



EDITORIAL

Tolerancia operacional en el trasplante hepático: más frecuente de lo esperado y cuanto más tiempo pasa desde el trasplante

Operational tolerance in liver transplantation is more frequent than expected and increases with time after the intervention

Los avances en el tratamiento inmunosupresor han tenido un gran impacto en la evolución y en el éxito de los trasplantes de órganos y en particular del trasplante hepático (TH). Con la introducción de los nuevos fármacos inmunosupresores, la incidencia de rechazo agudo ha disminuido de forma considerable, y la supervivencia de los pacientes trasplantados hepáticos es mayor del 80 y del 70% al año y a los 5 años, respectivamente, con un incremento en las últimas décadas¹. Sin embargo, la toxicidad asociada con el uso de estos fármacos es importante, condicionando la aparición de hipertensión arterial, hiperlipidemia, diabetes, insuficiencia renal y tumores *de novo* en los pacientes trasplantados. Las causas mayores de mortalidad tardía son, además de la recurrencia de la infección por virus C, los problemas cardiovasculares, metabólicos y los tumores *de novo*, teniendo la inmunosupresión (IS) un impacto negativo sobre estas complicaciones². La minimización de la IS o su retirada, especialmente de los fármacos inhibidores de la calcineurina, puede ser la estrategia para disminuir los efectos secundarios que condicionan la mayor morbilidad después del TH. Es un hecho conocido que el TH entre especies animales como el cerdo y entre ciertas combinaciones de ratas y ratones puede realizarse sin inmunosupresión. Esta observación en animales y la posibilidad de retirar completamente los fármacos inmunosupresores en pacientes seleccionados con trasplante hepático³⁻⁵ nos permite afirmar que el hígado es un órgano inmunológicamente privilegiado, que puede tolerarse tras el trasplante con menor inmunosupresión y en ocasiones es posible retirar completamente los fármacos inmunosupresores sin daño histológico de rechazo, lo que se define como tolerancia operacional (TO)⁶. Diversas observaciones experimentales y a nivel clínico indican que el hígado es «menos inmunogénico» que otros órganos vascularizados, y que el injerto hepático puede inducir propiedades tolerogénicas a otros órganos. Un fenómeno inusual en otros órganos trasplantados es la tolerancia espontánea del injerto hepático en ciertas especies

como el ratón, la rata y el cerdo en ausencia de inmunosupresión, a pesar de una estimulación inicial del sistema inmunitario. Además, el hígado trasplantado puede actuar como inmunosupresor cuando se trasplanta a animales con rechazo después de un trasplante de páncreas o corazón, revirtiendo dicho rechazo. El injerto hepático en humanos es menos susceptible al rechazo humoral y no requiere compatibilidad MHC entre donante y receptor. El TH protege habitualmente el riñón trasplantado del mismo donante del rechazo agudo humoral y celular. Además, en pacientes trasplantados hepáticos seleccionados es posible retirar definitivamente toda la inmunosupresión hasta en un 25-30% de casos^{3,7}. Hasta el momento se han realizado diversos estudios de minimización o de retirada de IS en el TH. A pesar de los resultados prometedores, muchos de estos estudios no son controlados, se han realizado con pocos pacientes y existe una importante heterogeneidad en aspectos como las características de los pacientes, el tiempo desde el TH en el que se retira o minimiza la IS y el periodo de retirada de la IS. Todo ello hace difícil alcanzar conclusiones que permitan una estrategia consensuada basada en la evidencia respecto a la retirada de IS. Pese al avance acontecido en los últimos años en TO, sería necesario definir de forma controlada y prospectiva diversos aspectos que surgen como preguntas desde la cabecera del enfermo: a) ¿es posible retirar la IS en los pacientes con TH?; b) ¿es peligroso para el paciente recibir un protocolo de retirada de IS?; c) ¿es beneficiosa para el paciente la retirada de IS?; y d) ¿existe algún parámetro que permita reconocer durante el proceso de retirada de IS al grupo de pacientes en los que podremos completar la retirada de IS?

Recientemente se han publicado los 2 primeros ensayos clínicos monitorizados prospectivos multicéntricos de retirada de IS en pacientes pediátricos y adultos con TH. El estudio de Benítez et al.⁸, del grupo dirigido por el Dr. Sánchez Fueyo, patrocinado por el Consorcio Europeo RISE (Reprogramming the Immune System for the Establishment

of Tolerance) y publicado en *Hepatology*, es el primer estudio multinacional prospectivo de retirada de IS realizado en adultos. En este estudio se incluyeron 102 pacientes de un total de 500 pacientes analizados inicialmente retirándose la IS durante un periodo entre 6 y 9 meses. El objetivo primario del estudio fue definir la frecuencia de tolerancia operacional y como objetivos secundarios se establecieron la mortalidad, las pérdidas de injerto, la severidad de los episodios de rechazo, el tiempo entre el inicio de retirada de IS y el rechazo, los cambios histológicos hepáticos tras la retirada de IS, normalización de la disfunción del injerto tras la aparición de rechazo y el posible cambio en los efectos secundarios de la IS con un seguimiento de 36 meses tras la inclusión en el estudio. Los principales resultados y conclusiones del estudio fueron:

