígado mediante el citocromo P450, por lo que probablemente interactúe con los mismos medicamentos que la CsA y el TAC (Tabla 3). Pero lo más característico es que presenta una vida media muy larga de 35-95 horas (media 62 horas), que permite su administración una vez al día<sup>(108)</sup>.

Los principales efectos adversos del sirolimus son trombocitopenia, leucopenia, anemia, hiperlipidemia, linfocite, artralgia e hipokalemia. La trombocitopenia y leucopenia ocurren al inicio del tratamiento, mientras que la elevación de los niveles de colesterol y triglicéridos se produce a partir de los tres meses<sup>(94)</sup>. Pero lo más interesante es que no parece tener nefrotoxicidad por sí mismo, aunque se ha sugerido que el sirolimus puede potenciar la nefrotoxicidad de la CsA. La tendencia actual es a reducir la dosis de CsA si los pacientes son tratados con sirolimus<sup>(110)</sup>.

La experiencia clínica es escasa. Se cree que tiene un efecto sinérgico con la CsA, y aditivo con el TAC (aunque se ha postulado, que en ciertas condiciones pudieran ser antagonicos por competir por el mismo re-

ceptor). La mayoría de los ensayos multicéntricos, lo combinan con corticoides y CsA. Así, el Rapamune U.S. Study Group<sup>(109)</sup>, en 719 pacientes, demuestra que el sirolimus reduce significativamente la incidencia y severidad del RA comparado con AZA (14,6% vs 31,1%), con unos índices de supervivencia del injerto y del paciente, y de incidencia de infección y neoplasias, similares a los 12 meses de seguimiento. Resultados parecidos se extraen del Rapamune Global Study Group<sup>(111)</sup> (incidencia de RA 19,2% con sirolimus vs 41,5% con placebo). Posteriormente, se han estudiado otras posibles combinaciones de inmunosupresores, como sirolimus + MMF y sirolimus + AZA, en ausencia de CsA. La retirada de CsA no modificó la supervivencia del injerto y del paciente, pero si se asoció a una mejoría significativa de la función renal e hipertensión, lo que parece indicar que la CsA puede ser retirada con seguridad cuando el sirolimus se usa como inmunosupresor primario<sup>(112-114)</sup>.

En resumen, el sirolimus es un nuevo inmunosupresor para el trasplante renal. Aunque originariamente es un fármaco para ser usado en combinación con CsA, nuevos regímenes se están evaluando situando al sirolimus como inmunosupresor primario en ausencia de CsA, o bien junto con un inhibidor de la calcineurina (CsA o TAC) para retirar los corticoides.

Recientemente, ha aparecido un análogo de la rapamicina, el Everolimus o SDZ-RAD (certican), con igual mecanismo de acción, pero con una vida media más corta (16-19 horas vs 62 horas), que le permite alcanzar antes el estado de equilibrio, y similar perfil de efectos adversos<sup>(107)</sup>. Hasta el momento no existen estudios que comparen su eficacia con el sirolimus, aunque si con otros fármacos. Tiene una eficacia equivalente al MMF en la prevención del RA, pero aumenta el riesgo de nefrotoxicidad e hiperlipemia causada por CsA, comparado con MMF<sup>(115)</sup>.

#### 4.2.5. Otros inmunosupresores

##### 4.2.5.1. Mizoribina

Está comercializada únicamente en Japón. Su mecanismo de acción es el bloqueo de la síntesis de novo de las purinas, por inhibición de la Inosin-monofosfato deshidrogenasa (IMPDH). En combinación con CsA y esteroides es más eficaz que la AZA en la prevención del rechazo en trasplante renal y con menos efectos mielo y hepatotóxicos. Sin embargo, un estudio poste-

rior demostró que los pacientes con mizoribina presentan más rechazos corticorresistente y más precozmente<sup>(82)</sup>. Con la comercialización de nuevos inhibidores de la síntesis de purinas, como el MMF, es poco probable que el uso de este fármaco se generalice.

##### 4.2.5.2. Brequinar sódico

Este fármaco inhibe de forma no competitiva una enzima mitocondrial que interviene en la síntesis de novo de las pirimidinas. Sus efectos adversos más frecuentes son mielosupresión y toxicidad gastrointestinal. En estudios experimentales, muestra sinérgismo con CsA y sirolimus, y efecto aditivo con MMF. Sin embargo su futuro es incierto, ya que los ensayos clínicos fase II han revelado un índice terapéutico muy estrecho<sup>(82)</sup>.

##### 4.2.5.3. Deoxispergualina (Gusperimus)

Presenta un fuerte sinérgismo con CsA y TAC, pero el mecanismo intracelular exacto por el cual inhibe la respuesta inmune se desconoce. Los efectos adversos más frecuentes son mielotoxicidad y trastornos gastrointestinales. Parece ser efectiva en modelos de xenotrasplante. Aunque la experiencia clínica es escasa, combinada con metilprednisolona, revierte el rechazo agudo renal en el 80-90% de los casos, y el rechazo refractario en trasplante renal y hepático. Solo está disponible por vía IV, por lo que su futura aplicación podría ser en terapias cortas de inducción y en el tratamiento del RA<sup>(82)</sup>.

Protocolos de inmunosupresión. Estado actual

Actualmente todos los protocolos de inmunosupresión en trasplante consisten en una terapia de inicial, terapia de inducción y una terapia de mantenimiento para prevenir el RA (Profilaxis del rechazo), y una terapia más corta y agresiva para tratar los episodios de rechazo agudo establecidos (tratamiento del rechazo).

Profilaxis del rechazo

1. Terapia de inducción: consiste en niveles altos de inmunosupresión, iniciados en el periodo inmediatamente posterior al trasplante, cuando el riesgo de rechazo es mayor. La mayoría se basan en los mismos fármacos que usamos en la etapa de mantenimiento pero a dosis más altas (Tabla 4). Pero a veces, bien sea por retrasar la introducción de la CsA y TAC (ne-

Tabla 4. Inmunosupresores utilizados en la prevención y tratamiento del rechazo agudo (RA).

Fármaco	Presentación	Dosis habitual	Monitorización
Metilprednisolona Prednisona	Solumomcrin® Prednisona®	I = 0,5-1 g/d IV M = Pauta descendente de 200 mg a 40 mg en 5 días y luego hasta 20 mg/d OR. T = 0,5-1 g/d IV	No
Azatioprina (AZA)	Imurel® 100 mg/amp 50 mg/tab	I = 3-5 mg/kg/d OR o IV M = 1-3 mg/kg/d OR, se ajusta por recuento de leucocitos y plaquetas En insuficiencia renal Dosis max = 1,5 mg/kg/d	No
Ciclosporina (CsA)	Sandimmun neoral® 50 mg/ml y 250/5 ml amp 25, 50,1 00 mg/cápsulas 100 mg/ml sol oral	I = 2-6 mg/kg/d IV o 12-15 mg/kg/d OR cada 12 h M = 5-10 mg/kg/d OR cada 12 h, ajuste posterior por conc en sangre.	Cmin = 150-350, variable según el tipo de trasplante y tiempo posttrasplante.
Tacrolimus (TAC)	Prograf® 5 mg/ml amp 1 y 5 mg/cápsulas	I = 0,03-0,05 mg/kg/d IV o 0,15-0,3 mg/kg/d OR cada 12 h M = 0,15-0,3 mg/kg/d OR, cada 12 h, ajuste posterior por conc en sangre.	Cmin = 10-20 ng/ml (<1mes) Cmin = 5-15 ng/ml (>1 mes)
Micofenolato de mofetilo (MMF)	Cellcept® 500 mg/comp 250 mg/cápsulas	I = 1-3 g/d OR cada 12 h M = 1-3 g/d OR cada 12 h	Cmin = 2,5-4,5 µg/ml (EMIT) AUC = 30-60 µg/h/ml (HPLC)
Sirolimus (SRL)	Rapamune® 1 mg/ml sol. Oral	I = 6 mg/d OR, 1 dosis M = 2 mg/d OR (cada 24 h, 4 h. después de la dosis de CsA)	Cmin = 4-8 ng/ml con CsA Cmin = 12-20 ng/ml sin CsA
Ac. Policlonales	Atgam® 250 mg/amp Timoglobulina® 25 mg/vial	I = 15 mg/kg/d IV durante 14 días + 14 días c/48 h (21 dosis) T = 10-15 mg/kg/d IV durante 14 días, si precisa continuar 14 días c/48 h I = 1,25-2,5 mg/kg/d IV durante 1-3 semanas T = 2,5-5 mg/kg/d IV hasta mejoría de la sintomatología	No No
Muromonab-CD3 (OKT3)	Orthoclone® 5 mg/amp	I = 5 mg/d, IV durante 5-14 días T = 5 mg/d IV durante 10-14 días	No
Basiliximab	Simulect® 20 mg/5 ml vial	I = 2 dosis de 20 mg IV: la 1.º dosis en las dos horas previas al trasplante y la 2.º dosis 4 días después.	No
Daclizumab	Zenapax® 25 mg/5 ml amp	I = 5 dosis de 1 mg/kg IV: la 1.º dosis en las 24 h previas al trasplante y el resto cada 14 días.	No

I = Inducción, M = Mantenimiento, T = Tratamiento del RA

frotóxicos) o por tratarse de pacientes de alto riesgo (retrasplante, embarazos previos, múltiples transfusiones, donante añoso, tiempos de isquemia fría prolongados) la terapia de inducción incluye la administración de anticuerpos monoclonales o policlonales. La situación actual es que la utilización de anticuerpos antilinfocitarios (ATG o OKT3) está generalizada en trasplante cardíaco, se reserva para situaciones específicas en trasplante renal y es excepcional en trasplante hepático. Basiliximab y daclizumab se empiezan a incluir en algunas terapias de inducción pues mejoran los resultados y son muy bien tolerados<sup>(23)</sup>.

2. Terapia de mantenimiento: una vez superadas las primeras semanas disminuye la inmunorreactividad, pudiéndose disminuir las dosis de inmunosupresión a lo mínimo necesario. Estos regímenes se basan en la combinación de varios fármacos para poder minimizar los efectos adversos. El protocolo clásico es corticoides + inhibidor de la calcineurina (CsA o TAC) + agente antiproliferativo (AZA o MMF o sirolimus, este último solo indicado en trasplante renal).

