

del sexo masculino fueron 21 hombres y 14 mujeres, y en los controles normales: 10 del sexo masculino (59%) y 7 del sexo femenino (41%)

En cuanto a la edad observamos : la media en el grupo de trasplantados :58 años(50-65), en el grupo no trasplantado la media es de 50 años (38-62) y en el grupo control la media fue de 63 años (49-77), por análisis de variancia encontramos $F = 10.149$ $p = <.000$ significativa de la variabilidad intergrupos, siendo el grupo de mayor edad el correspondiente a los controles normales, lo cual es un hecho ya que los pacientes portadores de lesiones metastásicas hepáticas son los de mayor edad.

3.3 Rechazo

En el grupo de trasplantados habían sufrido de rechazo agudo 21 pacientes (46%) requiriendo de aumento en la inmunosupresión para el tratamiento del rechazo agudo correspondiendo a 3 bolos de 1 gr de metilprednisolona y 25 pacientes (54%) no sufrieron de rechazo durante la evolución de su trasplante.

3.4 Carga Viral

La carga viral en los pacientes trasplantados tuvo una media de: 1;760,534 UI/mL \pm 1;6623,847 UI/mL , y la media de la carga viral en los no trasplantados fue de 688,078 \pm 559,613 UI/mL ,siendo mayor en el grupo de pacientes trasplantados .Al comparar ambas medias mediante una T de Student

encontramos que la carga viral de los pacientes trasplantados es prácticamente el doble que la de pacientes no trasplantados siendo significativa la diferencia entre ambos grupos. ($t=3.17$ $p= < .002$).

Tabla VIII. Características de los diferentes grupos de pacientes

		Trasplantados n = 46 (47%)	No-trasplantados n = 35 (36%)	Controles n= 17 (17%)	Pruebas Estadísticas p
Sexo	M	31 (67%)	21 (65%)	10 (59%)	
	F	15 (33%)	14 (40%)	7 (41%)	
Edad		58 (50-65)	50(38-62)	63(49-77)	* 10.149 <.000
Rechazo	Si	21 (46%)	NA	NA	
	No	25 (54%)			
Bolus de MPD	Si	21(46%)			
	No	25(54%)			
Carga Viral		1;760,534 \pm 1;623,847	688,078 \pm 599,613	NA	** 3.17 <.002

NA= no aplica MPD= metilprednisolona * ANOVA ** t de student

3.5 Genotipos Virales

El genotipo muestra un predominio 1b en ambas poblaciones, presentándose en el grupo de trasplantados en un 81% de los casos en un total de 37 pacientes, genotipo 1a en 2 pacientes(4%) , genotipo 4 en 2 pacientes (4%) y en 1 paciente

genotipo 3 (2%) de los casos, en el grupo de no trasplantados tenemos que el genotipo 1 se presentó en 46% de los casos 16 pacientes, seguido por el genotipo 1a en 6 pacientes (17%) genotipo 3 en 3 pacientes (9%) y genotipo 2 en 2 pacientes 6%, con 8 pacientes en los que el genotipo no fue realizado(22% de los casos).

Tabla IX .Genotipos virales encontrados.

	Trasplantados n = 46	No – Trasplantados n = 35
Genotipo Identificado (n)	42	27
1 a	2 (4%)	6 (17%)
1 b	37(81%)	16(46%)
1a+ 1 b	39 (85%)	22(63%)
2	0 (0%)	2 (6%)
3	1 (2%)	3 (9%)
4	2 (4%)	0 (0%)
Genotipo no Identificado	4 (9%)	8 (22%)

3.6 Exámenes de Laboratorio

Los exámenes de laboratorio se tomaron el día anterior a la biopsia hepática y se describen en la tabla X.

TABLA X. Exámenes de laboratorio en los tres grupos de pacientes.

