

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE MEDICINA**



**TESIS**

**EVALUACIÓN DEL PREACONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO  
REMOTO PARA MEJORAR LA VIABILIDAD DE LOS INJERTOS  
EN TRASPLANTE HEPÁTICO Y RENAL**

**POR**

**DR. MARCO ANTONIO HERNÁNDEZ GUEDEA**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN MEDICINA**

**OCTUBRE, 2017**

**EVALUACIÓN DEL PREACONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO REMOTO  
PARA MEJORAR LA VIABILIDAD DE LOS INJERTOS EN  
TRASPLANTE HEPÁTICO Y RENAL**

**Aprobación de Tesis:**

---

**Dr. med. Homero Arturo Zapata Chavira  
Director de Tesis**

---

**Dra. C. Paula Cordero Pérez  
Co-Directora de Tesis**

---

**Ph.D. Linda Elsa Muñoz Espinosa  
Comisión de Tesis**

---

**Dr. med. Edelmiro Pérez Rodríguez  
Comisión de Tesis**

---

**Dr. med. Gerardo E. Muñoz Maldonado  
Comisión de Tesis**

---

**Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez  
Subdirector de Estudios de Posgrado**

**EVALUACIÓN DEL PREACONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO REMOTO  
PARA MEJORAR LA VIABILIDAD DE LOS INJERTOS EN  
TRASPLANTE HEPÁTICO Y RENAL**

**Presentado por:**

**Dr. Marco Antonio Hernández Guedea**

**El presente trabajo se realizó en el Servicio de Trasplantes, Servicio de Cirugía General, Unidad de Hígado y Servicio de Nefrología del Departamento de Medicina Interna de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección del Dr.med. Homero Arturo Zapata Chavira y la Co-dirección de la Dra. C. Paula Cordero Pérez**

**Director**

---

**Dr. med. Homero Arturo Zapata Chavira**

**Co-Directora**

---

**Dra. C. Paula Cordero Pérez**

## **DEDICATORIA**

A mi esposa Mireya y a mis hijos Marco, Iván y Anyelo por su apoyo incondicional, en todas y cada una de las etapas de mi vida.

Gracias por el amor, la comprensión, el cariño y la paciencia en cada uno de los momentos que tuvimos que pasar para llegar a la culminación de este escalón en mi vida profesional.

A mi nuera Elizabeth y mi nieta Samantha por ser parte de mi familia.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios

Por darme el don de la vida y la oportunidad de tener esta profesión.

A mis Padres

Don Daniel y Doña Lucila por su apoyo, amor, cariño incondicional y por haberme dado la vida.

A mi Maestro Dr. med. Edelmiro Pérez Rodríguez

Por impulsarme a la realización de este doctorado y así mismo le agradezco la confianza depositada en mi desde mis inicios en mi carrera de Trasplantes, por lo cual lo considero siempre mi mentor en cada una de mis actividades que realizo.

A mi Director de Tesis Dr. med. Homero Zapata

Gracias por haber permitido ser su asesorado. Gracias por ayudarme a cumplir esta meta y haberme dado la oportunidad de formar parte de su grupo de trabajo. Gracias por haberme facilitado todos los recursos para la realización de este trabajo.

A mi Co-directora de Tesis Dra. C. Paula Cordero

Por ser parte fundamental durante el desarrollo de este proyecto de investigación. Gracias por haberme facilitado todos los recursos para la realización de este trabajo. Gracias por su compromiso de trabajo. Con todo mi cariño.

A los Miembros de mi Comisión de Tesis

Dra.Ph.D Linda Muñoz, Dr.med. Gerardo Muñoz, por todo su tiempo y dedicación para la realización de esta tesis. Por sus enseñanzas y su apoyo en la realización de este trabajo. Gracias por la paciencia y los buenos consejos. Con toda mi estima y agradecimiento.

A mi Profesor Dr. med. Miguel Escobedo

Gracias por su amistad y confianza, así como sus enseñanzas en el camino del trasplante, por su paciencia ante mi desarrollo profesional.

A todos aquellos compañeros y amigos que de una u otra manera permitieron el desarrollo de este proyecto de investigación.

Gracias a todos

*Se puede albergar un sueño durante años y años,  
y convertirlo en realidad de repente.*

## TABLA DE CONTENIDO

<b>Capítulo</b>	<b>Página</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Enfermedad renal crónica terminal.....	1
1.2 Enfermedad hepática terminal.....	3
1.3 Lesión por isquemia reperfusión.....	4
1.4 Prevención de la lesión por isquemia reperfusión.....	7
1.4.1 Preacondicionamiento isquémico.....	8
1.4.1.1 Preacondicionamiento isquémico remoto.....	9
1.5 Trasplante de órganos y citocinas.....	16
1.6 Disfunción del injerto renal y hepático.....	17
1.7 Donantes no óptimos o marginales.....	18
1.8 JUSTIFICACIÓN.....	19
1.9 ORIGINALIDAD.....	20
1.10 Objetivo general.....	20
1.11 Objetivos específicos.....	20
<b>II. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>22</b>
2.1 Tipo de estudio.....	22
2.2 Población de estudio.....	22
2.2.1 Criterios de inclusión.....	22
2.2.2 Criterios de exclusión.....	24
2.2.3 Asignación de tratamientos.....	25



2.2.4 Procedimiento de precondicionamiento isquémico remoto.....	25
2.2.5 Revisión de expedientes clínicos.....	26
2.2.6 Esquemas de inmunosupresión.....	27
2.2.7 Valoración de eficacia de tratamiento.....	27
2.3 Procedimientos de laboratorio.....	28
2.3.1 Obtención de sangre periférica.....	28
2.3.2 Recolección y preparación de muestras de orina.....	28
2.3.3 Determinación de parámetros bioquímicos en suero.....	29
2.3.4 Determinación de parámetros hematológicos.....	29
2.3.5 Determinación de citocinas.....	29
2.4 Análisis estadístico.....	30
III. RESULTADOS.....	31
3.1 Trasplante hepático.....	31
3.1.1 Características clínicas de donadores y receptores.....	31
3.1.2 Mediadores inflamatorios en pacientes con TH con y sin PIR.....	31
3.1.3 Parámetros hematológicos en pacientes con TH con y sin PIR.....	33
3.1.4 Parámetros bioquímicos en pacientes con TH con y sin PIR.....	35
3.2 Trasplante renal.....	38
3.2.1 Características clínicas de donadores y receptores.....	38

<b>3.2.2 Mediadores inflamatorios en pacientes con TR con y sin PIR.....</b>	<b>40</b>
<b>3.2.3 Parámetros hematológicos en pacientes con TR con y sin PIR.....</b>	<b>40</b>
<b>3.2.4 Parámetros bioquímicos en pacientes con TR con y sin PIR.....</b>	<b>41</b>
<b>3.2.5 Tratamiento inmunosupresor y tasa de filtración glomerular estimada.....</b>	<b>41</b>
<b>IV. DISCUSIÓN.....</b>	<b>45</b>
<b>V. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....</b>	<b>51</b>
<b>5.1 Conclusiones.....</b>	<b>51</b>
<b>5.2 Perspectivas.....</b>	<b>52</b>
<b>VI. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>53</b>
<b>Resumen Autobiográfico.....</b>	<b>67</b>

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	<b>Mediadores inflamatorios en pacientes con trasplante hepático con y sin PIR.....</b>	<b>32</b>
<b>2</b>	<b>Parámetros hematológicos en pacientes con trasplante hepático con y sin PIR.....</b>	<b>34</b>
<b>3</b>	<b>Parámetros bioquímicos en pacientes con trasplante hepático con y sin PIR.....</b>	<b>36</b>
<b>4</b>	<b>Pruebas de función hepática en pacientes con trasplante hepático con y sin PIR.....</b>	<b>37</b>
<b>5</b>	<b>Características clínicas de los 29 donadores y receptores</b>	<b>39</b>
<b>6</b>	<b>Mediadores de respuesta inflamatoria en trasplante renal entre grupo control y grupo PIR.....</b>	<b>42</b>
<b>7</b>	<b>Parámetros hematológicos en trasplante renal entre grupo control y grupo PIR.....</b>	<b>43</b>
<b>8</b>	<b>Parámetros bioquímicos y electrolitos en trasplante renal entre grupo control y grupo PIR.....</b>	<b>44</b>
<b>9</b>	<b>Tasa de filtración glomerular estimada utilizando la fórmula Cockcroft-Gault.....</b>	<b>44</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	<b>Mecanismos del preconditionamiento isquémico remoto</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>Asignación de tratamientos y procedimiento para PIR</b>	<b>26</b>

## ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

AAA	aneurisma de aorta abdominal
AST	aspartato animotransferasa
ALT	alanino aminotransferasa
BUN	nitrógeno de la urea
Cr	creatinina
CGRP	péptido relacionado con el gen de la calcitonina
D	días
ET-1	endotelina 1
ERCT	enfermedad renal crónica terminal
ERO	especies reactivas de oxígeno
FCT $\beta$	factor de crecimiento transformante beta
FCH	factor de crecimiento de hepatocitos
FNT $\alpha$	factor de necrosis tumoral alfa
FEC-GM	factor estimulante de colonias granulocitos macrófagos
FIH-1 $\alpha$	factor inducible por hipoxia 1 alfa
FPI	falla primaria del injerto
FG	filtrado glomerular
GGT	gamma glutamil transpeptidasa
HO-1	hemo-oxigenasa 1
IMC	índice de masa corporal
IM	infarto del miocardio

IL1 $\beta$	interleucina 1 beta
IL6	interleucina 6
IL8	interleucina 8
IL10	interleucina 10
H	horas
INR	relación normalizada internacional
kDa	kilodaltons
LIR	lesión por isquemia reperfusión
LDH	lactato deshidrogenasa
mm/Hg	milímetros de mercurio
min	minutos
NTA	necrosis tubular aguda
ON	oxido nítrico
PI	preacondicionamiento isquémico
PIR	preacondicionamiento isquémico remoto
TR	trasplante renal
TH	trasplante hepático
%	porcentaje

## **RESUMEN**

**Dr. Marco Antonio Hernández Guedea**

**Fecha de Graduación: 2017**

**Universidad Autónoma de Nuevo León**

**Facultad de Medicina**

**Título de estudio: EVALUACIÓN DEL PREACONDICIONAMIENTO  
ISQUÉMICO REMOTO PARA MEJORAR LA VIABILIDAD  
DE LOS INJERTOS EN TRASPLANTE HEPÁTICO Y RENAL**

**Número de páginas: 64**

**Candidato para el Grado de Doctor en Medicina**

**Área de estudio: Ciencias de la Salud**

**Propósito y Método del Estudio:** El trasplante renal (TR) como en el trasplante hepático (TH) se han consolidado como el tratamiento de elección para la mayoría de los pacientes con insuficiencia renal crónica terminal y con enfermedades hepáticas terminal es en ambos trasplantes la lesión por isquemia reperusión (LIR) es inherente. El preacondicionamiento isquémico remoto (PIR) en TH y TR ha sido surgido como una estrategia para disminuir LIR con resultados controvertidos. Por lo que, el propósito de la presente investigación fue evaluar el efecto del PIR sobre LIR en el injerto hepático y renal en los receptores a través de medición de la función del injerto y diversos mediadores inflamatorios. Fue un estudio clínico, experimental, longitudinal, prospectivo, correlacional, comparativo y aleatorio. Se incluyeron pacientes que fueron sometidos a TR o TH de acuerdo con criterios de inclusión y exclusión y que estuvieron de acuerdo en participar en

el protocolo. El PIR fue realizado en los donantes cadavéricos mediante la aplicación de un torniquete neumático en ambos muslos por 10 min, seguido de 10 min de reperfusión. Se determinaron la interleucina1 (IL1 $\beta$ ), interleucina6 (IL6), factor de necrosis tumoral alfa (FNT $\alpha$ ), factor de crecimiento de epitelio vascular (FCEV) y la molécula de adhesión intracelular-1(ICAM-1), parámetros hematológicos y bioquímicos en diversas fases: fase R1 pre-laparotomía del donante, fase R2: 90 minutos posterior a la reperfusión del injerto, a las 12, 24, 48 y 72 h post trasplante y a los 7, 15, 30 días, y 3 meses pos-trasplante.

**Contribuciones y Conclusiones:** De agosto del 2013 a agosto del 2015, se incluyeron 10 receptores de TH, 5 controles (C) y 5 con PIR y 29 receptores de TR, 12 controles (C) y 17 con PIR. En TH, los donantes fueron masculinos 4(40%) y femeninos 6(60 %), el promedio de edad fue de 41.3  $\pm$ 14.6 años y en ambos grupos no tenían criterios expandidos, la causa del fallecimiento fue trauma cráneo encefálico 46%, evento cerebro vascular 45% e hipoxia cerebral 9%. Los receptores fueron masculinos 6(60%) y femeninos 4(40 %). El promedio de edad fue de 59  $\pm$  9.7 años, con IMC de 26.1 $\pm$  5.7, un valor medio de MELD de 15 y clasificación Child Pugh B (9 pacientes) y C (1 paciente). La etiología de la cirrosis hepática fue: alcohólica 3(30%), esteatohepatitis no alcohólica 3(30%), autoinmune 1(10%), hepatitis por virus C 2 (20%) y cirrosis biliar secundaria 1(10%). El tiempo promedio de isquemia fría fue de 4.1 h y el promedio de la fase anhepática fue de 49 min. No se tuvo ningún caso de falla primaria del injerto o pobre función inicial del injerto así como de rechazo agudo. Se encontró diferencia



significativa entre los grupos en los siguientes mediadores inflamatorios y fases: IL-6 en PR, 24H y 72H; FNT $\alpha$  en 7D, 15D y 30D e ICAM-1 en la mayoría de las fases, siendo valores más altos de cada uno de estos mediadores en el grupo que recibió órganos sometidos a PIR; no se presentó diferencia significativa en IL-1 y FCEV en todas las fases de estudio. En TR, los donantes tenían una edad media de  $41,3 \pm 14,9$  años; 41,2% eran hombres y 58,8% mujeres. Las causas de muerte cerebral fueron: un evento vascular cerebral (45,6%), lesión cerebral traumática (45,4%) e hipoxia cerebral (9%). Al evaluar a los donantes de acuerdo con el grupo de control vs grupo PIR, no se encontró diferencia significativa entre los parámetros evaluados. En cuanto a los receptores renales, se evaluaron 29 pacientes, 20 hombres (69%) y 9 mujeres (31%) con una edad promedio de  $52 \pm 12$  años y un índice de masa corporal (IMC) de  $26.6 \pm 4.7$  kg/m<sup>2</sup>. De éstos, 12 fueron asignados aleatoriamente al grupo control (41%) y 17 al grupo PIR (59%). La etiología de los pacientes con enfermedad renal terminal fue: diabetes mellitus en 10 (34.4%), hipertensión en 7 (24.1%), glomerulonefritis crónica en 3 (10,3%), enfermedad obstructiva en 3 (10.3%), enfermedad renal poliquística en 2 (6,8%) y enfermedad renal idiopática en 4 (13.7%). El tiempo de isquemia fría de los injertos renales fue de  $9.3 \pm 3.6$  h. No se observó rechazo agudo del injerto renal en ninguno de los grupos de estudio hasta el seguimiento (3 meses). Al evaluar a los receptores de acuerdo con el grupo de control vs grupo PIR, no se encontró diferencia significativa entre los parámetros evaluados.

**Conclusiones:**

En este estudio el PIR en TH disminuyo el daño por LIR, aunque el mayor efecto se observó después de las 72 h. En TR, el PIR no mejoró la TFGe, ni la creatinina sérica; sin embargo, modifica la respuesta inflamatoria en receptores de TR.