Los regímenes de inmunosupresión varían de un centro a otro y difieren también de acuerdo con el órgano trasplantado. Basándonos en los informes más recientes del United Network for Organ Sharing (UNOS) que describen la inmunosupresión inicial en pacientes trasplantados: el TAC es el fármaco preferido en trasplante de hígado, páncreas y páncreas-riñón, mientras que CsA y TAC participan de forma equitativa como terapia inicial en trasplante renal (TAC 49% vs CsA 44%). En trasplante cardíaco, la CsA es el fármaco predominante, mientras que el número de centros con trasplante de pulmón que utilizan una inmunosupresión inicial basada en el TAC se ha incrementado recientemente a un 44%. El MMF ha reemplazado a la AZA en la mayoría de los programas de trasplantes, lo cual permite disminuir más la dosis de CsA. La utilización de MMF está prácticamente generalizada en trasplante renal y cardíaco, reservándose en trasplante hepático para situaciones de nefrotóxicidad. Nuevas combinaciones (por ejemplo TAC+MMF, TAC+sirolimus, y MMF+ sirolimus) están en investigación para buscar regímenes que sean más efectivos que los de uso actual.

#### Tratamiento del rechazo

Una vez confirmado el rechazo por biopsia, la terapia estándar se basa en la administración IV de dosis al-

tas de metilprednisolona, entre 0,5-1g, durante 3 días. En caso de rechazos resistentes a esteroides, se ajustan las dosis de CsA o TAC en el rango alto. Hace algunos años cuando sólo se disponía de CsA, se indicaba tratamiento con OKT3 o ATG/ALG. No obstante la tendencia actual es, evitar las inmunoglobulinas antilinfocitarias y pasar precozmente a TAC si el paciente estaba recibiendo CsA, o adicionar MMF cuando estaba recibiendo TAC, y únicamente en caso de rechazo incontrolado con estas mediadas se utiliza el OKT3. Se ha observado que la adición de MMF a los corticoides en el momento del rechazo reduce el número de pacientes que se muestra resistente a esteroides<sup>(23)</sup>.

### 4.3. Complicaciones del trasplante a corto plazo

#### 4.3.1. Infecciones víricas. Profilaxis y tratamiento

Las infecciones víricas son la causa más frecuente de infección en los pacientes trasplantados, siendo la infección por citomegalovirus (CMV) la más común. Un 60% de los enfermos trasplantados sufren infección por CMV y entre 8 y 46% desarrollan la enfermedad. Además de su morbilidad per se, la infección por CMV produce un estado de inmunosupresión transitoria que favorece la predisposición a infecciones oportunistas y el desarrollo de neoplasias, y se asocia con el rechazo del injerto tanto agudo como crónico.

La alta incidencia de esta infección y sus repercusiones hacen obligado el intentar evitarla. Según un reciente meta-análisis<sup>(116)</sup>, la profilaxis del CMV se asocia a menor incidencia de enfermedad por CMV, en trasplantes de órganos sólidos; sin embargo, ningún régimen ha demostrado totalmente su eficacia, sobre todo en pacientes de alto riesgo (donante seropositivo/receptor seronegativo). El Ganciclovir IV administrado durante 4 semanas puede ser beneficioso en trasplante hepático y cardíaco en grupos de no alto riesgo, y probablemente también en trasplante renal de alto riesgo (seronegativos)<sup>(117-119)</sup>. Una alternativa para mejorar la utilidad profiláctica del fármaco es administrarlo de forma preventiva, es decir, sólo en pacientes que den positivo en los test PCR (Polimerase Change reaction) para ADN o ARN, los test de antigenemia y los cultivos virales. No está claro que

los efectos a largo plazo de la terapia preemptiva sean equivalentes a los de la profilaxis generalizada, ya que ésta se ha introducido más recientemente<sup>(120,121)</sup>. La formulación oral de Ganciclovir se está evaluando en trasplantes, pero la experiencia en trasplante hepático es alentadora. El Aciclovir solo puede usarse como primer agente en trasplante renal en grupos de no alto riesgo, y el Valaciclovir, es un profármaco del aciclovir, con mejor biodisponibilidad pero con similar espectro. El uso de Inmunoglobulinas IV, sobre todo la gammaglobulina hiperinmune respecto a la inespecífica, ha mostrado su efecto beneficioso en la profilaxis del CMV en trasplante de órganos sólidos y TMO, según un reciente meta-análisis. Pero su coste elevado y el hecho de no compararse con los antivirales hace que su uso no se haya recomendado universalmente.

El tratamiento de la infección por CMV se realiza con Ganciclovir IV. Pero usado como fármaco único, no es eficaz en el tratamiento de la neumonitis intersticial o de la infección del tracto digestivo en pacientes trasplantados de órganos sólidos y TMO. Por ello, se suele combinar con Inmunoglobulinas IV. El Foscarnet se reserva para los casos de intolerancia al ganciclovir o de resistencia, debido a su nefrotoxicidad, y el Cidofovir, en caso de resistencia al foscarnet, al ser aún más nefrotóxico<sup>(122)</sup>.

Respecto a otras infecciones víricas, el Aciclovir es el tratamiento de elección en infecciones por herpes simple, y en caso de resistencia, el foscarnet es la alternativa. El uso de nuevos agentes como el Fanciclovir está en evaluación. No existe tratamiento efectivo para la infección por VHB. La inmunización pasiva con Gammaglobulina hiperinmune frente a VHB parece reducir la tasa de recurrencia cuando se usa durante más de 6 meses postrasplante. Los resultados con Interferón son desalentadores. La vacuna frente al VHB debe administrarse a pacientes sin exposición previa al virus. En cuanto al VHC, no hay tratamiento recomendable. El uso de Interferón  $\alpha$  normaliza el patrón bioquímico pero no modifica la progresión histológica. La terapia combinada interferón  $\alpha$  + Ribavirina erradica el VHC en cerca de un 20% de los supervivientes a largo plazo de un trasplante hepático, sin embargo esta estrategia tiene riesgo de serias complicaciones<sup>(123,124)</sup>.

#### 4.3.2. Infecciones no víricas.

##### *Profilaxis y tratamiento*

Dentro de las complicaciones infecciosas las producidas por hongos, aunque menos frecuentes que las causadas por virus o bacterias, son las que presentan mayor mortalidad, siendo la causa principal de muerte por infección en el enfermo trasplantado. Los hongos de los géneros *Candida* y *Aspergillus* sps. son responsables del 80-94% de las infecciones fúngicas. Las infecciones por *Aspergillus* sp. predominan en los receptores de trasplante cardiaco. Esta proporción se invierte en el resto de los trasplantes, disminuyendo progresivamente en trasplante de pulmón, hígado hasta los trasplantes de páncreas y riñón donde las infecciones por *Candida* sp. son responsables del 90-95% de las infecciones fúngicas.

En general, la frecuencia y mortalidad de las infecciones fúngicas, hace que la mayor parte de los centros utilicen alguna profilaxis, con la probable excepción del trasplante renal. Las excelentes propiedades farmacocinéticas y la escasez de efectos secundarios ha popularizado el uso de Fluconazol en las primeras semanas postrasplante, sobre todo en trasplante hepático y pancreático. Pero son poco los estudios que han evaluado la eficacia real de esta profilaxis. Algunos grupos, han comunicado su experiencia favorable con Itracozazol en la prevención de la aspergilosis en trasplante pulmonar y cardiaco. La Nistatina, el Clotrimazol, y la Anfotericina B oral, han demostrado ser útiles en la erradicación de *Candida* del tubo digestivo y la anfotericina B en aerosol en la prevención de las aspergilosis en trasplantes de pulmón<sup>(125)</sup>.

Es importante señalar que el factor que más influye en el pronóstico de esta infección es la precocidad en la instauración del tratamiento. Durante mucho tiempo el único fármaco disponible ha sido la Anfotericina B IV. Su ventaja es, su amplio espectro que incluye, *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Histoplasma*, etc. Su mayor inconveniente, su elevada toxicidad renal y hematológica que limita su utilización en muchos pacientes trasplantados. Para disminuir su toxicidad aparecieron las formulaciones lipídicas. Dos son las comercializadas en España: la anfotericina encapsulada en liposomas (*Ambisome*<sup>®</sup>) y la anfotericina disuelta en un complejo lipídico en forma de cintas (*Abelcet*<sup>®</sup>). No existen hasta hoy estudios comparativos entre ellas, pero la experiencia en enfermos trasplantados es mayor con *Ambisome*<sup>®</sup><sup>(126)</sup>. El Fluconazol, es una alternativa razonable a la anfotericina B en el tratamiento de infecciones por *Candida* y

*Cryptococcus Sps.*, en pacientes trasplantados siempre que la situación de estos no sea de extrema gravedad. Su mayor ventaja es, su tolerancia y la posible administración oral e IV, y su mayor problema, la posibilidad de selección de levaduras resistentes, incluyendo cepas de *Candida albicans*. El Itraconazol, tiene la ventaja sobre Fluconazol de su mayor espectro de actividad que incluye *Aspergillus*, pero sólo existe vía oral y su experiencia en trasplantes es escasa. Algunos grupos lo utilizan de forma secuencial tras la administración de anfotericina B en pacientes estables con aspergilosis localizada. El uso de 5-fluorocitosina está reservado al tratamiento combinado con anfotericina B de la meningitis criptocócica en pacientes inmunodeprimidos, dada la escasa penetración de la anfotericina B en el sistema nervioso central y que la 5-fluorocitosina en monoterapia genera rápidamente resistencia. No existen datos sobre la eficacia de otros antifúngicos en pacientes trasplantados pero nuevos antifúngicos, como los triazoles parenterales con actividad frente a *Aspergillus*, Voriconazol, Ravuconazol, Posaconazol, y la nueva clase de agentes antifúngicos echinocandins: Caspofungina y Anidalfungina, puedan ofrecer alternativas terapéuticas<sup>(127)</sup>.

Entre las infecciones protozoarias las más importantes son los procesos desencadenados por *Toxoplasma gondii* y *Pneumocystis carinii* (en la actualidad se considera que es un hongo). La profilaxis de la toxoplasmosis se hace con Pirimetamina durante un mínimo de 2 meses, y el tratamiento con Pirimetamina y Sulfadiacina. En el caso de la neumonía por *Pneumocystis carinii*, tanto la profilaxis como el tratamiento se realiza con Cotrimoxazol, ya que es menos tóxico que la Pentamidina, que se utilizó en un principio.

#### 4.4. Complicaciones del trasplante a largo plazo: tratamiento

Las dos principales complicaciones que presenta el enfermo trasplantado a medio y largo plazo, son la hiperlipemia, que favorece tanto la enfermedad cardiovascular como el rechazo crónico, y la nefrotóxicidad.

