

# Trasplament

NÚMERO 44 JUNIO 2009

**Actividad de donación  
 y trasplante de tejidos  
 en Cataluña 2008**

Pág. 2

**Nuevo Presidente  
 de la SCT y la FCT**

Pág. 14

**Convocatoria de premios  
 y becas FCT-2010**

Pág. 15

## EDITORIAL

### La problemática de los ensayos clínicos elaborados con tejidos y células

Desde que la Comisión Europea dictó una norma legislativa, en el año 2003, que convirtió en medicamentos determinados tejidos y células de origen humano, la cascada reguladora para incluir en la legislación del medicamento estas actividades no se detuvo hasta el año 2007, con la publicación del Reglamento de Terapias Avanzadas. Los derivados de origen humano considerados medicamentos son denominados *terapias avanzadas* e incluyen: la terapia celular, la ingeniería tisular y la terapia génica. Esta norma, que fue promovida por la industria y que va destinada mayormente a los derivados que pueden ser elaborados industrialmente, también afecta a los tejidos y células que pueden ser desarrollados y elaborados por profesionales en un hospital para tratar a un paciente o a un grupo de pacientes, si cumplen unas condiciones determinadas. Si los derivados de origen humano van destinados a ejercer una función diferente a la que les es propia, si han de manipularse de una manera considerada compleja, o si la forma y el lugar de administración/aplicación no son los fisiológicos, son tratados y considerados medicamentos y, por lo tanto, regidos por la Ley del Medicamento y todas las que de ella se derivan. En la Ley del Medicamento (Ley 29/2006, del 26 de julio) se prevé un tratamiento diferenciado entre el medicamento con tejidos/células de elaboración industrial y el medicamento de producción no industrial (Art. 47.3). Este tratamiento diferenciado previsto consiste en el desarrollo de un Reglamento que debería establecer normas específicas para tratar estos tejidos/células elaborados en un hospital. Este Reglamento, anunciado en la Ley del 2006, aún no se ha publicado. Actualmente, lo primero que debe plantearse el profesional hospitalario que quiere poner en marcha un ensayo clínico con tejidos/células es en qué marco legislativo quedará encuadrado el ensayo clínico, ya que eso determina a que instancia debe presentarse y los medios que necesitará para su aprobación. En ambos casos, el proyecto de ensayo clínico debe ser aprobado por el comité de ética de investigación clínica del hospital. Si se considera que los tejidos/células no tienen criterios de medicamento, serán regulados por la legislación de tejidos, pueden ser elaborados en un banco de tejidos tradicional (RD 1301/2006), deben presentarse a la OCATT y deben

a página 16

## SUMARIO

### TRASPLANTE DE TEJIDOS HUMANOS

Actividad de donación y trasplante  
 de tejidos en Cataluña 2008.....2

### TEMAS A REVISIÓN

El trasplante pulmonar  
 en Cataluña.....5

Trasplante de células alveolares tipo II  
 en el tratamiento de la fibrosis pulmonar  
 idiopática: estudio clínico.....7

### RESULTADOS BECAS FCT

Estudio comparativo de mutaciones en  
 el eje de señalización Pi3-K/PTEN/Akt  
 en cáncer colorrectal en pacientes  
 trasplantados renales tratados  
 con inhibidores de calcineurina respecto  
 a la población general.....9

Aplicación de las células progenitoras  
 mesenquimales del tejido adulto  
 en medicina regenerativa  
 de la superficie ocular.....11

Estudio de la señalización de CD40  
 en células dendríticas  
 mediante interferencia de ARN.....12

Estudio de biomarcadores de daño  
 en el injerto renal en modelos *in vitro*  
 de célula tubular renal humana.....13

### ACTUALIDAD

XXIV Reunión de Coordinadores  
 de Trasplantes.....14

Dr. Daniel Serón, nuevo Presidente  
 de la SCT y la FCT.....14

### CONVOCATORIA DE BECAS Y PREMIOS FCT-2010.....15

### OCATT

Actividad de donación y trasplante  
 en Cataluña.....16

# Actividad de donación y trasplante de tejidos humanos en Cataluña 2008

Como sucede cada año desde que se inició el control y seguimiento de las actividades de obtención y trasplante de tejidos, siguen incrementándose tanto el total de unidades de tejido trasplantado y pacientes tratados, como el abanico de especialidades quirúrgicas que se han adherido a la utilización de esta alternativa terapéutica que actualmente ofrecen los tejidos. En el año 2008 se ha utilizado un total de 4.319 unidades (Figura 1) de los diferentes tipos de tejidos, para tratar a 3.499 pacientes en las distintas especialidades.

## TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS DE LA HEMOPOYESIS

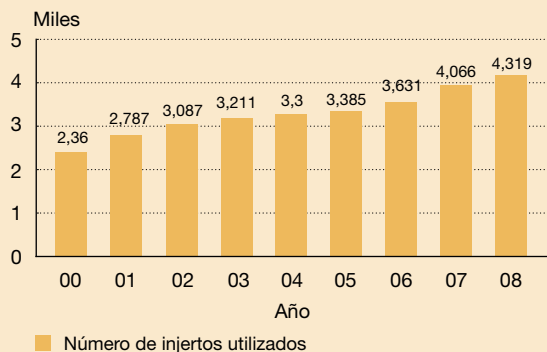
El número de trasplantes de células progenitoras de la hemopoiesis (THP) realizados durante el año 2008 ha sido de 377. Esta cantidad supone un 12% menos que la del año 2007. De los 377 trasplantes, 501 (13,5%) se realizaron en niños, y 326 (86,5%) en adultos. Del número total de trasplantes, 190 (50,5%) fueron autogénicos, 98 (25,9%) alogénicos familiares y 89 (23,6%) alogénicos no familiares. En la Tabla 1 se puede observar la fuente de procedencia de los progenitores hemopoyéticos agrupados por el tipo de trasplante y por grupos de edades. Cabe destacar que un 43,2% de los trasplantes alogénicos no familiares se ha realizado utilizando sangre de cordón umbilical como fuente de los progenitores. Las indicaciones de trasplantes de adultos más frecuentes han sido las hemopatías malignas, y dentro de éstas, la leucemia aguda mieloblástica (24,8%), las gammapatías monoclonales (21,5%) y los linfomas no Hodgkin (19,3%). En niños, las indicaciones más frecuentes han sido la leucemia aguda linfoblástica (35,3%) y la leucemia aguda mieloblástica (16,6%). En la Figura 2 se puede observar la evolución del número y la tasa por millón de población (pmp) de trasplantes de células progenitoras de la hemopoiesis.

## TRASPLANTE DE TEJIDO OSTEOTENDINOSO PRESERVADO EN FRÍO

Con la nueva legislación destinada a tejidos y células, se han extinguido los bancos de tejido óseo existentes en los hospitales, y con ellos ha desaparecido la donación de tejido óseo de donante vivo en Cataluña. A pesar de la supresión de la donación de vivo, el número de donantes de tejido osteotendinoso se ha incrementado en un 38,3% (Figura 3), hecho que ha propiciado un gran incremento de la disponibilidad de este tipo de tejido en Cataluña. Un aspecto a destacar es que, a medida que ha disminuido la donación de vivo, ha incrementado la viabilidad del tejido obtenido (Figuras 4). Como se puede observar, la viabilidad del tejido ha ido mejorando con los años: mientras que en el año 2008 ha sido del 94%, el año anterior había sido del 91%. El tejido osteotendinoso sigue siendo el tipo de tejido más utilizado, tanto el preservado en frío, como el liofilizado (Figura 5). En lo referente a la conservación en frío, este año se han realizado trasplantes a 1.685 pacientes, en cuyo tratamiento se ha utilizado 2.505 fragmentos/piezas de diferentes tipos de tejido congelado (Tabla 2). Como se puede observar, el tipo de tejido que más se ha incrementado es el tejido óseo

Evolución del número de trasplantes de tejidos en Cataluña

Fig.1



Fuente de procedencia de los progenitores hemopoyéticos

Taula 1

	Autogénico		
	MO	SP	MO + SP
Niños	2	10	0
Adultos	0	177	1
Total	2	187	1

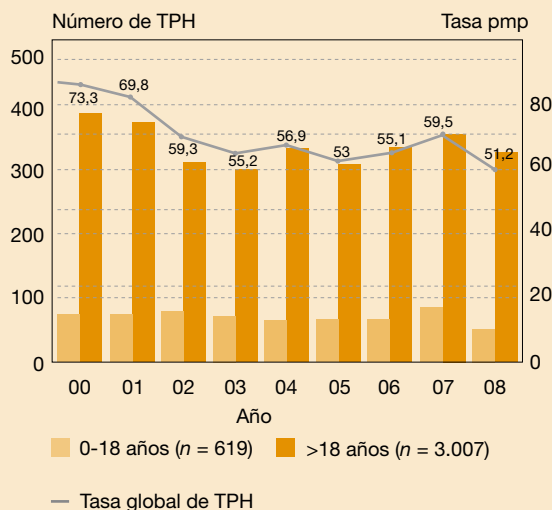
	Alogénico familiar			
	MO	SP	MO + SP	SCU
Niños	11	4	0	1
Adultos	3	78	1	0
Total	14	82	1	1

	Alogénico no familiar			
	MO	SP	SCU	SP + SCU
Niños	8	1	14	0
Adultos	3	37	25	1
Total	11	38	39	1

MO: medula òssia; SP: sang perifèrica; SCU: sang de cordó umbilical.