---

Director de Tesis

Dr.med. Homero Arturo Zapata Chavira

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

El trasplante renal (TR) y trasplante hepático (TH) es actualmente una opción terapéutica efectiva para la mayoría de los pacientes con insuficiencia renal crónica terminal y con enfermedades hepáticas terminales (1, 2). Aunque en los últimos años se han desarrollado mejoras en los diferentes aspectos relacionados con la cirugía de trasplantes de órganos, como son la selección de candidatos, las soluciones de preservación, las nuevas técnicas quirúrgicas y la inmunosupresión; el mayor factor limitante para los trasplantes es la falta de donantes, de manera que no todos los pacientes pueden ser trasplantados o muchos fallecen en espera de un injerto (1, 2). También el perfil de los donantes se ha modificado, los donantes jóvenes fallecidos por trauma craneoencefálico han dado paso a donantes de edad avanzada o con patologías crónicas (donantes marginales o subóptimos), los injertos de estos donantes tienen mala función inicial y corta sobrevida (3, 4).

### **1.1 Enfermedad renal crónica terminal**

La enfermedad renal crónica terminal (ERCT) es un problema de salud pública a nivel mundial, el número de pacientes afectados se encuentra en aumento, como consecuencia cada vez es mayor la necesidad de recurrir a procedimientos de diálisis o TR (5).

La ERCT se define como una disminución en la función renal, expresada por un filtrado glomerular (FG) o una depuración de creatinina estimada  $< 60 \text{ ml/ min/1,73 m}^2$ , o como la presencia de daño renal en ambos casos de forma persistente durante al menos 3 meses. El daño renal se diagnostica habitualmente mediante marcadores en vez de por una biopsia renal, por lo que el diagnóstico de ERCT, ya se establezca por un FG disminuido o por marcadores de daño renal, puede realizarse sin conocimiento de la causa.

El principal marcador de daño renal es una excreción urinaria de albúmina o proteínas elevada. La valoración del FG es el mejor índice para evaluar la función renal. El término de ERCT se ha utilizado fundamentalmente para referirse a la situación de iniciar tratamiento sustitutivo de la función renal y corresponde a un estadio 5 en la clasificación actual (5).

Las causas de ERCT son múltiples, y han ido cambiando con el tiempo. Anteriormente la glomerulonefritis era considerada la causa más frecuente de ERCT, sin embargo la nefropatía diabética ha llegado a ocupar el primer lugar, sobre todo en los países desarrollados, seguido por la nefroesclerosis hipertensiva y en tercer lugar se coloca la glomerulonefritis. El TR es considerado como el tratamiento de elección ya que ha demostrado ser el mejor tratamiento de la ERCT en cuanto a supervivencia, calidad de vida, menores complicaciones y mejor relación costo beneficio frente a la diálisis. La mortalidad en pacientes en hemodiálisis es aproximadamente 14,5% comparada con 1,5% en los receptores de trasplante renal (5).

El TR con éxito es en la actualidad y desde hace años la terapia de elección para la mayoría de las causas de insuficiencia renal en la que está indicado. Mejora la calidad de vida al prescindir de la dependencia de la diálisis y de las dietas rigurosas, aumenta la supervivencia de los pacientes y es el tratamiento más económico cuando se compara con la diálisis. Es un procedimiento rutinario y su aplicabilidad viene limitada por la disponibilidad de riñones en relación con la demanda creciente de pacientes que lo precisan. Este desequilibrio entre pacientes en lista de espera de TR y la disponibilidad de riñones de cadáver es mayor cada año.

## **1.2 Enfermedad hepática terminal**

El TH es actualmente una opción terapéutica efectiva para pacientes que sufren enfermedades hepáticas crónicas en fase terminal o insuficiencia hepática aguda (6). Entre las enfermedades susceptibles de trasplante hepático encontramos la insuficiencia hepática por hepatitis crónica o cirrosis de cualquier etiología, la insuficiencia hepática aguda grave, algunos tumores hepáticos, las anomalías hepáticas congénitas, las enfermedades genéticas y los trastornos metabólicos. Clásicamente se ha utilizado como indicadores del TH, aquellas manifestaciones clínicas que ponen en peligro inminente y a corto plazo la vida del paciente: encefalopatía hepática, ascitis refractaria, colangitis recurrente, peritonitis bacteriana espontánea, sangrado por varices esofágicas, síndrome hepatorenal, coagulopatías, hipoalbuminemia, hiperbilirrubinemia (6).

Un criterio utilizado para determinar el tiempo adecuado para el TH es la clasificación de Child-Pugh(7) esta clasificación es un marcador pronóstico de la severidad de la enfermedad, sin embargo no considera otros factores importantes como son la etiología de la hepatopatía y la función renal.

La supervivencia a los 3 años en pacientes con estado funcional A es mayor del 90%, mientras que en los pacientes con Child C la sobrevida a los 3 años es del 30%.

La indicación del TH se establece a partir del grado B y C. El MELD, (por sus siglas en inglés: Model for End Stage Liver Disease) (8) es un modelo matemático de predicción de la sobrevida de una persona con enfermedad hepática basado en simples valores de laboratorio rutinarios (bilirrubina, creatinina (Cr), Internacional Normalized ratio (INR), es más objetivo y más preciso que la clasificación de Child-Pugh, con una puntuación por debajo de 18 el riesgo de mortalidad que ofrece el TH es mayor a la propia enfermedad

dejada a su evolución, en cambio con un MELD entre 18 y 38 el riesgo de mortalidad con el TH es menor.

### **1.3 Lesión por isquemia reperfusión**

Lesión por isquemia reperfusión (LIR) se puede presentar como consecuencia de un infarto, un estado de shock circulatorio de diferentes etiologías, o como resultado de ciertas cirugías vasculares, ya sea él, by-pass o los trasplante de órganos (9).

La LIR que se presenta en el trasplante de órganos es un proceso complejo y multifactorial, numerosos mediadores y una variedad de células interactúan, dando lugar a extenso daño tisular. La LIR una de las principales causas del retraso en la función inicial y de fallo del injerto de renal y hepático (10,11).

La LIR es el daño que sufre los órganos durante el proceso del trasplante, desde la extracción en el donante hasta el implante y se manifiesta en el momento de la revascularización del órgano en el receptor. En la actualidad muchas de las investigaciones en el campo del trasplante de órganos van encaminadas a comprender los mecanismos responsables de la LIR, la meta es desarrollar nuevas estrategias terapéuticas que nos permitan disminuir esta lesión y minimizar así el riesgo de disfunción del injerto (10,11).

El almacenamiento en frío y la reperfusión son pasos inevitables durante el proceso del trasplante, de modo que todos los injertos sufren algún grado de LIR. A nivel hepático la cascada de acontecimientos implican la micro-vasculatura (células endoteliales sinusoidales), las células de Kupffer, las células de Ito, los hepatocitos y los conductos biliares (12).

En los últimos años se están realizando importantes avances en la comprensión de los mecanismos a través de los cuales la isquemia lesiona el injerto renal y condiciona una fase postrasplante de disfunción. Existen dos agresiones principales: la necrosis celular directa, producida igualmente por la isquemia fría y caliente; la apoptosis celular, facilitada durante la fase de isquemia y activada definitivamente en el momento de la revascularización, la necrosis tubular aguda resultante origina una reducción eventual de la masa de nefronas, contribuyendo a la disfunción del injerto por hiperfiltración, esclerosis glomerular, proteinuria e hipertensión (11).

La LIR puede incrementar el riesgo de disfunción del injerto a través del rechazo. Actuales paradigmas de la patogénesis del rechazo crónico enfatizan la importancia de la activación endotelial de citocinas y factores de crecimiento, probablemente instigados por episodios de rechazo agudo (11).

En el donante, durante la procuración de los órganos, la isquemia fría que se aplica intencionalmente para reducir la actividad metabólica de las células tiene un efecto sustancial sobre la función del injerto. La isquemia caliente comienza en el receptor al implantar los órganos y tiene un impacto negativo adicional sobre los injertos, finalmente la función del injerto se agrava más después de la reperusión. La fisiopatología de la lesión LIR no es comprendida en su totalidad, la lesión del endotelio vascular, la respuesta inmune, los mediadores oxidativos, y varias vías de la muerte celular juegan un papel importante. Una variedad de mediadores inflamatorios han sido implicados, tales como las especies reactivas del oxígeno (ERO), mediadores inflamatorios como el factor de necrosis tumoral alfa ( $\text{FNT}\alpha$ ), interleucina 6 (IL6), interleucina 1 (IL-1), factor de crecimiento transformante beta ( $\text{FCT-}\beta$ ), -interferón, endotelina -1 (ET -1), y diversos

factores de crecimiento. Por otra parte, el complemento y otras citocinas son también liberadas, lo que conduce a la quimiotaxis y activación de leucocitos. Las moléculas de adhesión como la molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1) y la P-selectina también participan en la LIR. Las EROS actúan directamente sobre muchos de los componentes del cito esqueleto celular ocasionando graves lesiones (12).

Después de la LIR se produce daño directo al endotelio y al tono vascular, como resultado se produce un desequilibrio entre los mediadores de la vasoconstricción y la vasodilatación, tales como óxido de ET-1 y el óxido nítrico (ON). La lesión endotelial causa inflamación celular, originando un estrechamiento de la luz vascular, reduciendo aún más el flujo sanguíneo. Por último, los principales reguladores de la apoptosis, las caspasas son activadas, causando una mayor muerte celular (13).

Posterior al TH se presenta un significativo incremento en los índices químico-clínicos de citólisis y colestasis. Los indicadores de citólisis son representados por las aminotransferasas y la deshidrogenasa láctica (DHL), los cuales se elevan considerablemente al reperfundir el injerto hepático, el pico alcanza su máximo entre el 2 y 6 día postrasplante, teniendo a normalizarse al final de la primera semana. En cuanto a los índices de colestasis (bilirrubinas y gamma glutamil transpeptidasa (GGT)) estos suelen aumentar después de las primeras 24 horas de la cirugía, para retornar a la normalidad al final de la tercera semana (14).

A nivel renal como consecuencia de la LIR se produce una necrosis tubular aguda (NTA) en mayor a menor grado, la cual puede afectar la función y viabilidad del órgano, incluso llegar a necrosis cortical con la pérdida definitiva de este. La NTA consiste en la muerte de las células de los túbulos renales, estas liberan sus enzimas al exterior



pudiendo ser marcadores de dicha lesión y de la viabilidad del órgano. Actualmente es la causa más frecuente de función renal retardada. Su duración varía desde unos días, hasta semanas si se asocia a otros insultos (nefrotoxicidad, isquemia o rechazo). Su presencia tiene implicaciones inmunológicas, los pacientes con NTA tienen una incidencia mayor de rechazo agudo que aquellos con función renal inmediata. La lesión por isquemia reperusión produce una mayor expresión de antígenos leucocitarios humanos en el injerto, liberándose moléculas co-estimuladoras y de adhesión, facilitando la lesión inmunológica (15).

Otros factores que favorecen la NTA son la edad del donante y el tiempo de isquemia fría, a mayor edad y mayor tiempo de isquemia mayor es la incidencia de NTA, otros factores relacionados con el donante son la inestabilidad hemodinámica, el uso de drogas vaso activas y el paro cardio-respiratorio del donante(16).

Como ya se describió la gravedad la LIR es muy variable y depende de muchos factores, principalmente la edad y el estado hemodinámica de los donadores, el tiempo de isquemia fría y en particular el tiempo de isquemia caliente (tiempo transcurrido para realizar las anastomosis vasculares) (16).

#### **1.4 Prevención de la lesión por isquemia reperusión**

A pesar de que las soluciones de preservación utilizadas en la práctica clínica contienen diferentes sustancias que intentan prevenir la LIR asociada al trasplante de órganos, esta lesión continúa siendo un problema sin resolver en la práctica clínica. Se han descrito varios procedimientos hepato-protectores; Selzner y Clavien en el 2003 los clasificaron en procedimientos quirúrgicos, farmacológicos y terapia génica(17). En la actualidad muchas

de las investigaciones en el campo del trasplante van encaminadas a comprender los mecanismos responsables de la LIR; la meta es desarrollar nuevas estrategias terapéuticas que nos permitan disminuir esta lesión y minimizar así el riesgo de disfunción del injerto; ninguna de los 3 tipos de estrategias ha resultado ser totalmente eficaz en la prevención de la LIR asociada al trasplante.

Dentro de los procedimientos quirúrgicos tenemos al preacondicionamiento(PI) descrito(18) en 1986 y al preacondicionamiento isquémico remoto (PIR) (19).

#### **1.4.1 Preacondicionamiento isquémico**

El PI es un fenómeno adaptativo, producido por cortos periodos de isquemia reperusión que induce una marcada resistencia a un subsiguiente y más prolongado periodo de isquemia, esta estrategia quirúrgica protege al órgano frente a la LIR.

Este fenómeno se describió inicialmente en el miocardio por Murrly y cols (19) en 1986; en estos estudios el PI redujo la gravedad de un infarto inducido al prolongar la fase reversible del daño isquémico en los miocitos. Estudios posteriores han confirmado la eficacia de este mecanismo de protección en otros órganos como el cerebro, músculo estriado, intestino e hígado.

En estudios experimentales con modelos de trasplante hepático demostraron el impacto favorable del PI en la regeneración hepática, al incrementar los niveles del factor de crecimiento de los hepatocitos (FCH) y disminuir la gravedad de la LIR (20).

Se ha demostrado que el PI disminuye la LIR en pacientes sometidos a resecciones hepáticas mayores. Clavien y cols realizaron 124 resecciones hepáticas en 2 estudios utilizando un periodo de isquemia de 10 min y 10 min de reperusión antes de la isquemia

prolongada; ellos reportaron que los niveles de aspartato amino transferasa (AST) y alanino amino transferasa (ALT) fueron menores que en el grupo control (21,22).

También se han reportado varios trabajos de PI en pacientes con TH (23-33), ningún estudio clínico aleatorizado de PI ha demostrado tener un impacto benéfico significativo en más de un parámetro clínico. El último estudio se reportó en el año 2010 por Paola Andreani y cols (34), ellos realizaron 44 TH de donantes vivos, la mitad fueron preacondicionados, no encontraron diferencias entre los marcadores de la LIR, la función del injerto, o algún otro beneficio clínico.

A nivel experimental (35-37) se ha demostrado los mecanismos moleculares y la utilidad de PI contra el daño renal causado por la LIR. Wever y cols (38) realizaron un meta-análisis de 58 estudios experimentales, encontraron que el PI redujo los niveles de Cr, nitrógeno de la urea (BUN), además el daño histopatológico fue menor con PI. El PI es una potente estrategia renoprotector que aún no ha sido aplicada con éxito a la práctica clínica, a pesar de los resultados prometedores de estos estudios.

#### **1.4.1.1 Preacondicionamiento isquémico remoto**

El PIR es una alternativa terapéutica que ha sido utilizada a nivel experimental para mejorar la función renal y hepática, y disminuir los cambios inflamatorios post-reperfusión. Hasta la fecha se han publicado pocos estudios clínicos de PIR, el cual ofrece protección a un órgano o tejido distante.

El fenómeno de PIR fue descrito en 1993 por Przyklenk y cols (18). Estos autores realizaron la inducción de breves episodios de isquemia y reperfusión en la arteria

circunfleja y observaron que con esta maniobra se reducía el tamaño del infarto del miocardio (IM) causado por la oclusión de la arteria descendente anterior izquierda. Posteriormente esta forma de protección intramiocárdica se aplicó a otros órganos no cardíacos, se demostró que la isquemia renal o intestinal protegían al disminuir el tamaño de un IM antes de la oclusión de la coronaria (39,40). El fenómeno de la PIR se ha extendido a diferentes órganos y tejidos, y se ha convertido en una estrategia de protección contra los efectos nocivos de la LIR.

Los estudios experimentales de Birnbaum y cols realizados en 1997 (41) demostraron que al restringir el flujo sanguíneo de las extremidades inferiores, antes de ocluir de la arteria coronaria reducían en un 65% el tamaño del IM; en otro estudio experimental el PIR también disminuyó la frecuencia de arritmias post-reperfusion, probablemente se debió a la liberación de un neurotransmisor (42).

