

11282

1  
2ej



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

División de Estudios de Posgrado

Facultad de Medicina

Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas  
Sede Centro

EVALUACION DEL EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE DEXTRAN 60  
COMBINADO CON LA TERAPIA INMUNOSUPRESORA CONVENCIONAL EN  
EL CONTROL DE LA REACCION DE RECHAZO AGUDO Y LA SOBREVIDA  
DEL CORAZON DONADO EN UN MODELO DE TRASPLANTE CARDIACO  
HETEROTOPICO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS MEDICAS

P R E S E N T A :

GUILLERMO CAREAGA REYNA

Asesor: Dr. Rubén Argüero Sánchez



IMSS

México D.F.

0273449

1999

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

SIN

PAGINACION

## **RESUMEN**

**OBJETIVO:** evaluar el efecto de la administración de dextrán 60 combinado con la terapia inmunosupresora convencional para la disminución de la magnitud y frecuencia de la reacción de rechazo y aumento de la sobrevida del corazón trasplantado.

**MATERIAL Y METODOS:** se utilizaron ratas Sprague-Dawley de ambos sexos con peso promedio de 317.6 +/- 31.3 g en quienes se efectuó trasplante cardíaco heterotópico abdominal y se distribuyeron aleatoriamente en 4 grupos que fueron tratados con ciclosporina a 2 mg/kg/día y prednisona 0.5 mg/día. El grupo I (n=5) recibió además dextrán 60 a una dosis de 50 mg/kg/día, el grupo II (n=5) recibió 100 mg/kg/día de dextrán 60, el grupo III (n=5) 200 mg/kg/día de dextran 60 y finalmente el grupo IV (n=4) solución salina a 1 cc/kg/día. Se evaluó la magnitud de la reacción de rechazo, la frecuencia de la misma en cada grupo y la duración de la actividad cardíaca.

**RESULTADOS:** sólo se encontró diferencia significativa ( $p=0.039$ ) al comparar los grupos III y IV en relación a la frecuencia de reacción de rechazo. La magnitud fue similar en todos los grupos (grado 3A o 3B) y el promedio de sobrevida del corazón donado fue superior a 240 horas en todos los grupos que recibieron dextrán 60 ( $p=0.031$ ).

**CONCLUSION:** se concluye que la adición de dextrán 60 a la terapia inmunosupresora convencional permite disminuir la incidencia de la reacción de rechazo y mejorar la sobrevida del corazón trasplantado.

## **ABSTRACT**

**OBJECTIVE:** To evaluate the effect of the combination of dextran 60 and conventional immunosuppressive therapy.

**MATERIALS AND METHODS:** we used Sprague-Dawley rats, both sexes, weighed  $317.3 \pm 31.3$  g in which we realized heterotopic heart transplantation and were randomized in 4 groups. All groups received cyclosporine (2 mg/kg/day) and prednisone (0.5 mg/day). Group I (n=5) also received 50 mg/kg/day of dextran 60, group II (n=5) 100 mg/kg/day of dextran 60, group III (n=5) 200 mg/kg/day and group IV (n=4) 0.9% saline solution 1 cc/kg/day. The incidence and severity of rejection reaction was evaluated as survival of transplanted hearts.

**RESULTS:** it was found significant differences between groups III and IV for incidence of rejection reaction ( $p=0.039$ ), but for the magnitude of the rejection reaction there were no differences among groups (grade 3A or 3B). The survival mean of the hearts was upper than 240 hours in all groups received dextran 60 ( $p=0.031$ ).

**CONCLUSION:** it was concluded that dextran 60 improves survival of transplanted hearts and decreases the incidence of rejection reaction.

## **ANTECEDENTES.**

El trasplante de órganos ha sido un reto a lo largo de la historia. Toma nuevo auge con los trabajos clásicos de Carrell en 1907, la descripción clínica de la reacción de rechazo en el trasplante de corazón en 1933 por Mann y cols. y con los trabajos de Medawar en relación a los mecanismos de la reacción de rechazo (1-3).

Por ello, a pesar del impacto ocasionado por el primer trasplante ortotópico de corazón en humanos, el incremento en la frecuencia y desarrollo de nuevos centros de trasplante se alcanzó hasta la introducción de la ciclosporina para el control de la reacción de rechazo en 1980 (4), ya que los pacientes que son sometidos a trasplante cardíaco generalmente no son evaluados para la determinación de antígenos leucocitarios humanos (HLA), razón por la cual requieren recibir un esquema agresivo de inmunosupresión que en la actualidad incluye ciclosporina, azatioprina y corticoesteroides (5).

Este avance en materia de inmunosupresión ha permitido incrementar la supervivencia en pacientes trasplantados y se ha demostrado la eficacia de la ciclosporina al hacerse evidente por El Gamel y cols (6), en el seguimiento de 107 pacientes que fueron sometidos a trasplante cardíaco ortotópico. En este estudio observaron que los pacientes que requirieron reducción de la dosis de ciclosporina por disfunción renal secundaria al uso de la misma, tuvieron mayor incidencia y mayor severidad de la reacción de rechazo.

Sin embargo recientemente se ha reconocido que el rechazo vascular temprano por células o anticuerpos es una causa frecuente de disfunción miocárdica y muerte (7-10).

