

Influencia de los hallazgos de la biopsia post-reperfusión en la evolución del injerto tras el trasplante hepático

J. Busquets, T. Serrano*, J. Figueras, E. Ramos, J. Torras, A. Rafecas, J. Fabregat, X. Xiol**, C. Lama, L. Ibáñez y E. Jaurrieta

*Servicio de Cirugía. *Servicio de Anatomía Patológica. **Servicio de Gastroenterología. Hospital Prínceps d'Espanya. Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona*

RESUMEN

Introducción: el incremento de las indicaciones de trasplante hepático ha comportado el alargamiento de las listas de espera. Por este motivo la ampliación en la utilización de los donantes marginales es una prioridad para la mayoría de grupos.

Objetivo: el objetivo de este estudio es analizar el valor predictivo de la biopsia post-reperfusión en la evolución de la función del injerto tras el trasplante hepático.

Pacientes: se analizaron 148 biopsias hepáticas obtenidas tras la reperfusión del injerto. Se recogieron ocho variables anatómopatológicas y treinta y siete variables clínicas del donante y receptor. Se estudiaron los factores de riesgo de presentar no-función primaria o disfunción del injerto, mediante modelos de regresión logística. Los factores asociados a la pérdida del injerto a largo plazo fueron calculados mediante análisis de Cox y curvas de supervivencia actuarial.

Resultados: la esteatosis microvesicular superior al 50% fue el único factor de riesgo de presentar disfunción del injerto, en el modelo de regresión logística multivariante. La esteatosis macrovesicular superior al 30%, la necrosis hepatocitaria severa y la presencia de abundantes leucocitos neutrófilos fueron factores de riesgo de pérdida del injerto en el estudio univariante. Únicamente la esteatosis se mantuvo como factor de riesgo independientemente en el estudio multivariante comportando además peor supervivencia del injerto. El infiltrado polimorfonuclear abundante se asoció a mayor aparición de complicaciones biliares.

Conclusiones: la esteatosis microvesicular comporta mejor evolución que la macrovesicular. La infiltración por polimorfonucleares y la presencia de necrosis son también predictores de disfunción y tienen peor evolución a largo plazo.

Palabras clave: Trasplante hepático. Esteatosis. Disfunción primaria. Complicaciones biliares.

Recibido: 17-05-00.

Aceptado: 21-11-00.

Correspondencia: Juan Figueras. Servicio de Cirugía General y Digestiva. Hospital Prínceps d'Espanya. Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge. C/ Feixa Llarga, s/n. 08907 Hospitalet de Llobregat. Barcelona (España). E.mail: jfigueras@csb.scs.es

Busquets J, Serrano T, Figueras J, Ramos E, Torras J, Rafecas A, Fabregat J, Xiol X, Lama C, Ibáñez L, Jaurrieta E. Influence of donor post-reperfusion changes on graft evolution after liver transplant. Rev Esp Enferm Dig 2001; 93: 39-43.

INTRODUCCIÓN

En el año 1999 el número de pacientes en lista de espera para trasplante hepático (THO) en España era de 1.610. En el transcurso del citado año se realizaron 960 trasplantes, 123 pacientes murieron en lista de espera y 174 fueron excluidos de la misma, probablemente por empeoramiento clínico (1). Como podemos comprobar, en los últimos años y tras la aceptación general del trasplante hepático como terapéutica útil y con buenos resultados (2), las listas de espera se han incrementado y actualmente la muerte en lista de espera comienza a ser una preocupación para todos los grupos de trasplante hepático. Así, durante los últimos años son numerosos los grupos que estudian el donante marginal o límite como solución a dicho problema (3-5). Básicamente se trata de donantes añosos (6,7) o con esteatosis hepática (8-12). Existe controversia en cuanto a la utilización de los hígados que presentan infiltración hepática por grasa. Mientras algunos autores desaconsejan su uso, por presentar peor función inicial del injerto y peor supervivencia del mismo (9), para otros investigadores (10-12) su utilización en casos seleccionados presenta unos resultados aceptables y puede contribuir a acortar la lista de espera. El objetivo de este estudio es analizar el valor predictivo de la biopsia hepática tras la reperfusión en el funcionalismo del injerto en el periodo post-trasplante.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante el periodo comprendido entre enero de 1997 y agosto de 1999, se realizaron en nuestro centro, 163