El mecanismo por el que un breve episodio de isquemia -reperusión de un órgano ofrece protección frente a un insulto posterior de isquemia en un órgano o tejido a distancia aún no está claro, sin embargo se ha demostrado que se requiere de la activación de ciertas proteínas (43) cinasas (JNK/Erk, MAPk p/38).

Tres hipótesis han sido propuestas para explicar los mecanismos del PIR (44) (Figura1), la hipótesis neuronal propone que el PIR en el órgano distante genera algunas sustancias endógenas (adenosina, bradicinina, péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), estas sustancias estimularían una vía neuronal local aferente y activarían vías eferentes, las cuales terminarían en el órgano distante. La hipótesis humoral propone que sustancias endógenas (opiáceos, adenosina, bradicinina, CGRP, endocannabinoides, angiotensina I) o algún otro factor humoral son generados en el órgano o tejido distante,

mediante el flujo sanguíneo son transportados al órgano blanco donde activarían a sus respectivos receptores. La tercera hipótesis propone que la isquemia transitoria y la reperfusión de un órgano o tejido provocan una respuesta sistémica de protección en el órgano remoto, al suprimir la inflamación y la apoptosis mediante la activación de MAPK p38, ERK1 / 2 y JNK.

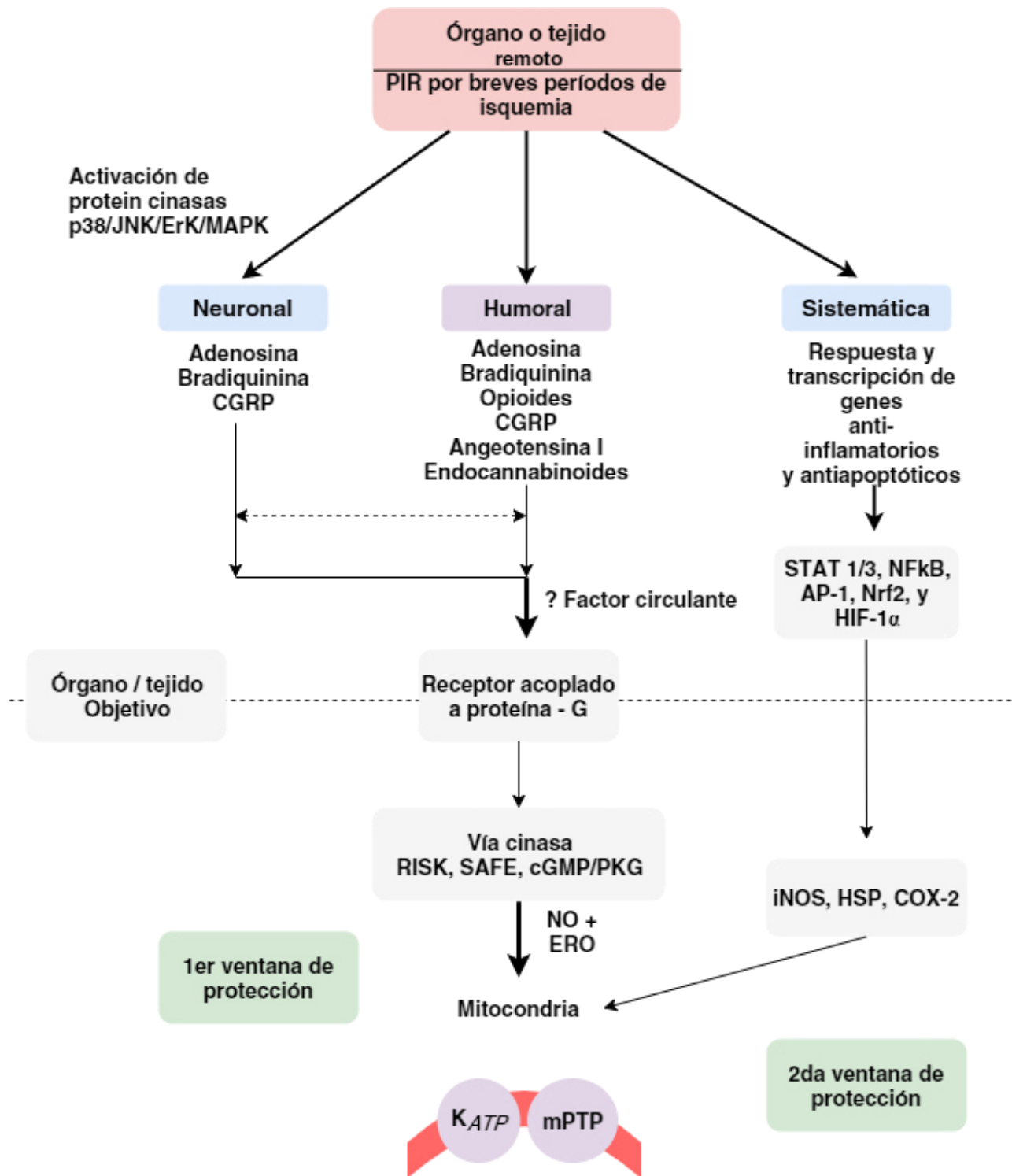


Figura 1. Mecanismos del preconditionamiento isquémico remoto.

En estudios experimentales se ha investigado el efecto del PIR sobre la respuesta inflamatoria, (45) el PIR estimula la transcripción de genes anti-inflamatorios y anti-apoptótico.

Se ha demostrado que el PIR realizado mediante la isquemia del antebrazo suprime la expresión de genes pro-inflamatorios en los leucocitos circulantes; dichos genes intervienen en la síntesis de citocinas, quimiotaxis, adhesión, migración, exocitosis, y en la apoptosis, todos fueron suprimieron dentro de los primeros 15 min del PIR y más aún después de 24 h, este fue el primer estudio de la expresión génica humana tras el estímulo del PIR(46).

Un estudio experimental reciente ha implicado al factor de transcripción inducible por hipoxia 1 alfa (FIH-1 $\alpha$ ) como mediador en el PIR (47).

La teoría humoral es apoyada por los estudios experimentales de Konstantinov y cols (48), los cuales realizaron PIR en la extremidad de un cerdo el cual fue sometido a trasplante cardiaco, el PIR fue capaz de reducir el tamaño del IM en el injerto cardiaco desnervado. Mediante estudios de proteómica se ha detectado una proteína con peso mayor de 8 kDa en ratas sometidas a una isquemia renal, este estudio apoya la teoría humoral (49).

A nivel experimental el PIR ha demostrado tener efecto benéfico en la cicatrización de las anastomosis intestinales, en el sitio de las anastomosis se presentó una menor lesión con mejor microcirculación de la mucosa (50).

El primer estudio de PIR realizado en humanos se efectuó en voluntarios sanos, a los cuales se les realizo isquemia de su extremidad superior mediante la insuflación de un torniquete neumático a una presión de 200 mm/ Hg durante 5 min con reperusión de 5 min, este ciclo se repitió tres veces (51), el PIR atenuó la disfunción endotelial en el

brazo contralateral causada por una isquemia prolongada de 20 min, con el mismo modelo experimental se demostró una protección tardía (24 - 48h) de la función.

La primera aplicación clínica exitosa del PIR fue realizada por Cheung y cols (52), ellos reportaron que 4 ciclos de PIR (5 min de isquemia) aplicados en las extremidades inferiores disminuyeron el daño miocárdico en niños sometidos a cirugías cardíaca por cardiopatías congénitas, además se redujo los requerimientos de inotrópicos, el PIR también ha sido aplicado en pacientes con enfermedad coronaria.

Recientemente se demostró en pacientes adultos sometidos a cirugía electiva de bypass coronario que tres ciclos de PIR (de 5 minutos) en el miembro superior disminuyeron el daño miocárdico, con reducción del 43% de la troponina sérica (53).

En voluntarios sanos el PIR (5 minutos de isquemia en la extremidad superior) aumento en la extremidad contralateral la saturación de oxígeno y el flujo arterial a nivel cutáneo, estudios futuros podrán demostrar la utilidad del PIR en pacientes con traumatismo de tejidos blandos (54).

El PIR también ha sido útil en la cirugía electiva de aneurismas de aorta abdominal (AAA) la cual está asociada a lesión cardíaca y falla renal aguda (55); dos ciclos de PIR (10 min) realizados mediante la oclusión de la arteria iliaca preservaron la función renal y disminuyeron el daño miocardio (reducción del 27% en la troponina sérica).

El PIR puede ser una estrategia prometedora para prevenir la LIR a nivel renal. En un estudio experimenta se demostró que la isquemia remota es más eficaz si se aplica de forma bilateral en las extremidades inferiores, se encontró menor daño en los túbulos renales en el grupo con PIR (56).



En la actualidad hay pocos estudios del PIR sobre la LIR a nivel hepático o renal y no se ha reportado ningún estudio clínico de trasplante renal o hepático realizado con injertos sometidos PIR.

El ON y la liberación de adenosina han demostrado que regulan la función endotelial y aumentan el flujo sanguíneo en el hígado sometido a PI (57).

Un nuevo modelo experimental de PIR fue realizado por Abu-Amara y cols (58), la isquemia fue realizada mediante pinzamiento directo de los vasos femorales (6 ciclos de 4 min de isquemia y 4 de reperfusión), la isquemia hepática se efectuó en el 70% de la masa hepática durante 40 min. Las aminotransferasas fueron más bajas en el grupo con PIR, este grupo presento una mejoría en la microcirculación hepática (mejores características ultra estructurales).

La isquemia de las extremidades puede liberar mensajeros bioquímicos, como las ERO las cuales pueden inducir estrés oxidativo y expresar hemo-oxigenasa 1 (HO-1)(59). El PIR ha demostrado que puede aumentar el flujo y perfusión sinusoidal al disminuir la adhesión de neutrófilos y la muerte celular en un modelo experimental de isquemia hepática de 45 min, el PIR disminuyo la expresión de las moléculas de adhesión endotelial a través de HO-1. Se ha demostrado que la HO-1 promueve la degradación de hem y la formación de radicales. Kanoria y cols(60) realizaron un estudio clínico en 16 pacientes que fueron sometidos a hepatectomías por metástasis de cáncer colorrectal, a 8 pacientes se les efectuó PIR mediante tres ciclos de 10 minutos de isquemia realizado en las extremidades inferiores, los pacientes de este grupo tuvieron una menor elevación de las enzimas citolíticas (AST y ALT). Aunque los ensayos clínicos iniciales del PIR se han centrado en la aplicación del aplicación del PI en las enfermedades cardíacas, el

interés de este procedimiento se ha ampliado a otras áreas de beneficio clínico potencial, como lo es la insuficiencia renal aguda, la enfermedad cerebrovascular, y finalmente en la cirugía de trasplantes de órganos (61).

### **1.5 Trasplante de órganos y citocinas**

Es conocido que las citocinas tienen un rol importante en la respuesta inmune y el proceso de inflamación en el trasplante, el balance de las citocinas pro-inflamatorias vs citocinas antiinflamatorias y FCT- $\beta$  durante el periodo inicial post trasplante parece ser decisivo para la subsecuente aceptación de los injertos. La interleucina 10 (IL10) y el FCT- $\beta$  son los principales componentes anti-inflamatorios en la respuesta alógena cuya producción estaría relacionada con la mayor supervivencia del injerto renal. Ambos mediadores disminuyen la respuesta Th1 y la liberación de mediadores inflamatorios (62).

La mayor parte de lo descrito para las citocinas en el trasplante renal es válido y se aplica para otro tipo de trasplantes, como el hígado (62).

Cordero y cols (63), investigadores de la Unidad de Hígado evaluaron la expresión de citocinas proinflamatorias IL1 $\beta$ , IL6, FNT $\alpha$ ; citocinas pro-fibrogénicas tales como FCT $\beta$  y FEC-GM (factor estimulante de colonias granulocitos-macrófagos); e interleucina 8(IL-8) en células mononucleares de sangre periférica en los pacientes que recibieron TH a corto plazo, las IL6 y FNT $\alpha$  no mostraron expresión en alguna de las fases estudiadas, la IL1 $\beta$  solo mostró expresión en la primera fase post-trasplante y el FCT $\beta$  fue la citocina que más se expresó en todas las fases monitorizadas, lo cual pudiera estar relacionado con la ausencia de rechazo agudo en esta población de pacientes.

La capacidad de producir niveles altos de determinadas citocinas podría alertar sobre la posibilidad de modificar las dosis de los inmunosupresores, considerando los efectos colaterales de dichos medicamentos, además podrían emplearse para diseñar esquemas de tratamiento inmunosupresor individualizado.

La evaluación de citocinas reguladoras de la respuesta inmune, procedimiento relativamente sencillo, podría ser de utilidad para la detección temprana del rechazo.

La determinación de citocinas habrá nuevas expectativas en los estudios de la fisiopatología del injerto renal o hepático, con la posibilidad de ser herramientas útiles para el diagnóstico no invasivo de la función de los órganos trasplantados.

### **1.6 Disfunción del injerto renal y hepático**

Hasta un 25-50% de los TR presentan disfunción inicial del injerto con oliguria o anuria sobre todo por NTA (15). Se trata de una complicación más frecuente en pacientes de alto riesgo inmunológico y en los que reciben un injerto de donante añoso sobre todo si el trasplante se ha recibido en condiciones de hipotensión y si han tenido un tiempo de isquemia fría y caliente prolongados. La ausencia de función del TR en las primeras horas tras la cirugía, a pesar de una adecuada hidratación del receptor, es usualmente diagnóstica de NTA. Habitualmente se resuelve en días, pero si la oliguria persiste en la segunda semana postrasplante se debe realizar una biopsia para descartar rechazo agudo o nefrotoxicidad por anticalcineurínicos (16).

A lo largo del seguimiento postrasplante muchos pacientes muestran un deterioro lento y progresivo de la función renal conocido como disfunción crónica del trasplante renal o disfunción crónica tardía. La disfunción crónica tardía contribuye a la pérdida anual

de un 3-5% de injertos y, si bien es una causa poco frecuente de pérdida de injerto en el primer año (< 10%), con el tiempo va aumentando su frecuencia, y supera el 30% como causa de las pérdidas a los 2 años (16).

Después del TH siempre se da alguna disfunción clínica o bioquímica; la severidad va a depender del grado de LIR hepática, esta lesión temprana recibe el nombre de disfunción primaria del injerto, la disfunción puede ir desde una pobre función del injerto (PFI) hasta la falla primaria del injerto (FPI) siendo necesario el retrasplante en este último caso (61)(64).

### **1.7 Donantes no óptimos o marginales.**

Las variables de los donante que han sido establecidas como potenciales factores de riesgo de falla de injertos son: la edad avanzada, discordancia entre sexos donante-receptor, peso elevado, grupo sanguíneo incompatible donante-receptor, causa de muerte vascular, estancia prolongada en cuidados intensivos, insuficiencia respiratoria, utilización de inotrópicos, tiempo de isquemia fría prolongado y el grado elevado de esteatosis hepática. En cuanto al receptor son factores de riesgo: la edad avanzada, y el estado pre-trasplante deteriorado. En los últimos años se han modificado los criterios de selección de órganos, la edad máxima de los donantes se ha ampliado y se utilizan injertos de donadores diabéticos o con hipertensión arterial (62)(65). La clasificación de Briseño indica que donantes tiene un mayor riesgo de desarrollar disfunción de injerto, una puntuación mayor de 3 es de mal pronóstico (62)(65).

## 1.8 JUSTIFICACIÓN

El trasplante de órganos es actualmente una opción terapéutica efectiva para pacientes que sufren enfermedades crónicas en fase terminal. Aunque en los últimos años se han desarrollado mejoras en los diferentes aspectos relacionados con la cirugía de trasplantes de órganos, como son la selección de candidatos, las soluciones de preservación, las nuevas técnicas quirúrgicas y la inmunosupresión; el mayor factor limitante para los trasplantes es la falta de donantes, de manera que no todos los pacientes pueden ser trasplantados o muchos fallecen en espera de un injerto.