Prueba	Trasplantados	No trasplantados	Controles	Prueba estadística	
	$\bar{x} \pm 1 \text{ DE}$	$\bar{x} \pm 1 \text{ DE}$	$\bar{x} \pm 1 \text{ DE}$	*	p
Hb 12-17(g/L)	13.4 \pm 1.7	13.4 \pm 2.1	12.7 \pm 1.8		
Hto 36-51(%)	39.1 \pm 5.0	39.5 \pm 6.3	38.5 \pm 4.7		
Leucocitos (K/uL)	4.9 \pm 1.8	5.6 \pm 2.5	5.8 \pm 2.6		
Plaquetas 40-400(K/uL)	134.5 \pm 55	142.6 \pm 87.7	213.3 \pm 107.6	6.320	.003
T de Protombina (%)	88.3 \pm 13.8	79.4 \pm 21.6	92.7 \pm 12.4	4.335	.016
Segmentados 45-75(%)	62.1 \pm 9.8	61.6 \pm 12.1	70.3 \pm 14.5		
Albúmina 37-53 (g/L)	42.5 \pm 4.2	38.2 \pm 6.6	41.7 \pm 3.6		
Proteínas 60-80(g/L)	71 \pm 7.3	70.5 \pm 6.4	69.8 \pm 6.5		
AST 10-40 (UI/L)	80.7 \pm 65.5	71.9 \pm 45.3	25.9 \pm 7.5	4.509	.014
ALT 10-40 (UI/L)	98.3 \pm 82.6	92.2 \pm 77.2	26.5 \pm 9.2	4.834	0.10
FA 90-290(UI/L)	252.3 \pm 93	156.9 \pm 39.2	156.9 \pm 39.2	3.408	0.037
GGT 5-40 (UI/L)	145.2 \pm 20.8	25.9 \pm 19.5	25.9 \pm 19.5	4,460	0.014
BT .2-1 (mg/dL)	1.41 \pm 1.2	.73 \pm .48	.73 \pm .48		
Creatinina (mg/dL)	1.2 \pm .23	.96 \pm .21	1 \pm .3		
BUN 10-25	28.2 \pm 8.2	19 \pm 9.1	17.6 \pm 1.2	11.399	.000
Colesterol (mg/dL)	183.8 \pm 52.5	171 \pm 54.5	200.2 \pm 67.2		
Triglicéridos(mg/dL)	129.6 \pm 90.4	91.5 \pm 50.3	110.7 \pm 47.3		

* ANOVA

De acuerdo a los parámetros de laboratorio, se realizó un análisis de varianza para ver si existía diferencia intergrupos y se encontró diferencia significativa en varios parámetros, una vez que se determinó que existían diferencias entre las medias, también se realizó, un Post Hoc Test y comparaciones múltiples de pares de medias, para determinar entre cuales grupos existían diferencias significativas. Observamos diferencia en: a) plaquetas, teniendo mayor concentración de las mismas los sujetos considerados como controles, la diferencia por Post hoc test fue entre trasplantados y normales

$p = .001$ y entre no trasplantados y controles $.003$. En cuanto a AST, ALT, FA y GGT existió diferencia significativa entre los grupos de trasplantados y controles y entre los no trasplantados y controles. El BUN mostró diferencia entre los trasplantados y no trasplantados con $p = .000$ y entre los no trasplantados y controles con una $p = .046$

Esto tal vez tendría explicación por alteraciones hemodinámicas, en ocasiones con hipotensión y requerimientos transfusionales, que sufren más los pacientes trasplantados que los no trasplantados además de la nefrotoxicidad inherente a la inmunosupresión.

3.7 Características del RNA

Las características propias del RNA en cada uno de los grupos se describe en la siguiente tabla XI, la cual muestra que se encontró mayor concentración de RNA en los controles demostrado por análisis de varianza y corroborado por Post Hoc Test mostrando diferencia significativa predominantemente entre pacientes trasplantados y No trasplantados comparados con controles. Y esto es debido a

que en los controles la muestra se obtenía por laparotomía por lo que la cantidad de tejido era mayor y por ende, la cantidad y la concentración de RNA obtenida era mayor. Sin embargo la pureza fue menor en las biopsias obtenidas mediante laparotomía ya que el tiempo entre la obtención de la muestra y la colocación en nitrógeno líquido era mayor. La pureza del RNA fue mayor en los pacientes cuya biopsia se obtenía en la unidad de radiología intervencionista obtenida mediante biopsia con aguja de Trucut dirigida por ECO, ya que al obtenerse el tejido inmediatamente se introducía en el nitrógeno líquido impidiendo cualquier tipo de contaminación. Se consideraba la pureza del RNA valores entre 1.9 y 2, valores superiores o inferiores al mismo nos hablaban de disminución de la pureza del RNA.