La hiperlipemia postrasplante afecta a la mayoría de los pacientes trasplantados de riñón y corazón y gran proporción de los de hígado. La causa más importante es el tratamiento inmunosupresor. Las opciones terapéuticas son dos: reducir el uso de inmunosupresores prolipemiantes (como CsA, corticoides y sirolimus) y

utilizar fármacos hipolipemiantes, donde los inhibidores de la HMG-CoA reductasa son los más indicados. Recientes publicaciones sugieren que el uso de estatinas en el postrasplante inmediato reduce la incidencia de rechazo agudo y crónico<sup>(40,128)</sup>. El mayor inconveniente es el desarrollo de miositis o rhabdomiolisis, que parece ser mayor cuando se emplean las estatinas más lipofílicas (atorvastatina, cerivastatina, lovastatina, y simvastatina), frente a las más hidrofóbicas (pravastatina y fluvastatina) que son el tratamiento de elección. Además a diferencia de las estatinas lipofílicas, la pravastatina y fluvastatina no se metabolizan por el citocromo P450 y tienen menos interacciones con CsA y TAC<sup>(129)</sup>.

La nefrototoxicidad crónica es un proceso patológico grave, progresivo e irreversible que afecta a todos los tipos de trasplantes, y cuya causa fundamental es el uso de inhibidores de la calcineurina y otros fármacos nefrotóxicos. El manejo clínico se basa en la reducción de los niveles de inhibidores de la calcineurina, con pautas alternativas de inmunosupresión y en el control de la hipertensión arterial. En el tratamiento de esta última son muy importantes los calcioantagonistas y los inhibidores de la angiotensina II por su acción protectora cardiorrenal.

## 5 ATENCIÓN FARMACÉUTICA Y COOPERACIÓN CLÍNICA

### 5.1. Monitorización farmacocinética: nuevas estrategias

#### 5.1.1. Ciclosporina (CsA)

La monitorización de la CsA para optimizar la dosis, ha sido un tema que ha despertado gran interés y controversia. En el último consenso internacional sobre monitorización de CsA, celebrado en Lake Louise en 1995<sup>(130)</sup> se tomaron los siguientes acuerdos: a) determinar la concentración mínima (C<sub>min</sub>), realizando la extracción dentro de la hora anterior de la dosis matinal; b) realizar la determinación en sangre total, utilizando EDTA como anticoagulante; c) utilizar un método de cuantificación específico.

Pero, la C<sub>min</sub> no es un buen indicador de la exposición total al fármaco, como lo demuestra su baja correlación con el AUC (rango de r<sup>2</sup> = 0,1-0,4) y los últimos estudios multicéntricos coinciden en señalar el AUC como un factor determinante en la evolución del injerto<sup>(131,132)</sup>. En efecto, valores bajos de AUC se han identi-

ficado como el predictor más sensible de la aparición de rechazo agudo y pérdida del injerto a un año<sup>(133)</sup>. Además la variabilidad intrapaciente de AUC parece contribuir en un 27% al riesgo total de rechazo crónico<sup>(134,135)</sup>. Por todo ello, la adaptación de la pauta de monitorización de la CsA a los conocimientos actuales es una necesidad que hay que plantearse<sup>(136,137)</sup>.

La monitorización por el AUC, plantea dos problemas. El primero es su difícil aplicación en la práctica diaria, ya que requiere un elevado número de extracciones y tiene un coste analítico elevado. Esto se ha intentado solucionar con el desarrollo de estrategias limitadas de muestreo, que con sólo 2 ó 3 datos de concentración estiman el AUC<sup>(131,132,137-139)</sup>, muy aplicadas en pediatría<sup>(140-145)</sup>. Y el segundo problema es la falta de definición de los márgenes terapéuticos de AUC por tipo de trasplante y etapa postrasplante.

En trasplante renal<sup>(144)</sup>, los primeros datos provienen de un estudio retrospectivo realizado en 156 pacientes donde se observó que los pacientes que habían alcanzado un AUC<sub>0-12</sub> en el rango: 9.500-11.500 ng.h/ml o un AUC<sub>0-4</sub> en el rango: 4.400-5.500 ng.h/ml la primera semana postrasplante, tenían menor incidencia de RA (13% y 7%, respectivamente), sin más riesgo de nefrotoxicidad, mientras que la C<sub>min</sub> no era diferente en los

pacientes con o sin RA. De modo que, el AUC<sub>0-4</sub> parecía ser incluso mejor predictor de los eventos clínicos que el AUC<sub>0-12</sub><sup>(141,145)</sup>. Esto se confirmó en un estudio prospectivo posterior en 98 pacientes, donde los que se monitorizaban por el AUC<sub>0-4</sub> (rango: 4.400-5.500 ng.h/ml) frente a C<sub>min</sub>, tenían menor incidencia de RA (7% vs 37%) y mejor función renal (6% vs 33%)<sup>(146)</sup>. Posteriormente, se observó que la concentración a las 2 h (C<sub>2</sub>) era el mejor predictor del AUC<sub>0-4</sub> ( $r^2 = 0,7-0,86$ ), simplificando aún más la estrategia de monitorización. Parece ser que los pacientes que alcanzan un C<sub>2</sub>>1500 ng/m el día 7 postrasplante tienen menos incidencia de RA (0% vs 58%; P<0,0001)<sup>(147,148)</sup>.

En trasplante hepático, los primeros datos provienen del grupo canadiense<sup>(149)</sup>, que observaron que los pacientes que alcanzaban una C<sub>2</sub> de aproximadamente 1.000 ng/ml en los primeros 5 meses postrasplante tenían menor incidencia de RA. Un estudio prospectivo posterior con 306 pacientes, demostró que monitorizar por el C<sub>2</sub> en lugar de por la C<sub>min</sub>, reducía la incidencia de rechazo un 25%<sup>(150,151)</sup>. Hay pocos datos sobre el AUC, ya que los estudios en trasplante hepático se realizaron directamente con el C<sub>2</sub>.

Se proponen así nuevos rangos terapéuticos de C<sub>2</sub> en trasplante de riñón e hígado<sup>(144)</sup> (Tabla 5):

Tabla 5. Guía de rangos terapéuticos de C<sub>2</sub>.

Tipo de trasplante	Tiempo desde el trasplante	Rango terapéutico (ng/ml)
Hígado	0-3 meses	1.000
	3-6 meses	800
	>6 meses	600
Riñón	1º mes	1.700
	2º mes	1.500
	3º mes	1.300
	4-6 meses	1.100
	7-12 meses	900
	>12 meses	800

Estas concentraciones (con un rango  $\pm 20\%$ ) deben alcanzarse a los 3-5 días postrasplante

No es necesario realizar conversión de los valores de C<sub>2</sub> entre los siguientes métodos analíticos: mFPIA (TDx), mRIA, EMIT, mFPIA (Axsym) y CEDIA.

Un tiempo de muestreo con una desviación de  $\pm 15$  minutos es aceptable.

La monitorización por el C2 se justifica, desde el punto de vista farmacocinético, porque es la concentración individual que mejor define la absorción de CsA (zona de máxima variabilidad farmacocinética) y, desde el punto de vista farmacodinámico, porque coincide con el mayor grado de inhibición de la calcineurina y por tanto mayor efecto inmunosupresor<sup>(144,151,152)</sup>.

En trasplante cardíaco<sup>(153-156)</sup>, también se demuestra la superioridad del AUC, pero hay poca información sobre rangos. Un estudio realizado en 114 pacientes estables (>1 año postrasplante), demostró que la monitorización por el C2 (rango: 300-600 ng/ml, ensayo EMIT), reduce la incidencia y severidad de RA y la incidencia de disfunción renal. En la actualidad hay un estudio multicéntrico en marcha para definir los rangos terapéuticos de C2 tanto en el postrasplante inmediato, como en la fase de mantenimiento posterior.

Algunos autores han señalado, la necesidad de monitorizar en paralelo el AUC y la Cmin, sobre todo en la población pediátrica, para evitar que pacientes que tengan un rápido CL, puedan tener niveles de Cmin muy por debajo del umbral de inmunosupresión<sup>(157)</sup>.

En conclusión, un solo punto de muestreo a las dos horas post-dosis, parece representar la mejor estrategia de monitorización de CsA, en pacientes trasplantados de hígado, riñón, y corazón. Aunque los rangos propuestos deben ser adecuadamente validados para su aceptación definitiva y definidos en otras poblaciones de trasplantes y en otras situaciones. Por el momento la Cmin se mantiene como estándar en el manejo del paciente trasplantado.

### 5.1.2. Tacrolimus (TAC)

Al igual que la CsA, la monitorización de las concentraciones sanguíneas resulta imprescindible para la elección de una terapia inmunosupresora más eficaz y menos tóxica. Los motivos son la elevada variabilidad farmacocinética, que se hace muy notable en el proceso de absorción, y su estrecho índice terapéutico. Los primeros acuerdos sobre la monitorización del TAC se establecieron en la reunión de Lake Louise en 1995<sup>(158)</sup>. Las condiciones más idóneas son: 1) Realizar la determinación en sangre total, utilizando EDTA como anticoagulante. 2) Determinar la concentración mínima (Cmin), pre-dosis matinal. 3) Utilizar un método específico. El método de referencia es la cromatografía líquida (HPLC), aunque en la práctica se suelen usar los ensayo MEIA y ELISA no específicos. Recientemente

se ha comercializado un nuevo método para la determinación de TAC por enzimoimmunoensayo: MIT (Dade Behring).

La determinación de la Cmin supone la forma más sencilla y habitual de monitorización. A diferencia de la CsA, existe una buena correlación entre Cmin y AUC ( $r = 0,92-0,99$ )<sup>(144,159)</sup>. Pero el problema está en que la correlación de la Cmin con los eventos clínicos no está tan bien establecida. En trasplante hepático, se ha observado que la monitorización por la Cmin es muy útil para minimizar la nefro y neurotoxicidad, pero tiene una utilidad limitada para evitar el RA<sup>(160,161)</sup>. En trasplante renal, la correlación de la Cmin con la eficacia es un poco mejor<sup>(163)</sup>, aunque es mayor también con la toxicidad. Se propone como rango terapéutico de Cmin: 10-20 ng/ml al principio, y 5-15 ng/ml a partir del año.