La LIR es una acentuación del daño celular en un órgano isquémico después del re-establecimiento del flujo sanguíneo, se presenta en la cirugía de trasplante de órganos en mayor o menor grado, también en estados de shock o trauma con compromiso multisistémico. Para subsanar la LIR y el déficit de órganos se han adoptado diferentes estrategias, como son el fenómeno de PI y el PIR.

Hasta la fecha se han publicado pocos estudios clínicos de preacondicionamiento isquémico remoto (PIR), el cual ofrece protección a un órgano distante; se ha demostrado que la isquemia aplicada a una extremidad brinda un efecto cardioprotector en niños sometidos a cirugía cardíaca.

Por lo que la posibilidad de modular las condiciones iniciales de los órganos disponibles para trasplante (mediante la aplicación de PIR en el injerto renal y hepático del donante), podría mejorar la función inicial y viabilidad de dichos injertos.

### **1.9 ORIGINALIDAD**

Hasta la fecha se han publicado pocos estudios clínicos de preacondicionamiento isquémico remoto (PIR), el cual ofrece protección a un órgano distante; se ha demostrado que la isquemia aplicada a una extremidad brinda un efecto cardio protector en niños sometidos a cirugía cardíaca. El interés práctico de esta investigación reside en la posibilidad de modular las condiciones iniciales de los órganos disponibles para trasplante, mediante la aplicación de PIR realizado en el donante, mejorando así la función inicial y viabilidad de dichos injertos, así como establecer la participación de diversos mediadores inflamatorios, factores de crecimiento y moléculas de adhesión en dicho proceso.

### **1.10 OBJETIVO GENERAL**

Determinar si el PIR modula los mecanismos implicados en la LIR en donadores con muerte cerebral y receptores de trasplante renal y hepático a través de las citocinas proinflamatorias (FNT $\alpha$ , IL1, IL6), moléculas de adhesión intracelular (ICAM-1) y factor de crecimiento de epitelio vascular (FCEV).

### **1.11 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Evaluar los niveles sistémicos de citocinas proinflamatorias (IL1, IL6, FNT $\alpha$ ) en los donadores y receptores de trasplante renal y hepático con PIR y sin PIR en diferentes

fases: fase R1 pre-laparotomía del donante, fase R2: 90 min posterior a la reperfusión del injerto, a las 12, 24, 48 y 72 h post trasplante y a los 7, 15, 30 D y 3 meses postrasplante.

2. Evaluar los niveles sistémicos de ICAM-1 en los donadores y receptores de trasplante renal y hepático con PIR y sin PIR en diferentes fases: fase R1 pre-laparotomía del donante, fase R2: 90 min posterior a la reperfusión del injerto, a las 12, 24, 48 y 72 h post trasplante y a los 7, 15, 30 D y 3 meses postrasplante.

3. Evaluar los niveles sistémicos de Factor de Crecimiento de Epitelio Vascular (FCEV) en los donadores y receptores de trasplante renal y hepático con PIR y sin PIR en diferentes fases: fase R1 pre-laparotomía del donante, fase R2: 90 min posterior a la reperfusión del injerto, a las 12, 24, 48 y 72 h post trasplante y a los 7, 15, 30 D y 3 meses postrasplante.

## CAPÍTULO II

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### 2.1 Tipo de estudio

Este fue un estudio clínico, experimental, longitudinal, prospectivo, correlacional, comparativo y aleatorio.

#### 2.2 Población de estudio

El estudio se realizó con pacientes con enfermedad renal y hepática terminal que fueron sometidos a TR y TH y fueron atendidos en el Servicio de Nefrología y la Unidad de Hígado, respectivamente del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León. El período de valoración y reclutamiento de pacientes fue de agosto 2013 - agosto 2015.

**2.2.1 Criterios de inclusión:** Los pacientes elegibles reunieron todos los siguientes criterios de inclusión:

1. Obtención del consentimiento informado por escrito antes de realizar cualquier evaluación relacionada con el estudio. La población incluyó todos los donadores cadavéricos y receptores de TR y TH que se presentaron durante el periodo de estudio, con la aprobación del comité de ética y consentimiento informado de los receptores.
2. Hombres o mujeres  $\geq 18$  y  $\leq 70$  años de edad.



3. Donadores: Se incluyeron los donantes cadavéricos que cumplieron con los requisitos universales de donación establecidos por el Servicio de Trasplantes del Hospital Universitario y que fueron mayores de 5 años y menores de 70 años.

De los donadores se obtuvieron datos demográficos y clínicos: edad, sexo, causa de muerte encefálica, antecedentes patológicos, número de días en cuidados intensivos, vasopresores (tipo y dosis), uso de antibióticos, infecciones activas, transfusiones, todos los donantes agruparon de acuerdo a la clasificación de Briseño (subóptimos o no).

Se recopilaron los resultados de exámenes de laboratorio: grupo sanguíneo, biometría hemática completa, química sanguínea, electrolitos séricos, perfil bioquímico, tiempos de coagulación, examen general de orina, y cultivos (de orina, sangre y secreciones respiratorias), además de muestras para la determinación y expresión de citocinas proinflamatorias, moléculas de adhesión y factores de crecimiento, las cuales se realizaron en las diferentes etapas del estudio.

4. Receptores: Se incluyeron en este estudio los pacientes que requirieron de TR y TH, y que cumplieron con los criterios según el protocolo del Servicio de Trasplantes del Hospital Universitario. La técnica quirúrgica para el TR fue la habitual, trasplantando el injerto renal en sitio heterotópico; en el TH el hígado nativo fue removido con preservación de la vena cava inferior (técnica de piggy-back). Los quirófanos del Hospital Universitario contaron con el equipo y material necesario para la realización de estos trasplantes (monitores invasivos, diversos tipos de cauterios, recuperadores sanguíneos, etc).

De los receptores se obtuvieron los siguientes datos demográficos y clínicos: edad, sexo, etiología de la hepatopatía, (Child-Pugh, MELD), etiología de la nefropatía (tiempo y tipo de diálisis), antecedentes patológicos (diabetes mellitus, hipertensión arterial, obesidad, hiperlipidemias, síndromes asociados, etc.), tiempo de fase anhepática en el TH y en ambas cirugías el tiempo de isquemia fría y caliente.

Se recopilaron los resultados de exámenes de laboratorio: grupo sanguíneo, grupo sanguíneo, biometría hemática completa, perfil bioquímico, electrolitos séricos, tiempos de coagulación, depuración, examen general de orina, niveles séricos de inmunosupresores y antigenemia para CMVpp65, además de muestras sanguíneas para la determinación y expresión de citocinas pro inflamatorias, moléculas de adhesión y factores de crecimiento, las cuales se realizaron en las diferentes etapas del estudio.

### **2.2.2 Criterios de exclusión**

1. Los pacientes que fueron sometidos a TH o TR que no firmen consentimiento informado
2. Se excluyeron los receptores menores de 18 años, los que requirieron de trasplante de donante vivo, trasplante por falla hepática aguda y retrasplante renal o hepático.
3. Se excluyeron los donantes en asistolia, o los que presentaron inestabilidad hemodinámica severa (presión sistólica  $\leq 70$ mmHg por más de una hora).

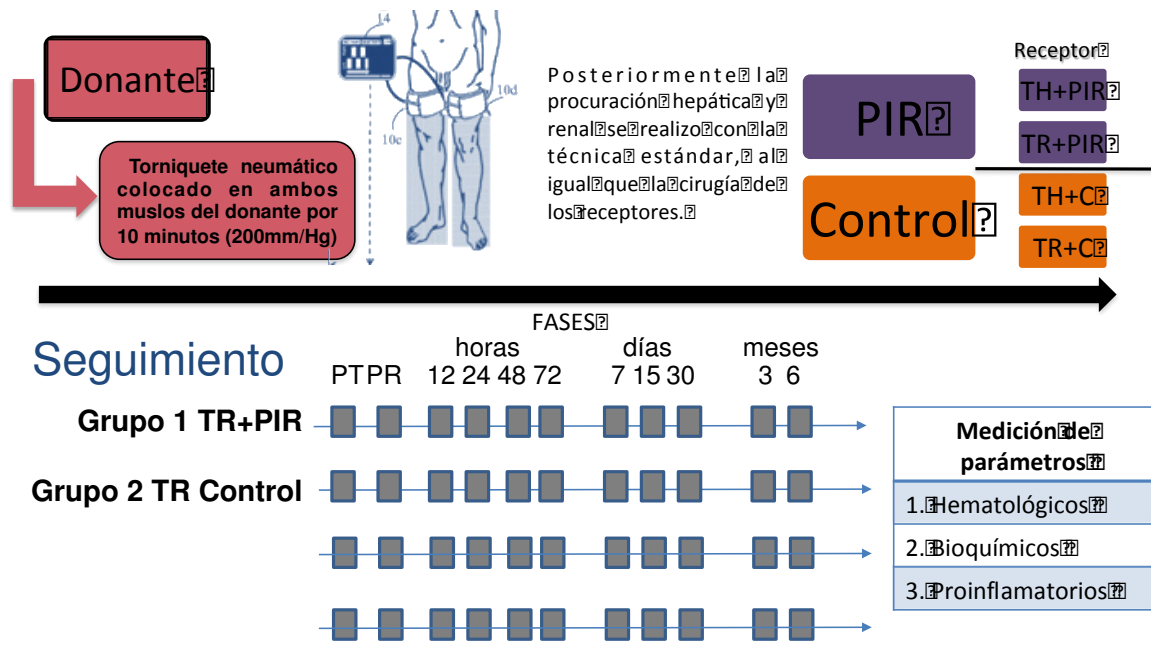
### **2.2.3 Asignación de tratamientos**

Se formaron cuatro grupos de estudio:

- 1) Grupo que incluyó pacientes con hepatopatía crónica sometidos a TH y con recepción de órgano donador sometido a PIR.
- 2) Grupo Control-TH, que incluyó pacientes con hepatopatía crónica sometidos a TH y con recepción de órgano donador no sometido a PIR.
- 3) Grupo de pacientes con enfermedad renal terminal sometidos a TR y con recepción de órgano donador sometido a PIR.
- 4) Grupo Control-TR, que incluyó pacientes con enfermedad renal terminal sometidos a TR y con recepción de órgano donador no sometido a PIR (Figura 2).

### **2.2.4 Procedimiento para PIR**

Los donantes se aleatorizaron en dos grupos, con y sin PIR. El PIR fue inducido por la oclusión del flujo sanguíneo de ambas extremidades inferiores mediante un torniquete neumático colocado simultáneamente en el tercio superior de ambos muslos por 10 minutos (200mm/hg), el cual posteriormente se desinfló, este procedimiento se efectuó inmediatamente antes de iniciar la laparotomía. Posteriormente la procuración hepática y renal se realizaron con la técnica estándar, al igual que la cirugía de los receptores (Figura 2).



**Figura 2. Asignación de tratamientos y procedimiento para PIR.**

### 2.2.5 Revisión de expedientes clínicos.

Se elaboró una base de datos en la que se incluyeron parámetros demográficos, clínicos, bioquímicos e histológicos de los pacientes, tales como: sexo, etiología de la hepatopatía, (Child-Pugh, MELD), etiología de la nefropatía (tiempo y tipo de diálisis), antecedentes patológicos (diabetes mellitus, hipertensión arterial, obesidad, hiperlipidemias, síndromes asociados, etc.), tiempo de fase anhepática en el TH y en ambas cirugías el tiempo de isquemia fría y caliente, edad, tiempo de evolución de la enfermedad, factores de riesgo, hemoglobina, leucocitos, plaquetas, proteínas totales, albúmina, AST, ALT, GGT, FA, LDH, bilirrubinas, colesterol, triglicéridos, glucosa, BUN, creatinina sérica, ácido úrico, cloro, sodio, potasio, calcio, fósforo y magnesio, fármacos y dosis de inducción, complicaciones generales, biopsia (datos histológicos), marcadores serológicos para descartar otros virus (AgsHB, Anticore total, anti-HIV), niveles séricos de

inmunosupresores y antigenemia para CMVpp65, además de los resultados de la determinación y expresión de citocinas proinflamatorias, moléculas de adhesión y factores de crecimiento, las cuales se realizaran en las diferentes etapas del estudio.

### **2.2.6 Esquemas de Inmunosupresión.**

El objetivo primario de la inmunosupresión fue evitar el rechazo agudo en las primeras etapas del trasplante y posteriormente el rechazo crónico del injerto, minimizando en lo posible los efectos secundarios de los inmunosupresores. Para establecer el mejor tratamiento inmunosupresor se consideraron los siguientes factores: características de los donadores, de los receptores, evolución clínica inicial, y evolución a largo plazo. Para conseguir este objetivo se realizaron los protocolos establecidos por el Servicio de Trasplantes (2,3): Trasplante Hepático: Inducción con esteroides, mantenimiento con anticalcineurínicos (tacrolimus o ciclosporina), micofenilato de mofetil y esteroides. Si hay daño renal o el diagnóstico es hepatocarcinoma se utilizara inhibidor de mTOR (Sirolimus). Trasplante Renal: Inducción con esteroides y basiliximab, mantenimiento con anticalcineurínicos (tacrolimus o ciclosporina), micofenilato de mofetil y esteroides. Cuando hubo riesgo inmunológico o se presentó NTA se utilizó timoglobulina.

### **2.2.7 Valoración de eficacia de tratamientos.**

La ausencia de función del TR en las primeras horas tras la cirugía, a pesar de una adecuada hidratación del receptor, fue diagnóstica como NTA, se descartó la trombosis arterial o venosa mediante US Doppler efectuado en las primeras 24 horas del trasplante, cuando se requirió se solicitó una gammagrafía del injerto renal. Si persistía la oliguria

p en la segunda semana postrasplante se realizó una biopsia para descartar rechazo agudo o nefrotoxicidad por anticalcineurínicos.

La función hepática dependió de la clínica y laboratorio, un aumento severo de transaminasas, ictericia progresiva, coagulopatía severa, hemorragia postoperatoria, insuficiencia renal severa, necesidad de ventilación mecánica, acidosis metabólica y shock irreversible y falla multiorgánica fueron el diagnóstico de falla primaria del injerto (FPI) hepático y la requisición de un retrasplante. La PFI fue definida como retraso en la función del injerto hepático (aumento de la aminotransferasas de más de 1500 UI/L y tiempo de protrombina superior a 20 segundos).

### **2.3 Procedimientos de laboratorio.**

#### **2.3.1 Obtención de sangre periférica.**

Se utilizaron las técnicas convencionales de extracción de sangre con anticoagulante etilendiamino tetraacético para la biometría hemática, con citrato de sodio para tiempos de coagulación y obtención de suero a partir de las muestras de sangre coagulada y se almacenaron en 5 alícuotas de 1 ml a -20°C hasta su uso para las diversas pruebas bioquímicas, así como para los mediadores inflamatorios, moléculas de adhesión y factores de crecimiento descritos para este estudio.

#### **2.3.2 Recolección y preparación de muestras de orina.**

Se utilizó la técnica convencional de obtención de orina de una micción y se tomó y procesó el análisis general de orina, depuración de creatinina y proteínas de 24 horas según se ameritaba para cada paciente.

### **2.3.3 Determinación de parámetros bioquímicos en suero.**

Las pruebas serológicas se realizaron en los equipos ILab 300 Plus Clinical Chemistry System el cual es un sistema automático de química húmeda. Estas pruebas fueron: Determinación de química sanguínea (Glucosa, Urea, Creatinina, Acido Úrico), pruebas de función hepática (Proteínas totales, Albumina, Colesterol, Triglicéridos, AST, ALT, FA, Bilirrubinas) y electrolitos séricos. Estos fueron medidos utilizando kits comerciales disponibles y de uso rutinario en el laboratorio de la Unidad de Hígado del Hospital Universitario.