Tabla XI. Características del RNA obtenido en los diferentes grupos de pacientes

RNA	Trasplantados $\bar{x} \pm 1DE$	No Trasplantados $\bar{x} \pm 1DE$	Controles $\bar{x} \pm 1DE$	Prueba estadística * p	**
Concentración (mg/ μ L)	366.0974 \pm 232.642	1049.1146 \pm 1829.06	1524,065 \pm 1110.09	6.897 .002	ty nt p=.03 t y cont p=.00
Cantidad (μ g)	8.65 \pm 5.65	15.89 \pm 2.89	35.79 \pm 5.04	23.689 .000	ty nt p=.02 not ycont p=.00
Pureza RNA	1.99 \pm .5769	1.62 \pm .5594	1.3718 \pm .4628	9.172 .000	t y nt p=.00 not ycont p=.00

*ANOVA ** Post Hoc Test t= pacientes trasplantados cont= pacientes controles

nt= pacientes no trasplantados

3.8 Factor Transformante de Crecimiento Beta (TGF β)

Los resultados descriptivos y comparativos del valor del TGF β , se determinaron en las tres poblaciones de pacientes y están descritos en la tabla XII.

Tabla XII. Resultados del RNAmTGF β en los diferentes grupos de estudio

	RNAmTGF β / GADPH					Prueba Estadística
	\bar{x}	DE	Mediana	Mínimo	Máximo	
Trasplantados	.338670	.229289	.260000	.0238	.9510	* F=5.816 p=.004
No Trasplantados	.406014	.222482	.418600	.0505	.9644	** t y cont p=.015
Controles	.19362	.102418	.174600	.0634	.4058	n t y cont p=.003 t y nt p=.332

* ANOVA ** Post-Hoc test

t=trasplantados n t = no trasplantados cont= controles

Como se observa en la tabla XII, al realizar la determinación del RNAmTGF β en los diferentes grupos de estudio, encontramos diferencias significativas entre los pacientes trasplantados y los controles p =.015 y entre los pacientes no trasplantados y los controles p=.003, sin embargo no existen diferencias

significativas en la determinación de RNAmTGF β entre el grupo de pacientes trasplantados y los no trasplantados $p=0.332$.

En la siguiente figura 15, tiene tres apartados, a) página 89, corresponde a ejemplos de geles de pacientes trasplantados con su control interno el GADPH, la figura b) página 90, muestra pacientes controles mostrando la expresión de RNAmTGF β y su control interno, y la última parte que se muestra en la página 91 c) corresponde a pacientes no trasplantados mostrando en las bandas la expresión del RNAmTGF β , al realizar la PCR semicuantitativa para determinar la expresión del RNAmTGF β y su control interno el GADPH, obteniéndose el resultado numérico de ambos, y realizándose una sustracción entre el resultado de GADPH menos el obtenido del TGF β y el cociente obtenido es el resultado final.

Figura 15
a)