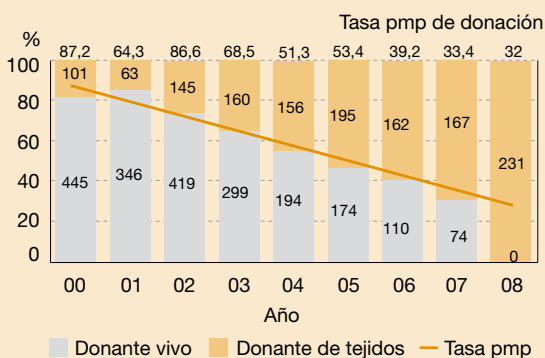
Evolución del número y la tasa pmp de trasplantes de células progenitoras de la hemopoiesis

Fig.2



Evolución del tipo de donante de tejido osteotendinoso y de la tasa pmp

Fig.3



Tipo de tejido utilizado. Fragmentos/piezas

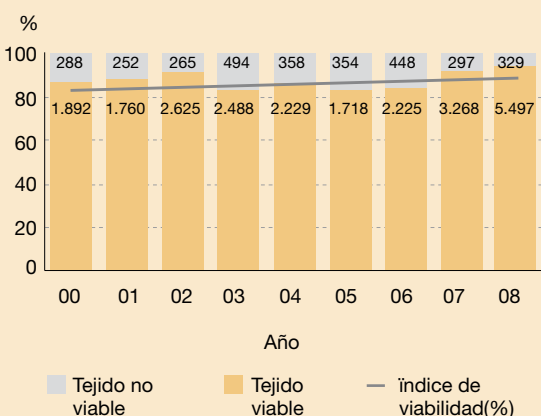
Taula 2

F/P utilizados	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
T. óseo	1.179	1.517	1.640	1.903	1.713	1.779	1.754	1.871	2.055
T. tendinoso	110	123	160	139	144	192	222	274	341
Fascia L.	58	21	27	2	1	0	0	0	2*
Menisco	0	16	32	15	17	15	23*	33	29
C. condr.	0	3	7	0	2	3	0	2*	0
F. C. / PRP	0	0	0	0	28	17	34	164	80
Total	1.347	1.680	1.866	2.059	1.905	2.006	2.010	2.342	2.505

\*Incluidos en tejido tendinoso

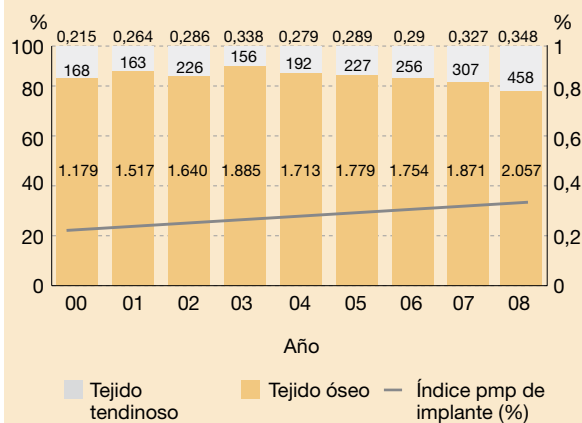
Evolución de la viabilidad del tejido osteotendinoso e índice de viabilidad

Fig.4



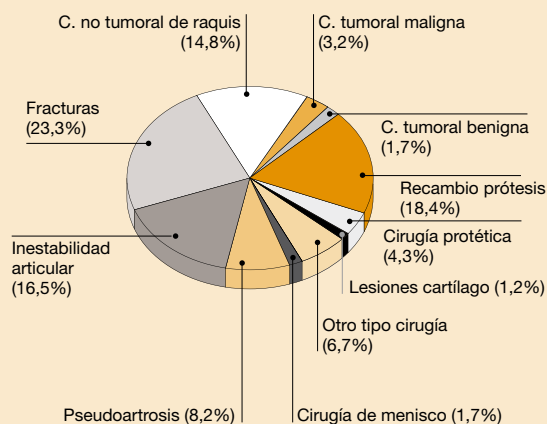
Evolución del tipo de tejido implantado y tasa pmp

Fig.5



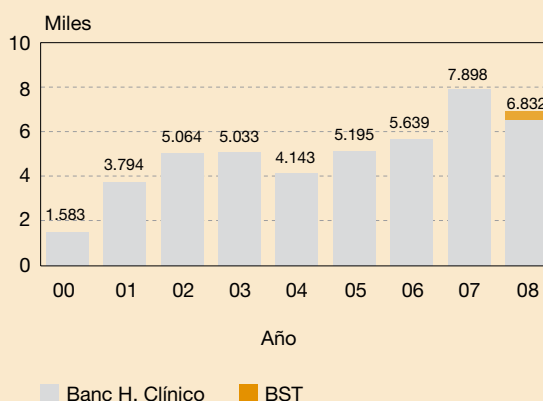
Indicaciones diagnósticas del trasplante de tejido osteotendinoso

Fig.6



Evolución de la distribución de las unidades de tejido óseo liofilizado distribuidos desde Cataluña

Fig.7



esponjoso (9,1%), seguido del tejido tendinoso (2,4%). La tasa de pacientes trasplantados por millón de población en el año 2008 fue de 221 pmp, mientras que la del resto del Estado fue de 139,7 pmp. Respecto a los diagnósticos de los pacientes tratados con tejido (Figura 6), siguen manteniéndose las mismas indicaciones diagnósticas y su distribución es muy similar a la de otros años.

**TEJIDO ÓSEO LIOFILIZADO**

Este año es el primero en que ha disminuido (-14%) la distribución del tejido óseo liofilizado desde los bancos de tejidos óseos de Cataluña, aunque debe considerarse que también ha sido el primer año que lo han distribuido los dos grandes bancos de tejidos (Figura 7), y que desde el Banc de l'Hospital Clínic se ha distribuido el 95,2% del total de tejido.

**Evolución de la utilización de tejidos humanos en oftalmología**

Taula 3

Tipo de trasplante	2005	2006	2007	2008
Córnea	929	910	1.006	981
Esclerótica	11	53	57	76
Cultivo cél. limbares	6	2	1	0
Membrana amniótica	320	199	280	288
Colirios de suero autólogo	92	336	316	400

**Indicaciones diagnósticas de trasplante de córnea**

Taula 4

Diagnósticos	Nº Trasplant. 2007 (76% P. Tratados)	Nº Trasplant. 2008 (91,6% P. Tratados)
<b>Edema corneal</b>	<b>196</b>	<b>271</b>
<i>Poscirug. cataratas</i>	127	192
<i>Otro tipo interv.</i>	53	61
<i>Edema no poscirug.</i>	16	18
<b>Distrofias corneales</b>	<b>177</b>	<b>202</b>
<i>Endoteliales</i>	61	74
<i>Estromales</i>	24	15
<i>Ectásicas</i>	92	113
<b>Opacificaciones congénitas</b>	<b>13</b>	<b>14</b>
<i>Infecc. víricas</i>	73	84
<i>Infecc. microbianas</i>	29	42
<i>Querat. ulcerat. no infecciosa</i>	39	39
<b>Degeneración Corneal</b>	<b>27</b>	<b>29</b>
<i>Trauma/Corrosión caúst.</i>	40	49
<b>Retx Rechazo Inmunol.</b>	<b>81</b>	<b>83</b>
<b>Retx. Otros</b>	<b>42</b>	<b>33</b>
<b>Opacif. 2ª a Cirug. Refractiva</b>	<b>13</b>	<b>7</b>
<b>Otras causas</b>	<b>36</b>	<b>50</b>

**Evolución del trasplante de tejido vascular**

Taula 5

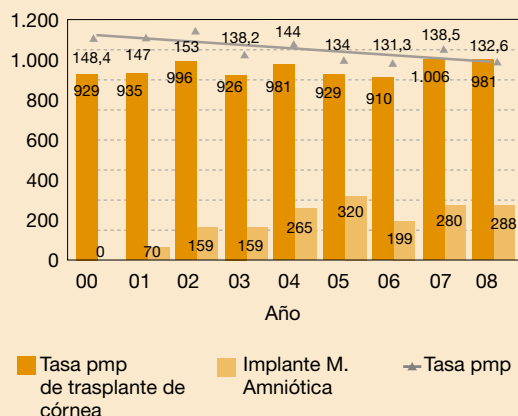
Válvula	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
V. Aórtica	16	15	11	7	11	10	10	8	4
V. Pulmonar	6	11	10	9	24	43	43	20	15
V. Mitral	0	1	2	1	1	1	1	0	1
Seg. Arteriales	46	49	33	31	22	48	51	25	38
<b>Total</b>	<b>68</b>	<b>76</b>	<b>56</b>	<b>48</b>	<b>58</b>	<b>102</b>	<b>105</b>	<b>53</b>	<b>58</b>

**TRAPLANTE DE CÓRNEA Y TEJIDO OCULAR**

Este año, en Cataluña se ha tratado a 981 pacientes con un trasplante de córnea, hecho que supone una tasa pmp de 132,61, mientras que la mediana del Estado español ha sido de 60,6 pmp (Figura 8). También se ha tratado a 76 pacientes con implante de esclerótica y a 288 con membrana amniótica, y a 400 pacientes se les ha aplicado colirios de suero autólogo elaborados por los bancos. Mientras que el trasplante de córnea sigue manteniéndose de manera estable, se observa un claro incremento en la utilización de los otros tejidos, a excepción del cultivo de células

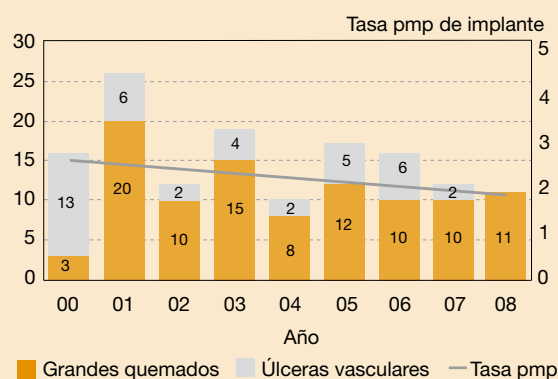
**Evolución del trasplante de córnea**

Fig.8



**Evolución de la implantación de piel. Diagnósticos y tasa pmp**

Fig.9



limbares que este año ha sido nula, debido a la adecuación de las instalaciones de los bancos a la nueva legislación (Tabla 3). En lo referente a las indicaciones diagnósticas de trasplante de córnea, se mantienen de manera muy similar (Tabla 4).