La reacción de rechazo es la resultante del reconocimiento de las diferencias de los aminoácidos del complejo mayor de histocompatibilidad entre el donador y el receptor (11). Este reconocimiento del injerto como ajeno al organismo del receptor desencadena una serie de eventos que incluyen la activación de linfocitos T, macrófagos, producción de citoquinas e inducción de moléculas de adhesión que finalmente activan al endotelio del corazón trasplantado, modifican la homeostasis, ocasionan edema e inhiben el efecto antitrombótico y antiproliferativo del endotelio (11).

Se sabe que la mayor incidencia de reacciones de rechazo ocurre entre los 7 y 90 días postrasplante (12), y que al estudio histopatológico se visualiza inicialmente edema e hiperplasia endotelial (8). Aunque el mecanismo de este tipo de daño no se ha dilucidado por completo y por ello no se han propuesto alternativas para tratamiento o prevención (13), hay indicios de los mecanismos más evidentes de daño. Así, se ha demostrado en modelos de trasplante cardíaco heterotópico que sin tratamiento inmunosupresor, a los siete días postrasplante aparece daño endotelial, infiltrado granulocítico y si el rechazo es hiperagudo se agrega edema perivascular, hemorragia y necrosis (14).

El rechazo agudo inicia con infiltrado y acúmulo de células T citotóxicas que median el daño microvascular y parenquimatoso (15). Estas células activadas se adhieren al endotelio edematoso, bloquean la microcirculación y liberan mediadores que ocasionan lesión y necrosis de las células miocárdicas (16-18), inducidos por los linfocitos T auxiliares (Th) a quienes se les atribuye el inicio de la reacción de rechazo (5). Estos linfocitos Th se dividen en tres grupos de acuerdo a su patrón de producción de citoquinas (5).

Las células T son activadas a Th0 que reconocen los aloantígenos HLA clase II del injerto e inician la reacción al producir interleucina (IL) 2 y 4, interferón gamma y factor de necrosis tumoral alfa y beta. Estas células Th0 se diferencian en células Th1 que producen IL-2, interferón gamma y factor de necrosis tumoral (FNT) beta o en células Th2 que producen interleucinas 4,5 y 10. Las células Th1 son mediadores de la respuesta inmune celular y las células Th2 favorecen las reacciones humorales. Ambos tipos de células Th tiene regulación cruzada y se especula que las células Th1 inducen el rechazo y las células Th2 juegan potencialmente un papel protector al contrarrestar la acción de las Th1 (5).

Aunque todo este análisis fisiopatológico que parte de estudios en modelo murino ya se ha demostrado que ocurre de manera similar en el ser humano (19), aunque el panorama se complica al demostrarse mediante la estimulación de linfocitos humanos de sangre periférica que los linfocitos CD4+ producen fundamentalmente interleucinas 2 y 4, los linfocitos CD8+ producen interferón gamma y los monocitos producen interleucinas 6 y 10 así como factor de necrosis tumoral, situación que descarta la exclusividad de producción de cada sustancia por un grupo específico de células (7). Además al evaluarse el infiltrado de linfocitos en el corazón trasplantado, mediante análisis de inmunohistoquímica, se ha encontrado una mezcla de células T CD4+ y CD8+ con una relación de 2:1, además de un gran número de macrófagos que contribuyen a la producción local de citoquinas (5).

Una vez desencadenado este proceso mediante los mecanismos arriba anotados, hay gran avidez por parte de las células T hacia los antígenos del donador y además hay participación de mediadores para que facilitan el proceso de adhesión entre el linfocito y la célula endotelial. Estas moléculas de adhesión se



localizan tanto en el endotelio como en la membrana del linfocito. La selectina E (ELAM-1 o CD62E), localizada en el endotelio, es una glucoproteína de cadena sencilla que es sintetizada y transportada a la superficie de la célula endotelial en respuesta a lipopolisacáridos como la IL-1, el factor de necrosis tumoral u otros mediadores (18). La selectina P (PADGEM o CD62P) también localizada en la célula endotelial se expresa en la superficie ante estímulos como la trombina, la histamina y el peróxido de hidrógeno. Participan además en el proceso de adhesión: la molécula purificada de adhesión intercelular (ICAM-1 o CD54); o (CD11 a CD18) (18,21-23). Estas moléculas aumentan en número en la reacción de rechazo (24) mediante los estímulos arriba anotados.

No debemos olvidar que la isquemia durante el transporte del órgano produce la activación de las células endoteliales, situación que redistribuye la selectina P hacia la superficie endotelial en minutos y se perpetúa con la reperfusión y posteriormente con la reacción de rechazo, como se ha observado en modelo murino de reperfusión posisquémica, donde en condiciones basales no hay expresión de la selectina P y en el periodo de reperfusión se observa un incremento en su producción sobre todo en las vénulas (25). El endotelio además va a modificar su función al alterarse su relajación ante estímulos como isquemia, hipoxia, presencia de radicales libres de oxígeno (26).

Por otro lado, los eventos de rechazo ocurren aún con la terapia inmunosupresora convencional, por lo que se han agregado otros fármacos como la heparina de bajo peso molecular con un incremento en la supervivencia de los órganos trasplantados al disminuir el daño ocasionado por el rechazo crónico (27).

Otra alternativa aún no explorada para complementar la terapia inmunosupresora convencional en la prevención del rechazo agudo es el uso de polisacáridos como

el dextrán, ya que las selectinas son las únicas moléculas de adhesión que reconocen ligandos de carbohidratos (28), de tal suerte que un bloqueo a ese nivel puede inhibir el rodamiento de los leucocitos y con ello su efecto lesivo al corazón trasplantado (20). Esta posibilidad se sustenta en la presencia del Syalil-Lewis X que es un oligosacárido expresado en los leucocitos y que actúa como ligando de la selectina P, acción donde una inhibición competitiva puede ser útil para limitar el proceso inflamatorio (25).