### **2.3.4 Determinación de parámetros hematológicos.**

La determinación de la biometría hemática se realizó utilizando las muestras de sangre colectadas en los tubos con EDTA. Se determinaron en el equipo Cell Dyn 1700, Abbott. Para los tiempos de coagulación se utilizó el equipo BFT II Dade Behring y se determinaron el tiempo de protombina (TP, dependiente de Vitamina K) y Tiempo de Tromboplastina (TTP,)

### **2.3.5 Determinación de citocinas.**

Los niveles de las citocinas pro inflamatorias (FNT $\alpha$ , IL1, IL6), la molécula de adhesión intracelular (ICAM-1) y el Factor de Crecimiento de Epitelio Vascular(FCEV) se realizaron por la técnica de ELISA para cada una de estas citocinas por kits comercial de R&D Systems.

## **2.4 Análisis estadístico**

Los datos fueron expresados como media  $\pm$  desviación estándar ( $x \pm D.E.$ ) y se analizaron por mediante una prueba T student, para determinar la comparación y la diferencia entre los grupos con el paquete estadístico SPSS 22.0 (SPSS Inc. Software, Chicago, Illinois, EE.UU.) y un valor de  $P < 0.05$  fue considerado estadísticamente significativo.



## **CAPITULO III**

### **RESULTADOS**

#### **3.1 Trasplante hepático.**

##### **3.1.1 Características de los donadores y receptores**

El número de pacientes incluidos fue de 10 pacientes sometidos a TH (5 con PIR y 5 sin PIR). Los donantes fueron masculinos 4 (40%) y femeninos 6 (60 %), el promedio de edad fue de  $41.3 \pm 14.6$  años y en ambos grupos no tenían criterios expandidos, la causa del fallecimiento fue trauma cráneo encefálico 46%, evento cerebro vascular 45% e hipoxia cerebral 9%. Los receptores fueron masculinos 6 (60%) y femeninos 4 (40 %). El promedio de edad fue de  $59 \pm 9.7$  años, con IMC de  $26.1 \pm 5.7$ , un valor medio de MELD de 15 y clasificación Child Pugh B (9) y C (1). La etiología de la cirrosis hepática fue: alcohólica 3 (30%), esteatohepatitis no alcohólica 3 (30%), autoinmune 1 (10%), hepatitis por virus C 2 (20%) y cirrosis biliar secundaria 1 (10%). El tiempo promedio de isquemia fría fue de 4.1 hrs y el promedio de la fase anhepática fue de 49 min. No se tuvo ningún caso de falla primaria del injerto o pobre función inicial del injerto así como de rechazo agudo.

##### **3.1.2 Mediadores inflamatorios en pacientes con TH con y sin PIR.**

Se encontró diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los grupos en los siguientes mediadores inflamatorios y fases: IL6 en PR, 24H y 72H; FNT $\alpha$  en 7D, 15D y 30D e ICAM-1 en la mayoría de las fases, siendo valores más altos de cada uno de estos mediadores en el grupo que recibió órganos sometidos a PIR; no se presentó diferencia significativa en IL-1 y FCEV en todas las fases de estudio (Tabla 1).

Tabla 1. Mediadores inflamatorios en pacientes con trasplante hepático con y sin PIR.

	G	PT	PR	12h	24h	48h	72h	7D	15D	30D	3M
IL1 (pg/mL)	C	92±118	123±246	139±235	207±264	367±734	29±50	188±377	315±631	381±763	740±472
	PIR	46±48	76±89	145±130	ND	53±11	36±28	19±27	79±95	79±10	73±6
IL6 (pg/mL)	C	83±106	313±129	258±160	232±166	237±205	239±159	184±129	260±189	117±99	381±763
	PIR	199±109	503±529*	506±348	439±382*	229±134	537±358*	337±96	229±142	326±2	ND
FNTα (pg/mL)	C	87±129	127±108	616±1185	91±126	106±76	79±107	17±19	13±16	17±20	ND
	PIR	195±258	298±218	336±456	201±215	428±370	193±218	29±14*	343±439*	32±2*	328±3
ICAM-1 (pg/mL)	C	1007±864	1053±910	1081±927	1064±892	1221±1071	1145±998	1097±952	1054±905	1029±903	ND
	PIR	1657±731	1646±458*	2120±410*	1527±13*	1363±485*	1991±230*	1931±166*	1716±591*	2038±2*	32±2
FCEV (pg/mL)	C	151±214	188±300	314±552	292±491	382±439	402±723	423±711	342±569	205±358	299±37
	PIR	151±163	237±262	270±173	296±358	41±11	168±189	106±138	118±92	62±8	2086±67

IL1, interleucina 1; IL6, interleucina 6; FNTα, factor de necrosis tumoral alfa; ICAM-1, molécula de adhesión intracelular 1; FCEV, factor de crecimiento de epitelio vascular; C, Control; PIR, preconditionamiento isquémico remoto; PT, pre-trasplante; PR, post-reperfusión; H, horas; D, días; M, meses; ND, no determinado.  $P < 0.05$  contra grupo control en su respectiva fase.

### **3.1.3 Parámetros hematológicos en pacientes con TH con y sin PIR**

Respecto a los parámetros hematológicos evaluados solo las plaquetas mostraron diferencia significativa en algunas de las fases evaluadas, sin embargo se observaron valores más altos de estas en el grupo PIR desde la fase 24h (Tabla 2).

Tabla 2. Parámetros hematológicos en pacientes con trasplante hepático con y sin PIR.

	G	PT	PR	12h	24h	48h	72h	7D	15D	30D	3M
Hb (g/dL)	C	11.2±1	14.5±6.3	13.4±3.9	9.1±1.9	8±1.3	8.5±0.4	10.6±1.7	10.8±2.2	10.5±2.8	11.8±1.9
	PIR	13.1±0.5	13.6±6.2	14.3±0.6	12.1±0.7*	10.6±1.6	10.7±2.8	11.7±2.8	11.1±2.1	11.3±1.3	10.7±2.3
Hto (%)	C	34.4±4.7	44±19.9	40.4±12.4	27±6.1	23.3±3.9	25.5±1.6	31.4±6.3	32.3±7.5	31.1±8.6	36.2±6.1
	PIR	38.4±1	41.6±20.2	41.7±1.8	35.6±3.1	31.1±5.8	47.2±30.6*	34.9±8.5	33.1±6.8	34±4.5	32.4±7.8
Leu (K/μL)	C	5.9±4.6	5.7±3.4	10.6±3.3	9.1±5.5	15.2±23.3	3.8±2.6	7.2±7.1	5.9±2.1	7.6±1.2	3.8±1.6
	PIR	5.4±2.1	4.3±2.5	9.8±4	13.3±4.6	10.8±2.6	11±5.4	11±5.7	12.2±4.1	8.2±0.9	4.8±3
Plaq (K/μL)	C	83.9±57.8	72±26.7	78.9±41.5	40.8±23.2	33±14.1	33.6±18	47.3±44.1	130.4±116	206±64.4	103.2±34
	PIR	122.2±36.2	64.1±45.2	70.6±11.2	63.2±21.2	57.5±20.3	101.2±52.1*	89.8±65.4	296.5±80.7	270±159.3	249.5±157.6*
TP (s)	C	14±1.9	17.7±0.2	16.6±4.2	13.8±2.2	12.4±2.2	13.4±2.7	16.9±5.1	14.6±3.4	15±0	13.5±0.8
	PIR	12.3±0.9	17.7±5.1	14.2±2.1	12.8±1.9	13.4±1.3	11.9±0.6	12.2±0	11.6±0.2	13.4±2.1	11.4±2
TTP (s)	C	32.3±3.4	44.4±12.7	34.5±7.6	31.8±4.6	19.1±14.2	24.8±1.4	25.8±6.5	25.9±3.1	26.3±0	26.2±12.1
	PIR	27.8±2.2	34.3±5.5*	28.1±1.2	22.2±11.7*	34.6±14.3	24.5±2	2.5±0	24.2±3.9	27.3±2.3	20.3±0
INR	C	1.2±0.1	1.6±0.1	1.5±0.3	1.2±0.2	1.1±0.1	1.2±0.2	1.5±0.4	1.5±0.3	ND	1±0.1
	PIR	1.1±0	1.6±0.4	1.2±0.1	1.1±0.1	1.2±0.1	1±0	ND	1±0.1*	1±0	ND

Hb, hemoglobina; Hto, hematocrito; Leu, leucocitos; Plaq, plaquetas; TP, tiempo de protrombina; TTP, tiempo de tromboplastina parcial; INR, relación internacional normalizada; C, Control; PIR, precondicionamiento isquémico remoto; PT, pre-trasplante; PR, post-reperfusión; H, horas; D, días; M; meses; ND, no determinado.\* $P < 0.05$  contra grupo control en su respectiva fase.

### **3.1.4 Parámetros bioquímicos en pacientes con trasplante hepático con y sin PIR.**

En los parámetros bioquímicos no se encontró diferencia significativa en la mayoría de las fases (Tabla 3), sin embargo en las pruebas de función hepática la AST, ALT y FA se observaron más altas en las primeras fases del estudio en el grupo PIR (desde PR hasta 72h) y posteriormente disminuyeron en las siguientes fases aunque solo fue significativa a los 30 días; y normalizándose ALT y AST a los 3M en ambos grupos y FA solo en PIR; las bilirrubinas se disminuyeron significativamente solo en las últimas fases de estudio en el grupo PIR (15D hasta los 3M), siendo estas normalizadas en este grupo a partir de los 30D (Tabla 4)

Tabla 3. Parámetros bioquímicos en pacientes con trasplante hepático con y sin PIR.

	G	PT	PR	12h	24h	48h	72h	7D	15D	30D	3M
Glu (mg/dL)	C	139.5±81.9	222.5±103.2	258±64.9	186.2±115.9	226.2±154.4	133.6±48.3	196.2±98.1	138.8±61.5	93.7±15.2	103.2±34
	PIR	90.2±29.5	254.2±79.3	292.6±76	200±38.9	148±11.4	137±30.6	121±31.9	116±10.9	129.2±31.5	102.5±2.1
BUN (mg/dL)	C	13.9±12.1	17.5±7.7	21.2±7	27.8±6.4	36±9.6	33.6±8.2	27.7±9.3	25.2±9.2	23±2	14.4±6.8
	PIR	23.7±19.6	20.5±14.3	26.6±17.1	27.3±17.2	21±10	18.5±6.4	20.2±7.8	17±10.9	37.4±31	21.5±4.9
Creat(mg/dL)	C	1.2±1.1	0.8±0.3	1.1±0.2	1.3±0.5	1.4±0.5	1.1±0.3	1±0.4	0.9±0.4	0.9±0	1±0.2
	PIR	0.8±0.3	0.7±0.2	1±0.2	1±0.2*	0.7±0.1*	0.7±0.2	0.6±0.2	0.8±0.5	1.5±1	1.2±0.3
Na (mmol/L)	C	137.1±2.7	145.1±13.9	140.2±3.8	140.7±3.5	138.1±4.1	141.6±2.2	139.9±4.3	136±4.4	134.8±1.1	141.9±2.1
	PIR	137.5±1.4	139.4±3.5	135.9±4.7	139.5±2.6	136.3±4.5	138.4±1.8	137.2±3.4	132.4±9.2	136.8±4.4	136.5±10.1*
K (mmol/L)	C	4.2±0.5	4.4±0.7	4.6±0.6	4.3±0.8	4.3±0.3	3.8±0.4	3.4±0.8	4.2±0.1	4.4±0.8	4.8±0.1
	PIR	4±0.9	3.3±0.7	3.9±0.2*	4.1±0.5	4.2±0.2	3.8±0.2	3.7±0.3	4.4±0.5*	4.6±0.6	3.6±1.2*
Ca (mg/dL)	C	8.9±0.8	7.5±0.2	8.4±1.2	7.7±0.5	7.6±0.3	8.2±0.9	7.4±1.2	8±1.2	9.1±1.2	8.7±0.8
	PIR	8.8±0.2*	7.6±0.8	7.5±0.3	7.5±0.5	7.9±0.7	8.2±1.1	7.7±1.2	8.6±0.8	9.4±0.5	9.3±0
P(mg/dL)	C	4±0.3	4.6±0.6	6±1.7	4.7±0.6	14.2±21	4±0.8	3.3±0.7	3.6±1.1	4.1±1.8	4.2±0.5
	PIR	3.6±0.4	3.5±0.8	3.6±1.3	4.2±0.6	3.1±0.6	2.9±1	2.5±0.5	2.8±0.6	3.8±0.8	4±0.1*
Mg (mg/dL)	C	1.9±0.2	1.4±0.1	1.6±0.1	2±0.1	2±0.1	2.1±0.2	1.9±0.2	1.6±0.2	1.7±0	1.8±0
	PIR	2±0.2	1.4±0.2	1.5±0	2.1±0.1	2.3±0.1	1.9±0.3	2.1±0.5	2±0.5	1.5±0.2	1.5±0.4
PTs (g/dL)	C	6.9±0.8	4±1.1	3.8±0.6	4.1±0.3	4.7±0.8	5±0.6	4.4±1.4	5.6±1.2	6.5±1.2	6.1±1.6
	PIR	6.9±0.6	4.5±1.7	4±0.3	4.6±0.3	4.9±0.3	5.5±0.9	4.8±1	5.2±0.5	6.2±0.4	6.1±0.8
Alb (g/dL)	C	3.2±0.4	2.1±0.4	2.2±0.3	2.7±0.4	3.2±0.6	3±1.1	2.8±0.9	3.5±0.7	3.8±0.8	4±1
	PIR	3±0.2	2.5±0.6	2.2±0.4	2.8±0.2	2.9±0.4	3.3±0.2	2.8±0.4*	3.1±0.3	3.8±0.7	3.9±0.6

Glu, glucosa; BUN, nitrógeno de la urea; Creat, creatinina; Na, sodio; K, potasio; Ca, calcio; P, fosforo; Mg, magnesio, PTs, proteínas totales; Alb, albúmina; C, Control; PIR, precondicionamiento isquémico remoto; PT, pre-trasplante; PR, post-reperfusión; H, horas; D, días; M; meses; ND, no determinado.\* $P < 0.05$  contra grupo control en su respectiva fase.

Tabla 4. Pruebas de función hepática en pacientes con trasplante hepático con y sin PIR.

	G	PT	PR	12h	24h	48h	72h	7D	15D	30D	3M
AST (U/L)	C	50.8±25.9	1169.7±1197.1	982.6±582.4	332.7±170.2	158.7±38.5	197.2±160.6	45.2±26.3	37±30.8	40.1±23.4	23.5±4.3
	PIR	53.5±15.2	2404.6±2218.5*	1162±1057.1	353±163.5	226.5±123.6	86.7±54.5	33.2±18	32±28.6	15.2±2.5*	20.5±9.1
ALT(U/L)	C	34.8±16.5	412±403.4	421.4±109.4	243±52.3	189.5±26.6	241.6±143.7	116.5±71.6	90.2±95.5	61.1±56.3	27.2±9
	PIR	33.5±14.8	716.5±624.4	688.6±820.2*	434.3±461.8*	350.2±313.2	269.7±231.4	104.7±71.4	53.6±45.2	25.2±13.4*	13±4.2
FA (U/L)	C	155.4±37.6	65.2±27.4	65±18.5	45.2±17.2	86±78.7	162.6±151.3	195.5±168.6	237.5±115.3	250.6±166.2	118±81.2
	PIR	146±79.8*	84.7±46.8	59.6±19.6	62.3±24.7	89±39.9	134±91.3	78.5±36.9*	60.3±24.7	74.5±22.6*	37±9.8
BT (mg/dL)	C	2±1.1	4±2.4	5.2±3.7	2.3±1.8	1.7±1	2.6±1.6	3.6±4.1	7.2±6.8	6.9±9.5	0.9±0.4
	PIR	1.1±0.3*	3.8±0.8	5.9±4	2.5±2.1	1.9±1.9	3.4±4.5	2.8±3.4	1.6±1.4*	0.6±0.2*	0.9±0.2*
BD (mg/dL)	C	0.6±0.4	1.8±1.8	2.6±2.7	1±1.1	0.8±0.7	1.4±1.1	2.1±3	4.2±4	4.4±5.3	0.3±0.2
	PIR	0.3±0.1*	2±1.1	4±3.1	1.6±1.7	1.1±1.4	2±3.3	1.4±2.2	0.5±0.6*	0.3±0.3*	0.2±0.1
BI (mg/dL)	C	1.4±0.7	2.1±1.1	2.5±1.2	11.7±20.8	0.9±0.3	1.2±0.5	1.5±1.1	3±2.8	4.5±5.1	0.5±0.3
	PIR	0.8±0.2*	1.8±0.6	1.9±0.9	0.9±0.3	0.8±0.5	1.4±1.2	1.3±1.2	1±0.8*	0.2±0.1*	0.7±0.1
GGT (U/L)	C	182±0	28.5±17.6	32±22.6	46±35.3	92.6±55.2	229.6±207	186.6±204.6	313±102.7	131.5±117	83.1±86.6
	PIR	ND	ND	48±28.2	65.5±47.3	149.5±142.1*	ND	137±132.9	55±54.8	30±12.7	ND

AST, aspartato aminotransferasa; ALT, alanina transaminasa; FA, fosfatasa alcalina; BT, bilirrubina total; BD, Bilirrubina directa; BI, bilirrubina indirecta; GGT, gamma-glutamil transpeptidasa; C, Control; PIR, preconditionamiento isquémico remoto; PT, pre-trasplante; PR, post-reperfusión; H, horas; D, días; M; meses; ND, no determinado.\*  $P < 0.05$  contra grupo control en su respectiva fase.