**TRASPLANTE DE TEJIDO VASCULAR**

En la actividad de obtención y trasplante de tejido vascular del 2008, destaca el incremento de la donación tanto de válvulas cardíacas como de los segmentos vasculares, y también el incremento de la viabilidad de ambos tejidos respecto al año anterior. La viabilidad de los segmentos ha sido del 84% (81% el 2007) y la del tejido valvular del 76,5% (70,7% el 2008). En el total de trasplantes de tejido vascular se observa un incremento global del 9%, a expensas de los segmentos arteriales (Tabla 5).

**OBTENCIÓN E IMPLANTACIÓN DE PIEL**

Este año, el número de donantes de piel se ha incrementado en un 11%, observándose una mejora de la viabilidad en ambos bancos de tejidos, hecho que comporta una gran disponibilidad de las existencias de piel criopreservada (80.410,18 cm<sup>2</sup>). El número de trasplantes es muy similar al de los años anteriores, se han realizado trasplantes a 11 pacientes, todos con el diagnóstico de grandes quemados, con una superficie de piel implantada de 47.450 cm<sup>2</sup> (Figura 9).

M<sup>º</sup> Jesús Félix, Ruth Barrio y Roser Deulofeu OCATT

# El trasplante pulmonar en Cataluña

El trasplante pulmonar (TP) nació en California i Toronto a inicios de la década 1980, y poco a poco ha ido implantándose en la mayor parte de los países desarrollados. Globalmente, cerca de 2.200-2.400 personas reciben cada año un TP, un tipo de tratamiento que se realiza en más del 95% de las ocasiones en el «mundo occidental», ya que hoy en día son muy pocos los países en desarrollo que han sido capaces de poner en marcha programas de TP.

## HISTORIA DEL TRASPLANTE PULMONAR EN CATALUÑA

La historia del TP en Cataluña empieza en el año 1986, concretamente en el Hospital Vall d'Hebron. Diversos hospitales en todo el Estado español empezaron a trabajar en el trasplante de pulmón en el año 1986, cuando se publicaron los dos primeros casos de TP con éxito. En Europa se había empezado a realizar el trasplante de pulmón en el Reino Unido y en Francia. En aquellos tiempos, en Cataluña había mucho interés, especialmente en el Hospital Vall d'Hebron, donde se había puesto en marcha el programa de preparación para el TP. No fue fácil, al igual que no lo era en el resto del mundo, ya que, a pesar de los avances obtenidos, el progreso del TP se veía amenazado por la presencia de graves complicaciones, y sólo los avances de la última década han permitido que este tipo de tratamiento se haya convertido hoy en una opción consolidada, asociada a un aumento de la función pulmonar y de la supervivencia.

## LOS PRIMEROS TRASPLANTES EN EL HOSPITAL VALL D'HEBRON

En el año 1989, ingresó en el hospital Raquel, una chica de 18 años procedente de O'Grove, Pontevedra, que había desarrollado una fibrosis pulmonar causante de una insuficiencia respiratoria crónica grave. A pesar de su juventud, su expectativa de vida era mínima. El 1 de agosto del mismo año se le realizó el trasplante en el Hospital Vall d'Hebron. Raquel, después de un postoperatorio largo y duro, sobrevivió con una buena calidad de vida durante tres años y medio. Pero el rechazo crónico puso fin a la aventura de una mujer valiente que supo apreciar la oportunidad que se le había dado, y que, al ponerse en manos de aquellos profesionales ilusionados, pero noveles en trasplante, permitió abrir un camino que para otros enfermos ha sido mucho más satisfactorio.

En el año 1991 se realizó el segundo trasplante. El receptor fue un chico joven, Ovidio, que murió unos cinco años después, habiendo conseguido llevar una vida completamente normal. Muchos de los primeros enfermos ya no están entre nosotros, pero fueron los auténticos impulsores del Programa Catalán de Trasplante. También, algunos de estos pacientes históricos son hoy los trasplantados vivos más antiguos del Estado español.

## LA CONSOLIDACIÓN DEL LIDERAZGO

El Programa de Trasplante Pulmonar del Hospital Vall d'Hebron ha ido creciendo lenta y racionalmente. Después de los dos primeros pacientes trasplantados, a partir de 1992 aumentó el número de trasplantes, y desde 1993

empezaron a crearse otros programas de TP en centros españoles. En el año 1998 se inició el Programa Infantil de Trasplante Pulmonar del Hospital Vall d'Hebron.

A mediados de la década de 1990, el Programa de Trasplante Pulmonar se consolida como líder en España, tanto en los aspectos asistenciales y organizativos, como por su incipiente producción científica. Este liderazgo en el ámbito del Estado español ha continuado a lo largo del tiempo y ha permitido desarrollar actividades docentes y de investigación multicéntricas que están dando sus frutos en forma de aportaciones científicas. Por otro lado, el modelo organizativo y de funcionamiento del Programa de Trasplante del Hospital Vall d'Hebron ha sido una referencia en el resto del Estado.

## ACTIVIDAD Y ORGANIZACIÓN ACTUALES

Según los datos del año 2008, el número de TP que se han realizado en España representa cerca del 9% del total mundial, y la actividad catalana representa alrededor del 3%. Respecto a la actividad calculada de TP por millón de población (pmp), Cataluña, en el año 2008, con 6,9 TP pmp, estaba entre los países con mayor actividad del mundo.

Cabe preguntarse cuáles fueron las razones para haber llegado a esta actividad en nuestro país. En ese sentido hemos analizado algunos aspectos que nos pueden acercar a la realidad. En primer lugar, España en general, y Cataluña en particular, es el país con la mayor tasa de donación de órganos del mundo y, por lo tanto, el lugar del mundo donde son posibles las mejores condiciones para el desarrollo del TP. A pesar de eso, la demanda de TP en nuestro país continua siendo más elevada que la disponibilidad de pulmones donados. Esta cuestión está presente en todo el mundo y está propiciando una evolución en la cual Cataluña no es una excepción. En ese sentido, estamos observando una progresiva utilización de los donantes con criterios expandidos para implantes pulmonares con buenos resultados. De hecho, los estudios publicados muestran que es posible el implante de pulmones procedentes de estos donantes sin un incremento prohibitivo de los riesgos para el receptor. Estrategias alternativas, como la donación pulmonar procedente de donante vivo o de donantes a corazón parado, parecen tener una tendencia más bien anecdótica, ya que, numéricamente, no representan un cambio sustancial de la actividad de TP presente y, probablemente, futura.

En segundo lugar, hemos de destacar que los neumólogos que diagnostican y tratan a los pacientes en situación de insuficiencia respiratoria crónica grave en nuestro país tienen muy presente el TP como tratamiento. Así, con la excepción del cáncer de pulmón, cualquier enfermedad respiratoria que lleve al paciente hacia la insuficiencia res-



piratoria crónica irreversible se considera susceptible en lo que respecta a la utilización del TP como tratamiento. Este hecho ha sido fundamental para que el flujo de receptores potenciales de TP sea constante desde Cataluña y las comunidades autónomas vecinas hacia el Programa de TP del Hospital Vall d'Hebron. Hemos de constatar que este flujo de pacientes es posible gracias a los buenos resultados del Programa de TP, tal como vamos a detallar.

### RESULTADOS DEL PROGRAMA DE TRASPLANTE PULMONAR DEL HOSPITAL VALL D'HEBRON

Según datos del Registro Internacional de Trasplante Pulmonar, que recoge la actividad de más del 80% de centros con programa de TP del mundo, la mortalidad perioperatoria está cerca del 15% y la supervivencia actuarial al año del TP está situada cerca del 70-75%. Comparativamente, la mortalidad perioperatoria en el Programa de TP del Hospital Vall d'Hebron fue del 7,3% y del 11% en 2007 y 2008, respectivamente. Además, la supervivencia actuarial al año fue del 79% y del 84% en el mismo período, lo que nos indica claramente que los resultados obtenidos están igual o por encima de los resultados cualitativos aceptados internacionalmente.

Se ha reconocido que existe una clara relación entre los resultados y el volumen de la actividad; éste es un factor positivo en Cataluña, donde hemos conseguido concentrar la actividad y la experiencia en un solo hospital, con el consiguiente beneficio en los resultados. Efectivamente, la actividad de TP de los últimos cinco años en el Hospital Vall d'Hebron está situada a un nivel que solamente media docena de hospitales en el mundo consiguen, y eso se refleja en los excelentes resultados obtenidos.

### ASPECTOS ORGANIZATIVOS CLAVE

Estos resultados no han sido fruto de la improvisación, ya que reflejan el trabajo de más de veinte años de un equipo de personas que han dedicado gran parte de su vida profesional al TP en Cataluña. Esta dedicación, en el seno de una organización sanitaria pública, con los inconvenientes y las ventajas propias del sistema, han hecho que en la actualidad el proceso del TP sea un proceso habitual y no excepcional en la actividad diaria rutinaria del Hospital Vall d'Hebron, con todo lo que esta normalidad implica.

Por lo tanto, es posible preguntarse cómo se ha conseguido este alto nivel de actividad y calidad del TP en Cataluña y cuáles son las claves, desde el punto de vista organizativo, para conseguirlo. A mi parecer, han existido dos hechos fundamentales. En primer lugar, que la actividad del TP ha ido creciendo de una forma lenta y sostenida, sin grandes altibajos, lo que ha permitido la adaptación de toda la organización, una consolidación de la experiencia y una maduración del proceso del TP que ha sido muy positiva.