El dextrán es un polisacárido neutro del cual existen diversos tamaños y pesos moleculares producido por la bacteria *Leuconostoc mesenteroides* (29). Así, el dextrán 60 tiene un peso molecular de 60 kilodaltons (kDa), con un 90% de moléculas que pesan 60 kDa y el 10% restante de moléculas que pesan entre 25 y 125 kDa. El dextrán se administra por vía parenteral en dosificaciones que varían de acuerdo a la razón por la que se indique su uso. Entre sus aplicaciones clínicas está la profilaxis de trombosis venosa en pacientes encamados, su aplicación como expansor de volumen en politraumatizados, etc (30). Por ejemplo la dosis promedio como expansor de volumen de de 4 cc/kg. Para su eliminación del organismo, las moléculas de bajo peso son filtradas por el riñón y las de alto peso molecular permanecen más tiempo en el espacio intravascular, de tal manera que hasta el 70% de las moléculas se encuentran a las 3 horas después de su administración y el 30% aún 24 horas después de su aplicación (29,30). Pueden, además, depositarse temporalmente en hígado y riñón sin toxicidad conocida y son metabolizadas a bióxido de carbono y agua. Se ha informado por otro lado la posibilidad de reacciones alérgicas aisladas con el uso clínico del dextrán 40 (31).

En relación al dextrán 60, del cual ya se ha demostrado, en modelos caninos de choque hemorrágico que combinado con cloruro de sodio al 3.5% o al 7.5% disminuye el edema endotelial y mejora la microcirculación (32). En el choque hipovolémico la administración de soluciones cristaloides en forma tradicional como expansores de volumen, e independientemente de su concentración mejora transitoriamente los signos vitales en pacientes politraumatizados, pero a nivel de la microcirculación no disminuye la adhesividad de los linfocitos al endotelio desencadenada por la hipoperfusión, y en cambio al administrar dextrán 60 o 70 al 10% si se obtiene disminución de la adhesividad endotelio-leucocito con la consecuente mejoría en la microcirculación, como se ha demostrado en modelos de isquemia-reperfusión en músculo estriado (33,34), en parte debido a que el dextrán cubre la superficie endotelial y su carga negativa repele a los neutrófilos quizá acompañado de efecto competitivo por la selectina P, además de que por otro lado el dextrán 60 al 10% con altas concentraciones de sodio puede disminuir el daño ocasionado al miocardio por la perfusión posisquémica en modelos de corazón aislado donde se ha observado mejor desempeño miocárdico, mejor flujo coronario, menor liberación de indicadores bioquímicos de daño celular como la isoenzima MB de la creatín-cinasa, además de que estudios de ultraestructura muestran menor lesión celular (35).

Tanto en el daño en la microcirculación que ocurre en el choque hipovolémico como en la lesión por isquemia-reperfusión miocárdica y de otros órganos, hay participación de leucocitos activados que se adhieren al endotelio de manera similar a lo que sucede en la fisiopatología de la vasculopatía de la reacción de rechazo (36).

En el ámbito del trasplante cardíaco, el análisis de función miocárdica y la respuesta a medicamentos el modelo convencional antes de pasar a etapas subsecuentes orientadas al uso en humanos, es el trasplante heterotópico, sin afectar al resto del organismo, ya que mantiene el corazón propio del animal de experimentación como soporte vital y el injerto en posición heterotópica permite realizar maniobras específicas (11, 37).

## JUSTIFICACION.

La reacción de rechazo agudo en pacientes trasplantados de corazón es una complicación seria que puede ser mortal y ocupa un lugar preponderante como causa de morbimortalidad con incidencia de 18 a 25% (38). Como medida terapéutica complementaria, no hay hasta el momento estudios que permitan determinar si la administración de dextrán 60 ocasiona una menor adhesividad linfocito-endotelio que disminuya la magnitud y la frecuencia de la reacción de rechazo ante la evidencia de la similitudes fisiopatológicas del choque hipovolémico, la lesión por isquemia reperfusión y la reacción de rechazo, cuando se ha observado efecto benéfico del uso de dextrán en las dos primeras.

Por lo tanto con base a los antecedentes ya descritos, es importante evaluar esta posibilidad y su posible beneficio.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

### **PROBLEMA GENERAL**

¿La administración de dextrán 60 en combinación con la terapia inmunosupresora convencional disminuye la incidencia y magnitud de la reacción de rechazo agudo y aumenta la sobrevida del corazón donado en un modelo de trasplante cardíaco heterotópico?

### **PROBLEMAS ESPECIFICOS.**

1. ¿La administración de dextrán 60 en combinación con la terapia inmunosupresora convencional disminuye la incidencia de la reacción de rechazo agudo del corazón donado en un modelo de trasplante cardíaco heterotópico?
2. ¿La administración de dextrán 60 en combinación con la terapia inmunosupresora convencional disminuye en el estudio histológico la magnitud de la reacción de rechazo agudo del corazón donado en un modelo de trasplante cardíaco heterotópico?
3. ¿La administración de dextrán 60 en combinación con la terapia inmunosupresora convencional aumenta la sobrevida del corazón donado en un modelo de trasplante cardíaco heterotópico?