Aunque todavía no existe suficiente experiencia clínica, es posible a que de una forma similar a lo observado con CsA, la determinación de C2 o un AUC abreviada pueda ser de utilidad para optimizar la monitorización del tacrolimus. Así nos encontramos también algunas estrategias limitadas de muestreo<sup>(163-165)</sup>. Y, en cuanto a los márgenes terapéuticos de AUC, se ha sugerido que para evitar una incidencia alta de efectos adversos y asegurar una adecuada inmunosupresión, puede ser aconsejable un AUC<sub>0-12</sub> de 100 ng.h/ml, rango que algunos grupos están utilizando en pediatría, para minimizar la inmunosupresión y evitar los síndromes linfoproliferativos<sup>(166)</sup>.

Sin embargo, este valor puede ser insuficiente en situaciones que requieran mayor inmunosupresión. En un reciente estudio realizado por nuestro grupo<sup>(167)</sup>, en pacientes trasplantados de corazón ( $n = 14$ , <6 meses postrasplante), se observó que el valor medio de AUC cuando la Cmin estaba en rango terapéutico: 10-20 ng/ml era de 251,  $15 \pm 52$ , 99 ng.h/ml. Aunque hay poca información al respecto, este valor coincide con los valores medios publicados en trasplante cardíaco (257, 41 ng.h/ml)<sup>(168)</sup>, hepático (211 ng.h/ml)<sup>(165)</sup> y renal (254 ng.h/ml)<sup>(169)</sup>, y podría ser tomado como un valor orientativo pendiente de validar. Se observó también, como el AUC<sub>0-12</sub> se correlacionaba mejor con la pre-dosis vespertina ( $r^2 = 0,95$ ), que con la matutina ( $r^2 = 0,77$ ), aunque la mejor correlación fue con el AUC<sub>0-4</sub>, extrapolada hasta 12 horas ( $r^2 = 0,98$ ).

En conclusión, la buena correlación entre Cmin y AUC no justifica el cambio de estrategia de monitori-

zación, que se sigue realizando por la C<sub>min</sub> en la mayoría de los centros, pero el AUC<sub>0-12</sub>, o de forma más sencilla el AUC<sub>0-4</sub> extrapolada, puede ser una alternativa eficaz en pacientes con C<sub>min</sub> terapéuticos e inadecuada respuesta al tratamiento.

### 5.1.3. *Micofenolato de mofetilo (MMF)*

A diferencia de la CsA y el TAC, el MMF se comercializó sin aconsejar su monitorización. Por ello la mayoría de datos de correlación nivel/eficacia-toxicidad se han obtenido retrospectivamente de ensayos clínicos que no contemplaban la determinación de niveles plasmáticos. Pero se ha observado que la administración de dosis fijas de MMF da lugar a concentraciones de MPA muy variables<sup>(82)</sup>. Esto unido a que interacciona con los fármacos con los que se coadministra (CsA, tacrolimus y sirolimus), hace que la mayoría de los centros opten por su monitorización rutinaria.

Diversos estudios farmacocinéticos han demostrado que los pacientes tratados con MMF y tacrolimus presentan niveles de MPA más altos que los tratados con la misma dosis de MMF y CsA, aunque en principio se postuló que el tacrolimus alteraba la cinética de MPA, estudios recientes sugieren que es la CsA la que interacciona con el fármaco<sup>(180)</sup>. Se ha demostrado que la administración de CsA, inhibe la circulación enterohepática del MPA, con la consiguiente reducción de la exposición a este fármaco y la necesidad de aumentar la dosis de MMF<sup>(181)</sup>. Holt y col<sup>(182)</sup>, observaron como los niveles en plasma y el AUC de MPA eran mayores en pacientes que recibían sirolimus+MMF que en los tratados con CsA+MMF. Se sugirió una reducción de la dosis de MMF a 1-1,5 g/día en pacientes con sirolimus o con TAC, para alcanzar concentraciones similares a 2 g de MMF y CsA.

Para la cuantificación de MPA se utiliza plasma obtenido por centrifugación de muestras de sangre venosa recogidas con EDTA como anticoagulante. La determinación puede efectuarse por cromatografía líquida (HPLC) o por enzoinmunoensayo (EMIT)<sup>(170)</sup>. La correlación entre ambos ensayos (EMIT = 0,45+1,05 HPLC,  $r = 0,972$ ,  $n = 155$ ) demuestra que los valores de EMIT son un 20% más altos debido a que presenta reactividad cruzada con el metabolito activo acil glucurónico, y por ello se ha sugerido que los resultados obtenidos por EMIT pueden reflejar mejor el grado de inmunosupresión que aquellos que determinan específicamente MPA<sup>(171)</sup>.

En cuanto a la mejor estrategia de monitorización, quedan aún muchas cuestiones por resolver. La mayoría de los estudios sugieren que la monitorización del perfil farmacocinético, sobre todo de la fase de absorción, es superior a la concentración pre-dosis. Proponiendo numerosas estrategias limitadas de muestreo<sup>(172-174)</sup>. El margen terapéutico depende del tipo de trasplante y etapa aunque no hay muchos datos. En trasplante cardíaco Meiser et al<sup>(175)</sup>, observaron que la incidencia de RA es menor en los pacientes en los que la dosis se ajusta por la C<sub>min</sub> = 2,5-4,5 µg/h/ml (EMIT), que los que recibieron dosis fijas de MMF sin monitorización (10% vs 66,7%). La AUC > 40 µg/h/ml también se han correlacionado con menor incidencia de rechazo cardíaco<sup>(176)</sup>. En trasplante renal, Shaw et al<sup>(177)</sup>, proponen una AUC = 30-60 µg/h/ml y C<sub>min</sub> = 1-3.5 µg/ml (HPLC). Mientras que en trasplante renal pediátrico estos márgenes son parecidos: AUC = 30-60 µg/h/ml y C<sub>min</sub> > 1 µg/ml (HPLC)<sup>(178)</sup>.

Finalmente hay que destacar el trabajo de Mourad et al<sup>(179)</sup>, que relacionan la concentración 0,5 h post-dosis (C<sub>30</sub>) con los efectos adversos, destacando que estos pueden ser evitados por dividir la dosis diaria en más tomas y suavizar los picos de concentración, hecho observado en la práctica diaria en casos de intolerancia al MMF.

En conclusión, todos estos datos apuntan a que la monitorización de las concentraciones plasmáticas puede ser útil para optimizar la pauta terapéutica. La aparición de resultados de estudios con niveles controlados, permitirá conocer cuál es la mejor estrategia de monitorización para este fármaco.

### 5.1.4. *Sirolimus (Rapamicina) (RSL)*

La monitorización de las concentraciones del sirolimus son necesaria para optimizar su tratamiento. Esto se justifica porque el sirolimus presenta una amplia variabilidad en la exposición (40%) y poca correlación entre la dosis y C<sub>min</sub> o AUC ( $r = 0,11$  y  $0,56$  respectivamente)<sup>(183)</sup>. La correlación entre C<sub>min</sub> y AUC es mejor ( $r = 0,83-0,94$ )<sup>(184,185)</sup>, por lo que los ajustes de dosis se basan en las concentración pre-dosis (C<sub>min</sub>). Inicialmente la determinación de sirolimus se realizó por cromatografía líquida (HPLC), posteriormente se desarrollo un inmunoensayo que se utilizó en los primeros ensayos clínicos, siendo posteriormente retirado, por razones no asociadas a sus características técnicas. Esto ha dificultado mucho su monitorización rutinaria pues el

HPLC es una técnica compleja no al alcance de todos los laboratorios clínicos.

Debido a su vida media larga (62 horas), no es necesario la monitorización diaria. Se aconseja realizar la primera determinación después de 4 días de terapia, y posteriormente una vez a la semana durante el primer mes, y una vez mensual los siguientes meses. Ante cualquier cambio en la dosis de sirolimus o de CsA las determinaciones no se deben realizar hasta 5-7 días para esperar a alcanzar el estado de equilibrio estacionario. La  $C_{min}$  apropiada para evitar los episodios de rechazo está en función de la exposición concomitante a CsA. Se ha sugerido una  $C_{min} = 4-8$  ng/ml (HPLC) en combinación con CsA, y tras la supresión de la misma  $C_{min} = 12-20$  ng/ml el primer año postrasplante y de 8-12 ng/ml posteriormente. La monitorización se recomienda especialmente en pacientes con insuficiencia hepática, en pacientes en tratamiento con inductores o inhibidores de la CYP3A4 o si la dosis de CsA se reduce o se suspende.

En conclusión, el sirolimus es un nuevo fármaco que ha creado muchas expectativas. Aunque las dudas acerca de la accesibilidad a su monitorización aún no se han resuelto, es un fármaco que sin duda requiere control de su concentración en sangre.

## 5.2. Información al paciente trasplantado: interacciones y cumplimiento

La educación al paciente trasplantado sobre su medicación es fundamental, ya que el fracaso del cumplimiento del tratamiento farmacológico causa inmediatamente el rechazo del órgano trasplantado. Pero además del tratamiento inmunosupresor, en el paciente trasplantado pueden darse otras patologías asociadas, como la hipertensión, la diabetes, o hiperlipemia, que también requerirán medicación. También y como consecuencia del tratamiento inmunosupresor, el riesgo de infección es mayor, siendo habitual la administración de antiinfecciosos de manera profiláctica o específica. De este modo, el paciente trasplantado es un enfermo polimedcado con un elevado riesgo de interacciones medicamentosas.

La mayoría de los inmunosupresores se metabolizan a nivel hepático por el CYP3A. Cualquier fármaco que active, inhiba o sea sustrato de esta enzima es susceptible de causar interacción (Tabla 3). Existe además, la posibilidad de interacción farmacodinámica, por ejemplo la potenciación de la nefrotoxicidad de la CsA o

el TAC por otros fármacos nefrotóxicos, como eritromicina, AINE, aminoglucósidos, anfotericina B, aciclovir etc. Es importante que el farmacéutico clínico conozca todas estas interacciones y se anticipe a la probable interacción.

También es muy importante informar sobre la forma de administrar la medicación, ya que esto repercute directamente en la eficacia del tratamiento. La mayoría de los inmunosupresores interaccionan con los alimentos (CsA, TAC, Sirolimus y MMF), recomendándose su administración una hora antes o dos horas después de la ingesta de alimentos. Una manera de favorecer el cumplimiento es ajustar la posología en función de su estilo de vida. Cuanto más complejo sea el tratamiento más difícil será que lo cumpla. Por esto, se debe hacer hincapié en que se tomen estos medicamentos siempre de la misma manera, y acompañados del mismo aditivo (Se debe evitar el zumo de pomelo). Pero además algunos de estos fármacos presentan ritmo circadiano de metabolización. Por ejemplo, la metabolización de la CsA es, en general, menor por la noche, por lo que si el paciente está tratado con diferente dosis cada 12 horas es aconsejable administrar la dosis más elevada por la mañana. Mientras que con el TAC ocurre al contrario, y se aconseja administrar la dosis más alta por la noche, porque el valor obtenido de AUC es menor por la noche.