En segundo lugar, ha sido fundamental que desde la organización del Programa de TP en el Hospital Vall d'Hebron se hayan tomado medidas que, de forma progresiva, han

hecho que el TP fuera una actividad cada vez menos excepcional. Este proceso, que hemos denominado de «normalización», ha consistido en la eliminación de todos los personalismos posibles para conseguir que la implicación de los servicios y de los profesionales fuera la más adecuada. Esta normalidad en la distribución de tareas y responsabilidades ha comportado una mejora notable de todo el proceso asistencial, con importantes implicaciones positivas en la docencia y la investigación. De hecho, hemos de considerar el TP como una actividad transversal que corresponsabiliza a muchos servicios, aunque los de cirugía torácica, cuidados intensivos, anestesia y neumología son clave en este proceso. Por eso, una dedicación más elevada y organizada de estos servicios ha sido la clave del alto nivel de actividad y de los buenos resultados obtenidos.

Finalmente, creo que esta reflexión puede generalizarse bastante en nuestro país. De hecho, la actividad del trasplante se ha beneficiado de la pasión y del entusiasmo de muchos profesionales que han hecho posible un gran impulso en este campo. Creo que es preciso entender que estos hechos pertenecen a la historia y que el futuro cercano ha de pasar necesariamente por un proceso de normalización de la actividad trasplantadora en nuestros hospitales.

### FUTURO DEL TRASPLANTE PULMONAR

Después de los importantes avances que nos han permitido unos buenos resultados, en particular en el postoperatorio inmediato, en un futuro cercano las técnicas de preservación nos permitirán que la cirugía del TP sea una cirugía «casi» programada, con las consiguientes facilidades. A pesar de todo, son dos los avances científicos más importantes y urgentes que son necesarios en un futuro cercano. Uno de ellos es el conocimiento de la biopatología de la bronquiolitis obliterante. El otro es el mejor conocimiento del estado de inmunosupresión de cada paciente en cada momento. Estas mejoras harán posible unos resultados mejores a largo plazo del TP, ya que un número importante de pacientes desarrollan un rechazo crónico a largo plazo que sigue un curso clínico que no se modifica por el tratamiento que adoptamos. En un futuro cercano, los nuevos conocimientos sobre la bronquiolitis obliterante nos permitirán establecer estrategias de tratamiento y prevención efectivas. También es preciso conocer mejor el nivel de inmunosupresión en tiempo real al cual están sometidos los pacientes en cada momento con el fin de tomar las mejores decisiones terapéuticas. Por último, es posible que seamos capaces de reparar los pulmones enfermos sin la necesidad de realizar un TP, aunque parece que queda mucho camino por recorrer. Por lo tanto, el mejor futuro que podemos imaginar para el trasplante de órganos en general, y para el TP en particular, es que no sea necesario realizar trasplantes.

.....  
**Antonio Román**  
 Hospital Vall d'Hebron, Barcelona

## ENFERMEDADES PULMONARES INTERSTICIALES DIFUSAS

Las enfermedades pulmonares intersticiales difusas son un grupo heterogéneo de enfermedades que presentan manifestaciones clínicas, anatomopatológicas, radiológicas y funcionales similares que afectan a las estructuras alveolointersticiales. La fibrosis pulmonar idiopática (FPI) es la más frecuente de estas enfermedades y sólo engloba patologías que presentan una forma de neumopatía con fibrosis intersticial crónica, limitada al pulmón y asociada a un patrón histopatológico de neumonía intersticial usual (patrón clásico asociado a la biopsia de la FPI) en el que se observan áreas de fibrosis pulmonar que coexisten con focos de proliferación fibroblástica.

La prevalencia estimada de la FPI es de 20/100.000 habitantes en hombres y de 13/100.000 en mujeres. Esta enfermedad puede presentarse a cualquier edad, aunque es más común entre los 40 y 70 años. De todas las enfermedades pulmonares intersticiales difusas, la FPI es la de peor pronóstico, con una mortalidad asociada del 50% y una supervivencia media de tres años desde el diagnóstico.

Actualmente, se considera que la FPI es el resultado final de una agresión desconocida que provoca la desestructuración del tejido pulmonar y la formación de fibrosis como resultado de una reparación anormal de la lesión, lo que conlleva una acumulación progresiva de matriz extracelular, la muerte de células epiteliales, la alteración del equilibrio de fibroblastos-miofibroblastos y, finalmente, una reepitelización anómala del espacio alveolar.

### TERAPIA ACTUAL DE LA FPI

El tratamiento recomendado por las normativas actuales es la asociación de glucocorticoides a bajas dosis y azatioprina o ciclofosfamida. Estos fármacos solamente tienen efecto antiinflamatorio y, aunque en algunos casos pueden aumentar la supervivencia, no modifican el pronóstico de la enfermedad. En un estudio clínico que se realizó en el año 2005, en el que se comparaba la eficacia de glucocorticoides, azatioprina y N-acetilcisteína a la dosis de 1.800 mg/día (75 pacientes) frente a glucocorticoides, azatioprina y placebo (80 pacientes) durante 12 meses, se demostró que los pacientes tratados con N-acetilcisteína presentaban un deterioro menor de la capacidad vital forzada (FVC) y de la capacidad de transferencia para el monóxido de carbono ( $DL_{CO}$ ). Sin embargo, no se conoce todavía si el tratamiento con N-acetilcisteína tiene influencia en la supervivencia. Actualmente, y en función de los resultados obtenidos en este estudio, la combinación de glucocorticoides, azatioprina y N-acetilcisteína se administra para el tratamiento inicial de la FPI en algunos centros hospitalarios.

# Trasplante de células alveolares tipo II en el tratamiento de la fibrosis pulmonar idiopática: estudio clínico

Aunque se han realizado diversos ensayos clínicos, no existe en la actualidad ningún fármaco antifibrótico con eficacia demostrada en el tratamiento de la FPI. En dos ensayos clínicos consecutivos realizados con interferón alfa-1b o placebo no se observaron diferencias ni en la supervivencia ni en los cambios funcionales respiratorios entre los dos grupos, demostrando que el interferón alfa-1b no posee ninguna eficacia. El ensayo clínico que se realizó con pirfenidona o placebo en pacientes con FPI moderada durante nueve meses, mostró que los pacientes tratados con pirfenidona tenían menor deterioro funcional respiratorio y menos agudizaciones de la enfermedad respecto al grupo tratado con placebo. No obstante, la poca duración del seguimiento de los pacientes impidió obtener conclusiones sobre su eficacia, por lo que actualmente se está realizando un nuevo ensayo clínico con pirfenidona para comprobar los resultados iniciales.

En este momento se están desarrollando diferentes ensayos clínicos, de los cuales aún no se conocen los resultados, con otras moléculas que han mostrado una actividad antifibrótica *in vitro* y en modelos animales de fibrosis pulmonar, como son mesilato de imatinib, antagonistas del factor de necrosis tumoral alfa, antagonistas de endotelina 1 (bosentán), antileucotrienos, antagonistas del factor de crecimiento del tejido conjuntivo y anticuerpos monoclonales antifactor transformador del crecimiento beta.

El trasplante pulmonar es la única alternativa terapéutica, pero tiene sus limitaciones. Está indicado en pacientes de edad inferior a 65 años, con enfermedad pulmonar avanzada y con una esperanza de vida menor de 1,5 - 2 años. Desgraciadamente, la mayoría de los pacientes no cumple estos requisitos debido a su edad avanzada o a la presencia de otras enfermedades.

### PATOGENIA DE LA FPI

En la FPI, la lesión tiene lugar principalmente en el intersticio pulmonar que incluye el espacio entre las

**De todas las enfermedades pulmonares intersticiales difusas, la FPI es la de peor pronóstico, con una mortalidad asociada del 50% y una supervivencia media de tres años desde el diagnóstico.**

membranas basales del epitelio alveolar y el endotelio vascular. Los cambios que se producen durante el desarrollo de la fibrosis pulmonar no afectan sólo al intersticio, sino también a los espacios alveolares y a las vías aéreas periféricas que se encuentran entre el epitelio alveolar y el endotelio vascular.

**El trasplante pulmonar es la única alternativa terapéutica, pero tiene sus limitaciones. Está indicado en pacientes de edad inferior a 65 años, con enfermedad pulmonar avanzada y con una esperanza de vida menor de 1,5-2 años.**

El epitelio alveolar cubre el 99% de la superficie interna del pulmón y está compuesto básicamente por dos tipos celulares, las células alveolares tipo I y las células alveolares tipo II. Las células alveolares tipo I son células alargadas y delgadas que tienen un papel primordial en el intercambio gaseoso que se produce en la superficie alveolar. Cubren el 95% de la superficie alveolar y representan el 40% del total de las células epiteliales. Por otro lado, las células alveolares tipo II son pequeñas y tienen forma cuboidal, cubren el 5% de la superficie alveolar, pero representan el 60% del total de las células epiteliales. Se caracterizan principalmente por: 1) sintetizar, almacenar y secretar el surfactante pulmonar, encargado de reducir la tensión superficial, evitando así el colapso alveolar; 2) transportar iones desde el fluido alveolar al intersticio pulmonar, minimizando el fluido alveolar y favoreciendo al intercambio de gases; 3) presentar funciones inmunológicas, ya que sintetizan y secretan proteínas del complemento (C3 y C5), así como numerosas citocinas e interleucinas que modulan las funciones de los linfocitos, los macrófagos y los neutrófilos, y 4) realizar una función reparadora, al proliferar y diferenciarse a células alveolares tipo I de forma rápida después de una lesión en el epitelio pulmonar.