## **HIPOTESIS.**

### **HIPOTESIS GENERAL.**

La administración combinada de dextrán 60 y terapia inmunosupresora convencional disminuye la incidencia, la magnitud de la reacción de rechazo agudo e incrementa la sobrevida del corazón donado en un modelo de trasplante cardíaco heterotópico.

### **HIPOTESIS ESPECIFICAS.**

1. La administración de dextrán 60 combinado con la terapia inmunosupresora convencional disminuirá la incidencia de la reacción de rechazo agudo al corazón donado en un modelo de trasplante cardíaco heterotópico.
2. La administración de dextrán 60 combinado con la terapia inmunosupresora convencional disminuye la magnitud de la reacción de rechazo agudo en el estudio histológico al corazón donado en un modelo de trasplante cardíaco heterotópico.
3. La administración de dextrán 60 en combinación con la terapia inmunosupresora convencional aumenta la sobrevida del corazón donado en un modelo de trasplante cardíaco heterotópico.

## **OBJETIVO.**

### **OBJETIVO GENERAL.**

Demostrar la eficacia de la administración de dextrán 60 en combinación con la terapia inmunosupresora convencional para disminuir la incidencia y magnitud de la reacción de rechazo agudo y aumentar la sobrevida del corazón donado en un modelo de trasplante cardíaco heterotópico.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS.**

1. Demostrar la eficacia de la administración de dextrán 60 en combinación con la terapia inmunosupresora convencional para disminuir la incidencia de la reacción de rechazo agudo del corazón donado en un modelo de trasplante cardíaco heterotópico comparado con un grupo control.
2. Demostrar la eficacia de la administración de dextrán 60 en combinación con la terapia inmunosupresora convencional para disminuir la magnitud de la reacción de rechazo agudo del corazón donado en un modelo de trasplante cardíaco heterotópico, de acuerdo a la clasificación histológica de la reacción de rechazo de la sociedad internacional de trasplante de corazón y pulmón.
3. Demostrar la eficacia de la administración de dextrán 60 en combinación con la terapia inmunosupresora convencional para aumentar la sobrevida del corazón donado en un modelo de trasplante cardíaco heterotópico.



## **MATERIAL Y METODOS.**

### **TIPO DE ESTUDIO.**

Experimental.

### **VARIABLE INDEPENDIENTE.**

Dextrán 60.

### **VARIABLES DEPENDIENTES.**

1. Incidencia de la reacción de rechazo agudo.
2. Magnitud de la reacción de rechazo agudo.
3. Sobrevida del corazón donado en posición heterotópica en el receptor.

### **DEFINICION OPERACIONAL DE LAS VARIABLES.**

**DEXTRAN 60:** Poliglicano con peso molecular de 60,000 Da.

**REACCION DE RECHAZO AGUDO:** Por clínica se definió como tal el momento en que cese el latido cardíaco palpable (37) y se corrobore la asistolia por exposición del corazón trasplantado (14). En estudio histopatológico: se definió como tal cuando al estudio histopatológico se presentasen las lesiones características (39).

**INCIDENCIA DE LA REACCION DE RECHAZO AGUDO:** Número de casos que presentaron reacción de rechazo agudo del total de especímenes trasplantados en el protocolo.

**MAGNITUD DE LA REACCION DE RECHAZO AGUDO:** Alteraciones histopatológicas en la microscopía de luz de acuerdo a la escala de la International Society for Heart and Lung Transplantation (39):

**Grado 0:** Sin rechazo.

**Grado 1:** infiltrado focal (perivascular o intersticial) sin necrosis.

1B: infiltrado disperso sin necrosis.

**Grado 2:** solo una zona con infiltrado agresivo y daño del miocito.

**Grado 3:** 3A= infiltrado multifocal agresivo y/o daño de los miocitos.

3B= proceso inflamatorio difuso con necrosis.

**Grado 4:** infiltrado agresivo difuso de polimorfonucleares, edema, hemorragia, vasculitis y necrosis.

**SOBREVIDA DEL CORAZON DONADO:** Duración en horas del latido del corazón trasplantado en posición heterotópica, detectado por palpación (14).

#### **DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO**

Se utilizaron 50 ratas Sprague-Dawley adultas de ambos sexos con peso promedio de 317.6 +/- 31.2 g, que fueron apareadas en forma aleatoria como donador y receptor. Posteriormente los receptores fueron distribuidos en forma aleatoria en cuatro grupos. El grupo I recibió ciclosporina, prednisona y dextrán 60 (50 mg/kg/día por vía intraperitoneal), el grupo II recibió ciclosporina, prednisona y dextrán 60 (100 mg/kg/día por vía intraperitoneal), el grupo III recibió ciclosporina, prednisona y dextrán 60 (200 mg/kg/día por vía intraperitoneal) y el grupo IV (control), recibió ciclosporina, prednisona y 1.0 cc/kg de solución salina al 0.9% por vía intraperitoneal.