La toma de un gran número de fármacos influye en el grado de cumplimiento del paciente y el farmacéutico puede tener un papel fundamental dentro del equipo médico, ayudando a la educación del paciente trasplantado, informándole de la medicación que desde el momento del trasplante es necesario que tome, los beneficios que le aportará, los efectos adversos propios de la medicación o derivados de su interrupción o de añadir otros fármacos. Para favorecer el cumplimiento el paciente ha de ser consciente del beneficio que obtiene. Se ha observado que el grado de cumplimiento también disminuye con los años, por lo que se debe hacer un seguimiento y una labor informativa continua, manteniendo una relación fluida entre el paciente y el equipo médico.

## 6 PERSPECTIVAS FUTURAS Y CONCLUSIÓN

Minimizar la inmunosupresión es uno de los objetivos de los trasplantes en año 2001, lo que ha impulsado la investigación de los últimos años a buscar

nuevas pautas de inmunosupresión para aumentar la eficacia y/o seguridad de los tratamientos. Las tendencias futuras van hacia la eliminación o reducción de los inhibidores de la calcineurina (CsA o TAC), eliminación total de los corticoides y la inducción de tolerancia.

Para poder eliminar los inhibidores de la calcineurina se requiere la acción compensatoria de otro inmunosupresor. Los primeros estudios apuntan a que el MMF + corticoides no es un régimen lo suficientemente potente para prevenir el rechazo<sup>(186)</sup> y que el sirolimus podría facilitar esta eliminación. De modo que en algunos centros ya se ha comenzado a evaluar el sirolimus + MMF como un régimen inmunosupresor no nefrotóxico, mientras en otros se comienza a utilizar las nuevas pautas de inducción con los antagonistas IL-2R, Daclizumab y Basiliximab.

Otro reto importante, aún sin conseguir, es la inducción de tolerancia. Si fuera posible inducir tolerancia (no respuesta específica hacia el donante), la terapia inmunológica podría ser minimizada y con ella sus efectos adversos, principalmente infecciones y procesos malignos. Pero aunque se está ensayando mucho con modelos experimentales, aún estamos lejos de conseguirlo. A este respecto pronto nos encontraremos con nuevos fármacos, como el FYT 720 (inmunomodulador) oligonucleósidos antisentido y agentes capaces de inhibir la vía de la coestimulación del alorecocimiento. El conocimiento de los medicamentos obtenidos por biotecnología, sus especiales características y manipulación, es otra exigencia para el farmacéutico de hospital.

La integración del farmacéutico dentro de los equipos de trasplantes es una necesidad creciente. Su participación es fundamental en los ensayos clínicos, en la valoración, control y seguimiento de los nuevos protocolos; en el área de la monitorización de fármacos, donde los nuevos fármacos, a veces con efecto sinérgico y otras aditivo, obliga a una mayor individualización de los rangos terapéuticos en función de la terapia asociada; en la educación al paciente trasplantado; y en la selección de medicamentos, donde debe ser capaz de evaluar la calidad de la evidencia científica de todas estas novedades. Todo ello, nos exige una actualización continúa de nuestros conocimientos sobre los trasplantes.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Martorell J. Bases Inmunológicas del rechazo. En: Cuervas-Mons V, del Castillo-Olivares JL editores. Introducción al trasplante de órganos y tejidos. 2ª ed. Arán ediciones, Madrid 1999; 135-144.
2. Martorell J. Inmunología del trasplante: Mecanismos de rechazo y tolerancia. En: Brunet M, Campistol JM, Rimola A, editores. Tacrolimus. Madrid. Drug Farma 2000: 21-36.
3. Auchincloss H, Sultan H. Antigen processing and presentation in transplantation. *Curr Opin Immunol* 1996; 8(5):681-7.
4. Sayegh MH, Watschinger B, Carpenter CB. Mechanisms of T cell reconognition of alloantigen. The role of peptides. *Transplantation* 1994;57(9):1295-302.
5. Shoskes DA, Wood KJ. Indirect presentation of MHC antigens in transplantation. *Immunol Today* 1994; 15(1):32-8.
6. Renard V, Cambiaggi A, Vely F, et al. Transduction of cytotoxic signals in natural Killer cells: a general model of fine tuning between activatory and inhibitory pathways in lymphocytes. *Immunol Rev* 1997; 155:205-21.
7. Trpkov K, Campbell P, Pazderka F, et al. Pathologic feature of acute renal allograft rejection associated with donor-specific antibody. Analysis using the Banff grading schema. *Transplantation* 1996; 61(11):1586-92.
8. Li Y, Li XC, Zheng XX, et al. Blocking both signal 1 and signal 2 of T-cell activation prevents apoptosis of alloreactive T cells and induction of peripheral allograft tolerance. *Nature Medicine* 1999; 5:1298-1302.
9. Bluestone JA. Costimulation and its role in organ transplantation. *Clin Transplant* 1996; (1):104-9.
10. Bennett SR, Carbone FR, Karamalis F, et al. Help for cytotoxic-T-cell responses is mediated by CD40 signalling. *Nature* 1998; 393(6684):478-80.
11. Wells AD, Li XC, Li Y, et al. Requirement for T-cell apoptosis in the induction of peripheral transplantation tolerance. *Nature Medicine* 1999; 5:1303-1307.
12. Roy-Chaudhury P, Manfro RC, Steiger J, et al. IL-2 and IL-4 Double Knock-out mice reject islet allografts: a role for novel T-cell growth factors? *Transplant Proc* 1997; 29(1-2):1083-4.
13. Mottram PL, Purcell LJ, Han WR, et al. Interleukin (IL) 4, the cytokine that isn't there reactivity of IL-4 antibodies with cells in IL-4/- mice. *Transplantation* 1997; 63(6):911-4.

14. Piccotti JR, Chan SY, Van Buskirk AM, et al. are Th2 helper T Lymphocytes beneficial, deleterious, or irrelevant in promoting allograft survival? *Transplantation* 1997; 63(5): 619-24.
15. Halloran PF. Molecular Mechanism of Immunosuppressive Drugs and Their Importance in Optimal Clinical Outcomes. Available at: <http://www.medscape.com/ Medscape/transplantation/treatmentUpdate/2000/tu01/public/toc-tu01.html>. Accessed October 21, 2001.
16. Burckart GJ, Venkataramanan R, Ptachcinski RJ. Overview of Transplantation. In: DiPiro JT, Talbert RL, Yee G et al. eds. *Pharmacotherapy. A pathophysiologic Approach*. 3<sup>a</sup> ed. Stamford: Appleton & Lange, 1997; 129-147.
17. Bian H, Reed EF. Alloantibody-mediated class I signal transduction in endothelial cells and smooth muscle cells: enhancement by IFN-gamma and TFN-alpha. *J Immunol* 1999; 163(2):1010-8.
18. Harris PE, Bian H, Reed EF. Induction of high affinity fibroblast growth factor receptor expression and proliferation in human endothelial cells by anti-HLA antibodies: a possible mechanism for transplant arteriosclerosis. *J Immunol* 1997; 159 (11): 5697-704.
19. Tardif GN, McCalmon RT. SEOPF high-grade match algorithm: The effect of HLA matching with ROP trays in transplanting highly sensitized patients. *Southern Organ Procurement Foundation. Clin Transplant* 1996; 10(6 pt 2):594-7.
20. Charco R, Vargas V, Balsells J, et al. Influence of anti-HLA antibodies and positive T-Lymphocytotoxic crossmatch on survival and graft rejection in human liver transplantation. *J hepatol* 1996; 24 (4): 452-9.
21. Carpenter CB. Mechanism of rejection. *Current Opinion in Organ Transplantation* 1997; 2:1-2.
22. Kim YS, Li XC, Maslinski W, et al. The role of novel T-cell growth factor in rejection. *Current Opinion in Organ Transplantation* 1997; 2:13-7.
23. Campistol JM, Cuervas-Mons V, Manito N. Aula sobre trasplantes de órganos sólidos. Madrid. Drug Farma 2001: 71-73.
24. Wiesner RH, Demetris AJ, Belle SH, et al. Acute hepatic allograft rejection: incidence, risk factor and impact on outcome. *Hepatology* 1998; 28: 638-45.
25. Iñigo PJ, Campistol JM. Rechazo crónico. Relevancia clínica y mecanismos patogénicos. En: Brunet M, Campistol JM, Rimola A, editores. *Tacrolimus*. Madrid: Drug Farma 2000: 37-49.
26. Bando K, Paradis IL, Similo S, et al. Obliterative Bronchiolitis after lung and heart-lung transplantation: an analysis of risk factors and management. *Thorac Cardiovas Surg* 1995; 110:4-14
27. Rickenbacher PR, Pinto FJ, Chenzbraun A, et al. Incidence and severity of transplant coronary diseases early and up to 15 years after transplantation as detected by intravascular ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25:171-7
28. Wiesner RH, Ludwig J, Van Hoek B, et al. Current concept in cell-mediated hepatic allograft rejection ductopenia and graft failure. *Hepatology* 1991; 14:721.
29. Matas AJ, Burke JF, DeVault Ga, et al. Chronic rejection. *J Am Soc Nephrol* 1994; 4(8 suppl):S23-9.
30. Almond PS, Matas AJ, Gillingham KJ et al. Risk factor for chronic rejection in renal allograft recipients. *Transplantation* 1993; 55:752-7.
31. Miranda B, Felipe C, Naya M, et al. Resumen de la actividad de donación y trasplante de órganos en España. *Trasplante renal*. 1997; *Nefrología* 1998; 18: 114-120
32. Morales JM, Andrés A. Trasplante renal En: Cuervas-Mons V, del Castillo-Olivares JL editores. *Introducción al trasplante de órganos y tejidos*. 2<sup>a</sup> ed. Arán ediciones, Madrid, 1999; 229-293.
33. KinKhabwala M. Clinical advances in Kidney Transplantation. Available at: [http://www.medscape.com/public/conference.cfm?conference\\_id=118](http://www.medscape.com/public/conference.cfm?conference_id=118). Accessed October 18, 2001.
34. De Matos AM, Olyaei AJ, Bennett WM. Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs: Long term consequences and challenges for the future. *Am J Kid Dis* 2000; 35(2):333-46.
35. Taheski F, Burdmann EA, Bennet WA. Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs: experimental and clinical observations. *Seminars Nephrol* 1997; 17(1): 34-35.
36. Alonso L, Crespo M. Trasplante cardiaco. En: Cuervas-Mons V, del Castillo-Olivares JL editores. *Introducción al trasplante de órganos y tejidos*. 2<sup>a</sup> ed. Arán ediciones. Madrid, 1999; 349-368.
37. Costanzo M. Selection and treatment for heart transplantation. *Sem Thorac Cardiovas Surg* 1996; 8:113-25.
38. Miller L, Kubo S, Young J, et al. Report of the Consensus Conference on Candidate Selection for He-