**Aunque se han realizando diversos ensayos clínicos, no existe en la actualidad ningún fármaco antifibrótico con eficacia demostrada en el tratamiento de la FPI.**

En los pacientes con FPI se observa una disminución de las células alveolares, tanto de las de tipo I, como de las de tipo II. Si bien la reparación normal del epitelio alveolar se produce mediante mecanismos de proliferación y diferenciación, en la FPI estos mecanismos están alterados, ya que la presencia de células alveolares tipo II está muy disminuida. Por otro lado, en los pulmones de pacientes con FPI existen los llamados focos de fibrosis, donde hay una gran actividad de proliferación de fibroblastos. Éstos constituyen zonas de lesión epitelial asociadas a la muerte de células alveolares, lo que conlleva la migración de más fibroblastos a estas zonas de lesión, dentro del espacio alveolar aéreo, dando lugar a la fibrosis intraalveolar. Por lo tanto, la FPI representa una patología carac-

terizada por la ausencia de una adecuada reepitelización y una proliferación anormal de los fibroblastos. Por ello, el principal objetivo en el diseño de terapias para el tratamiento de la FPI ha de ir encaminado a la inhibición de la proliferación de fibroblastos y la reepitelización correcta de los espacios alveolares.

## TERAPIAS CELULARES

En un estudio previo, nuestro grupo de investigación ha demostrado que el trasplante intratraqueal de células alveolares tipo II en ratas en las que se indujo fibrosis pulmonar con bleomicina (modelo experimental de FPI) detiene la progresión de la enfermedad y revierte el proceso de fibrogénesis. Nuestros resultados indican que el trasplante de células alveolares tipo II puede reestructurar el epitelio y reducir la fibrosis, por lo que proponemos el trasplante de células alveolares tipo II como una nueva estrategia para el tratamiento de la FPI.

## ESTUDIO CLÍNICO

La hipótesis que planteamos es que el trasplante intratraqueal de células alveolares tipo II en pulmones de pacientes con FPI regenerarán la superficie alveolar y revertirán el proceso fibrótico cuando éste ya está establecido. Para corroborar nuestra hipótesis, nuestro grupo de investigación, en colaboración con el Servei de Pneumologia del Hospital Clínic de Barcelona, está desarrollando un estudio clínico basado en el trasplante heterólogo de células alveolares tipo II. En este estudio clínico está prevista la inclusión de seis pacientes afectados de FPI en fase moderada. El diagnóstico de FPI se establecerá de acuerdo con los criterios establecidos por el consenso American Thoracic Society (ATS)/European Respiratory Society (ERS) y por la Normativa de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR). Una vez seleccionados los pacientes, se realizarán tres o seis implantaciones de células alveolares tipo II vía intratraqueal, con una separación temporal de 15 días entre las diferentes implantaciones. Las células se aislarán de pulmones no viables para el trasplante de órganos, pero sí para la extracción celular, cumpliendo los siguientes requisitos: no presentar ninguna enfermedad pulmonar difusa, no presentar infecciones y no haber recibido quimioterapia o radiación. La caracterización de las células alveolares tipo II se realizará mediante la expresión por RT-PCR de proteínas del surfactante pulmonar (características de las células alveolares tipo II), por microscopía electrónica y por tinción con fosfatasa alcalina. La implantación celular se realizará mediante fibrobroncoscopia bajo sedación consciente y anestesia local con lidocaína. La premedicación consistirá en midazolam a la dosis inicial de 3-4 mg e.v. (dosis adicionales, 1 mg/min) y fentanilo e.v. a la dosis de 1-2 mg. Las células se implantarán en las zonas pulmonares con mayor afectación de acuerdo con los hallazgos de la TACAR, en uno o dos lóbulos, siempre del mismo hemitórax.



El número de células a implantar se determinará según la superficie de lesión y las diferentes zonas a implantar.

Previamente a la primera implantación celular, se administrarán diferentes vacunas a los pacientes dependiendo de los resultados obtenidos en las determinaciones serológicas de anticuerpos contra hepatitis A y B, sarampión, rubéola, parotiditis, varicela y neumococo.

Una vez realizado el primer trasplante celular, los pacientes recibirán tratamiento inmunosupresor, que constará de la administración de micofenolato mofetilo (500 mg/12 horas, vía oral); tacrolímulo (0,15 mg/kg, vía oral repartidos en una dosis cada 12 horas), modificando la dosis según los niveles en sangre periférica, que deben mantenerse entre 5 y 8 mg/ml, y prednisona (20 mg/día, vía oral). Asimismo, también recibirán tratamiento antibiótico siguiendo la siguiente pauta: trimetoprim 160 mg + sulfametoxazol 800 mg, dos comprimidos/día, vía oral, tres veces a la semana durante 48 semanas; valganciclovir, 450 mg, un comprimido/día, vía oral, durante 14 semanas, independientemente de la presencia de anticuerpos anticitomegalovirus; nistatina, enjuagues bucales tres veces al día en el caso de que el paciente presente lesiones bucales ocasionadas por la inmunodepresión, y ácido polínico, 15 mg, un comprimido/día

para reducir el déficit de ácido fólico que podría ocasionar el uso de trimetoprim-sulfametoxazol. El paciente permanecerá ingresado en el hospital durante 48 horas. A lo largo del estudio, el paciente no recibirá ningún otro tratamiento para la FPI.

El objetivo principal del estudio es evaluar la efectividad de la implantación, que se realizará mediante la valoración de síntomas (grado de disnea), gasometría arterial, pruebas funcionales respiratorias, radiografía de tórax y TACAR. Los pacientes incluidos serán seguidos durante un período de un año y se evaluará la progresión o remisión de la enfermedad.

.....  
**Antoni Xaubet<sup>1,3</sup> y Anna Serrano-Mollar<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup>Servei de Pneumologia, Institut Clínic del Tòrax, Hospital Clínic, Barcelona

<sup>2</sup>Departament de Patologia Experimental, Institut d'Investigacions Biomèdiques de Barcelona, Consell Superior d'Investigacions Científiques, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Barcelona

<sup>3</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER) de Enfermedades Respiratorias, Barcelona

**La hipótesis que planteamos es que el trasplante intratraqueal de células alveolares tipo II en pulmones de pacientes con FPI regenerarán la superficie alveolar y revertirán el proceso fibrótico cuando éste ya está establecido.**

## Estudio comparativo de mutaciones en el eje de señalización Pi3-K/PTEN/Akt en cáncer colorrectal en pacientes trasplantados renales tratados con inhibidores de calcineurina respecto a la población general

### INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha visto una mejora en la supervivencia tanto del injerto como del paciente, sobre todo a expensas del uso de nuevos fármacos inmunosupresores que han disminuido importantemente la tasa de rechazo agudo, aunque a largo plazo no han mejorado en la misma proporción, siendo la patología oncológica una de los principales causantes.

Con los fármacos inhibidores de calcineurina se ha visto un aumento de la incidencia de todo tipo de neoplasias, y aunque no se saben con certeza los posibles factores patogénicos, tanto un efecto oncogénico directo, a través de la inducción del TGFβ, como activación de diversas vías de proliferación, podrían favorecer el desarrollo del cáncer y de metástasis. Hecho contrario al uso de los inhibidores de mTOR, que, gracias a su acción sobre la vía de señalización

PI3K/PTEN/Akt/mTOR, adquiere un papel crucial en el desarrollo, progresión, agresividad y potencial metastásico del cáncer, con propiedades antioncogénicas por sus efectos antiproliferativos y el bloqueo de la angiogénesis.

Aunque las mutaciones han sido ampliamente estudiadas y es bien conocido su papel en la oncogénesis, en el comportamiento tumoral, así como en la refractariedad al tratamiento y el potencial metastatizante de las neoplasias, hasta ahora no se ha estudiado su papel en las neoplasias de la población trasplantada de órgano sólido. Dada la capacidad de inducir mutaciones y el bloqueo de su reparación de determinados fármacos inmunosupresores, es de presuponer la presencia de un elevado número de mutaciones como uno de los factores patogénicos implicados en la alta incidencia de cáncer en la población trasplantada.

## HIPÓTESIS

La hipótesis de nuestro trabajo radica en el papel mutagénico de los fármacos inmunosupresores, especialmente de los inhibidores de calcineurina, cuya elevada incidencia de mutaciones explicaría la alta incidencia de tumores y su mayor agresividad en el desarrollo de metástasis en relación con la población general.

## OBJETIVO

Nuestro objetivo ha consistido en analizar la presencia de mutaciones puntuales más prevalentes del gen PI3K (subunidad catalítica), perteneciente a la vía de señalización *PI3K/PTEN/Akt/mTOR*, descritas en la población general, en cáncer colorrectal de población trasplantada renal en tratamiento inmunosupresor.

## MÉTODO

De 1.819 pacientes trasplantados renales en nuestro centro entre enero de 1992 y diciembre de 2007, hemos documentado 23 casos de neoplasias de colon del Banco de Tumores del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitari Clínic de Barcelona, de las cuales hemos obtenido calidad y cantidad de ADN en 11 de ellas. Los controles, pacientes con neoplasias de colon en ningún estado de inmunosupresión, se han aleatorizado según similares variables epidemiológicas, a excepción de las concernientes a la inmunosupresión y al trasplante, a fin de evitar factores de confusión así como no ser grupos comparables estadísticamente

Las muestras en ambos grupos se han obtenido previo consentimiento informado y una vez la muestra obtenida de tejido tumoral ha sido fijada e incluida en parafina y conservada a temperatura ambiente

La técnica elegida ha sido la RT-PCR (reacción en cadena de polimerasa en tiempo real) a través del sistema Lightcycler (versión 1.5, Roche®). Las mutaciones más prevalentes del gen PI3KCA encontradas en la revisión de la literatura han sido mutaciones *hotspot*, E542K y E545K en el exón 9 en el dominio funcional helicoidal, y H1047R en el exón 20 en el dominio cinasa. Los pares de *primers* han sido obtenidos de las diferentes bases de datos genómicas extraídas de Celera ([www.celera.com](http://www.celera.com)) o de las secuencias del anteproyecto del genoma humano (<http://genome.uscs.edu/>) Genebank. Con la utilización de una *polimerasa de alta fidelidad* y la purificación del fragmento de ADN en geles de agarosa, aseguramos que no haya más mutaciones de las ya existentes y objetivo de nuestro trabajo, y su adecuabilidad, comprobando la PCR anterior a la secuenciación, respectivamente.