THO sobre 147 enfermos. El estudio se basa en el análisis retrospectivo de 148 biopsias hepáticas realizadas tras la reperfusión del injerto. Quince biopsias fueron descartadas por la mala calidad de las mismas. Las biopsias se realizaron tras la reperfusión del injerto mediante aguja Trucut® de 14 G (Alliagance Sante, Chateaubriant, Francia) sobre el lóbulo izquierdo. Las muestras se fijaron en formol al 10%, y tras su inclusión en parafina se obtuvieron secciones de tejido que fueron teñidos con hematoxilina-eosina. La fibrosis se valoró con la tinción de Masson. Todas las biopsias fueron analizadas por un mismo patólogo y un mismo cirujano. Se hizo una valoración semicuantitativa de las variables anatómo-patológicas:

1. *Esteatosis*: la esteatosis fue valorada en función del número de hepatocitos afectados y del tamaño de la vacuola grasa observada. Según el tamaño de ésta, se clasificó en dos patrones: microesteatosis y macroesteatosis. Definimos microesteatosis como la presencia de grasa en el citoplasma hepatocitario sin desplazar al núcleo celular y macroesteatosis a la presencia de grasa desplazando el núcleo. En cuanto a la intensidad de la esteatosis, la estratificamos en: leve, si el infiltrado graso afectaba a menos del 30% de la muestra; moderada, entre el 30 y el 60%; o severa, si aquel era mayor del 60%.

2. *Cambios asociados a lesión tras reperfusión*: de acuerdo con las descripciones de Kakizoe y Gaffey (12,13), se valoró la presencia de leucocitos neutrófilos en el lobulillo hepático según el número de agregados en: ausente, leve, moderado o severo. La necrosis hepatocitaria, que suele acompañar a la lesión anterior, la estratificamos de forma similar a la anterior: ausencia, grado leve, moderado, y severo.

3. *Otros cambios*: presencia de fibrosis hepática, colostasis canalicular, dilatación sinusoidal marcada e infiltrado portal polimorfonuclear. Tras la recogida de los datos anatómo-patológicos, se añadieron al estudio las variables clínicas del donante: edad, sexo, natremia (mmol/L), días de estancia en la UCI, compatibilidad ABO donante-receptor, resultado "cross-match" donante-receptor (positivo o negativo), causa de muerte cerebral, y el tiempo de isquemia fría. Por último, se recogieron las siguientes variables demográficas y evolutivas del receptor: edad, sexo, diagnóstico, pico máximo de ALT y AST (U/L) durante los tres primeros días postrasplante, pico máximo de bilirrubina durante la primera semana ($\mu\text{mol/L}$) y actividad mínima de protrombina, estado en clasificación de la *United National Organ Sharing* (UNOS), aparición de trombosis arterial, complicaciones biliares, No-Función Primaria del Injerto (NFPI), o Disfunción Primaria del Injerto (DPI). Definimos NFPI como la pérdida del injerto (muerte o retrasplante) durante la primera semana por insuficiencia hepática, y asumimos que el paciente presenta DPI en el caso de detectar ALT >1.500 UI/L, AST >1.500 UI/L y TP <50%, sin que fuese causa de muerte o retrasplante.

Análisis estadístico

Inicialmente se realizó un análisis descriptivo de las variables, tras lo cual se modificaron las variables anatómo-patológicas continuas en discontinuas para su mejor tratamiento estadístico teniendo en cuenta varios puntos de corte. Las alteraciones analíticas se compararon mediante un análisis de medias "t de Student", para los grupos con esteatosis macrovesicular y microvesicular. En el estudio de factores de riesgo de presentar NFPI y de DPI se empleó un modelo de regresión logística univariante y multivariante. La significación estadística fue considerada a partir de una $p < 0,05$. Asimismo, se estudiaron los factores de riesgo de pérdida del injerto a largo plazo mediante el análisis univariante y multivariante de Cox. Se analizó la evolución a largo plazo del injerto mediante la comparación de las curvas de supervivencia de "Kaplan-Meier" con el test de los rangos logarítmicos para cada variable. También estudiamos la relación de los cambios histológicos con la aparición de complicaciones biliares mediante un test de "Chi cuadrado" y un análisis de regresión logística para evidenciar los factores asociados a dicha complicación. Por último, se llevó a cabo un estudio con curvas de "Kaplan-Meier" según el momento de aparición de la complicación biliar. El estudio se cerró en febrero del año 2000, por tanto el tiempo de seguimiento mínimo fue de 6 meses para los injertos funcionantes.