## **3.2 Trasplante renal**

### **3.2.1 Características clínicas de donadores y receptores**

El número de pacientes incluidos fue de 29 receptores de TR, 12 C y 17 con PIR. Los donantes tenían una edad media de  $41.3 \pm 14.9$  años; 41.2% eran hombres y 58.8% mujeres. Las causas de muerte cerebral fueron: un evento vascular cerebral (45.6%), lesión cerebral traumática (45.4%) e hipoxia cerebral (9%). Al evaluar a los donantes de acuerdo con el grupo de control vs grupo PIR, no se encontró diferencia significativa entre los parámetros evaluados (Tabla 5). En cuanto a los receptores renales, se evaluaron 29 pacientes, 20 hombres (69%) y 9 mujeres (31%) con una edad promedio de  $52 \pm 12$  años y un índice de masa corporal (IMC) de  $26.6 \pm 4.7$  kg/m<sup>2</sup>. De éstos, 12 fueron asignados aleatoriamente al grupo control (41%) y 17 al grupo PIR (59%). La etiología de los pacientes con enfermedad renal terminal fue: diabetes mellitus en 10 (34.4%), hipertensión en 7 (24.1%), glomerulonefritis crónica en 3 (10,3%), enfermedad obstructiva en 3 (10.3%), enfermedad renal poliquística en 2 (6.8%) y enfermedad renal idiopática en 4 (13.7%). El tiempo de isquemia fría de los injertos renales fue de  $9.3 \pm 3.6$  h. No se observó rechazo agudo del injerto renal en ninguno de los grupos de estudio hasta el seguimiento (3 meses). Al evaluar a los receptores de acuerdo con el grupo de control vs grupo PIR, no se encontró diferencia significativa entre los parámetros evaluados (Tabla 5).



Tabla 5. Características de los 29 donadores y receptores.

Variable	C (n=12)	PIR (n=17)	P
<b>Donadores</b>			
Edad (años)	37.2 ± 10.7	36.5 ± 14.7	0.082
Género (masculino/femenino)	5 / 5	8 / 6	0.825
Causa de muerte			
- Lesión cerebral traumática	-6	-8	0.833
- Evento cerebral vascular	-5	-7	
- Hipoxia cerebral	-1	-2	
TIF(h)	11.4±2.6	8.5±3.8	0.182
<b>Receptores</b>			
Edad (años)	56.2±10.8	49.9±13.6	0.52
Género (masculino/femenino)	8 / 4	12 / 5	0.825
IMC (kg/m2)	26.6±4.7	26.6±4.8	0.719
Causa de falla renal			
- Diabetes mellitus	-5	-5	0.645
- Hipertensión	-4	-3	
- Glomerulonefritis	-1	-2	
- Riñón poliquístico	-1	-1	
- Enfermedad Obstructiva	-2	-1	
- ERI	-2	-2	
Hemodialisis/peritoneal	12 / 0	8 / 2	
Media de tiempo de hemodialisis pretraspante (D)	15.8±12.3	18±15.5	0.324

C, Grupo Control; PIR, Precondicionamiento Isquémico Remoto; TIF, Tiempo de Isquemia Fría; IMC, Índice de Masa Corporal; ERI, Enfermedad Renal Ideopática; h, horas; d, días.

### **3.2.2 Mediadores inflamatorios en pacientes con TR con y sin PIR**

En cuanto a los mediadores de la respuesta inflamatoria, IL6 presentó valores significativamente más altos en el grupo PIR frente a la C solo hasta 72 h. Después, los valores disminuyeron, pero solo fueron significativos hasta los 30 días. Por otro lado, el  $TNF\alpha$  presentó valores significativamente más altos en el grupo PIR frente al C en la mayoría de las fases del estudio desde el pre-trasplante hasta el seguimiento de 3M. ICAM-1 presentó valores significativamente más altos en el grupo RIPC frente a C solo en la fase post-trasplante, mientras que el FCEV solo mostró una disminución después de 7 D hasta el seguimiento de 3 meses; Sin embargo, solo fue significativo a las 7 y 15 D. IL1 mostró valores significativamente más altos en el grupo PIR frente a CG solo a las 72 h y 15 D (Tabla 6).

### **3.2.3 Parámetros hematológicos en pacientes con TR con y sin PIR.**

Con respecto a los parámetros hematológicos, la hemoglobina (Hb) y el hematocrito (Hto) fueron ligeramente mayores en PIR vs CG, pero solo se demostró una diferencia significativa en la fase post-reperfusión para ambos parámetros y en la fase de 48 h para Hto. No hubo diferencia significativa en el recuento de leucocitos entre los dos grupos en todas las fases (Tabla 7).

### **3.2.4 Parámetros bioquímicos en pacientes con TR con y sin PIR.**

Con respecto a los parámetros bioquímicos, la glucosa presentó valores disminuidos en el grupo PIR frente a C solo a las 48 h; sin embargo, los valores de creatinina sérica fueron significativamente más bajos en el grupo PIR vs C a los 15 y 30 D.

Con respecto a los niveles de electrolitos en suero, no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos (Tabla 8).

### **3.2.5 Tratamiento inmunosupresor y tasa de filtración glomerular estimada.**

En cuanto al tratamiento inmunosupresor, no hubo diferencias significativas en los niveles séricos de tacrolimus a los 30 días y 3 meses en el C ( $13.1 \pm 8.7$  ng / mL y  $6.2 \pm 5.9$  ng / mL) frente a PIR ( $11.5 \pm 0.7$  ng / mL y  $10.3 \pm 3.9$  ng / ml). La tasa de filtración glomerular medida por la fórmula de la Colaboración de Epidemiología de la Enfermedad Renal Crónica no mostró diferencias significativas en ninguna de las fases entre los grupos (Tabla 9).

Tabla 6. Mediadores de respuesta inflamatoria en trasplante renal entre grupo control y grupo PIR.

	G	PT	PR	12h	24h	48h	72h	7D	15D	30D	3M
IL1 (pg/mL)	C	24±36*	111±309	166.±368	168±416	49±56	35±43*	57±63	16±28*	34±84	12±20
	PIR	100±175	125±249	127±228	81±149	151±227	125±205	113±184	90±126	81±150	83±128
IL6 (pg/mL)	C	716± 1576	632±1436	533±1370	574±1422	646±1541	230±348*	653±1308	760±1281	878±1090*	ND
	PIR	578±911	596±510	458±578	518±550	553±573	684±695	596±604	418±646	270±436	674±807
TNF $\alpha$ (pg/mL)	C	105±184	112±149*	65±98*	85±90*	103±130*	133±211*	140±152*	23±25*	46±70	23±30.*
	PIR	259±456	329±505	307±551	277±433	410±571	352±462	371±481	193±366	164±323	425±387
ICAM-1 (pg/mL)	C	1801± 630	1807±594 *	1921±835	1916± 1075	2034±1275	1868±1174	2275±1241	1876±1047	1739±808	2585± 2075
	PIR	2960 ± 5006	2204±1535	1495±979	1410± 858	1692±991	2063±1385	3118±4774	2542±1190	1849±1115	4417± 4861
FCEV (pg/mL)	C	252±483	271±583	256±477	815± 1019	703±872	436±563	572±628*	338±432*	363±536	303±231
	PIR	316±232	376±402	349±431	348±504	393±567	443±562	268±186	151±191	212±199	199±154

IL1, interleucina 1; IL6, interleucina 6; FNT $\alpha$ , factor de necrosis tumoral alfa; ICAM-1, molécula de adhesión intracelular; FCEV, factor de crecimiento endotelial vascular; C, grupo control; PIR, Precondicionamiento Isquémico Remoto; PT, Pre-trasplante; PR, post-reperfusion; h, horas; d, días; m, meses. \* $P < 0.05$  vs grupo control en la respectiva fase.

Tabla 7. Parámetros hematológicos en trasplante renal entre grupo control y grupo PIR.

	G	PT	PR	12h	24h	48h	72h	7D	15D	30D	3M
Hb (g/dL)	C	10.7 ± 1.5	9.6 ± 0.3*	9.4 ± 1.4	9.0 ± 0.9	8.9 ± 1.0	8.3 ± 1.1	7.9 ± 1.7	9.2 ± 1.5	10.7 ± 1.7	10.7 ± 1.5
	PIR	10.9 ± 1.4	10.9 ± 1.5	9.7 ± 1.4	9.1 ± 1.0	8.9 ± 1.2	8.5 ± 1.4	8.9 ± 1.2	9.8 ± 1.8	11.2 ± 1.8	10.9 ± 1.4
Hto (%)	C	33.9 ± 4.9	30.2 ± 1.0*	29.7 ± 4.5	27.4 ± 3.1	37.6 ± 6.6*	26.7 ± 2.3	24.1 ± 6.6	28.5 ± 3.8	32.2 ± 4.4	33.9 ± 4.9
	PIR	33.9 ± 4.7	34.5 ± 4.32	30.0 ± 4.8	28.3 ± 3.1	27.8 ± 3.9	26.5 ± 3.1	27.5 ± 4.4	30.3 ± 6.1	34.7 ± 5.7	33.9 ± 4.7
Leu (K/μL)	C	8.2 ± 3.2	10.6 ± 3.6	28.5 ± 34.3	10.2 ± 3.9	11.9 ± 2.7	10.4 ± 4.5	8.5 ± 1.2	12.9 ± 7.5	6.8 ± 3.7	8.2 ± 3.2
	PIR	7.0 ± 1.7	8.2 ± 2.2	11.3 ± 7.6	11.7 ± 4.6	13.6 ± 6.1	10.6 ± 4.7	7.7 ± 3.5	8.8 ± 6.1	7.1 ± 2.6	7.0 ± 1.7
Plat (K/μL)	C	163.6 ± 87.7	155.8 ± 41.4	174.9 ± 52.7	158.6 ± 58.8	146.8 ± 62.7	158.3 ± 39.4	144.3 ± 87.1	182.3 ± 112.4	270.7 ± 56.2*	163.6 ± 87.7
	PIR	198.4 ± 92.2	150.0 ± 25.7	181.8 ± 103.4	158.7 ± 55.3	155.2 ± 38.3	147.3 ± 50.9	181.8 ± 81.1	231.4 ± 131.0	281.7 ± 83.4	198.5 ± 92.2

Hb, hemoglobina; Hto, hematocrito; Leu, leucocitos; Plat, plaquetas; C, grupo control; PIR, preconditionamiento isquémico remoto; PT, pretrasplante; PR, post-reperfusion; h, horas; D, días; M, meses; \* $P < 0.05$  vs grupo control en la respectiva fase.

Tabla 8. Parámetros bioquímicos y electrolitos en trasplante renal entre grupo control y grupo PIR.

	G	PT	PR	12h	24h	48h	72h	7D	15D	30D	3M
Glucosa (mg/dL)	C	183.2±198.4 *	143.0±49.7	161.2±72.2	163.9±81.7	190.2±101.7*	118.1±40.0	135.0±54.8	101.9±27.2	155.7 ± 72.6	118.6 ± 50.8
	PIR	136.2 ±70.9	132.3±55.4	148.9±91.0	145.1±42.3	123.2±40.5	140.1±43.3	127.4±45.4	128.7±42.1	140.4 ± 99.2	113.4 ± 60.6
Creatinina (mg/dL)	C	8.2±2.7	6.4±2.6	7.8±2.9	7.3±3.5	5.7±1.1	5.1±2.6	2.5±1.4	3.3±2.5*	1.8 ± 0.9 *	1.2 ± 0.4
	PIR	10.5±5.2	8.5±4.2	9.2±3.46	6.9±4.0	6.8±3.4	4.2±2.5	4.0±6.6	1.42±0.7	1.5 ± 0.5	1.3 ± 0.7
BUN (mg/dL)	C	62.5±19.0	56.2±20.9	61.9±21.7	59.5±19.2	60.6±22.6	60.8±18.5	38.9±16.5	45.7±30.0	34.4 ± 15.4	28.2 ± 11.3
	PIR	55.9±16.5	55.3±16.0	54.2±13.9	48.6±18.1	48.6±20.4	41.5±17.9	62.5±117.7	27.8±12.5	31.7 ± 16.4	22.3 ± 10.1
Na+ (mmol/L)	C	137.2 ± 3.9 *	135.7 ± 5.1	135.6 ± 3.1	135.6±3.1	135.94 ± 5.65	132.4± 11.7	137.2 ± 4.4	134.8 ± 7.2 *	142.5 ± 12.3	139.7 ± 7.5
	PIR	136.8 ± 2.1	133.4 ± 5.3	135.9 ± 2.8	137.1±3.8	136.38±3.64	137.0±4.8	137.1 ± 4.1	134.6± 3.7	135.2 ± 6.0	138.3 ± 5.9
K+ (mmol/L)	C	4.9 ± 0.9	5.2 ± 0.8	5.5 ± 1.1	5.3± 1.5	4.6 ± 0.97	4.5 ± 0.5	4.2 ± 0.6	4.8 ± 0.6	4.7 ± 0.3 *	4.7 ± 0.5
	PIR	4.9 ± 0.9	4.7 ± 0.3	5.1 ± 0.9	5.0 ± 0.7	4.82 ± 0.93	4.7 ± 0.9	4.6 ± 0.9	8.1 ± 9.6	5.1 ± 0.5	4.8 ± 0.4

BUN, Nitrógeno de la urea; Na, sodio; K, potasio; C, Grupo Control; PIR, Precondicionamiento Isquémico Remoto; PT, Pre-

trasplante; PR, post-reperfusión; h, horas; d, días; m, meses. \* $P < 0.05$  vs grupo control en la respectiva fase.

Tabla 9. Tasa de filtración glomerular estimada utilizando la fórmula Cockcroft-Gault.

	G	PT	PR	12h	24h	48h	72h	7D	15D	30D	3M
TFGe	C	11.2±4.6	14.1±4.2	11.3±4.2	13.2±3.8	13.8±3.5	20.4±10.7	42.1±22.6	37.2±27.8	55.1±28.1	75.8±14.3
	PIR	7.4±5.8	11.2±3.1	11.7±4.5	20.6±18.3	20.9±18.1	34.3±22.1	59.1±28.9	69.9±23.2	69.2±22.3	70.2±15.2

TFGe, Tasa de filtración glomerular estimada; C, Grupo Control; PIR, Precondicionamiento Isquémico Remoto; PT, Pre-trasplante;

PR, post-reperfusión; h, horas; d, días; m, meses.

## **CAPITULO IV**

### **DISCUSIÓN**

Diversas estrategias quirúrgicas han sido evaluadas para disminuir la LIR, entre estas el PI ha demostrado que protege contra lesión por IR (66), sin embargo la principal limitante de este procedimiento es la acción directa sobre el órgano blanco y sus estructuras vasculares, por lo que la aplicación clínica de PI en TH se ha visto limitada por los episodios isquémicos imprevistos y posibles razones éticas, en cambio el PIR puede dar protección a órganos distantes sin causarles estrés directo, además puede aplicarse antes del inicio de la isquemia en el órgano blanco, durante la isquemia final o después de la reperfusión (67).