1. Un 40,2% (41/102) de los pacientes por intención de tratar o un 41,8% (41/98) de pacientes por cumplimiento de protocolo consiguieron TO, que fue estable al menos durante los 49 (DE 7,7) meses de seguimiento.
2. No todos los pacientes analizados (500) fueron incluidos en el estudio. Por tanto la aplicabilidad de esta estrategia de retirada de IS fue tan solo del 20,4% (102/500).
3. Los pacientes no tolerantes (57; 58%) lo fueron siempre durante la retirada de IS y no después de acabar la retirada. En estos pacientes el rechazo fue leve o moderado en la mayoría y solamente severo en el 5%. Además no hubo casos de rechazo crónico y la disfunción hepática se resolvió en la mayoría de los casos con restauración de la IS basal o con asociación de dosis bajas o moderadas de esteroides.
4. No se produjeron cambios en las comorbilidades, ni en los pacientes tolerantes ni en los no tolerantes, tras un periodo de seguimiento de 36 meses.
5. En los pacientes tolerantes se produjo un aumento de la inflamación lobular al año después de la retirada de IS que ya no se observó 3 años después de dicha retirada.
6. Uno de los hallazgos más importantes de este estudio es que el tiempo desde el TH es el mejor predictor de tolerancia. Así, en los pacientes con TH más de 10 años, la probabilidad de tolerancia fue del 79%, sin que influya la edad del paciente en el momento del TH. Sin embargo, en los pacientes con menos de 6 años desde el TH y menos de 49 años la probabilidad de tolerancia fue nula.

Los resultados de este estudio demuestran la posibilidad real de retirar los fármacos inmunosupresores en una proporción superior de pacientes con TH que la conocida previamente del 20%, especialmente cuanto más tiempo ha pasado desde el trasplante. El estudio tiene algunas limitaciones que los propios autores reconocen, como el posible sesgo por los estrictos criterios de selección que dan como resultado una baja aplicabilidad de esta estrategia. Además, la falta de beneficio clínico en cuanto a la mejoría de los efectos secundarios de la IS hace necesario un mayor seguimiento para estudiar si esta se produce. Los hallazgos de este estudio están en concordancia con el otro gran estudio prospectivo realizado en 20 pacientes pediátricos con trasplante de donante vivo parental⁹. En este estudio un 60% de los pacientes alcanzaron TO y estos pacientes habían sido trasplantados más tiempo (mediana, 100,6 meses)

que aquellos pacientes no tolerantes (mediana, 73 meses). Además, el estudio confirma la mayor tasa de TO en pacientes pediátricos que en adultos ya demostrada previamente.

Un aspecto que no discuten los autores del artículo de Benítez et al. es el relacionado con los pacientes con hepatitis C. En este estudio, 12 pacientes con ARN-VHC positivo de un total de 24 pacientes trasplantados por virus C son sometidos a retirada de IS y de los 12 pacientes, 7 fueron tolerantes y 5 no tolerantes. Cuando se compararon los datos histológicos basales y 12 y 36 meses después de la retirada de IS, en los 7 pacientes tolerantes aumentó el grado de fibrosis portal de forma significativa de 1 a 2 y 3, respectivamente ($p=0,05$). En estudios previos del grupo de Roma donde se retiró la IS en 34 pacientes con recurrencia del VHC¹⁰ los pacientes con retirada completa de IS mostraron una estabilidad o mejoría en los cambios necroinflamatorios en el injerto hepático, con una marcada reducción en la progresión de la fibrosis. Al contrario, los pacientes en los que no se pudo retirar completamente la IS sufrieron un deterioro histológico y bioquímico. Sin embargo, el impacto de la TO sobre la progresión de la enfermedad por VHC no fue tan pronunciado como a los 4 años de evolución. Actualmente es difícil determinar el impacto de una retirada completa de IS sobre la recidiva del VHC, aunque a nivel teórico, debería ser beneficiosa, al mejorar el estado inmunitario. Una reciente conferencia sobre tolerancia, del mismo grupo del estudio, realizada en el último congreso de la EASL-2013, adelantó datos de una negativa experiencia en TO en los pacientes con recidiva del VHC.