RESULTADOS

Características demográficas

Sobre un total de 148 biopsias revisadas hallamos esteatosis macrovesicular en 61 casos (43%), siendo ésta de tipo leve en 55 (37%) y moderada en 9 (6%), no hubo ningún caso de esteatosis grave. La esteatosis microvesicular fue descrita en 59 casos (40%): siendo leve en 41 casos (28%), moderada en 10 (7%), y severa en 8 (6%). La necrosis hepatocitaria se contabilizó en un total de 16 biopsias (11%), doce de las cuales eran de tipo leve (8%), tres moderadas (2%) y una severa (1%). La presencia de leucocitos polimorfonucleares en el lobulillo hepático se evidenció en 82 casos (55%), siendo leve en 56 (38%), moderada en 17 (11%), y severa en 9 (6%). La dilatación sinusoidal se contabilizó en un total de 17 casos (13%), el infiltrado portal en 18 (12%), y por último la colostasis se registró en 3 (2%). La función inicial del injerto se calificó de DPI en 16 casos (11%), y 2 casos de NFPI (1%).

Función inicial del injerto

El modelo de regresión logística univariante utilizado demostró que la esteatosis microvesicular superior al 50% era un factor de riesgo de presentar DPI ($p=0,04$). Los cambios atribuibles al síndrome isquemia-reperfusión

como son la presencia de necrosis hepatocitaria ($p=0,001$) y el infiltrado de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos abundantes ($p=0,02$) también fueron factores de riesgo de DPI. Ahora bien, en el estudio multivariante, ajustado para las variables significativas citadas, tan sólo la presencia de esteatosis microvesicular superior al 50% fue un factor de riesgo de forma independiente de presentar DPI ($p=0,02$) (Tabla I). Ninguna de las variables histo-patológicas o clínicas estudiadas fue un factor de riesgo significativo de NFPI, probablemente porque sólo dos pacientes fueron retrasplantados por fallo primario del injerto durante la primera semana en nuestra serie.

Tabla I. Factores de riesgo de aparición de disfunción primaria del injerto (modelo de regresión logística)

	Univariante RRc (IC 95%)	Multivariante RRa (IC 95%)
Variables anatómo-patológicas		
Esteatosis microv. >50% (n = 10)	4,6 (1,2-20) ($p=0,04$)	6,9 (1,2-38) ($p=0,02$)
Esteatosis macrov. >30% (n = 9)	2,4 (0,4-13) ($p=0,2$)	3,2 (0,4-21) ($p=0,2$)
Necrosis hepatocitaria (n = 17)	4,8 (1,4-16) ($p=0,01$)	3 (0,7-16) ($p=0,2$)
Dilatación sinusoidal (n = 17)	1,7 (0,4-6,9) ($p=0,4$)	
Infiltración portal (n = 18)	1,7 (0,4-6,8) ($p=0,4$)	
Colostasis (n = 3)	4,2 (0,3-49) ($p=0,2$)	6 (0,3-99) ($p=0,2$)
Infiltración PMN severa (n = 9)	6,8 (1,2-38) ($p=0,02$)	3,3 (0,4-25) ($p=0,2$)
Variables clínicas		
Tiempo isque. fría >720 min (n = 15)	2,2 (0,5-8,9) ($p=0,2$)	1,3 (0,2-7,7) ($p=0,7$)
Edad donante >70 a (n = 7)	3,4 (0,6-19) ($p=0,1$)	4,5 (0,5-32) ($p=0,1$)
Sexo donante (mujer) (n = 39)	1,6 (0,4-6,1) ($p=0,4$)	
Natremia >155 mmol/L (n = 35)	1 (0,3-3,4) ($p=0,9$)	
Estancia en U.C.I. >5 d (n = 20)	0,8 (0,1-4) ($p=0,8$)	

Factores de riesgo de pérdida del injerto a largo plazo

La presencia de esteatosis macrovesicular superior al 30% ($p=0,04$), la necrosis hepatocitaria severa ($p=0,004$) y el hallazgo de abundantes leucocitos neutrófilos ($p=0,01$) fueron factores de riesgo de pérdida del injerto a largo plazo, en el estudio univariante de Cox. En cuanto a las variables clínicas del donante, el tiempo de isquemia superior a 12 horas ($p=0,02$), la estancia en UCI del donante superior a cinco días ($p=0,01$), y la edad del receptor superior a 60 años, fueron factores de riesgo de pérdida del injerto. El estudio multivariante ajustado para las variables anatomopatológicas significativas, demostró cómo la esteatosis macrovesicular superior al 30%, influye sobre la pérdida del injerto a largo plazo de una forma independiente (Riesgo Relativo Ajustado = 3,1; Intervalo de confianza del 95% = 1-9,5, $p=0,004$).