A nivel experimental se ha demostrado que el PIR puede reducir la LIR a nivel hepático (68, 69), sin embargo aún existen controversias respecto a la duración de la fase inicial de isquemia, tiempo de reperfusión y número de ciclos aplicados (66). Recientemente se demostró en un modelo de TH experimental previo PIR con la aplicación de tres ciclos de isquemia de 5 min se disminuye el estrés oxidativo y la inflamación (70).

A nivel clínico no se han publicado estudios en pacientes con TH cadavérico sometidos al fenómeno PIR, solo se ha reportado un trabajo de TH de donante vivo en el que se observó disminución significativa de ALT en los primeros 28 días del trasplante en receptores sometidos a PIR post-reperfusión y un aumento significativo en la Cr sérica y tasa de filtración glomerular en el grupo PIR, lo que

demonstró que el PIR disminuyó la lesión renal aguda; no observaron ningún beneficio clínico relacionados sobre la función temprana del injerto hepático, frecuencia de complicaciones, estancia hospitalaria, y mortalidad (71).

En la mayoría de los trabajos clínicos donde se ha empleado la técnica quirúrgica de PI para disminuir el daño por IR en TH, se ha reportado una disminución de las aminotransferasas (24,27), sin embargo a nivel experimental el PI atenúa la LIR hepática al disminuir la infiltración de leucocitos, las enzimas hepáticas y la apoptosis (72,73). En el presente estudio se observó un aumento significativo de dichas enzimas en las fases tempranas del post TH, por lo que podemos deducir que en esta etapa el PIR no logro mejorar la LIR, sin embargo en las fases subsecuentes evaluadas (después de las 72H) se observó una mejor respuesta en los sujetos que recibieron un TH sometido a PIR. Recientemente en un modelo murino de TH con PI, PIR o ambos, se logró disminuir la LIR en los grupos preacondicionados, ya que tuvieron un disminución significativa de transaminasas, TNF $\alpha$ , MDA, con menor lesión hepática y apoptosis, respecto al grupo control, demostrando un efecto sinérgico en el grupo PI + PIR (74).

Por otro lado la trombocitopenia es muy común durante la fase de reperfusión del TH (75,76), esta es ocasionada por el consumo y secuestro de las plaquetas dentro de los sinusoides hepáticos; el grado de activación plaquetaria se ha correlacionado con la función del injerto, aunque se cree que las plaquetas participan activamente en la patogénesis de LIR, pueden tener efectos beneficios durante esta fase al secretar sustancias como la serotonina, la cual participa en la



reparación del daño isquémico (77). Existen evidencias que sugieren que las plaquetas tienen otras propiedades no hemostáticas, al participar en la inflamación, angiogénesis, regeneración y en la lesión por IR (78). Se ha demostrado experimentalmente que el PIR protege contra la isquemia hepática parcial a través de la serotonina derivada de las plaquetas, el FCEV, la IL-10 y la matriz de metaloproteínasa 8 (78). En este estudio se encontró una mayor recuperación del número de plaquetas a partir de la fase 72h, la cual persistió hasta la fase 3M en el grupo de pacientes trasplantados con injertos sometidos a PIR.

Hasta la fecha solo se ha reportado el efecto del PIR en receptores de TH de donador vivo relacionado, este es el primer estudio en el cual se procede a la comparación de injertos hepáticos sometidos a PIR versus injertos no sometidos a este, en donadores con muerte encefálica. En este trabajo se observó que de los mediadores inflamatorios evaluados solo IL-6 parece participar en las fases tempranas de la respuesta inflamatoria post-TH, contrario al  $\text{FNT}\alpha$  cuya participación se evidencia después del séptimo día pos-trasplante, sin embargo la ICAM-1 parece ser un mediador inflamatorio más notorio en los receptores que recibieron injertos con PIR, ya que esta molécula se elevó significativamente desde la fase inicial pos-TH hasta los 30D, y normalizándose solo hasta los 3M. Es de notar que a la par de los mediadores inflamatorios las enzimas hepáticas AST, ALT y FA se elevan considerablemente en las fases post-trasplante inmediato y disminuyen más rápidamente en los receptores con PIR a partir de las

72h, manteniéndose dicho efecto hasta los 15D y logrando recuperar niveles normales más rápidamente en dichos sujetos, y no así en el grupo de receptores sin PIR. En ambos grupos de estudio no se presentó falla primario ni rechazo del injerto hasta el seguimiento evaluado, sin embargo se observó que en el grupo sometido a PIR se logró una recuperación más rápida tanto de los parámetros inflamatorios como de algunos parámetros bioquímicos asociados a una mejoría de la función hepática, por lo que consideramos que procedimiento favorece la disminución del daño por IR en los injertos hepáticos por lo cual es necesario incrementar el número de pacientes y definir a través de que mecanismos se atribuye dicha mejoría.

Por otro lado, varios estudios han evaluado el efecto potencial de PIR en diferentes modelos de daño renal agudo realizado en cirugías vasculares y en estudios radiológicos con medio de contraste intravenoso, así como el efecto de este en RT. Los hallazgos informados hasta la fecha son controvertidos con respecto a su uso, ya que algunos definen un efecto beneficioso sobre la función renal específicamente en marcadores como la creatinina sérica (79, 80, 81, 82) mientras que otros no informan tal beneficio (83-85). En este estudio, los valores de creatinina sérica fluctuaron en la fase temprana posterior al trasplante, sin mostrar diferencias significativas; sin embargo, los valores significativamente más bajos en 15d y 30d se encontraron solo en el grupo PIR y siguiendo este patrón de disminución a los 3 meses en ambos grupos sin diferencia significativa.

En otro sentido, Wu et al. informaron una mejoría en la función de los injertos renales obtenidos de donantes con muerte cardíaca, demostrada por un aumento en la TFGe (81); sin embargo, Mac Allister et al. informó que el PIR solo logró un aumento insignificante de la TFG (iohexol) y la TFGe en el trasplante de riñón de donantes vivos (86).

En el presente estudio no se observó un efecto beneficioso del PIR, ya que el TFGe no mostró diferencias significativas entre los grupos en ninguna de las fases, esto concuerda con los hallazgos reportados por otros autores, donde no se observó mejoría en el TFGe (87-89,90). En cuanto a los mediadores de la respuesta inflamatoria, Mac Allister et al. encontraron que el PIR no tuvo efecto sobre los donantes y los receptores, informando que los niveles séricos de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , INF- $\gamma$  e IL-6 fueron similares en ambos grupos (86). En nuestro estudio, encontramos una diferencia en algunos de estos mediadores, principalmente TNF- $\alpha$  mostró valores significativamente elevados en PIR vs Cen la mayoría de las fases evaluadas, mientras que IL-1 $\beta$  aumentó en PIR a las 48 h, pero solo fue significativo a 72 h y 15 d. Por otro lado, la IL-6 también mostró valores significativamente más altos en PIR vs C a las 72 h y valores significativamente más bajos a los 30 d, lo que sugiere la participación de la respuesta inflamatoria en el LIR en el TR. En contraste con otras investigaciones, en nuestro estudio se aplicó PIR en donantes con muerte cerebral y no en receptores.

Actualmente se está llevando a cabo un estudio de la Asociación del preacondicionamiento isquémico remoto en el trasplante de órganos abdominales (RIPCOT) (clinical-trials.gov referencia NCT00975702), en el que han sido

reclutados 580 donadores de órganos y receptores renales, hepáticos y pancreáticos. Los donadores de órganos fueron asignados aleatoriamente para recibir PIR (cada pierna inflada durante 10 min) o no antes de la recuperación de órganos, realizada en la sala de operaciones después del inicio de la cirugía. Los marcadores de lesión celular y la supervivencia de los injertos aún no se han publicado. Desafortunadamente en México la tasa de donación es de 4.1 donantes /millón de habitantes, lo que ha limitado la inclusión de más receptores a este tipo de estudios.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

#### 5.1 Conclusiones

##### Trasplante hepático

- ICAM-1 mostró niveles elevados en PIR desde la fase inicial (PR) hasta los 30 días.
- $TNF\alpha$  se encontró más elevada en PIR solo a partir de los 7 días.
- IL6 mostró niveles más altos en el grupo PIR con diferencia significativa solo en 3 de las fases evaluadas.
- El FCEV y la  $IL1\beta$  no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos en ninguna de las fases evaluadas.
- En los parámetros hematológicos y de las pruebas de función hepática los pacientes con PIR (a los 15-30 días) que mostraron diferencia significativa se observó mejoría o normalización.
- En general el procedimiento PIR favorece la disminución del daño por IR en los injertos hepáticos en base a la recuperación de los parámetros inflamatorios así como de algunos parámetros bioquímicos.

##### Trasplante renal.

En TR se observó la participación de algunas citocinas pro inflamatorias:

- $TNF\alpha$  fue más elevado en PIR en la mayoría de las fases evaluadas.
- IL-1 se encontró más elevada en PIR a partir de las 72 h.
- FCEV mostró niveles más bajos en el grupo PIR con diferencia

significativa solo en 2 de las fases evaluadas.

- ICAM-1 se incrementó después de la reperfusión.
- IL6 se incrementó solo en 2 de las fases evaluadas.
- Los niveles de creatinina sérica fueron significativamente más bajos en el grupo PIR a los 15 y 30 d.
- El procedimiento PIR en TR no mostró una mejoría en TFGe en ninguna de las fases del estudio.
- En general en este estudio el PIR en TH disminuyó el daño por LIR, aunque el mayor efecto se observó después de las 72 h.

## **5.2 Perspectivas**

- Incrementar el número de pacientes para establecer su utilidad en la reducción de LIR en TH.
- Definir los mecanismos a los cuales se atribuye la mejoría en la función hepática
- En TR establecer su utilidad en la reducción de LIR.

## **CAPÍTULO VI**

### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Matas AJ, Smith JM, Skeans MA, Thompson B, Gustafson SK, Stewart DE, et al. OPTN/SRTR 2013 Annual Data Report: kidney. *Am J Transplant.* 2015;15:1-34.
2. Kim WR, Lake JR, Smith JM, Skeans MA, Schladt DP, Edwards EB, et al. OPTN/SRTR 2015 Annual Data Report: Liver. *Am J Transplant* 2017; 17 (Suppl 1): 174–251.
3. Domagala P, Kwiatkowski A, Perkowska-Ptasinska A, Wszola M, Panufnik L, Paczek L, et al. Assessment of kidneys procured from expanded criteria donors before transplantation. *Transplant Proc* 2009; 41:2966–9.
4. Pascual J, Zamora J, Pirsch JD. A systematic review of kidney transplantation from expanded criteria donors. *Am J Kidney Dis* 2008; 52:553-86.
5. Calderón-González C, García-Fernández N. Enfermedad renal crónica: clasificación, etiopatogenia y factores pronósticos. *Medicine* 2011; 10 (79): 5364-9.
6. Consensus document of the Spanish Society of Liver Transplantation. Access to liver transplant, indications, controversies, prioritisation of waiting lists and quality indicators. *Cir Esp.* 2008; 83(6):290-300.
7. Pugh R, Murray M, Dawson J, Pietroni M, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg.* 1973; 60:646-649.

8. Malinchoc M, Kamath P, Gordon F, Peine C, Rank P. A model to predict survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology*. 2000; 31:464-469.
9. Grace P. Ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg*.1994; 81 (5):637-647
10. Casillas-Ramírez A, Ben Mosbah I, Franco-Gou R, Rimola A, Roselló-Catafau J, Peralta C. Síndrome de isquemia-reperfusión asociado al trasplante hepático: una visión actualizada. *Gastroenterología y Hepatología*, 2006. 29 (5):306-313.
11. Barba J, Zudaire JJ, Robles JE, Tieza A, Rosell D, Berián JM, et al. Existe un intervalo de tiempo de isquemia fría seguro para el injerto renal. *Actas Urol Esp*. 2011 ; 35(8) :475-80.
12. Jaeschke H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2003. 284:G15-G26.
13. Clavien P, Harvey P, Strasberg S. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. *Transplantation*.1992; 53:957-97.
14. Ramírez JM, Marín A, Piñero R, Chávez-Cartaya P. Investigación experimental aplicada a la clínica: isquemia-reperfusión hepática. *Cir Esp* 2000; 67: 281-291.
15. Schnitzler MA, Lentine KL, Gheorghian A, Axelrod D, Trivedi D, L'Italien G. Renal function following living, standard criteria deceased and expanded



- criteria deceased donor kidney transplantation: impact on graft failure and death. *Transpl Int.* 2012. 25 (2):179-91.
16. Zager R, Baltes L, Sharma H, Jurkowitz M. Responses of the ischemic acute renal failure kidney to additional ischemic events. *Kidney Int.* 1984; 26: 689-700.
  17. Selzner N, Rudiger H, Graf R, Clavien P. Protective strategies against ischemic injury of the liver. *Gastroenterology*; 2003; 125:917-936.
  18. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M et al. Regional ischemic preconditioning protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation* 1993; 87:893-899.
  19. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*.1986; 74 (4):1124-1136.
  20. Franco R, Peralta C, Massip M, Xaus C, Serafin A, Rosello-Catafu J. Protection of reduced-size for liver transplantation. *Am J Transpl.*2004; 4:1-13.
  21. Clavien PA, Yadav S, Sindram D, Bently R. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg.* 2000; 232 (2):155-162.
  22. Clavien P, Selzner M, Rudiger H, Graf R, Kadry Z, Rousson V, et al. A prospective randomized study in 100 consecutive patients undergoing major liver resections with versus without ischemic preconditioning. *Ann Surg.* 2003; 238 (6):843-852.

23. Koneru B, Fisher A, He Y, Klein K, Skurnick J, Wilson D, et al. Ischemic preconditioning in deceased donor liver transplantation: A prospective randomized clinical trial of safety and efficacy. *Liver Transpl.* 2005; 11 (2):196-202.
24. Azoulay D, Del Gaudio M, Andreani P, Ichai P, Sebag M, Adam R, et al. Effects of 10 minutes of ischemic preconditioning of the cadaveric liver on the grafts preservation and function: The ying and the yang. *Ann Surg.* 2005; 242(1):133-139.
25. Olaya N, Chiappini, Roser F, Scatton O, Artus C, et al. Ischemic preconditioning modulates the expression of several genes, leading to the overproduction of IL-1Ra, iNOS and Bcl-2, in a human model of liver ischemia-reperfusion. *Barrier The FASEB Journal.* 2005; 19:1617-1626.
26. Jassem W, Fuggle S, Cerundolo L, Heaton N and Rela M. Ischemic preconditioning of cadaver donor livers protects allografts following transplantation. *Transplantation.* 2006; 81(2):169-174.
27. Cescon M, Grazi G, Grassi A, Ravaioli M, Vetrone G, Ercolani G, et al. Effect of ischemic preconditioning in whole liver transplantation from deceased donors. A pilot study. *Liver Transpl.* 2006; 12:628-635.
28. Amador A, Grande L, Marti J, Deulofeu R, Miquel R, Sola A, et al. Ischemic pre-conditioning in deceased donor liver transplantation: a prospective randomized clinical trial. *Am J Transplant.* 2007; 7(9):2180-2189.
29. Koneru B, Shareef A, Dikdan G, Desai K, Klein K, Peng B, et al. The ischemic preconditioning paradox in deceased donor liver transplantation-

- evidence from a prospective randomized single blind clinical trial. *Am J Transplant.* 2007; 7 (12):2788-2796.
30. Bombuy E, Fondevila C, Rodriguez G, Ferrer J, Amador A, Valentini M, et al. Ischemic preconditioning in adult living donor liver transplantation, a pilot study. *J Hepatology.* 2004; 40(S 1):39.
31. Amador A, Marti J, Rodriguez G, Bombuy E, Alvarez G, Ferrer J, et al. Ischemic preconditioning during donor procurement in orthotopic liver transplantation. Preliminary results of a prospective and randomized trial. *Journal of Hepatology.* 2004; 40(S 1):37.
32. Cescon M, Carini R, Grazi G, Caraceni P, Alchera E, Gasloli G, et al. Variable activation of phosphoinositide 3-kinase influences the response of liver grafts to ischemic preconditioning. *Journal of Hepatology.* 2009; 50 (5):937-947.
33. Franchello A, Gilbo N, David E, Ricchiuti A, Romagnoli R, Cerutti E, et al. Ischemic Preconditioning (IP) of the Liver as a Safe and Protective Technique against Ischemia/Reperfusion Injury (IRI). *Am J Transplant.* 2009; 9: 1629–1639.
34. Andreani P, Hoti E, de la Serna S, degli Esposti D, Sebah M, Lemoine A, Ichai P, Saliba F, Castaing D, Azoulay D. Ischaemic preconditioning of the graft in adult living related right lobe liver transplantation: impact on ischaemia-reperfusion injury and clinical relevance. *HPB (Oxford).* 2010;12(7):439-46.