A las 2 primeras preguntas que nos planteábamos responden de forma clara tanto el estudio de Benítez et al.⁸, como el de Feng et al.⁹, pudiendo afirmarse que la TO es posible y frecuente cuanto más tiempo pasa desde el TH y no supone un peligro especial si se realiza de forma controlada. No obstante, es necesario un seguimiento más prolongado dado que en ocasiones se puede producir rechazo varios años después de la retirada de IS. Sin embargo, es más difícil responder a la pregunta de si retirar la IS es beneficioso para el paciente. Ninguno de los 2 estudios demuestra beneficio alguno. En una revisión reciente se pudo observar que son pocos los estudios que analicen esta cuestión y además tienen diversas limitaciones, como el número de pacientes analizados y el corto periodo de seguimiento¹¹. No obstante, es conocido que la mayoría de los efectos secundarios de la IS, especialmente la insuficiencia renal, solo se previene cuando se minimiza la IS de forma precoz. Sin embargo, en este estudio uno de los criterios más importante de selección de los pacientes fue el estar trasplantado como mínimo 3 años, tiempo en el que muchos efectos secundarios debidos a la IS o son irreversibles o ya se han producido (diabetes, tumores *de novo*, problemas cardiovasculares, etc.). Posiblemente el hecho de que la retirada de IS se produzca de forma tardía hace difícil que se puedan obtener beneficios significativos, pero esta cuestión solamente se responderá en estudios aleatorizados con gran número de pacientes y largos periodos de seguimiento.

Por último, ¿existe algún parámetro que permita reconocer durante el proceso de retirada de IS al grupo de pacientes en los que podremos completar la retirada de IS? Actualmente existen diversos estudios en marcha dirigidos a conocer parámetros que en un paciente concreto nos permitan predecir si podrá ser tolerante a la

retirada de inmunosupresión tras un periodo de adaptación al nuevo órgano trasplantado. Las tecnologías del estudio completo del genoma, y en particular las tecnologías de alto rendimiento de expresión genética, son una base de gran oportunidad para el estudio de los mecanismos y de la monitorización de la tolerancia. Datos recientes han demostrado un aumento de la frecuencia de células T CD4+CD25^{high} y de la expresión de FoxP3 durante la retirada de IS en los pacientes tolerantes con TH⁵. El primer estudio utilizando el perfil de expresión de genes con microarray en el TH en humanos lo realizaron Martínez-Llordella et al.¹² en el año 2007. En este estudio se compararon muestras de células mononucleares en sangre periférica (CMSP) de 16 pacientes con TO y 16 pacientes no tolerantes con TH, utilizando microarray comercial Affymetrix de análisis de oligonucleótidos de genoma completo. La comparación de los pacientes con TO y aquellos no tolerantes dio lugar a un perfil de expresión genética diferente en un total de 628 genes. Entre los genes más destacados se encontró una mayor expresión de transcripción específica de células T $\gamma\delta$ y varios genes relacionados con células NK. El mismo equipo del Hospital Clínico de Barcelona, dirigido por Sánchez-Fueyo, en colaboración con nuestro grupo de Murcia y otros 2 grupos europeos de Bélgica e Italia, publicó un segundo estudio en el que los experimentos de expresión genética mediante microarray y qPCR se expandieron para analizar una población más amplia de pacientes con TH con TO y de pacientes no tolerantes¹³. Estos análisis identificaron 3 huellas de genes (que contenían 2, 6 y 7 genes, respectivamente) que podían clasificar adecuadamente la mayoría de las muestras incluidas en el grupo de entrenamiento (error de clasificación: 3-6%) y en un grupo independiente de pacientes (error de entre el 13 y el 17%). El análisis funcional de los genes expresados diferencialmente identificó las señales celulares de NK como las vías moleculares asociadas con tolerancia. Los biomarcadores de transcripción encontrados en este estudio han sido validados, antes de la retirada de IS en pacientes con TH, en un estudio prospectivo multicéntrico europeo de retirada de IS¹⁴. En este mismo estudio se identificaron, de forma muy novedosa y por primera vez, diferencias transcripcionales entre pacientes tolerantes y no tolerantes a nivel del tejido hepático. El perfil de expresión genética dentro del injerto estaba caracterizado por genes relacionados con la homeostasis del hierro (aumento de expresión de HAMP y disminución de TFRC). Además no existía correlación ni similitudes entre la expresión genética en sangre periférica e injerto. Y lo más importante, la expresión de genes dentro del injerto era un factor independiente predictivo de TO. En el estudio de expresión de genes en sangre periférica de pacientes pediátricos con TH se ha visto que es similar al de los adultos, expresados fundamentalmente en las células NK¹⁵.