Supervivencia actuarial del injerto

Al estudiar la evolución actuarial del injerto mediante las curvas de Kaplan Meier, la supervivencia fue signifi-

cativamente peor en los casos en que el donante había permanecido más de cinco días en la UCI ($p=0,0035$) y en aquéllos en que el tiempo de isquemia fue superior a doce horas ($p=0,01$). Por otra parte, el estudio confirmó los resultados obtenidos en el estudio de los factores de riesgo, evidenciando cómo los donantes con esteatosis macrovesicular superior al 30% ($p=0,03$) (Fig. 1), y aquellos que habían presentado cambios severos tras la reperfusión: presencia de abundantes leucocitos neutrófilos ($p=0,01$) y necrosis hepatocitaria severa ($p=0,0009$), presentaban una peor supervivencia a largo plazo. Sin embargo, la esteatosis microvesicular no implicaba una diferencia estadísticamente significativa en la supervivencia de dichos injertos. En cuanto al receptor, algunas variables implicaron una peor supervivencia de nuestros injertos, como fueron: una situación clínica muy deteriorada previa al trasplante (estadio UNOS 4, $p=0,007$), y el retrasplante hepático ($p=0,0007$). La disfunción inicial del injerto durante la primera semana del trasplante ($p=0,01$) y la aparición de trombosis arterial, comportaron un peor pronóstico del injerto a largo plazo ($p=0,007$). La presencia de abundantes leucocitos polimorfonucleares neutrófilos se relacionó con un mayor riesgo de aparición de complicaciones biliares ($p=0,02$) (Fig. 2). De los nueve injertos con infiltrado neutrófilo grave, cuatro tuvieron complicaciones biliares.

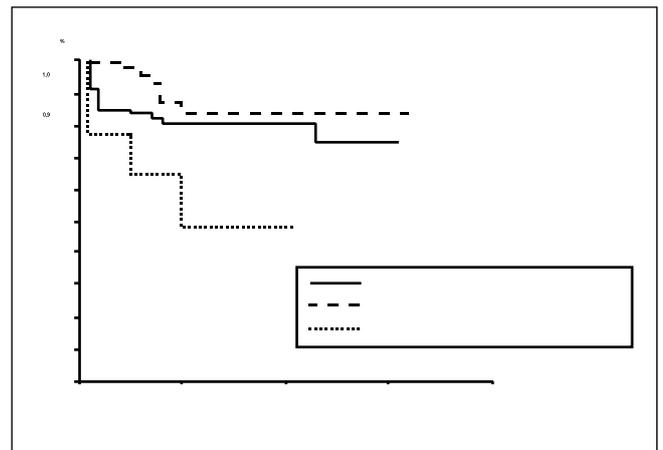


Fig. 1. - Supervivencia del injerto según grado de esteatosis macrovesicular en la biopsia post-reperfusión. Test de los rangos logarítmicos ($p=0,02$).

DISCUSIÓN

La incidencia de NFPI, que implica la muerte o retrasplante del receptor antes de una semana por mala síntesis hepática es baja (3-7%) (3,5). Se sabe que los donantes afectados de esteatosis severa, es decir mayor al 60% y un tiempo de isquemia superior a 22 horas, son factores de riesgo de presentar NFPI (4,8,14). Del mismo modo, la Disfunción Primaria del Injerto (DPI) tras el trasplante, sin llegar al extremo del retrasplante o muerte del receptor, tiene una incidencia del 13 al 16% (3,5). La utilidad