Todos los análisis estadísticos se llevarán a cabo usando el SPSS Data Análisis Program (versión 11.0) (SPSS, Inc, Chicago, IL), validando los test estadísticos con un nivel de significación < 0,005.

## RESULTADOS

La media de edad de los casos ha sido de 67,15 ± 10,4 años (con un rango de edad de 47,3 a 84,03) frente a 69,92 ± 12,05 años (rango 48-88) de los controles, siendo en ambos grupos mayoría varones (61,9 y 63,76%, respectivamente). Los pacientes trasplantados tenían una media de edad al trasplante de 48,81 ± 14,2 años (rango 20,1-70,21), con edad al diagnóstico de la neoplasia de 61,54 ± 10,5 años (rango 41,1-81,69), siendo más jóvenes que los pacientes que no habían recibido inmunosupresión (63,76 ± 11,8 años [rango 46-85]). El tiempo medio desde el trasplante al desarrollo de la neoplasia fue de 11,48 ± 7,74 años (rango 1,02-31,35)

Todas las neoplasias eran adenocarcinomas, siendo el estadio B2 de DUKE el más frecuentemente encontrado, aunque existen más tumores con estadios más agresivos en el grupo de casos de trasplantados que en el de controles. El porcentaje de recidivas, fue superior en el grupo de controles (7,7 frente a 4,8%), mientras que el porcentaje de tumores metastásicos fue mayor en los pacientes que habían recibido inmunosupresión en el trasplante (19 frente a 15,4%)

No se ha encontrado ninguna mutación puntual *hotspot* H1047R del gen PI3KCA en el grupo de pacientes trasplantados que recibían inmunosupresión, así como tampoco en el grupo de pacientes con la neoplasia y que no habían recibido medicación inmunosupresora. No se han conseguido resultados interpretables en la evaluación de las mutaciones *hotspot*, E542K y E545K del gen PI3KCA, debido a la existencia de un pseudogen en el cromosoma 22, cuya homología con el gen estudio, interfiere en la diferenciación de los amplicones obtenidos.

## CONCLUSIONES

- La patología oncológica en el trasplantado de órgano sólido tiene un comportamiento más agresivo que en la población general, apareciendo a edad más temprana, con estadios histopatológicos más avanzados y con más incidencia de metástasis.
- No hemos encontrado mayor incidencia de mutaciones potencialmente inducidas por la medicación inmunosupresora, aunque consideramos que se trata de un tamaño muestral insuficiente para descartar la implicación de las mutaciones en la oncogénesis de las neoplasias postrasplante.

.....  
**Ignacio Revuelta Vicente**

Unidad de Trasplante Renal,  
 Servicio de Nefrología y Trasplante Renal  
 Hospital Universitari Clínic de Barcelona, Barcelona

## INTRODUCCIÓN

El epitelio corneal posee un papel clave en el mantenimiento de la transparencia corneal y en su avascularidad. Se sabe que existen unas células progenitoras pluripotentes localizadas en la zona de transición entre la córnea y la conjuntiva, concretamente en una región conocida como limbo esclerocorneal. Estas células son las responsables de dar lugar a unas células amplificadoras de tránsito que migran centripetamente hacia la superficie de la córnea diferenciándose, finalmente, en células epiteliales. La desaparición o la insuficiencia de estas células progenitoras limbares (LEC) conlleva importantes alteraciones en la superficie ocular, tales como la aparición de defectos corneales persistentes, la queratinización del epitelio, fenómenos de conjuntivalización en el tejido corneal con desarrollo de vasos de neoformación, además de la formación de cicatrices. Todo ello, comprometiendo la fisiología corneal e induciendo la pérdida de la transparencia con disminución de la visión.

## OBJETIVO Y MÉTODOS

Estudiar el potencial y la plasticidad de las células progenitoras mesenquimales del tejido adulto (MSCs) derivadas del tejido adiposo blanco (ADS) hacia fenotipos epiteliales y su posible uso en terapia celular de la superficie ocular.

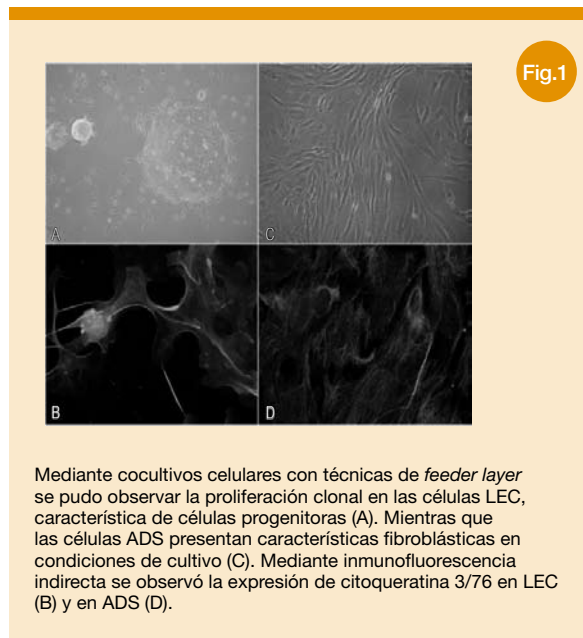
Las ADS fueron caracterizadas mediante ensayos de adhesión y proliferación celular sobre diferentes matrices. También se analizaron la expresión de marcadores característicos de MSC y de LEC, así como marcadores específicos de diferenciación mediante técnicas de citometría de flujo, inmunofluorescencia, *Western Blot* y PCR a tiempo real. Las células humanas del epitelio corneal inmortalizadas con SV-40 y las células humanas de epitelio pigmentario de la retina fueron utilizadas como controles.

## RESULTADOS

Atendiendo a las propiedades adhesivas, se pudieron identificar dos subpoblaciones de ADS (células de adhesión rápida o células PLA y células de adhesión lenta o células SN) en las que se observaron diferentes características de adhesión y proliferación celular. Las células SN aumentaron su adhesión en presencia de colágeno de tipo I y fibronectina. Mientras que la asociación entre matrices de colágeno de tipo IV y laminina mejoraron su capacidad proliferativa. Los marcadores de origen mesenquimal CD34, CD90 y vimentina fueron positivos en ambas subpoblaciones de ADS. Sorprendentemente, la expresión de la citoqueratina 3/76, citoqueratina propuesta como marcador de diferenciación corneal, también fue débilmente positiva en estas subpoblaciones. Sin embargo, ABCG2, p63, citoqueratina 1/5/10/14 y citoqueratina 19 fueron negativos. La expresión de marcadores analizados por citometría de flujo e inmunocitoquímica fueron corroborados mediante análisis de proteínas (técnica de *Western Blot*) y me-

# Aplicación de las células progenitoras mesenquimales del tejido adulto en medicina regenerativa de la superficie ocular

dante la expresión de ARN mensajero (técnica de PCR a tiempo real). En la actualidad, mediante condiciones de cultivo y entornos apropiados, se intenta la transdiferenciación de dichas subpoblaciones derivadas de ADS hacia fenotipos y características moleculares epiteliales.



## CONCLUSIONES

- Las ADS presentan un gran potencial para ser empleadas en medicina regenerativa mediante terapia celular de la superficie ocular.
- La expresión de marcadores comunes entre las subpoblaciones celulares de ADS y las células LEC apoya la hipótesis de una posible diferenciación hacia fenotipos epiteliales similares a los del epitelio corneal.

.....  
Eva M. Martínez-Conesa

Departamento de Biología Celular de la Universidad de Barcelona  
Transplant Services Foundation, Cooperació Sanitària Clínica, Barcelona

# Estudio de la señalización de CD40 en células dendríticas mediante interferencia de ARN

Uno de los principales objetivos en el trasplante de órganos es disponer de tratamientos condicionantes cortos, en el peritrasplante o en las primeras fases después del trasplante, que conduzcan a una aceptación del injerto sin necesidad de inmunosupresión a largo plazo. Las células dendríticas (CD) juegan un papel clave tanto en el inicio de la respuesta inmuno-inflamatoria como en la inducción de tolerancia. Las propiedades funcionales de las CD dependen de su grado de activación y maduración. Se ha demostrado que CD inmaduras son capaces de inducir tolerancia inmune y de prolongar la supervivencia del aloinjerto. La señal coestimuladora CD40-CD40L es clave para la completa activación de las células T durante la respuesta aloinmune. Se ha confirmado la eficacia del bloqueo de dicha señal mediante anticuerpos anti-CD40L en modelos animales de trasplante renal, aunque la generación de fenómenos tromboembólicos con dicha estrategia ha impedido su utilización en ensayos clínicos. Por otra parte, el sistema del complemento es un componente clave de la inmunidad innata. Se ha sugerido recientemente que la señalización vía CD40 puede alterarse por cambios en las respuestas inmunes innatas. La proteína C4BP ( $\alpha7\beta1$ ), una proteína plasmática de elevado peso molecular (570 kDa) que inhibe de forma eficiente la vía clásica de activación del complemento, parece influir en la señalización vía CD40 uniéndose directamente a dicho receptor y activando las células B. Como consecuencia se induce su proliferación, la sobreexpresión de CD54 (ICAM-1) y CD86, así como el cambio de isotipo IgE dependiente de IL-4.