- art Transplantation, 1993. *J heart Lung Transplant* 1993; 14:562-71.
39. Duquesnoy RJ, Demetris AJ. Immunopathology of cardiac transplant rejection. *Curr Opin Cardiol* 1995; 10:193-206.
  40. Kobashigawa JA, Katznelson S, Laks H, et al. Effect of pravastatin on outcome after cardiac transplantation. *N Engl J Med* 1995; 333:621-7.
  41. Hosenpud JD, Bennet LE, Keck BM, et al. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Seventeenth Official Report-2000. *J Heart Lung Transplantation* 2000; 19:909-931.
  42. Sánchez V, Cuervas-Mons V. Trasplante hepático. En: Cuervas-Mons V, del Castillo-Olivares JL editores. *Introducción al trasplante de órganos y tejidos*. 2ª ed. Arán ediciones. Madrid, 1999; 295-327.
  43. Alloway R, Holt C, Somerville KT. Solid Organ Transplant. En: American College of Clinical Pharmacy, eds. *Pharmacotherapy Self-Assessment Program*, 3ª ed. Broadway, 2000; 219-246.
  44. Demetris A, Adams D, Bellamy C, et al. Update of the International Banff Schema for Liver Allograft Rejection. Working recommendations for histologic staging and reporting of chronic rejection. *Hepatology* 2000; 31:792-9
  45. Carreño MC, Varela U, Ussetti G. Trasplante de pulmón. En: Cuervas-Mons V, del Castillo-Olivares JL editores. *Introducción al trasplante de órganos y tejidos*. 2ª ed. Arán ediciones. Madrid, 1999; 369-398.
  46. Trulock EP. Lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997; 155:789-818.
  47. Hertz, MI. Lung Transplantation: From the Bench to the Beside and Back. *Transplant* 2001: The joint American Transplant meeting. May 11, 2001. Available at: [http://www.medscape.com/mescape/cno/2001/TransplantCME/story.cfm?story\\_id=2274](http://www.medscape.com/mescape/cno/2001/TransplantCME/story.cfm?story_id=2274). Accessed October 16, 2001.
  48. Padillo R, Regueiro JC, Pérez Calderón R, et al. Trasplante de páncreas. En: Cuervas-Mons V, del Castillo-Olivares JL editores. *Introducción al trasplante de órganos y tejidos*. 2ª ed. Arán ediciones. Madrid, 1999; 329-348.
  49. Stratta RJ. New Immunosuppressive strategies in pancreas transplantation. *Transplant* 2001: The joint American Transplant meeting. May 11, 2001. Available at: [http://www.medscape.com/mescape/cno/2001/TransplantCME/story.cfm?story\\_id=22](http://www.medscape.com/mescape/cno/2001/TransplantCME/story.cfm?story_id=22)
  50. Vogelsang GB, Hess AD. Graft vs host disease. New directions for a persistent problems. *Blood* 1994; 84:2061-2067.
  51. Masso J, Doy D. Profilaxis y tratamiento de la enfermedad del injerto contra huésped en el trasplante hematopoyético. *El Farmacéutico Hospitales* 2001; 119:32-37.
  52. Antin JH. Graft versus Leukemia: no longer an epiphenomenon. *Blood* 1993; 82:2273-2277.
  53. Belzer FO, Southard JH. Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988; 45: 673-676.
  54. Barber WH, Laskow DA, Deierhoi MH, et al. Comparison of simple hypothermic storage, pulsatile perfusion with Belzer's gluconate-albumin solution, and pulsatile perfusion with UW solution for renal allograft preservation. *Transplant Proc* 1991; 23:2394-5.
  55. Collins GM, Bravo-Shugarman M, Terasaki PL. Kidney preservation for transplantation. Initial perfusion and 30 hours ice storage. *Lancet* 1969; 2:1219.
  56. Squitflet JP, Pirson Y, Giarello P, et al. Safe preservation of human renal cadaver transplants by Euro-collins solution up 50 hours. *Transplant Proc* 1981; 13(1 Pt 2):693-6.
  57. Southard JH, Belzer FO. The University of Wisconsin organ preservation solution: componets, comparisons and modifications. *Transplant Rev* 1993; 7(4):176.
  58. Clavien P, Harvey PRC, Strasberg SM. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. *Transplantation* 1992; 53:957-78.
  59. Belzer FO. Evaluation of preservation of intra-abdominal organs. *Transplant Proc* 1993; 25(4):2527-30.
  60. Merion RM, Turcotte JG, Ham JM, et al. Early immunological benefits of glutathione-supplemented UW solution in hepatic transplantation. *Transplant Proc* 1991; 23(4):2243-5.
  61. Pinna Ad, Dodson FS, Smith CV, et al. Rapid en bloc technique for liver and pancreas procurement. *Transplant Proc* 1997; 29: 658-659.
  62. Concha M, Casares J. Cirugía del donante. Extracción multiorgánica de órganos intratorácicos. En: Cuervas-Mons V, del Castillo-Olivares JL editores. *Introducción al trasplante de órganos y tejidos*. 2ª ed.

- Arán ediciones. Madrid, 1999; 79-95
63. Bailey L, Gundry S, Razonk, et al. Pediatric heart transplantation: Issues relating to outcome and results. *J Heart Lung Transplant* 1992; 11: 5267-5271.
64. Kirk AJB, Colquhoun IW, Dark JH. Lung preservation: a review of current practice and future directions. *Ann Thorac Surg* 1993; 56(4):990-100.
65. Anaya-Prado R, Rodríguez-Quilantan FJ, Toledo-Pereyra LH. Preservación de órganos. En: Cuervas-Mons V, del Castillo-Olivares JL editores. *Introducción al trasplante de órganos y tejidos*. 2ª ed. Arán ediciones. Madrid, 1999; 107-134.
66. Denton MD, Magee CC, Sayegh MH. Immunosuppressive strategies in transplantation. *Lancet* 1999; 353:1083-1091.
67. Danovich GM. Choice of Immunosuppressive drugs and individualization of immunosuppressive therapy for kidney transplant patient. *Transplant Proc* 1999; 31(suppl 8A):2S-6S.
68. Cosimi AB. The clinical value of antilymphocyte antibodies. *Transplant Proc* 1981; 13(1 Pt 1):462-8.
69. Brennan DC, Flavin K, Lowell JA, et al. A Randomized, Double-Blinded Comparison of Thymoglobulin vs Atgam for Induction Immunosuppressive Therapy in Adult Renal Transplant Recipients. *Transplantation* 1999; 67:1011-1018.
70. Shroeder TJ, Moore LW, Gaber LW, et al. The US Multicenter Double-Blind, Randomized, Phase III Trial of Thymoglobulin versus Atgam in the Treatment of Acute Graft Rejection Episodes Following Renal Transplantation: rationale for study design. *Transplant Proc* 1999; 31(suppl 3B):1S-6S.
71. Gaber LW, Moore LW, Gaber AO, et al. Correlation of histology to clinical rejection reversal: a thymoglobulin Multicenter Trial Report. *Kidney Int* 1999; 55:2415-2422.
72. Sora M, Vinent JL, Juvany R. Inmunosupresión en el trasplante renal: Presente y futuro. *El farmacéutico Hospitales* 2001; 119:42-50
73. Baber AO, First MR, Tesi RJ, et al. Results of Double-blind, Randomised Multicenter, Phase III Clinical Trial of of Thymoglobulin versus Atgam in the Treatment of Acute Graft Rejection Episodes After Renal Transplantation. *Transplantation* 1998; 66:29-37.
74. Grinyó JM, Castela AM, Serón D, et al. Antilymphocyte globulin versus OKT-3 induction therapy in cadaveric kidney transplantation: a prospective randomised study. *Am J Kidney Dis* 1992; 20(6): 603-10.
75. Humar MSA, Cahill K, Kumar AG, et al. Atgam versus OKT3 induction therapy in cadaveric kidney transplantation: patient and graft survival, CD3 subset, infection and cost analysis. *Transplant Proc* 1998; 30(4):1351-52.
76. Kreown PA. Therapeutic strategies of optimal use of novel immunosuppressant. *Transplant Proc* 1999; 31:1790-1792.
77. Olyaei AJ, Kahan T, de Martos AM, et al. Use of Basiliximab and Daclizumab in kidney transplantation. *Progress in transplantation* 2001; 11(1):33-39.
78. Kahan BD, Rajagopalan PR, Hall M, et al. Reduction of the occurrence of acute cellular rejection among renal allograft recipients treatment with basiliximab, a chimeric anti-interleukin-2-receptor monoclonal antibody. *Transplantation* 1999; 67:276-284.
79. Vicenti F. Daclizumab: Novel biologic immunoprophylaxis for prevention of acute rejection in renal transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31:2006-2007.
80. Friend PJ, Hale G, Chatenoud L, et al. Phase I study of an engineered aglycosylated humanized CD3 antibody in renal transplant rejection. *Transplantation* 1999; 68:1625-1626.
81. Kirk A, Swanson SJ, Mannon RB, et al. Preliminary results from a human tolerance trial using Campath 1H. Program and Abstracts of Transplant 2001: The Joint American Transplant Meeting, May 11-16, 2001; Chicago, Illinois. Abstracts 5.
82. First RM. An Update on new immunosuppressive drugs undergoing preclinical and clinical trials: potential applications in organ transplantation. *Am J Kid Dis* 1997; 29(2): 303-317.
83. Asha N, Hricik D, Matas A, et al. Prednisone withdrawal in kidney transplant recipients on cyclosporine and mycophenolate mofetil – a prospective randomized study. Steroid withdrawal study group. *Transplantation* 1999; 68; 1865-1874.
84. Schreiber SL, Crabtree GR. The mechanism of action of cyclosporine A and FK 506. *Immunol Today* 1992; 13:136-142.
85. Fahr A. Cyclosporin Clinical Pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 1993; 24(6):471-95.
86. Jonston A, Holt DW. Generic substitution for cyclosporine: What should we be looking for in new formulations? *Transplant Proc* 1998; 30:1652-1653.
87. Belitsky P. Neoral use in the renal transplant recipient. *Transplant Proc* 2000; 32(supl 3A):10S-19S.