## **CRITERIOS DE INCLUSION**

- 1. Ambos sexos.**
- 2. Sin enfermedad aparente.**
- 3. Peso entre 250 y 400 g.**

## **CRITERIOS DE NO INCLUSION**

- 1. Hembras gestantes.**
- 2. Con enfermedad aparente al momento de la selección.**

## **CRITERIOS DE EXCLUSION.**

- 1. Especímenes mal procesados para estudio histológico.**
- 2. Asistolia irreversible en la reperfusión.**

## **PROCEDIMIENTO QUIRURGICO.**

Se efectuó de acuerdo a la técnica descrita por Ono y Lindsey (40). El donador fue anestesiado con ketamina intramuscular (25 mg/kg) y pentobarbital intraperitoneal (20 mg/kg) y heparinizado antes de la cardiectomía. El corazón se depositó en solución salina a 4°C (Fig 1) y se implantó en el abdomen del receptor mediante anastomosis término-lateral aorta-aorta y anastomosis término-lateral entre la vena cava del receptor y la arteria pulmonar del donador con monofilamento de polipropileno 10-0 (Fig 2). El receptor recibió los mismos medicamentos anestésicos. Se ligaron venas cavas y pulmonares del donador.



Figura 1. Se observa el corazón extraído del donador y depositado en solución en espera de su implante en el receptor.



Figura 2. A través del microscopio se observa el corazón implantado en abdomen, y las pinzas vasculares listas para su retiro e inicio de la reperusión.



Figura 3. Toma de un corazón que ha cesado su actividad contráctil, para estudio histopatológico.

## VIGILANCIA Y TRATAMIENTO POSOPERATORIOS

Terminadas las anastomosis el corazón fue reperfundido en los grupos I, II y III con dextrán 60 a las dosis correspondientes y el grupo IV fue reperfundido con solución fisiológica. Concluido el procedimiento quirúrgico se inició el esquema de inmunosupresión en los cuatro grupos con ciclosporina a 2 mg/kg/día, prednisona 0.5 mg/día y en el grupo I, II y III se administró además, dextrán 60 cada 24 horas de acuerdo a la dosis indicada para cada grupo, y en el grupo IV solución salina al 0.9% a 1 ml/kg cada 24 horas. Se vigiló la frecuencia cardíaca del corazón donado y al cesar la actividad de éste, se exteriorizó y reseco para estudio histopatológico (Fig 3).

Se compararon la duración de la actividad cardíaca, la incidencia y la magnitud de la reacción de rechazo.

La vigilancia posoperatoria se efectuó por dos observadores que desconocieron a que grupo pertenece cada sujeto. La evaluación histopatológica la efectuó un observador que desconoció a que sujeto pertenecía la muestra que analizó.

## ANALISIS ESTADISTICO.

Se utilizó estadística descriptiva con promedio y desviación estándar para caracterizar a los grupos. Para realizar las comparaciones entre ellos se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para analizar las diferencias en cuanto a la duración del injerto y la prueba exacta de Fisher determinar la presencia o no de diferencias entre un grupo y otro en la magnitud e incidencia de la reacción de rechazo. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa el valor de p menor a 0.05.

#### **CONSIDERACIONES ETICAS.**

**El cuidado de las ratas se apegó a los lineamientos de la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos. Todos los procedimientos quirúrgicos se efectuaron bajo anestesia general.**



## RESULTADOS

Se incluyeron 19 receptores (12 machos y 7 hembras), con peso promedio de 317.6 +/- 31.3 g. Se excluyeron 6 receptores por accidentes quirúrgicos o muerte temprana no atribuible a rechazo o infección. Así los grupos de receptores quedaron integrados de la siguiente forma: grupo I (n=5), grupo II (n=5), grupo III (n=5) y grupo IV (n=4).

El tiempo de isquemia de los corazones definido como el periodo de tiempo transcurrido desde el pinzamiento de la aorta del donador hasta el retiro de pinzas de aorta abdominal y reperusión del corazón implantado en el receptor, fue de 37.8 +/- 7.9 min.

### *Sobrevida del corazón implantado.*

El cuadro I muestra los promedios de duración de la actividad cardíaca en cada uno de los grupos. La diferencia fue estadísticamente significativa en favor de una mayor duración de la actividad cardíaca en todos los grupos que recibieron dextrán ( $p=0.031$ ).

### *Incidencia de reacción de rechazo.*

En el cuadro II se presenta la relación de receptores que presentaron reacción de rechazo en cada grupo. En el grupo IV todos los receptores tuvieron reacción de rechazo. Hubo diferencia significativa con un valor de  $p= 0.039$  entre los grupos que recibieron dextrán y el grupo control. En las comparaciones entre los grupos que recibieron las diferentes dosis de dextrán no se encontró diferencia significativa.

## CUADRO I

### DURACION DE LA ACTIVIDAD CARDIACA DEL CORAZON TRASPLANTADO

GRUPO	DURACION (hs)
I	249.6 ± 27.9
II	480 ± 23.9
III	264 ± 40.8*
IV	58.5 ± 37.9*

\*  $p < 0.05$

## CUADRO II

### INCIDENCIA DE LA REACCION DE RECHAZO

GRUPO	CASOS CON RECHAZO
I	3 / 5
II	4 / 5
III	1 / 5
IV	4 / 4

***Magnitud de la reacción de rechazo.***

En todos los grupos la magnitud de la reacción de rechazo correspondió al grado 3A y 3B de acuerdo a la clasificación de la ISHLT (Figs 4 a 6), y no hubo diferencia significativa entre los grupos.