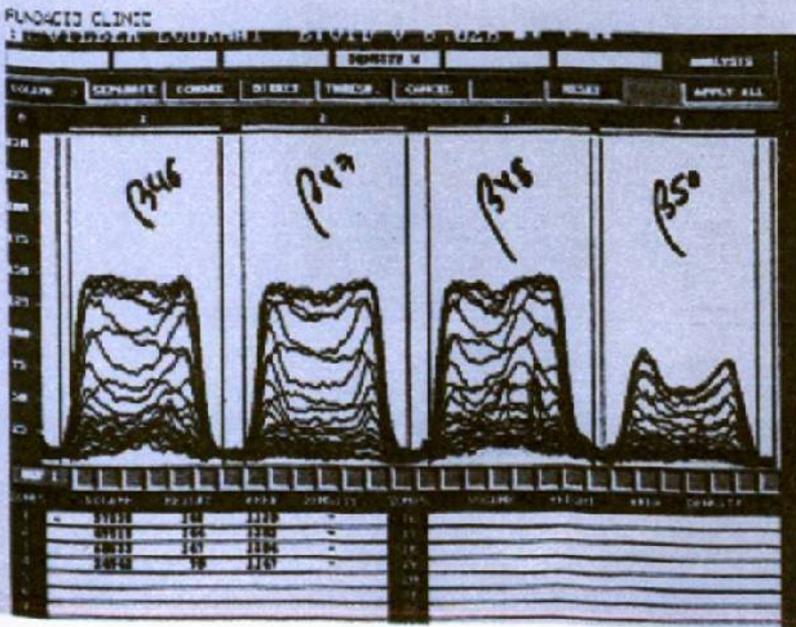
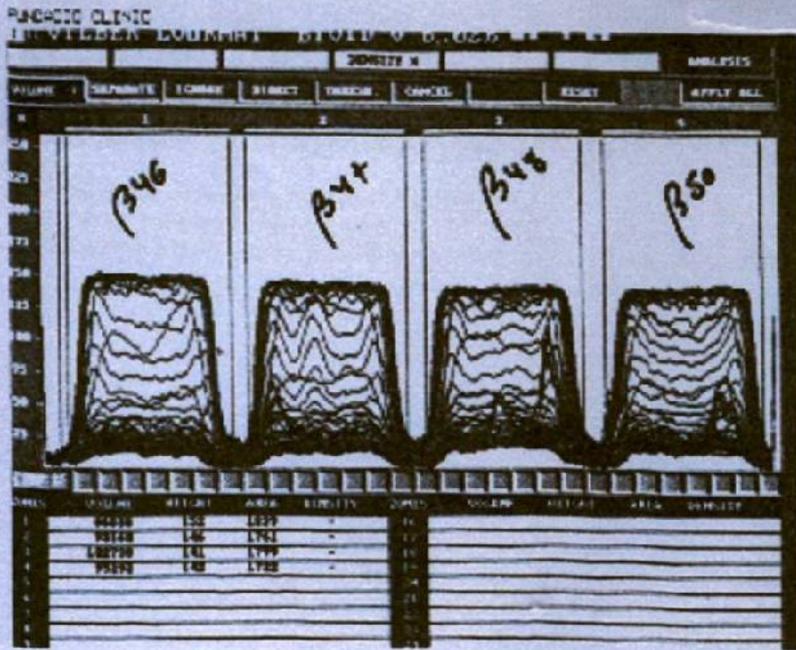