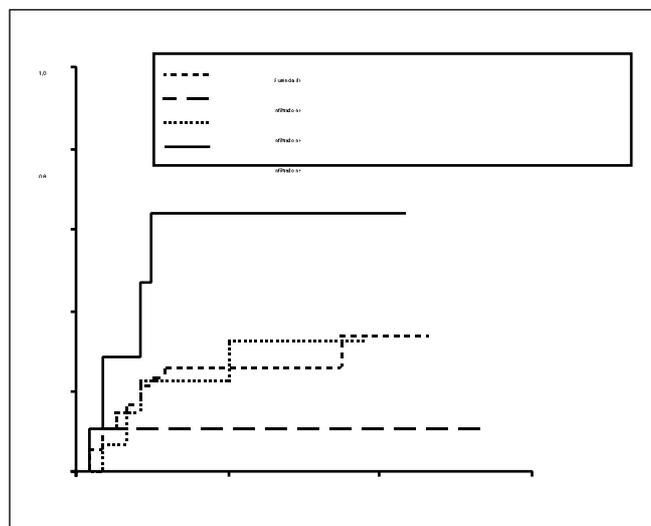


Fig. 2.- Riesgo de aparición de complicaciones biliares según el grado de infiltrado por leucocitos neutrófilos en la biopsia post-reperfusion. Test de los rangos logarítmicos ($p=0,02$).

de la biopsia hepática intraoperatoria por congelación en el diagnóstico de la esteatosis macrovesicular severa está bien establecida (4), sin embargo permite analizar únicamente las gotas gruesas de grasa del interior del hepatocito. El examen de la biopsia hepática post-reperfusion con inclusión en parafina y tinción de hematoxilina-eosina permite estudiar, no sólo la presencia de esteatosis microvesicular, sino otros signos asociados a la reperfusion del injerto (infiltración por neutrófilos, necrosis hepatocitaria) o patología previa del injerto (fibrosis, colostasis y dilatación sinusoidal). No obstante, el valor pronóstico de la biopsia hepática post-reperfusion con inclusión en parafina ha merecido bastante menos interés (12).

La esteatosis macrovesicular es fácil de descartar, tanto macroscópicamente como en la biopsia por congelación (8,12,13). La incidencia de NFPI en nuestra serie del injerto fue muy baja (1%) y probablemente estuvo relacionada con que no hubo ningún injerto que presentase infiltración grasa de gota gruesa de grado severo (60%).

Los pacientes con esteatosis macrovesicular moderada (30-60%) aunque no padecieron NFPI, presentaron supervivencia actuarial del injerto significativamente más baja (Fig. 1). Marsman (8) en otro estudio similar llegó a las mismas conclusiones, sin encontrar relación con la aparición de complicaciones biliares o arteriales.

Las causas y la importancia de la esteatosis microvesicular no se conocen todavía. Sin embargo, se han identificado algunos factores predisponentes como el embarazo, la obesidad, tóxicos o alteraciones metabólicas como el uso continuado de nutrición parenteral total (11). Nuestro estudio confirma otros trabajos y pone de manifiesto que la infiltración grasa de gota pequeña (microesteatosis), aún cuando sea severa, tiene bastante mejor pronóstico

(11,13). No obstante aunque no influye en la aparición de NFPI, la esteatosis microvesicular severa en el injerto a trasplantar parece ser un factor de riesgo de aparición de DPI (3,8); nuestra experiencia parece confirmar este hallazgo (Tabla I). La esteatosis microvesicular parece afectar al funcionalismo del injerto en el postoperatorio inmediato, sin ser un factor de riesgo de pérdida del injerto a corto plazo. Probablemente, el hecho de ser una alteración reversible del parénquima hepático implica tan sólo una afectación funcional inicial (11). Pero debemos tener en cuenta que la DPI de cualquier causa, disminuye significativamente la supervivencia del injerto a largo plazo (15,16). Si el injerto con esteatosis microvesicular se utiliza para un retrasplante, el impacto sobre la supervivencia puede ser todavía más significativo. En el estudio de Yoong (9) la supervivencia al año después del retrasplante con injertos afectados de esteatosis microvesicular severa fue sólo del 20%.

Es sabido que la presencia de leucocitos neutrófilos y necrosis en la biopsia post-reperfusion es un factor predictivo de DPI (12,13). La influencia de dicha lesión en la evolución a largo plazo está todavía por definir. Aunque en nuestra serie había pocos injertos con necrosis hepatocitaria severa, el riesgo de pérdida del injerto fue muy alto ($RR = 20$). La infiltración por leucocitos neutrófilos influyó también en una peor supervivencia del injerto a corto y a largo plazo, aunque en el estudio multivariante perdió su significación, probablemente porque está asociada a otros cambios histológicos.