En conclusión, han pasado más de 2 décadas desde que el TH se estableció como un tratamiento aceptado para los pacientes con enfermedad terminal del hígado, gracias a los excelentes resultados obtenidos con la ciclosporina, y aún hoy seguimos intentando decidir el tratamiento inmunosupresor más óptimo. La baja tasa de rechazo agudo y crónico en los pacientes con TH sugiere que las estrategias de IS actuales son excelentes. Por otra parte, el problema más importante en los pacientes trasplantados es el aumento de complicaciones asociadas con la utilización a largo

plazo de los fármacos inmunosupresores como la nefrotoxicidad, complicaciones cardiovasculares y neoplasias. En ausencia de una evidencia consistente basada en grandes estudios clínicos prospectivos, nuestro punto de referencia actual relacionado con los resultados sobre TO en TH debe basarse en estudios bien diseñados como el de Benítez et al., en el que la colaboración multinacional ha permitido el mayor estudio sobre TO hasta el momento.

Financiación

Trabajo financiado por el Instituto Carlos III, FIS n.º PI12/02042. Cofinanciado por el FEDER (Fondo Europeo de Desarrollo Regional): «Una manera de hacer Europa».

Bibliografía

1. European Liver Transplant Registry. Data analysis booklet 2013. [consultado 27 Jun 2013]. Disponible en: <http://www.eltr.org>
2. Watt KDS, Pedersen RA, Kremers WK, Heimbach JK, Charlton MR. Evolution of causes and risk factors for mortality post-liver transplant: Results of the NIDDK long-term follow-up study. *Am J Transplant*. 2010;10:1420-7.
3. Mazariagos GV, Reyes J, Marino IR, Demetris AJ, Flynn B, Irish W, et al. Weaning of immunosuppression in liver transplant recipients. *Transplantation*. 1997;63:243-9.
4. Takatsuki M, Uemoto S, Inomata Y, Egawa H, Kiuchi T, Fujita S, et al. Weaning of immunosuppression in living donor liver transplant recipients. *Transplantation*. 2001;72:449-54.
5. Pons JA, Revilla-Nuin B, Baroja-Mazo A, Ramirez P, Martínez-Alarcón L, Sánchez-Bueno F, et al. FoxP3 in peripheral blood is associated with operational tolerance in liver transplant patients during immunosuppression withdrawal. *Transplantation*. 2008;86:1370-8.
6. Ashton-Chess J, Giral M, Brouard S, Souillou JP. Spontaneous operational tolerance after immunosuppressive drug withdrawal in clinical renal allotransplantation. *Transplantation*. 2007;84:1215-9.
7. Sánchez-Fueyo A, Strom TB. Immunological tolerance and liver transplantation. *J Hepatol*. 2004;41:698-705.
8. Benítez C, Londoño MC, Miquel R, Manzia TM, Abalde JG, Lozano JJ, et al. Prospective multi-center clinical trial of immunosuppressive drug withdrawal in stable adult liver transplant recipients. *Hepatology*. 2013. Doi:10.1002/hep.26426.
9. Feng S, Ekong UD, Lobritto SJ, Demetris AJ, Roberts JP, Rosenthal P, et al. Complete immunosuppression withdrawal and subsequent allograft function among pediatric recipients of parental living donor liver transplants. *JAMA*. 2012;307:283-93.
10. Orlando G, Manzia T, Baiocchi L, Sánchez-Fueyo A, Angelico M, Tisone G. The Tor Vergata Weaning Off Immunosuppression Trial in HCV liver transplant patients. The updated follow up at 78 months. *Transpl Imm*. 2008;20:43-7.
11. Pons JA, Revilla Nuin B, Ramírez P, Baroja Mazo A, Martínez Alarcón L, Robles R, et al. What do we know about the clinical impact of complete withdrawal of immunosuppression in liver transplantation? *Transplant Proc*. 2012;44:1530-2.
12. Martínez-Llordella M, Puig-Pey I, Orlando G, Ramoni M, Tisone G, Rimola A, et al. Multiparametric immune profiling of operational tolerance in liver transplantation. *Am J Transplant*. 2007;7:309-19.
13. Martínez-Llordella M, Lozano JJ, Puig-Pey I, Orlando G, Tisone G, Lerut J, et al. Using transcriptional profiling to

- develop a diagnostic test of operational tolerance in liver transplant recipients. *J Clin Invest.* 2008;118:2845–57.
14. Bohne F, Martínez-Llordella M, Lozano JJ, Miquel R, Benítez C, Londoño MC, et al. Intra-graft expression of genes involved in iron homeostasis predicts the development of operational tolerance in human liver transplantation. *J Clin Invest.* 2012;122:368–82.
15. Li L, Wozniak LJ, Rodder S, Heish S, Talisetti A, Wang Q, et al. A common peripheral blood gene set for diagnosis of operational tolerance in pediatric and adult liver transplantation. *Am J Transplant.* 2012;12:1218–28.

José Antonio Pons Miñano^{a,b,c}

^a *Unidad de Hepatología, Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España*

^b *Unidad de Trasplante Hepático, Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España*

^c *CIBER de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd)*
Correo electrónico: joseapons@yahoo.es