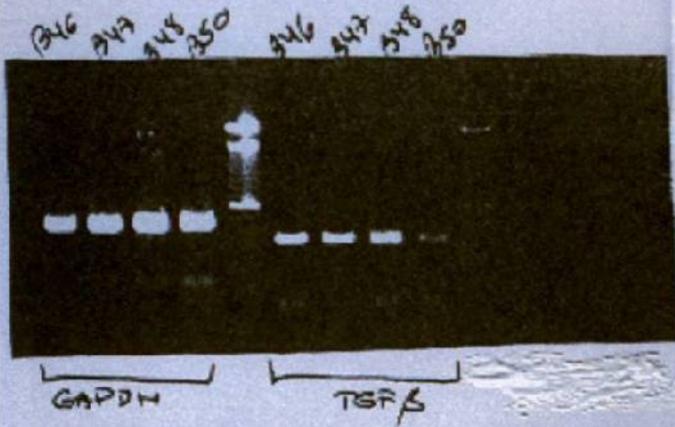
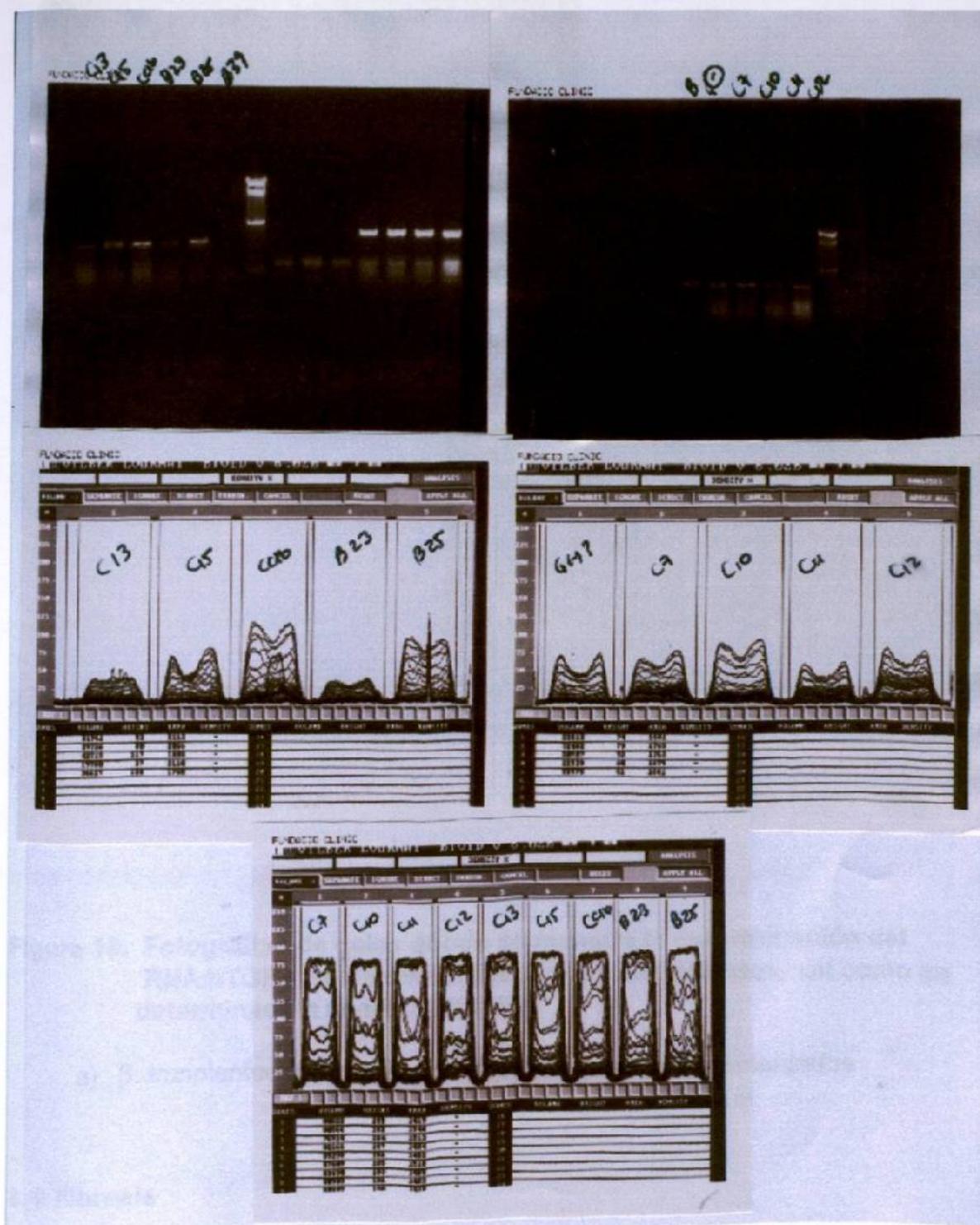