## HIPÓTESIS

El bloqueo de la señal coestimuladora CD40-CD40L en CD puede resultar una estrategia terapéutica eficaz para disminuir la activación de la respuesta inmune e inducir tolerancia. La proteína reguladora del complemento C4BP parece influir en la señalización vía CD40 induciendo la maduración de linfocitos B. Así, es plausible que la interacción de C4BP con las CD, que expresan niveles elevados de CD40, pueda también afectar a los procesos de diferenciación y/o maduración de dichas células.

## OBJETIVOS

1) Evaluar la eficacia del bloqueo de la señal coestimuladora CD40-CD40L, utilizando la interferencia de ARN (ARNi) contra CD40, en CD. 2) Analizar la capacidad de la proteína C4BP ( $\alpha7\beta1$ ), un ligando alternativo de CD40 recientemente caracterizado, de

influir en el proceso de diferenciación y maduración de las CD.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se aislaron monocitos de partir de sangre periférica y se transfectaron mediante electroporación con un ARNsi anti-CD40 a las 48 horas del inicio de su diferenciación en medio de cultivo suplementado con GM-CSF (800 U/ml) e IL-4 (500 U/ml). A las 48 horas post-transfección se realizó la extracción de ARN y se cuantificaron los niveles de CD40 mediante RT-PCR a tiempo real utilizando como control el gen de referencia de la ciclofilina. Se analizó la influencia de la proteína C4BP ( $\alpha7\beta1$ ) plasmática sobre la diferenciación y la maduración de las CD añadiéndola a concentraciones de 1-50  $\mu\text{g/ml}$  desde el momento de la obtención de monocitos, o a día 5 (estadio de CD inmadura), y posteriormente estimulando su maduración mediante lipopolisacárido (LPS) o CD40L. Mediante citometría de flujo, se realizó un inmunofenotipado de las correspondientes CD inmaduras y maduras analizando la expresión de los marcadores superficiales HLA-DR, CD40, CD80, CD83, CD86, CD1a y CD14, y determinando su viabilidad mediante tinción con yoduro de propidio.

## RESULTADOS

En CD se alcanzó una inhibición de la expresión de CD40 a nivel de ARN del  $65 \pm 12\%$  ( $n = 4$ ) mediante electroporación de un ARNsi anti-CD40, comparado con un ARNsi control. La expresión de los marcadores superficiales de identificación y caracterización de CD evaluados no resultó significativamente alterada al incubar dichas células con diferentes concentraciones de proteína C4BP ( $\alpha7\beta1$ ) purificada a partir de plasma humano. Los niveles de dichos marcadores tampoco se alteraron al inducir la maduración de las CD en presencia de los estímulos LPS y CD40L. Asimismo, no se vio afectada la viabilidad de las CD por efecto de C4BP ( $\alpha7\beta1$ ).

## CONCLUSIONES

- La metodología de ARNi permite silenciar de manera eficiente la expresión del receptor CD40 en CD. La generación de CD «tolerogénicas» o reguladoras mediante dicha estrategia podría resultar muy útil para su aplicación en trasplante alogénico.
- La proteína reguladora del complemento C4BP ( $\alpha7\beta1$ ) no influye ni en la diferenciación ni en la maduración de las CD aisladas a partir de monocitos de sangre periférica.

.....  
Rut Olivar Miró

Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge, Barcelona



## INTRODUCCIÓN

El trasplante renal representa actualmente el tratamiento de elección en la insuficiencia renal crónica terminal respecto a la diálisis. La supervivencia del injerto y del paciente supera el 95% al año de trasplante y la incidencia del rechazo agudo se ha reducido al 10% en la mayoría de las unidades de nuestro país. Las dos principales causas de la pérdida del aloinjerto renal después del primer año de seguimiento son la muerte con el injerto activo y la anteriormente denominada nefropatía crónica de trasplante (NCT) caracterizada por atrofia tubular y fibrosis intersticial (FI/AT). Dicha entidad es un conglomerado de factores etiopatogénicos que convergen en una expresividad clínica inespecífica y que conduce a la pérdida del injerto renal. El diagnóstico de la FI/AT se realiza tardíamente cuando las lesiones renales están avanzadas y en la mayoría de los casos el grado de fibrosis renal es importante, debido a que el parámetro utilizado en el seguimiento de la función renal es la creatinina plasmática, que presenta escasa sensibilidad. Así un aumento de sus niveles a menudo está acompañado de una biopsia renal con extensas lesiones histológicas y con frecuencia irreversibles. Por lo tanto, es de gran interés encontrar un método que nos permita actuar rápidamente en la prevención del desarrollo de dicha entidad. Nuestro grupo de investigación lleva años estudiando el proteoma urinario como fuente de biomarcadores de rechazo renal y ha encontrado un listado de candidatas a biomarcadores. La búsqueda de dichos biomarcadores en modelos experimentales *in vitro*, como es el caso de cultivos primarios de células tubulares proximales (CTP) sometidos a diferentes tratamientos, nos puede permitir estudiar los diferentes factores etiopatogénicos de la FI/AT.

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Nuestra hipótesis se basa en que los cultivos primarios de CTP procedentes de un tejido renal sano nos permitirán reproducir las condiciones que sufre el injerto renal postrasplante, como son toxicidad a anticalcineurínicos, inflamación, senescencia replicativa e isquemia, además de ser buenos modelos para detectar la presencia de los posibles biomarcadores de daño renal. Nuestro objetivo ha consistido en la optimización del cultivo primario de CTP renales humanas y el establecimiento de los anteriores modelos *in vitro* para determinar la presencia de los biomarcadores proteicos urinarios anteriormente identificados por nuestro grupo.

## MÉTODOS

### Pacientes y aislamiento de CTP renales humanas.

Se utilizaron segmentos de córtex de riñones rechazados para el trasplante y de nefrectomías radicales de pacientes portadores de tumor renal del Hospital Clínic de Barcelona. El método de aislamiento de CTP renales humanas es una modificación del descrito en la literatura y se caracterizó la pureza de los cultivos mediante la detección por inmunocitoquímica de

# Estudio de biomarcadores de daño en el injerto renal en modelos *in vitro* de célula tubular renal humana

marcadores específicos de células epiteliales. Los aislamientos obtenidos se dividieron en dos grupos: cultivos jóvenes y senescentes, usando como parámetro de corte la edad de 70 años. Con el grupo senescente se llevó a cabo únicamente el modelo de senescencia replicativa, y con el joven, el resto de modelos.

**Modelos *in vitro*.** Los diferentes modelos *in vitro* se llevaron a cabo a partir de cultivos con una confluencia del 70% y que se privarán de suero durante 24 horas. Los controles de los modelos *in vitro* fueron los cultivos de CTP jóvenes sin tratamiento. 1) Modelo de senescencia replicativa: los cultivos de CTP senescentes no se sometieron a ningún tratamiento y se corroboró el modelo mediante la detección por *Western Blot* de la presencia de p16INK4 (inhibidor del ciclo celular asociado a la senescencia celular y a la disfunción renal). 2) Modelo de toxicidad por ciclosporina (CSA): se incubaron las CTPs con 0,5  $\mu$ M y 10  $\mu$ M durante 48 y 72 horas a 37 °C en condiciones de normoxia. 3) Modelo de inflamación: se incubaron las CTP con 50 ng/ml de albúmina durante 48 horas a 37 °C en condiciones de normoxia. 4) Modelo de isquemia: se incubación las CTP a una atmósfera de hipoxia (5% O<sub>2</sub>) durante 48 horas a 37 °C. Se determinó la presencia de p16INK4 y de biomarcador 1 a partir del extracto proteico obtenido de los modelos *in vitro*, mediante la técnica de *Western Blot*.

## RESULTADOS Y CONCLUSIONES

- Se ha optimizado el aislamiento de CTP renales humanas, obteniendo 13 cultivos primarios humanos con elevado grado de pureza que hemos diferenciado en dos grupos (senescentes y jóvenes) con una edad de corte de 70 años, para llevar a cabo los modelos *in vitro* propuestos.
- Hemos confirmado el modelo de senescencia replicativa mediante la detección del marcador p16INK4 en los aislamientos senescentes, además de detectar la expresión del biomarcador 1 en los modelos de senescencia, isquemia e inflamación.

.....  
**María José Ramírez Bajo**

Unitat de Trasplantament Renal  
 Servei de Nefrologia i Trasplantament Renal  
 Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona



## XXIV Reunión Nacional de Coordinadores de Trasplantes

Durante los días 6 y 8 de mayo tuvo lugar en Barcelona la XXIV Reunión Nacional de Coordinadores de Trasplantes, organizada por la Organització Catalana de Trasplantaments (OCATT) y la Organización Nacional de Trasplantes (ONT). En el encuentro se realizó un acto especial por la celebración del 25 aniversario de la existencia de la figura del coordinador de trasplantes en España, con la presidencia de la Consellera de Salut de la Generalitat de Catalunya, Marina Geli, y la presencia de

Celia Wight, primera coordinadora de trasplantes del Reino Unido, quien prestó su asesoramiento en Cataluña en el año 1984. La reunión contó con la participación de 150 asistentes y durante su desarrollo se llevaron a cabo diversos talleres y mesas redondas, así como conferencias, comunicaciones orales y presentaciones de pósters en que se abordaron temas de máximo interés y actualidad relacionados con el proceso de donación de órganos para trasplante.