88. KinKhabwala M. Avoiding Immunotoxicity. Available at: [http://www.medscape.com/mescape/cno/2001/TransplantCME/story.cfm?story\\_id=2269](http://www.medscape.com/mescape/cno/2001/TransplantCME/story.cfm?story_id=2269). Accessed October 16,2001.
89. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 1995; 29(6):404-30.
90. Van Buren D, Payne J, Geevarghese S, et al. Impact of Sandimmun Neoral, and prograf, on rejection incidence and renal function in primary liver transplant recipients. *Transplant Proc* 1998; 30:1830-2.
91. Fisher RA, Ham JM, Marcos A, et al. Prospective randomised trial of mycophenolate mofetil with Neoral, or tacrolimus after orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 1998; 66: 1643-21.
92. Van Hoof JP, Christiaans MHL. Use of tacrolimus in renal transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31: 3298-3299.
93. Wiesner RH. A long-term comparison of tacrolimus (FK 506) versus cyclosporine in liver transplantation. *Transplantation* 1998; 66:493-99.
94. Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, et al. A comparison of tacrolimus (Fk 506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 1997; 63:977-983
95. Mayer AD, Dmitrewski J, Squifflet JP, et al. Multicenter randomised trial comparing tacrolimus(FK 506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection: a report of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study Group. *Transplantation* 1997; 64: 436-443.
96. Klupp J, Glanemann M, Bechstein WO, et al. Mycophenolate mofetil in combination with tacrolimus vesus Neoral, after Liver transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31:1113-4.
97. Bullingham R, Nicholls AJ, Kamm B. Clinical pharmacokinetics of Mycophenolate Mofetil. *Clin Pharmacokinet* 1998; 34(6):429-455.
98. MacPhee IAM, Spreafico S, Bewick M, et al. Pharmacokinetics of mycophemolate mofetil in patients with end-stage renal failure. *Kidney International* 2000; (57):1164-1168.
99. Ollerich M, Shipkova M, Schutz E, et al. Pharmacokinetic and Metabolic Investigations of Mycophenolic Acid in Pediatric Patients After Renal Transplantation: Implications for Therapeutic Drug Monitoring. *Ther Drug Monit* 2000; 22:20-26.
100. Meier-Kriesche H, Shaw LM, Korecka M, et al. Pharmacokinetics of Mycophenolic Acid in Renal Insufficiency. *Ther Drug Monit* 2000; 22:27-30.
101. The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplant Group: A blinded, randomised clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 1996; 61(7): 1029-37.
102. US Renal Mycophenolate Mofetil Study Group. Mycophenolate mofetil in cadaveric renal transplantation. *Am J Kid Dis*. 1999; 34:293-303.
103. European Mycophenolate Mofetil Study Group. Mycophenolate mofetil in renal transplantation: 3 years results from placebo-controlled trial. *Transplantation* 1999; 68:391-6.
104. Schnitzler MA, Graig KE, Woodward RS. A contemporaneous comparison of MMF and AZA in theUSRDS data base. Program and Abstracts of Transplant 2001: The joint American Transplant Meeting; May 11-16, 2001. Concurrent Session 42: Pathology, Techiques, and results of transplant transplantation. Abstract 840.
105. Ojo AO, Meier-kriesche HU, Hanson JA, et al. Mycophenolate mofetil reduces late renal allograft loss independent of acute rejection. *Transplantation* 2000; 69:2405-9.
106. Bihl G. New and Emerging Immunosuppressive Agents: Insights Into Mechanisms of Action and Clinical Trials. 2001: A transplant Odyssey, Agosto 20-23,2001. Available at: [http://www.medscape.com/Mescape/transplantation/journal/2001/v02.n05/mt1009.bihl/mt1009\\_bil-01.html](http://www.medscape.com/Mescape/transplantation/journal/2001/v02.n05/mt1009.bihl/mt1009_bil-01.html). Accessed October 2,2001.
107. Sehgal S. Rapamuner, (RAPA, rapamycin, sirolimus): Mechanism of action immunosuppressive effect results from blockade of signal transduction and inhibition of cell cycle progression. *Clinical Biochemistry* 1998; 31(5):335-340.
108. Gallant-Haidner HL, Trepanier DJ, Freitag DG, et al. Pharmacokinetic and metabolism of sirolimus. *Ther Drug Monit* 2000; 22(1):31-5.
109. Kahan BD. Sirolimus (Rapamune) rapamycin is more effective than azathioprine to reduce the incidence of acute renal allograft rejection episodes when used in combination with cyclosporine and prednisone: a phase III U.S. multicenter trial. *Lancet* 2000; 356(9225):194-202.
110. Podbielski J, Schoenberg L. Use of sirolimus in kidney transplantation. *Progress in Transplanta-*

- tion 2001; 11(1):29-32
111. The Rapamune Global Study Group. A randomised placebo-controlled trial of rapamune in primary renal allograft recipients. Montreal, Canada: 27th World Congress of Transplantation Society, 1998.
  112. Groth CG, Backman L, Morales JM, et al. Sirolimus (rapamycin)-based therapy in human renal transplantation: similar efficacy and different toxicity compared with cyclosporine. *Transplantation* 1999; 67:1036-1042.
  113. Kreis H, Cisterne JM, Land W, et al. Sirolimus in association with mycophenolate mofetil induction for the prevention of acute graft rejection in renal allograft recipients. *Transplantation* 2000; 69:1252-1260.
  114. Johnson RWG, Kreis H, Oberbaucher T, et al. Sirolimus (rapamune) maintenance therapy permits early cyclosporine withdrawal resulting in improve renal function: 12 month results of the tri-continental trial. Program and abstract of transplant 2001, The joint American Transplant Meeting; May 11-16, 2001; Chicago, Illinois. Concurrent Session 16: Sirolimus in Kidney Transplantation. Abstract 151.
  115. Vitko S, Margreiter R, Weimar W, et al. International double-blind, parallel group study of the safety and efficacy of certican (RAD) versus mycophenolate mofetil (MMF) in combination with Neoral, and steroids. The Joint American Transplant Meeting; May 11-16, 2001; Chicago, Illinois. Abstract 1337.
  116. Couchoud C. Citomegalovirus profilaxis with antiviral agents for solid organ transplantation. (Cochrane review). From cochrane review Abstract. Available at: <http://www.Pharmacology.medscape.com/cochrane/abstracts/ab001320.html> . Accessed October 18, 2001.
  117. Paya CV. Defining an optimal regimen for cytomegalovirus prophylaxis in organ transplant recipients. *Transplant Proc* 1996; 28:9-11.
  118. Patel R, Snyderman DR, Rubin RH, et al. Cytomegalovirus prophylaxis in solid organ transplant recipients. *Transplantation* 1996; 61:1279-1289.
  119. Mendez J, Espy M, Smith TF, et al. Clinical significance of viral load in the diagnosis of cytomegalovirus disease after liver transplantation. *Transplantation* 1998; 65:1477-1481.
  120. Singh N, Yu VL, Micles L, et al. High-dose acyclovir ampared with short-course preemptive ganciclovir therapy to prevent cytomegalovirus disease in liver transplant recipients. A randomised trial. *Ann Intern Med*. 1994; 120:375-381.
  121. Hibberd PL, Tolkoff-Rubin NE, Conti D, et al. Preemptive ganciclovir therapy to prevent cytomegalovirus disease in cytomegalovirus antibody-positive renal transplant recipients. A randomised controlled trial. *Ann Intern Med* 1995; 123:18-26.
  122. Drew WL. Treatment of Drug-Resistant CMV Disease in HIV-infected patients. *Infect Med* 2000; 17(11):737-744.
  123. Samuel D, Bizollon T, Feray C, et al. Combination of interferon alfa-2b plus ribavirin for recurrent HCV infection after liver transplantation: a randomised controlled study. *Hepatology* 2000; 32:295-A. Abstract 542.
  124. Shakil O, McGuire B, Crippen JS, et al. Interferon alfa-2B and ribavirin combination therapy in liver transplant with hepatitis. *Hepatology* 2000; 32:257A. Abstract 383.
  125. Kontoyiannis DP. A clinical perspective for the management of invasive fungal infections: Focus and IDSA Guidelines. *Pharmacotherapy* 2001; 21(8s):175s-187s.
  126. Hiemenz JW, Walsh TJ. Lipid formulation of anfotericina B: recent progress and future directions. *Clin Infect Dis* 1996; 22 (suppl2):s133-s144.
  127. Ernst E. Investigational Antifungal Agents. *Pharmacotherapy* 2001; 21(8s):165s-174s.
  128. Katznelson S, Wilkinson A, Danovich GM, et al. Pravastatin improve long-term graft and patient survival after kidney transplantation-an examination of five-year follow up data. *Am J Transplantation* 2001; 1:353. Abstract 866.
  129. Tuncer M, Suleymanlar G, Ersoy FF, et al. Comparison of the effects of simvastatin and pravastatin on acute rejection episodes in renal transplant patients. *Transplant Proc* 2000; 32:622-625.
  130. Ollerich M, Armstrong VW, Kahan BD, et al. Lake Louise Consensus conference on cyclosporin monitoring in organ transplantation: report of the consensus panel. *Ther Drug Monit* 1995; 17(6):642-54.
  131. Belitsky P, Dunn S, Johnston A, et al. Impact of absorption profiling on efficacy and safety of cyclosporin therapy in transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2000; 39(2):117-125.
  132. Kreown P, Kahan BD, Johnston A, et al. Optimi-