Figura 15
b)



Si durante el examen morfoanatómico de pacientes sospechosos y no tropicados de
 eucardio se detecta fibrosis en la biopsia hepática y los categorizamos como:
 Grupo A) pacientes sospechosos con ausencia de fibrosis; Fibrosis Leve a

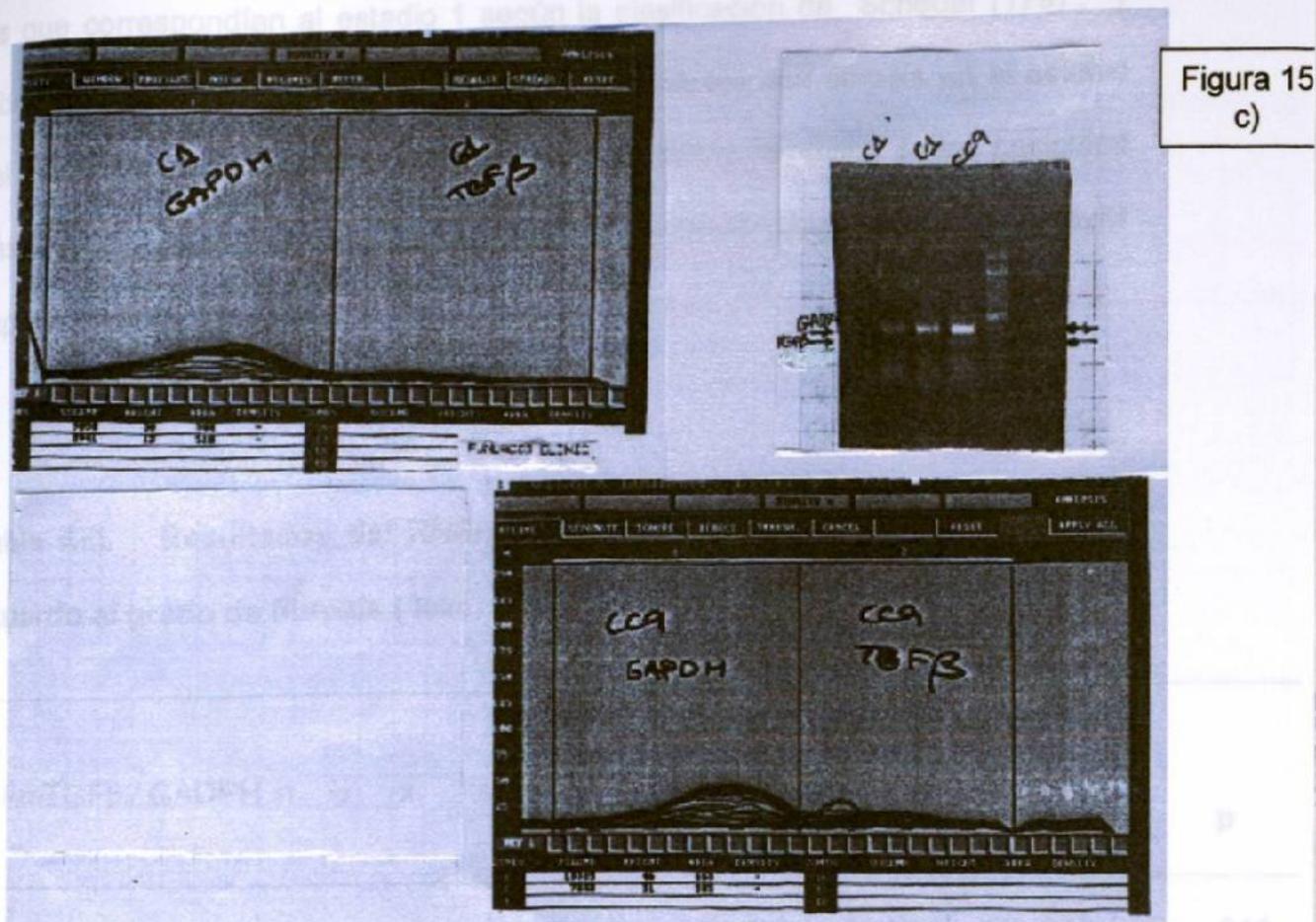


Figura 15
c)

Figura 15. Fotografías de geles dónde se muestra la determinación del RNAmTGF β en los diferentes grupos de pacientes, así como su determinación semicuantitativa.

a) β : trasplantados b) C: controles c) CC: no trasplantados

3.9 Fibrosis

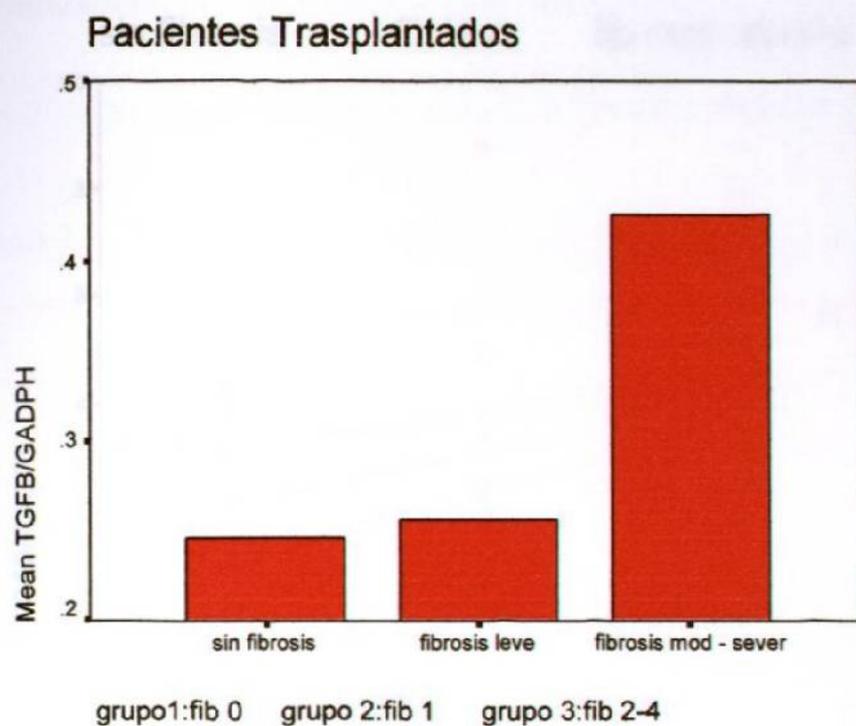
Si dividimos ambas poblaciones de pacientes trasplantados y no trasplantados de acuerdo al grado de fibrosis en la biopsia hepática y los categorizamos como: Grupo Sin Fibrosis, aquellos pacientes con ausencia de fibrosis; Fibrosis Leve a