35. Thomas Lee H, Charles W. Emala. Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: role of A<sub>1</sub> and A<sub>3</sub> receptors. *AJP - Renal Physiol.* 2000; 27( 3 ):80-87.
36. Laven BA, Orvieto MA, Chuang MS, Ritch CR, Murray P, Harland RC, Inman SR, Brendler CB, Shalhav AL. Renal tolerance to prolonged warm ischemia time in a laparoscopic versus open surgery porcine model. *J Urol.* 2004 .172:2471-4.
37. Hernandez DJ, Roberts WB, Miles-Thomas J, Magheli A, Saha S, Schaeffer EM, Racusen LC. Can ischemic preconditioning ameliorate renal ischemia-reperfusion injury in a single-kidney porcine. *J Endourol.* 2008: 22(11):2531-6.
38. Wever K, Menting T, Rovers M, Vliet J, Rongen G y cols. Ischemic preconditioning in the animal kidney, systemic review and meta-analysis. 2012; 7(2): 3296.
39. McClanahan T, Nao B, Wolke L, Martin BJ, Mezt TE. Brief renal occlusion and reperfusion reduces myocardial infarct size in rabbits. *FASEB J.* 1993;7: A18.
40. Przyklenk K, Darling CE, Dickson EW, Whittaker P Cardioprotection 'outside the box'—the evolving paradigm of remote preconditioning. *Basic Res Cardiol* 2003; 98:149-157.
41. Birnbaum Y, Hale SL, Kloner RA. Ischemic preconditioning at a distance: reduction of myocardial infarct size by partial reduction of blood supply

- combined with rapid stimulation of the gastrocnemius muscle in the rabbit. *Circulation* 1997;96:1641-1646.
42. Oxman T, Michel A, Klein R, Avazov N, Rabinowitz B. Limb ischemia preconditions the heart against reperfusion tachyarrhythmia. *Am. J. Physiol Heart Circ Physiol.* 1997; 273:1707-1712.
43. Weinbrenner C, Nelles M, Herzog N, Sarvary L, Strasser RH. Remote preconditioning by infrarenal occlusion of the aorta protects the heart from infarction: a newly identified non-neuronal but PKC-dependent pathway. *Cardiovasc Res* 2002;55: 590-601.
44. Hausenloy DJ, Yellon DM; Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application, *Cardiovasc Res* 2008 ; 79 (3) : 377–386.
45. Konstantinov IE, Arab S, Li J, Coles JG, Boscarino C, Mori A, et al. The remote ischemic preconditioning stimulus modifies gene expression in mouse myocardium. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2005;130:1326-1332.
46. Konstantinov IE, Arab S, Kharbanda RK, Li J, Cheung MM, Cherepanov V, et al. The remote ischemic preconditioning stimulus modifies inflammatory gene expression in humans. *Physiol Genomics* 2004;19:143-150
47. Kant R, Diwan V, Jaggi AS, Singh N, Singh D Remote renal preconditioning-induced cardioprotection: a key role of hypoxia inducible factor-prolyl 4-hydroxylases. *Mol Cell Biochem.* 2008;312:25-31.
48. Konstantinov IE, Li J, Cheung MM, Shimizu M, Stokoe J, Kharbanda RK, et al. Remote ischemic preconditioning of the recipient reduces myocardial

- ischemia-reperfusion injury of the denervated donor heart via a Katp channel-dependent mechanism. *Transplantation* 2005;79:1691-1695.
49. Lang SC, Elsasser A, Scheler C, Vetter S, Tiefenbacher CP, Kubler W, et al. Myocardial preconditioning and remote renal preconditioning—identifying a protective factor using proteomic methods. *Basic Res Cardiol* 2006;101:149-158.
50. Philipp Anton Holzner, Birte Kulemann, Simon Kuesters, Jens Hoepfner, Ulrich Theodor Hopt, Goran Marjanovic . Impact of remote ischemic preconditioning on wound healing small bowel anastomoses. *World J Gastroenterology* 17(10):1308-1316).
51. Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB, Schmidt MR, Hochtitzky JA, et al. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation* 2002;106:2881-2883.
52. Cheung MM, Kharbanda RK, Konstantinov IE, Shimizu M, Frndova H, Li J, et al. Randomized controlled trial of the effects of remote ischemic preconditioning on children undergoing cardiac surgery: first clinical application in humans. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:2277-2282.
53. Hausenloy DJ, Mwamure PK, Venugopal V, Harris J, Barnard M, Grundy E, et al. Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial. *Lancet* 2007;370:575-579.
54. Kraemer R, Lorenzen J, Kabbani M, Herold C1, Marc Busche1, Knobloch K. Acute effects of remote ischemic preconditioning on cutaneous

microcirculation a controlled prospective cohort study. *BMC Surgery* 2011;11:32.

55. Ali ZA, Callaghan CJ, Lim E, Ali AA, Nouraei SA, Akthar AM, et al. Remote ischemic preconditioning reduces myocardial and renal injury after elective abdominal aortic aneurysm repair: a randomized controlled trial. *Circulation* 2007;116: 198-105.
56. Wever KE, Warlé MC, Wagener F, Van der Hoorn JW, Masereeuw R, Van Der Vliet JA, et al. Remote ischaemic preconditioning by brief hind limb ischaemia protects against renal ischaemia-reperfusion injury: the role of adenosine. *Nephrol. Dial. Transplant.* (2011) 26(10)
57. Koti RS, Seifalian AM, McBride AG, Yang W, Davidson BR. The relationship of hepatic tissue oxygenation with nitric oxide metabolism in ischemic preconditioning of the liver. *FASEB J.* 2002;16:1654–1656.
58. Abu-Amara M, Yang SY, Quaglia A, Rowley P, Tapuria N, Seifalian AM, Fuller BJ, Davidson BR. Effect of remote ischemic preconditioning on liver ischemia/reperfusion injury using a new mouse model. *Liver Transpl.* 2011 Jan;17(1):70-82).
59. Effect of remote ischemic preconditioning on hepatic microcirculation and function in a rat model of hepatic ischemia reperfusion injury. Niteen Tapuria, Sameer P. Junnarkar, Neelanjana Dutt, Mahmoud Abu-Amara, Barry Fuller, Alexander M. Seifalian. *HPB.* 2009;11, :108–117.
60. Kanoria S, Mehta NN, Seifalian A, Sharma D, Davidson B. Effect of remote ischemic preconditioning on liver injury in patients undergoing hepatectomy

for colorectal metastasis. A single center randomised controlled trial. Society of Academic & Research Surgery. London: Yearbook, 2010:45.

61. Veihey K, Mac Allister. Clinical Applications of Remote Ischemic Preconditioning. Cardiology Research and Practice. 2012. Hindawi Publishing Corporation.
62. Cardoni R, Rigoshin N, Tambutti M, Ferraris J. Citoquinas reguladoras de la respuesta al trasplante renal alogénico. Medicina. 2005; 65(1):54-62.
63. Cordero-Pérez P, Torres-González L, Muñoz-Espinosa LE. Expresión de citocinas en células de sangre periférica de pacientes con trasplante hepático ortotópico: resultados preliminares. Revista de Gastroenterología de México. 2011; 76,( 2) :108-112.
64. Fernandez J, Nuño J, Lopez P, Quijano Y, Vicente E. Influencia de las características de los donantes en el desarrollo de una disfunción primaria en los pacientes sometidos a trasplante hepático. Cir. Esp. 2004; 76(3):149-151.
65. Briceño J, Solórzano G, Pera C. A proposal for scoring marginal liver grafts. Transpl Int. 2000; (S1): S249-S252.
66. Skyschally A, Van Caster P, Iliodromitis EK, Schulz R, Kremastinos DT, Heusch G. Ischemic postconditioning: experimental models and protocol algorithms. Basic Res Cardiol. 2009; 104(5):469–83.
67. Jia JJ, Li JH, Jiang L, Lin BY, Wang L, Su R, et al. Liver protection strategies in liver transplantation. Hepatobiliary Pancreat Dis Int. 2015; 14 (1):34-42.



68. Wang F, Birch SE, He R, Tawadros P, Szaszi K, Kapus A, et al. Remote ischemic preconditioning by hindlimb occlusion prevents liver ischemic/reperfusion injury: the role of High Mobility Group-Box 1. *Ann Surg.* 2010; 251(2):292-9.
69. Czigany Z, Turoczi Z, Bulhardt O, Hegedus V, Lotz G, Rakonczay Z, et al. Remote ischemic conditioning: short-term effects on rat liver ischemic-reperfusion injury. *Orv Hetil.* 2012;153 (40): 1579–87.
70. Jia J, Li J, Jiang L, Zhang J, Chen S, Wang L, et al. Protective effect of remote limb ischemic preconditioning on the liver grafts of rats with a novel model. *PLoS One.* 2015;10 (3): e0121972.
71. Kim WH, Lee JH, Ko JS, Min JJ, Gwak MS, Kim GS, et al. Effect of remote ischemic postconditioning on patients undergoing living donor liver transplantation. *Liver Transpl.* 2014;20 (11):1383-92.
72. Jin LM, Liu YX, Zhou L, Xie HY, Feng XW, Li H, et al. Ischemic preconditioning attenuates morphological and biochemical changes in hepatic ischemia/reperfusion in rats. *Pathobiology.* 2010; 77:136–146.
73. Yan S, Jin LM, Liu YX, Zhou L, Xie HY, Zheng SS. Outcomes and mechanisms of ischemic preconditioning in liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2010;9(4):346–354.
74. Li DY, Shi XJ, Li W, Sun XD, Wang GY. Ischemic preconditioning and remote ischemic preconditioning provide combined protective effect against ischemia/reperfusion injury. *Life Sci.* 2016 ;1;150:76-80.
75. Novaković-Anucin S, Gnip S, Canak V, Jurisić D, Radović P, Erdeljan S, et

- al. Laboratory monitoring of the haemostatic system changes during orthotopic liver transplantation. *Srp Arh Celok Lek.* 2013 S;141(9-10):608-14.
76. Hartmann M, Szalai C, Saner FH. Hemostasis in liver transplantation: Pathophysiology monitoring and treatment. *World J Gastroenterol.* 2016;22(4):1541-50.
77. Pereboom IT, Lisman T, Porte RJ. Platelets in liver transplantation: friend or foe? *LiverTranspl.* 2008; 14 (7):923-31.
78. Tripodi A, Salerno F, Chantarangkul V, Clerici M, Cazzaniga M, Primignani M, et al. Evidence of normal thrombin generation in cirrhosis despite abnormal conventional coagulation tests. *Hepatology.* 2005; 41: 553–558.
79. Thielmann M, Kottenberg E, Kleinbongard P, Wendt D, Gedik N, Pasa S, et al. Cardioprotective and prognostic effects of remote ischaemic preconditioning in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a single-centre randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet* 2013; 382:597-04.
80. Er F, Nia AM, Dopp H, Hellmich M, Dahlem KM, Caglayan E, et al. Ischemic preconditioning for prevention of contrast medium-induced nephropathy: randomized pilot RenPro Trial (Renal Protection Trial). *Circulation* 2012; 126: 296-03.
81. Wu J, Feng X, Huang H, Shou Z, Zhang X, Wang R, et al. Remote ischemic conditioning enhanced the early recovery of renal function in recipients after kidney transplantation: a randomized controlled trial. *J Surg Res* 2014;188: 303–8.

82. Zhang L, Diao Y, Chen G, Tanaka A, Eastwood GM, Bellomo R. J Crit Care. Remote ischemic conditioning for kidney protection: A meta-analysis 2016 J Crit Care; 33:224 –32.
83. Igarashi G, Iino K, Watanabe H, Ito H. Remote ischemic pre-conditioning alleviates contrast-induced acute kidney injury in patients with moderate chronic kidney disease. 2013 Circ J.; 77: 3037-44.
84. Menting TP, Sterenberg TB, de Waal Y, Donders R, Wever KE, Lemson MS, et al. Remote Ischemic Preconditioning To Reduce Contrast-Induced Nephropathy: A Randomized Controlled Trial. Eur J Vasc Endovasc Surg 2015; 50:527-32.
85. Gallagher SM, Jones DA, Kapur A, Wragg A, Harwood SM, Mathur R, et al. Remote ischemic preconditioning has a neutral effect on the incidence of kidney injury after coronary artery bypass graft surgery. Kidney int 2015;87: 473-81.
86. MacAllister R, Clayton T, Knight R, Robertson S, Nicholas J, Motwani M, et al. REmote preconditioning for Protection Against Ischaemia-Reperfusion in renal transplantation (REPAIR): a multicentre, multinational, double-blind, factorial designed randomised controlled trial. Efficacy and Mechanism Evaluation. Southampton. Efficacy MechEval 2015;2(3).
87. Chen Y, Zheng H, Wang X, Zhou Z, Luo A, Tian Y. Remote ischemic preconditioning fails to improve early renal function of patients undergoing living-donor renal transplantation: a randomized controlled trial. Transplantation 2013; 95:e4–6.

88. Nicholson ML, Pattenden CJ, Barlow AD, Hunter JP, Lee G, Hosgood SA. A DoubleBlind Randomized Clinical Trial of Remote Ischemic Conditioning in Live Donor Renal Transplantation. *Medicine* 2015; 94:e1316.
89. Kim WH, Lee JH, Ko JS, Min JJ, Gwak MS, Kim GS, et al .The effect of remote ischemic postconditioning on graft function in patients undergoing living donor kidney transplantation. *Transplantation* 2014; 98: 529–36.
90. Van den Akker EK, Hesselink DA, Manintveld OC, Lafranca JA, de Bruin RW, Weimar W, et al. Ischemic postconditioning in human DCD kidney transplantation is feasible and appears safe. *Transpl Int* 2014;27:226-3.

## **Resumen Autobiográfico**

**Dr. Marco Antonio Hernández Guedea**

**Candidato para el grado de Doctor en Medicina**

**Tesis: Evaluación del preacondicionamiento isquémico remoto para mejorar la viabilidad de los injertos en trasplante hepático y renal.**

**Campo de Estudio: Ciencias de la Salud**

### **Biografía:**

Datos Personales: Nacido en Palau, Coahuila, 20 de Marzo de 1971. Hijo de Julio Daniel Hernández Macías y Lucila Guedea Garza. Casado con Alma Mireya Iracheta Gámez. Hijos Marco Antonio Hernández Iracheta, Iván Darío Hernández Iracheta, Anyelo Aramis Hernández Iracheta.

### **Educación:**

Egresado de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Grado obtenido: Médico Cirujano y Partero en Julio 1994.

Egresado del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Grado obtenido: Especialidad en Cirugía General, Vascular Periférico y Laparoscopia en Febrero 2000.

Egresado del Hospital Clinic, Universidad de Barcelona, España, Grado obtenido: Subespecialidad en Cirugía Hepática y Trasplantes en Agosto 2003.

e-mail: hguedea@hotmail.com