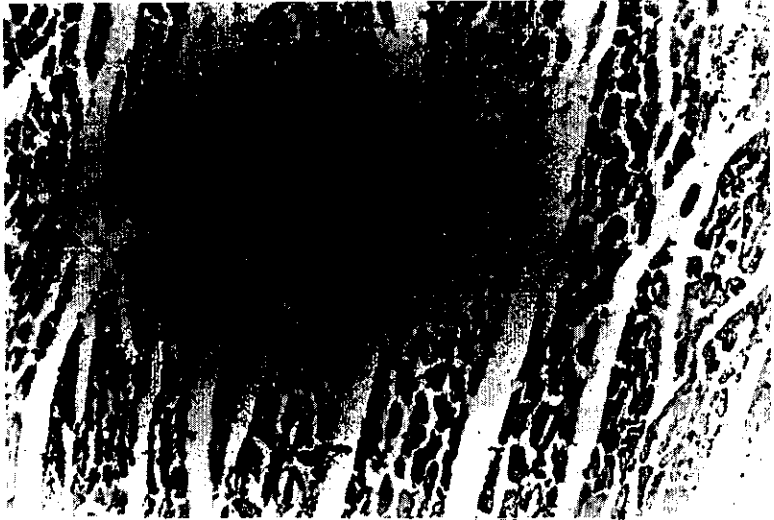


Figura 4. Microfotografía a 200x (h/e), de uno de los receptores que no tuvieron reacción de rechazo, que muestra tejido miocárdico sin alteraciones.

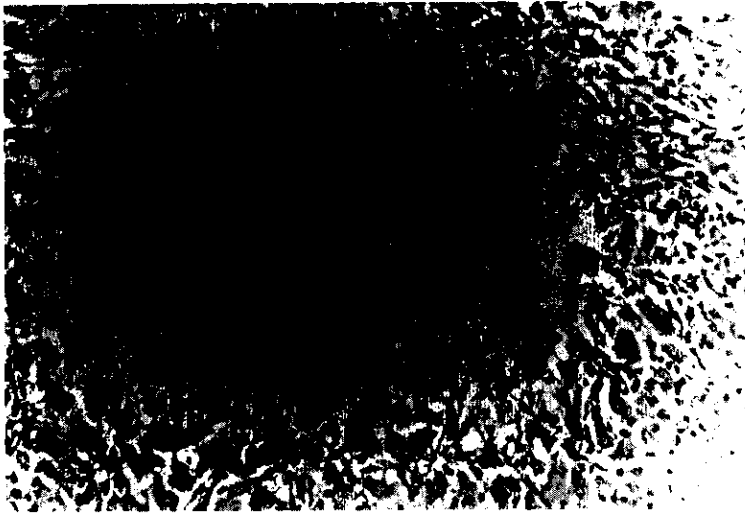


Figura 5. Microfotografía a 200x (h/e), de tejido miocárdico infiltrado por abundantes leucocitos, la mayoría de ellos linfocitos con daño de fibras miocárdicas, de uno de los corazones con reacción de rechazo 3B.

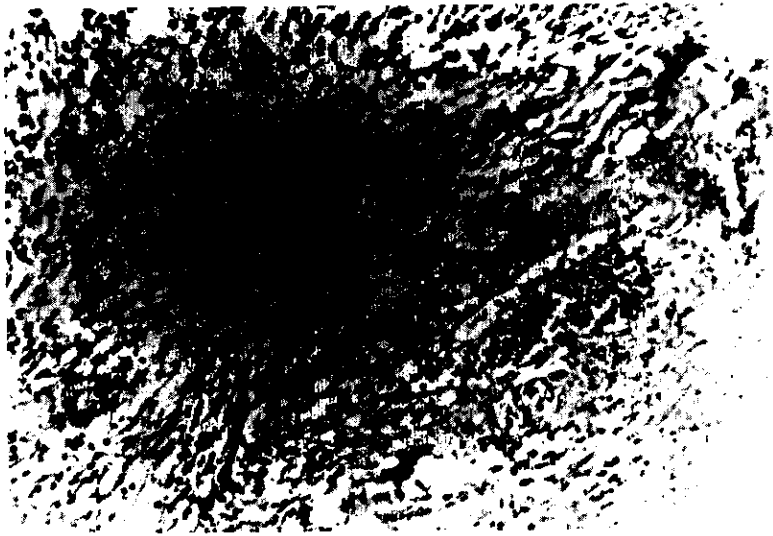


Figura 6. Reacción de rechazo 3B. Microfotografía a 400x (h/e), con infiltrado leucocitario algunas miofibrillas remanentes y vaso con lesión en su pared con linfocitos y edema en el borde inferior de la figura.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

## DISCUSION.

El conocimiento de la fisiopatología, la participación de moléculas de adhesión, así como la secuencia de eventos de la reacción de rechazo, ha permitido orientar la investigación en éste aspecto con la idea de bloquear en su inicio el rechazo de un órgano y no sólo tratar las consecuencias de dicha reacción. Sin embargo, ésta posibilidad aún tiene limitaciones y por ello es necesario el tratamiento con esquema de dos o más medicamentos.

La participación de los leucocitos en la lesión por isquemia reperusión y en la reacción de rechazo de órganos torácicos ha sido bien documentada (16, 25, 36), y se han descrito cuatro pasos iniciales en el mecanismo de daño (25). Estos son: el rodamiento de las células sobre el endotelio activado, la activación de los leucocitos y su adhesión firme al endotelio y, finalmente, la migración de los leucocitos al tejido adyacente, todo ello mediado por las moléculas de adhesión (13,18-23,41), cuyo número se incrementa en la reacción de rechazo y de éste aumento depende la magnitud del infiltrado leucocitario en el órgano involucrado (24).