Sala de sesiones



Inauguración en el Palau de Pedralbes

## Daniel Serón i Micas, nuevo Presidente de la SCT y de la FCT



**Daniel Serón i Micas** es desde mayo el nuevo Presidente de la Societat y la Fundació Catalana de Trasplantament. Nacido en Barcelona en el año 1956, estudió medicina en la Universitat de Barcelona y obtuvo la licenciatura en el año 1980. Realizó la residencia de nefrología en el Hospital Universitari de Bellvitge hasta el año 1985.

En 1986 se incorporó como adjunto de nefrología en el Hospital Trueta de Gerona, cuando se acababa de crear el Servicio de Nefrología. Ese mismo año, consiguió una beca British Council-La Caixa para realizar un *fellowship* en el Guys Hospital de Londres con el profesor James S. Cameron, donde trabajó desde 1987 hasta mediados de 1988 en el laboratorio de anatomía patológica, en un proyecto que tenía la finalidad de caracterizar la inflamación renal, mediante técnicas inmunohistoquímicas, y la fibrosis renal.

Al volver a Barcelona, presentó la tesis doctoral y se incorporó a la Unidad de Trasplante Renal del Servicio de Nefrología del Hospital de Bellvitge. En el año 1995 obtuvo el título de Máster en Bioingeniería por la Universitat Politècnica de Catalunya, y desde el año 1997 es profesor asociado en la Universitat de Barcelona.

Desde mayo del 2009 es el jefe del Servicio de Nefrología del Hospital Vall d'Hebron. Su interés clínico se ha centrado en el trasplante renal y sus investigaciones se han focalizado en el estudio de la neuropatía crónica desde el punto de vista histológico y epidemiológico.

## Convocatoria de becas para la investigación de la Fundació Catalana de Trasplantament-2010

El objetivo es fomentar la investigación científica en el trasplante de órganos incorporando diferentes personas en las áreas de investigación que hoy están en funcionamiento en los servicios con unidad de trasplante en Cataluña.

El número de becas que oferta y financia la FCT en la presente convocatoria es de TRES, con el soporte económico directo, para dos de ellas, de la compañía ROCHE FARMA S.A. y para otra, de NOVARTIS FARMACÉUTICA S.A.

El período de disfrute de las becas se iniciará en enero de 2010 y finalizará en diciembre del mismo año.

La dotación de cada beca es de 18.000 € brutos anuales, que se librarán directamente a los beneficiarios en cuotas trimestrales de 4.500 €, a las que se hará las correspondientes retenciones de acuerdo con la normativa vigente.

Las solicitudes deben presentarse en la Secretaría de la Fundació Catalana de Trasplantament (Avda. Diagonal, 407, 2º 2ª, 08008 Barcelona; Tel.: 93 200 33 71), antes del 30 de octubre de 2009.

## Bases del premio al mejor artículo publicado sobre trasplante, convocado por la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya y la Fundació Catalana de Trasplantament-2010

El objetivo es premiar al mejor artículo publicado sobre trasplante, según criterio del Jurado, publicado en cualquier revista científica española o extranjera, en el período comprendido entre el 1 de mayo de 2008 y el 30 de abril de 2009. Si el artículo premiado ha sido redactado por varias personas, el premio se otorgará al primer firmante.

El premio consiste en una dotación de 1.500 € y la concesión, en sesión académica solemne, del título de Académico Corresponsal de la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya.

Quienes deseen optar a este premio han de presentar el original del número de la revista en la que se ha publicado el artículo antes del 30 de octubre de 2009 en la sede de la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya (c/ del Carme, 47, 08001 Barcelona; Tel.: 93 412 05 98), haciendo constar, en el sobre, que el remitente desea participar en esta convocatoria.

## Convocatoria del premio a la mejor ponencia sobre trasplante, otorgado por la Fundació Catalana de Trasplantament y la Acadèmia de Ciències Mèdiques de Catalunya i de Balears-2010

El objetivo es premiar la mejor ponencia sobre trasplante, según criterio del Jurado, presentada en cualquier congreso realizado en España o en el extranjero, en el período comprendido entre el 1 de octubre de 2008 y el 30 de septiembre de 2009. Si la ponencia premiada ha sido elaborada por varias personas, el premio se otorgará a su primer firmante.

El premio comporta una dotación de 1.500 €. El premio se otorgará en el acto solemne anual de entrega de los premios de la Acadèmia de Ciències Mèdiques de Catalunya i de Balears correspondiente a 2010.

Quienes deseen optar a este premio deben presentar el original del resumen aceptado por el congreso, junto con el escrito de la ponencia, antes del 30 de octubre de 2009 en la sede de la Secretaría de la Fundació Catalana de Trasplantament (Avda. Diagonal, 407, 2º 2ª, 08008 Barcelona; Tel.: 93 200 33 71).

### Más información sobre estas bases de premios y convocatorias

Fundació Catalana de Trasplantament

Secretaría: Avda. Diagonal, 407, 2º 2ª, 08008 Barcelona. Tel.: 93 200 33 71

Sitio web: [www.fctransplant.org](http://www.fctransplant.org)

# La problemática de los ensayos clínicos elaborados con tejidos y células

de página 1

disponer de las autorizaciones necesarias del Departament de Salut. Y la OCATT debe presentarlo a la Comisión Nacional de Trasplantes y Medicina Regenerativa del Ministerio de Sanidad y Política Social, que es el organismo que debe aprobarlo. En el caso de que el ensayo clínico cumpla criterios de medicamento, estará sometido a las mismas normas que los de producción industrial, y debe prepararse en un laboratorio farmacéutico autorizado por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS). Además de precisar de la autorización del Departament de Salut para la donación, obtención y evaluación de los tejidos/células, el ensayo clínico ha de presentarse, ha de ser aprobado y será controlado por la AEMPS. El proyecto a presentar debe contar con un promotor, un seguro y una certificación/autorización como laboratorio farmacéutico del banco de tejidos donde se elaborará, expedida y otorgada por la propia AEMPS. Actualmente, y en ausencia del mencionado Reglamento, se exige lo mismo a un proyecto de investigación hospitalaria que lo que se exige a un proyecto presentado por la industria farmacéutica. Si tenemos en cuenta que la diferencia de

magnitud de los propios ensayos clínicos y los medios económicos de los dos estamentos para sacarlos adelante no son comparables, la situación actual resulta anómala y confusa para los profesionales. Que esta situación es anómala nos lo demuestra la parálisis que se está produciendo en la aprobación de los ensayos clínicos considerados medicamentos (uno, en el año 2008 en Cataluña). También lo demuestra el nulo número de laboratorios farmacéuticos no industriales autorizados por la AEMPS. El vacío legal existente para los ensayos clínicos con tejidos y células considerados medicamentos presentados por los profesionales hospitalarios, conjuntamente con la falta de criterios para paliar este vacío y agilizar los trámites, crea una dificultad añadida e innecesaria que limita y dificulta las iniciativas de investigación de los profesionales. Es preciso encontrar una solución a este problema supuestamente temporal, aunque ya tiene tres años de antigüedad, que permita que las iniciativas de investigación iniciadas por los profesionales hospitalarios puedan salir adelante en función del su contenido y finalidad, y que no queden paralizadas por el desconcierto legislativo y las trabas burocráticas existentes.

## Comparación de la actividad de donación y trasplante en Cataluña 2007-2009 Datos acumulados interanualmente hasta el mes de mayo

	Período 6/08-5/09	Período 6/07-5/08	Variación
	<i>n</i>	<i>n</i>	
Casos detectados (ME+MA)	418	380	10,0%
Porcentaje de negativas familiares	16,5%*	22,6%*	-
Donantes de cadáver válidos (ME+MA)	263	217	21,2%
Donantes vivos renales	106	67	58,2%
Donantes vivos hepáticos	12	3	300,0%
<b>Trasplantes</b>			
Trasplantes renales	537	419	28,2%
Trasplantes hepáticos	234	191	22,5%
Trasplantes cardíacos	52	47	10,6%
Trasplantes pulmonares	54	48	12,5%
Trasplantes pancreáticos	39	23	69,6%
Trasplantes intestinales	0	1	-

ME: muerte encefálica; MA: muerte en asistolia.

\*Porcentaje de negativas expresadas por la familia (*n* de negativas familiares / *n* de entrevistas).

Publicación periódica de la Organització Catalana de Trasplantaments y de la Societat Catalana de Trasplantament

**DIRECCIÓN:** Daniel Serón y Rosa Deulofeu

**COMITÉ DE REDACCIÓN:** María Jesús Félix, Daniel Serón y Rosa Deulofeu

**SECRETARIA DE REDACCIÓN:** Marga Sanromà

**CONSEJO EDITORIAL:** Jeroni Alsina, Antonio Caralps, Juan Carlos García-Valdecasas, Josep Lloveras, Vicens Martínez-Ibáñez, Jaume Martorell, Frederic Oppenheimer, Eulàlia Roig, Ricard Solà, Josep M. Grinyó, María Antonia Viedma y Jordi Vilardell

**EDITOR:** Adolfo Cassan

**COORDINACIÓN:** Pablo Stajnsznajder

**REVISIÓN LINGÜÍSTICA Y TRADUCCIÓN:** Àngels Gayetano

**MAQUETACIÓN:** Carme Pont

**PRODUCCIÓN:** Letramédica scp.  
Correo electrónico: 19515psh@comb.es

**REDACCIÓN, SUSCRIPCIONES Y CORRESPONDENCIA:**  
Fundació Catalana de Trasplantament  
Avda. Diagonal, 407, 2º, 2ª  
08008 Barcelona  
Tel.: 93 200 33 71 Fax: 93 200 48 45

**web:** [www.fcctransplant.org](http://www.fcctransplant.org)



Patrocinado por la **Fundació Catalana de Trasplantament**, con el soporte económico de **Astellas**. Se autoriza la reproducción citando la procedencia.

*Butlletí de Trasplantament* no comparte necesariamente las opiniones que publica.