los que correspondían al estadio 1 según la clasificación de Scheuer (179) ; y Fibrosis Moderada a Severa, todos aquellos pacientes con fibrosis en el estadio del 2 al 4, tenemos desde el punto de vista descriptivo los datos de los pacientes trasplantados en la tabla XIII. Notando que a mayor grado de fibrosis, mayor expresión del RNAmTGF β .

Tabla XIII. Resultados del RNAmTGF β en los pacientes trasplantados de acuerdo al grado de fibrosis (leve, moderada, severa)en la biopsia hepática.

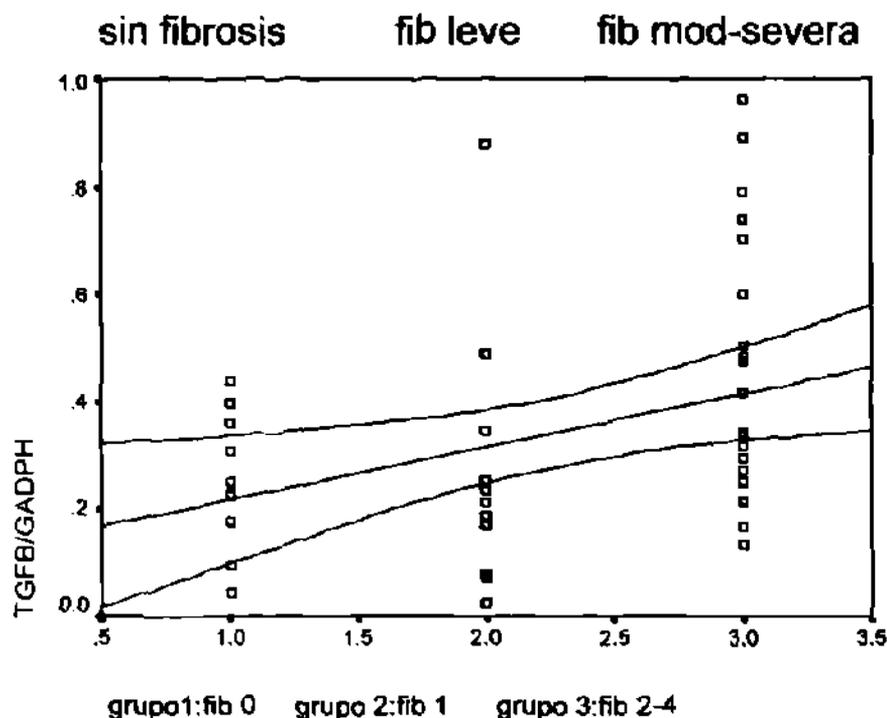
RNAmTGF β / GADPH	n	%	\bar{x}	DE	Límite Superior	Límite Inferior	Prueba estadística	p
Sin Fibrosis	11	24	.24600	.12093	.164753	.327247	* .354	.016
Fibrosis Leve	12	26	.256650	.230841	.109981	.403319	** .341	.020
Fibrosis Moderada A Severa	23	50	.425783	.241552	.321328	.530238		
Total	46	100	.338670	.229289	.270579	.406760		

* Correlación de Pearson ** Correlación de Spearman



fib= fibrosis

Figura 16. Relación entre el RNAmTGFB β y el grado de fibrosis en el grupo de pacientes trasplantados con recidiva C.