Así el rodamiento es mediado por las selectinas E y P localizadas en el endotelio y la selectina L de los leucocitos. La adhesión y la migración están reguladas por las integrinas beta-2 (CD11a/CD18, CD11b/CD18) que interactúan con la molécula intercelular de adhesión endotelial (ICAM-1) (25).

Con éstas evidencias se han ensayado algunas alternativas terapéuticas (24, 25), cuyo objetivo es limitar la magnitud de la reacción de rechazo. Los resultados de éstos estudios, aunque parciales dentro de toda la complejidad de la reacción de rechazo, son alentadores, y así Brandt y cols (25), demostraron que al utilizar un oligosacárido análogo de Sialyl-Lewis X que es un ligando de la P-selectina que

se expresa en los leucocitos disminuyó el daño por reperfusión y por rechazo en un modelo experimental de trasplante pulmonar, donde además se enfatiza que el infiltrado leucocitario participa activamente tanto en el rechazo como en la lesión por reperfusión.

Por otro lado el dextrán 60 ha demostrado su capacidad para inhibir la adhesión entre los leucocitos y el endotelio, además de su efecto protector en la lesión por isquemia-reperfusión (34,35), por lo que se hipotetizó que al ser un polisacárido pudiera inhibir por competencia el rodamiento leucocitario sobre el endotelio y disminuir la reacción de rechazo.

En este estudio se demuestra que el dextrán 60 mejora la sobrevida del corazón donado y disminuye la incidencia de la reacción de rechazo. Sin embargo, no disminuye la magnitud de la misma. La causa más probable de estos resultados, es el nivel en que parece actuar el dextrán al impedir el rodamiento leucocito-endotelio (34), pero una vez que éste se produce ya no es posible que el dextrán inhiba el inicio de la reacción de rechazo cuya magnitud fue prácticamente similar en todos los grupos de éste trabajo en el estudio histológico. No olvidemos que el estudio histológico da el diagnóstico de certeza en cuanto a presencia y magnitud del rechazo de un órgano por el receptor (42). Nuestros resultados pueden además estar influenciados por hallazgo en biopsias miocárdicas y en determinaciones en sangre obtenida del seno coronario, donde hay un patrón mixto de citoquinas que no corresponden necesariamente con la magnitud del rechazo (5). En cuanto a la incidencia, fue substancialmente menor en el grupo que recibió la dosis mayor del dextrán.

Se esperaba que dado el efecto que tiene el dextrán 60 como barrador de radicales libres de oxígeno y que estos son mediadores del daño celular (35), se



podiera abatir también la magnitud de la reacción de rechazo, cosa que en éste estudio no ocurrió muy probablemente porque el dextrán tiene una acción muy específica.

Por otro lado no se observaron efectos tóxicos o reacciones alérgicas al dextrán, aunque éstas han sido descritas con el uso de dextrán 40 (31), y en este estudio se utilizó dextrán 60.

En conclusión: en modelos similares, el uso del dextrán 60 combinado con la terapia inmunosupresora convencional permite disminuir la incidencia de la reacción de rechazo y mejorar la sobrevida del corazón donado.

## REFERENCIAS.

1. Carrel A, Guthrie CC. The surgery of blood vessels. *Johns Hopkins Hosp Bull* 1907; 18:18.
2. Medawar PB. Immunologic tolerance. *Nature* 1961; 189: 14.
3. Careaga G, Argüero R. Antecedentes históricos. En: Argüero R, Castaño R, Careaga G. *Trasplante de corazón, pulmón y corazón-pulmón*. Ed. Salvat, Ciencia y Cultura Latinoamérica S.A de C.V. México D.F. 1995. p. 3.
4. Reitz BA, Burton NA, Jamieson SW y cols. Heart and lung transplantation and allotransplantation in primates with extended survival. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1980; 80: 360.
5. Van Hoffen E, Gmelig-Meyuing FHJ, Bosboom-Kalsbeek KC y cols. Cytokine messenger RNA expression by donor-specific cytotoxic T-cell clones allogeneic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1997; 16: 216.
6. El Gamel A, Keevil B, Rahman A, Campbell C, Deiraniya A, Yoonan N. Cardiac allograft rejection: do trough cyclosporine levels correlate with the grade of histologic rejection? *J Heart Lung Transplant* 1997; 16: 268.
7. Olsen SL, Wagoner LE, Hammond EH y cols. Vascular rejection in heart transplantation: clinical correlation, treatment observations and future considerations. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12: S135.
8. Hammond EH, Hansen JK, Spencer LS y cols. Vascular rejection in cardiac transplantation: histologic, immunopathologic and ultrastructural features. *Cardiovasc Pathol* 1993; 2: 21.
9. Hosenpud JD, Shipley GD, Wagner CR. Cardiac allograft vasculopathy: current concepts, recent developments and future directions. *J Heart Lung Transplant* 1992; 11:9.