- zation of cyclosporine therapy with New Therapeutic drug monitoring strategies: report from the international Neoral, TDM advisory consensus meeting (Vancouver, November 1997). *Transplant Proc* 1998; 30:1645-1649.
133. Senel MF, Van Buren CT, Welch M, et al. Impact of early cyclosporine average blood concentration on early kidney transplantation failure. *Transplant Int* 1998; 11:46-52.
  134. Kahan BD. Pharmacokinetics of cyclosporine formulations and their relationship to clinical outcomes. *Focus Med* 1998; 13:3-6.
  135. Kahan BD, Welsh M, Urbauer DL, et al. Low intraindividual variability of cyclosporine A exposure reduces chronic rejection incidence and health care cost. *J Am Soc Neph* 2000; 11 (6):1122-31.
  136. Warrens AN, Waters JB, Salama AD, et al Improving the therapeutic monitoring of cyclosporine A. *Clin Transplant* 1999; 13:193-200.
  137. Wacke R, Rohde B, Engel G, et al. Comparison of several approaches of therapeutic drug monitoring of cyclosporin A based on individual pharmacokinetics. *Eur J Clin Pharmacol* 2000; 56:43-48.
  138. Marsh CL. Abbreviated pharmacokinetic profiles in area-under-the-curve monitoring of cyclosporine therapy in de novo renal transplant patients treated with sandimmun or neoral. *Ther Drug Monit* 1999; 21:27-34.
  139. Johnston DO. Limited sampling strategies. *Clin Pharmacokinet* 2000; 39(4):311-3.
  140. Dello Strogolo L, Campagnano P, Federici G, et al. Cyclosporin A monitoring in children: abbreviated area under curve formulas and C2 level. *Pediatr Nephrol* 1999; 13:95-97.
  141. Belitsky GA, Levy GA, Johnston A. Neoral absorption profiling: an evolution effectiveness. *Transplant Proc* 2000; 32(suppl 3A):45S-52S.
  142. Fadori A, into VM, Elberg A. A Critical appraisal of cyclosporine A pharmacokinetics in pediatric kidney transplantation using a microemulsion galenic formulation (Neoral). *Transplant Proc* 1998; 30:1666-1667.
  143. Filler G, Mai I, Filler S, et al. Abbreviated cyclosporine AUCs on Neoral-The search continues! *Pediatr Nephrol* 1999; 13:98-102.
  144. Mahalati K, Kahan BD. Pharmacological surrogates of allograft outcome. *Annals of transplantation* 2000; 5(2):14-23.
  145. Mahalati K, Belitsky P, Sketris I, et al. Neoral monitoring by simplified sparse sampling area under the concentration-time curve. *Transplantation* 1999; 68(1):55-62.
  146. Levy GA, C2 monitoring strategy for optimising cyclosporin immunosuppression from the Neoral formulation. *BioDrug* 2001; 15(5):279-90.
  147. Canadian Neoral Renal Transplantation Study Group. Absorption profiling of cyclosporine microemulsion (neoral) during the first weeks after renal transplantation. *Transplantation* 2001; 72(6): 1024-32.
  148. Belitsky. Neoral use in the renal transplant recipient. *Transplant Proc* 2000; 32 (suppl 3A):10S-19S.
  149. Grant D, Kneteman N, Tchervenkov AR, et al. Peak cyclosporine levels (Cmax) correlate with freedom from liver graft rejection. *Transplantation* 1999; 67(8):1133-1137.
  150. Levy GA, Lake JR, Beauregard-Zoliinger L, et al. Improves clinical outcomes for liver transplant recipients using cyclosporine blood level monitoring based on two-hour post-dose levels. *Transplantation* 2000; 69(8):S387 (Abstract 1059).
  151. Levy GA. Relationship of pharmacokinetics to outcomes. *Transplant Proc* 1999; 31:1654-1658.
  152. Johnston A, David OJ, Cooney GF. Pharmacokinetic validation of neoral absorption profiling. *Transplat Proc* 2000; 32(suppl 3A):53S-56S.
  153. Valentine V. Neoral in cardiac transplant recipient. *Transplant Proc* 2000; 32:27S-44S.
  154. Cooney GF, Jeevanadam V, Choudhury S, et al Comparative bioavailability of neoral and sandimmun in cardiac transplant recipients over 1 years. *Transplant Proc* 1998; 30:1892-1894.
  155. Cantarovich M, Besner JC, Barkun JS, et al. Two-hour cyclosporin level determination is the appropriate tool to monitor neoral therapy. *Clin Transplant* 1998; 12:243-249
  156. Cantarovich M, Elstein E, de Varennes B, et al. Clinical benefit of neoral dose monitoring with cyclosporine 2-HR post-dose levels compared with trough levels in stable Heart transplant patients. *Transplantation* 1999; 68(12):1839-1842.
  157. Hoyer PF. Therapeutic drug monitoring of cyclosporin A: should we use the area under the concentration-time curve and forget trough levels? *Pediatr Transplantation* 2000; 4:2-5.
  158. Jusko WJ, Thomson AW, Fung J, et al. Consensus

- document: therapeutic monitoring of tacrolimus (FK 506). *Ther Drug Monit* 1995; 17:606-14.
159. Regazzi MB, Rinaldi M, Molinaro M, et al. Clinical pharmacokinetic of tacrolimus in Heart transplant recipient. *Ther Drug Monit* 1999; 21:2.
160. Armstrong VW, Oellerich M. New developments in the immunosuppressive monitoring of cyclosporine, tacrolimus, and azathioprine. *Clin Biochem* 2001; 34 (1): 9-16.
161. Schwartz M, Holst B, Facklam D, et al. FK 506 in liver transplantation, Correlation of whole blood level with efficacy and toxicity. *Transplant Proc* 1995; 27:1107.
162. Kerhner RP, Fitzsimmons WE. Relationship of FK 506 Whole blood concentration with efficacy and toxicity in liver and kidney transplantation. *Transplantation* 1996; 62:920.
163. Manzanares C, Garcia MJ, Santos D. Utilidad de las áreas bajo la curva (ABC) abreviadas en la monitorización de tacrolimus en pacientes pediátricos con trasplante hepático. *Anales Españoles de Pediatría* 2001; 54 (suppl 3):47.
164. Wong MK, Sheck CC, Chau FF, et al. Abbreviated tacrolimus area-under-the curve monitoring for renal transplant recipients. *Am J Kid Dis* 2000; 35(4):660-666.
165. Ku YM, Mih DI. An abbreviated area-under-the curve monitoring for tacrolimus in patients with liver transplants. *Ther Drug Monit* 1998;20:219-223.
166. Filler G, Grygas R, Mai I, et al. Pharmacokinetics of tacrolimus (FK 506) in children and adolescents with transplant. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12(8):1668-71.
167. Aumente MD, Arizón JM, Ramos, et al. Farmacocinética del tacrolimus en pacientes trasplantados de corazón. *Farm Hosp.* 2001; 25 suppl:56.
168. Undre NA, Meiser BM, Uberfuhr P, et al. Pharmacokinetic of tacrolimus (FK 506) in primary orthotopic heart transplant recipients. *Transplant Proc* 1998; 30(4):1112-115.
169. Higgins RM, Hart O, Lam FT. Conversion from tacrolimus to cyclosporine in stable renal transplant patients. *Transplantation* 1999; 69(8): 1736-39.
170. Shaw LM, Nicholls A, Hale M, et al. Therapeutic monitoring of Mycophenolic acid. A consensus panel report. *Clin Biochem* 1998; 31(5):317-322.
171. Shipkova M, Schutz E, Armstrong VVV, et al. Overestimation of mycophenolic acid by EMIT correlates with MPA metabolite. *Transplant Proc* 1999; 31:1135-1137.
172. Schutzt E, Armstrong VW, Shipkova M, et al. Limited sampling strategy for determination of Mycophenolic acid area under the curve in pediatric kidney recipients. *Transplant Proc* 1998; 30:1182-1184.
173. Filler G, Mai I. Limited sampling strategy for mycophenolic acid area under the curve. *Ther Drug Monit* 2000; 22:163-173.
174. Willis C, Taylor PJ, Salm P, et al. Evaluation of limited sampling strategies for estimation 12-hour mycophenolic acid area under the curve in adult renal transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2000; 22:549-54.
175. Meiser BM, Pfeiffer M, Schmidt D, et al. Combination therapy with tacrolimus and mycophenolate mofetil following cardiac transplantation: importance of mycophenolic therapeutic drug monitoring. *Journal of Heart and lung transplantation* 1999;18(2):143-149.
176. DeNofrio D, Loh E, Kao A, et al. Mycophenolic acid concentrations are associated with cardiac allograft rejection. *Journal of Heart and lung transplantation* 2000;19(11):1071-1076.
177. Shaw L, Kaplan B, DeNofrio D, et al. Pharmacokinetics and control investigations of mycophenolic acid in adults after transplantation. *Ther Drug Monit* 2000; 22:14-19.
178. Weber LT, Schutz E, Lamersdorf T, et al. Therapeutic drug monitoring of total and free mycophenolic acid (MPA) and limited sampling strategy for determination of MPA\_AUC in paediatric renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14 (Supp 4):34-35.
179. Mourad M, Malaise J, Eddour DC, et al. Correlation of mycophenolic acid pharmacokinetic parameters with side effects in kidney transplant patients treated with mycophenolate mofetil. *Clinical chemistry* 2001; 47(1):88-94.
180. Ramos E, Aumente MD, López MD, et al. Interacción farmacocinética del micofenolato de mofetilo con los inmunosupresores a los que se asocia ciclosporina y tacrolimus. *Farm Hosp.* 2001; 25 (Suppl):53.
181. Filler G, Zimmering M, Mai I. Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil are influenced by concomitant immunosuppression. *Pediatr Nephrol* 2000; 14: 100-4.

182. Holt DW, Ostraat O, Grinyo JM, et al. MMF may be given at lower doses when used in association with sirolimus in renal transplant recipients. Program and abstracts of transplant 2001. The Joint American Transplant Meeting; May 11-16,2001, Chicago, Illinois. Concurrent session 22: kidney transplantation. Abstract 444.
183. Kahan BD, Napoli KL. Role of therapeutic drug monitoring of rapamycin. *Transplant Proc* 1998; 30:2189.
184. Kahan BD, Napoli KL, Kelly PA. Therapeutic drug monitoring of sirolimus: correlation with efficacy and toxicity. *Clin Transplant* 2000; 14:1090-1097.
185. Zimmerman J, Kahan BD. Pharmacokinetic of sirolimus in stable renal transplant patients after multiple oral dose administration. *J Clin Pharmacol* 1997; 37:405-415.
186. Gregoor PHJ, de Sevaux RGL, Ligtenberg G, et al. A prospective, randomised study of withdrawal of cyclosporine or prednisona in renal transplant recipients treated with mycophenolate mofetil, cyclosporine and prednisona. 18 months follow-up data. Program and abstract of Transplant 2001, the Joint American Transplant Meeting, May 11-16,2001; Chicago, Illinois. Concurrent Session 22: Minimizing Immunosuppression. Abstracts 444.