La aparición de complicaciones biliares ha sido asociada a un mayor tiempo de isquemia en el injerto. En nuestro estudio, los injertos con infiltración severa lobulillar por leucocitos neutrófilos presentaron mayor incidencia de complicaciones biliares que el resto (Fig. 2). La importancia de esta asociación está pendiente de confirmar por otros estudios con mayor número de casos. La dilatación del sinusoides hepático se ha relacionado con cambios ultraestructurales tras la reperfusion del injerto (12). La presencia de dilatación sinusoidal en la biopsia fue descrita en 17 casos, sin que tuviese influencia en la pérdida del injerto o comportara una peor supervivencia a largo plazo.

En conclusión y a nuestro modo de ver, los donantes afectados de esteatosis microvesicular severa no presentan una evolución tan mala como la esteatosis macrovesicular, y son tributarios de ser aceptados, ya que es una lesión que no comporta riesgo de NFPI. No obstante, teniendo en cuenta el elevado riesgo de aparición de DPI, parece lógico acortar el tiempo de isquemia y no utilizarlos para pacientes a retrasplantar. La infiltración severa por polimorfonucleares del lobulillo y la presencia de necrosis hepatocitaria son también predictores de DPI y tienen peor evolución a largo plazo, quizás en relación con más complicaciones biliares.

Este trabajo está subvencionado por un Beca concedida por la Fundació August Pi i Sunyer a Juli Busquets.

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización Nacional de Trasplantes. Informe anual sobre trasplante hepático. Madrid, España 1999.
2. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement in Liver Transplantation. *Hepatology* 1984; 4: 107S-110S.
3. Ploeg RJ, D'Alessandro AM, Knechtle SJ, Stegall MD, Pirsch JD, Hoffmann RM, et al. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation. A multivariable analysis. *Transplantation* 1993; 55: 807-13.
4. Strasberg SM, Howard TK, Molmenti EP, Hertl M. Selecting the donor liver: risk factors for poor function after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1994; 20: 829-38.
5. Mor E, Klintmalm GB, Gonwa TA, Solomon H, Holman MJ, Gibbs JF, et al. The use of marginal donors for liver transplantation. *Transplantation* 1992; 53: 383-6.
6. Yersiz H, Shaked A, Olthoff K, Imagawa D, Shackleton C, Martin P, et al. Correlation between donor age and the pattern of liver graft recovery after transplantation. *Transplantation* 1995; 60: 790-4.
7. Emre S, Schwartz ME, Altaca G, Sethi P, Fiel MI, Guy SR, et al. Safe use of hepatic allografts from donors older than 70 years. *Transplantation* 1996; 62: 62-5.
8. Marsman WA, Wiesner RH, Rodriguez L, Batts KP, Porayko MK, Hay JE, et al. Use of fatty donor liver is associated with diminished early patients and graft survival. *Transplantation* 1996; 62: 1246-51.
9. Yoong KF, Gunson BK, Neil DAH, Mirza DF, Mayer AD, Buckels JAC, et al. Impact of donor liver microvesicular steatosis on the outcome of liver retransplantation. *Transplant Proc* 1999; 31: 550-1.
10. Sheiner P, Emre S, Cubukcu O, Thung S, Guy S, Fisher A, et al. Use of donor livers with moderate-to-severe microvesicular fat. *Hepatology* 1995; 22: 205 A.
11. Fishbein TM, Fiel MI, Emre S, Cubukcu O, Guy SR, Schwartz ME, et al. Use of livers with microvesicular fat safely expands the donor pool. *Transplantation* 1997; 64: 248-51.
12. Kakizoe S, Yanaga K, Starzl TE, Demetris AJ. Evaluation of protocol before transplantation and after reperfusion biopsies from human orthotopic liver allografts: considerations of preservation and early immunological injury. *Hepatology* 1990; 11: 932-41.
13. Gaffey MJ, Boyd JC, Traweek ST, Ali A, Rezeig M, Caldwell SH, et al. Predictive value of intraoperative biopsies and liver function test for preservation injury in orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1997; 25: 184-9.
14. Adam R, Bismuth H, Diamond T, Ducot B, Morino M, Astarcioglu I, et al. Effect of extended cold ischemia with UW solution on graft function after liver transplantation. *Lancet* 1992; 340: 1373-6.
15. González FX, Rimola A, Grande L, Antolín M, García-Valdecasas JC, Fuster J, et al. Predictive factors of early graft function in human liver transplantation. *Hepatology* 1994; 20: 565-73.
16. Avolio AW, Agnes S, Chirico ASA, Castagneto M. Primary dysfunction after liver transplantation: donor or recipient fault? *Transplantation Proc* 1999; 31: 434-6.