10. Miller LW, Wesp A, Jennison SH y cols. Vascular rejection in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12: S147.
11. Perrault LP, Bidoward JP, Janiak P y cols. Time course of coronary endothelial dysfunction in acute untreated rejection after heterotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1997; 16: 643.
12. Miller LW, Selant RC, Kobashigawa J, Kubo S, Renlund DG. Task force 5: complications. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 41.
13. Hisatomi K, Isomura T, Ohashi M y cols. Effect of dose of cyclosporine or FK-506 and antithrombotic agents on cardiac allograft vascular disease in heterotopically transplanted hearts in rats. *J Heart Lung Transplant* 1995; 14: 113.
14. Brauer RB, Baldwin WM III, Ibrahim S, Sanfilippo F. The contribution of terminal complement components to acute and hyperacute allograft rejection in the rat. *Transplantation* 1995; 59: 288.
15. Krensky AM, Weiss A, Crabtree G, Davis M, Purham P. T-lymphocyte-antigen interactions in transplant rejection. *N Engl J Med* 1990; 322: 510.
16. Ratliff NB, McMahon JT. Activation of intravascular macrophages within myocardial small vessels is a feature of acute vascular rejection in human heart transplants. *J Heart Lung Transplant* 1995; 14: 338.
17. Renkonen R, Turunen JP, Häyry P. Peritubular capillary endothelium controls lymphocyte homing into rejecting kidney allograft. *Transplant Proc* 1990; 22: 129.
18. Turunen JP, Mattila P, Halttunen J, Häyry P, Renkonen R. Evidence that lymphocytes traffic into rejecting cardiac allografts is CD-11a-and CD49d-dependent. *Transplantation* 1992; 54: 1053.
19. Romagnani S. Human Th1 and Th2 subsets: regulation of differentiation and role in protection and immunopathology. *Int Arch Allergy Immunol* 1992; 98: 279.

20. Yamazaki S, Isobe M, Suzuki J y cols. Tole of selectin-dependent adhesion in cardiac allograft rejection. *J Heart Lung Transplant* 1998; 17: 1007.
21. Johnston GI, Cook RG, McEver RP. Cloning of GMP-140 a granule membrane protein of platelets and endothelium: sequence similarity to proteins involved on cell adhesion and inflammation. *Cell* 1989; 56: 1033.
22. Marlin SD, Springer TA. Purified intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) is a ligand for limphocyte function-associated antigen (LFA-1). *Cell* 1987; 51: 813.
23. Dustin ML, Carpen O, Springer TA. Regulation of locomotion and cell-cell contact area by the LFA-1 and ICAM-1 adhesion receptors. *J Immunol* 1992; 148: 2654.
24. Briscoe DM, Yeung AC, Schoen EL y cols. Predictive value of inducible endothelial cell adhesion molecule expression for acute rejection of human cardiac allografts. *Transplantation* 1995; 59: 204.
25. Brandt M, Bocke K, Phillips ML, Steinhoff G, Haverich A. Effect of oligosaccharides on rejection and reperfusion injury after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1997; 16: 352.
26. Kevelaitis E, Nyborg NCB, Menasché P. Coronary endothelial dysfunction of isolated hearts subjected to prolonged cold storage: patterns and contributing factors. *J Heart Lung Transplant* 1999; 18: 239.
27. Aziz S, Tada Y, Gordon D, Mc Donald TO, Fareed J, Verrier ED. A reduction in accelerated graft coronary disease and improvement in cardiac allograft survival using low molecular weight heparin in combination with cyclosporine. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12: 634.
28. Springer TA, Lasky LA. Sticky sugars for selectins. *Nature Lond* 1993; 349: 196.

29. Griffel MI, Kaufman BS. Pharmacology of colloids and loids. *Crit Care Clin* 1992; 8: 235.
30. Shoemaker WC, Schuchter N, Hopkins JA y cols. Comparison of relative-effectiveness of colloids and loids in emergency resuscitation. *Am J Surg* 1981; 142: 73.
31. Shaffer MA, Franaszek JB.. Shock. En Kravis TC, Warner CG eds. *Urgencias Médicas*. Salvat Editores. Barcelona, 1984, pp. 63-83.
32. Mazzoni MBC, Börgstrom P, Intaglietta M, Arfors KE. Capillary narrowing in hemorrhagic shock is rectified by hyperosmotic saline-dextran reinfusion. *Circ Shock* 1990; 31: 407.
33. Nolte D, Bayer M, Lehr HA y cols. Attenuation of postschismic microvascular disturbances in striated muscle by hyperosmolar saline dextran. *Am J Physiol* 1992; 263: H1411.
34. Nolte D, Illmer A, Menger MD, Messmer K. Reduction of postschismic leukocyte-endothelium interaction by dextran 70 but not hydroxyethylstarch 200/0.62. *Int J Microcirc Clin Exp (Abstract)* 1992; 11: 210.
35. Careaga G, Argüero R, Chávez-Negrete A y cols. Control of myocardial reperfusion injury with hypertonic-hyperosmotic solution in isolated rabbit heart. *Eur Surg Res* 1995; 27: 269.
36. Jang Y, Lincoff AM, Plow EF, Topol EJ. Cell adhesion molecules in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 1591.
37. Baxter K, Hao PM, Howden BO, Saunder A, Jablonski P. Modified technique of abdominal heart transplkntation in the rat. *J Heart Lung Transplant* 1998; 17: 1057.

38. Hosenpud JD, Bennet LE, Keck BM, Fiol B, Boucek MM, Novick RJ. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: sixteenth official report-1999. *J Heart Lung Transplant* 1999; 18: 611.
39. Billingham ME, Cary NR, Hammond ME y cols. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: heart rejection study group. *J Heart Transplant* 1990; 9: 587.
40. Ono K, Lindsey ES. Improved technique of heart transplantation in rats. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1969; 57: 225.
41. Adoumie R, Serrick C, Giaid A, Shennib H. Early cellular events in the lung allograft. *Ann Thorac Surg* 1992; 54: 1071.
42. Binah O. Immune effector mechanisms in heart transplant rejection. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1748.