Correlación de Pearson + .354 p=.016

Figura 17 .Correlación entre el RNAmTGFB β y el grado de fibrosis

Tanto los resultados de la tabla XIII como las figuras 16 y 17 muestran una clara correlación positiva entre el nivel de RNAmTGFB β y la severidad de la fibrosis, en los pacientes trasplantados.

Ahora al investigar lo mismo en los diferentes grupos de pacientes observamos primero que existen diferencias significativas entre las medias de la expresión del RNAmTGFB β , demostrándose con una prueba de ANOVA ($F=7.246$, $p = .001$)y además que existe una correlación positiva entre el nivel del RNAmTGFB β , de acuerdo al grado de fibrosis, encontramos que, a mayor grado de fibrosis, mayor

concentración del RNAmTGF β . en los distintos grupos de estudio(Correlación de Pearson +.362 p=.000) Esto se muestra en la tabla XIV..

Tabla XIV. Resultados comparativos del RNAmTGF β entre los diferentes grupos de pacientes en relación al grado de fibrosis (leve, moderada a severa)

RNAmTGF β / GADPH							
Fibrosis	Trasplantados		No Trasplantados		Controles	Prueba estadística p	
	n	$\bar{x} \pm 1DE$	n	$\bar{x} \pm 1DE$			n $\bar{x} \pm 1DE$
Sin Fibrosis	11	.24600 \pm .12093	6	.363567 \pm .131605	17	.193624 \pm .102418	* 7.24 .001
Fibrosis Leve	12	.256650 \pm .230841	4	.466375 \pm .119736			** +.362 .000
Fibrosis Mod a Severa	23	.425783 \pm .241552	25	.406544 \pm .252318			

* ANOVA **Coeficiente de correlación de Pearson

Al comparar los resultados del nivel del RNAmTGF β en los diferentes grupos de pacientes de acuerdo al grado de fibrosis determinada en la biopsia hepática según la clasificación de Scheuer, publicados en 1991(179), tenemos los siguientes resultados descritos a continuación en la tabla XV.

Tabla XV. Resultados comparativos del RNAmTGF β entre los diferentes grupos de pacientes de acuerdo al grado de fibrosis. (según Scheuer)

Fibrosis	RNAmTGF β / GADPH							
	Trasplantados		No Trasplantados		Controles		Prueba	
Estadio * **	n	\bar{x} *	n	\bar{x} **	n	\bar{x}	estadística	p
0	11	.246000	6	.363567	17	.193624	* + .351	.017
1	12	.256650	4	.466375			** - .020	.910
2	10	.427470	5	.408060				
3	7	.391171	1	.404532				
4	6	.463350	19	.437200				

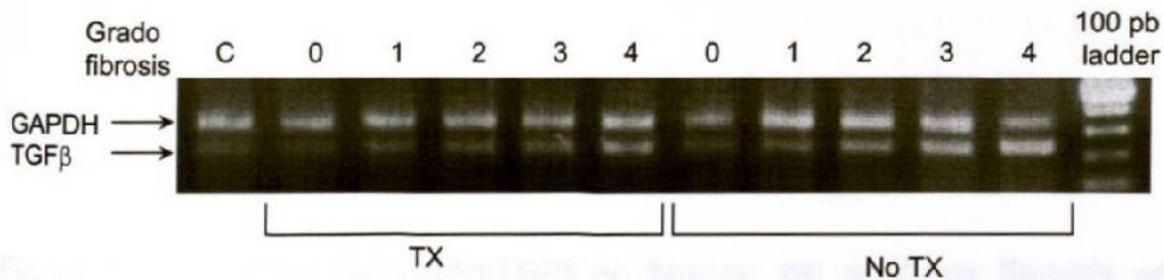
*Correlación de Pearson: entre estadio de fibrosis y RNAmTGF β en trasplantados y ** no trasplantados

Al realizar los resultados comparativos entre el nivel del RNAmTGF β entre los diferentes estadios de fibrosis observamos una correlación de Pearson positiva y significativa en el grupo de trasplantados ya que a mayor grado de fibrosis, de acuerdo al estadio, mayor es la determinación del RNAmTF β (.351 p= .01) llama la atención que ésta correlación sólo la encontramos en los pacientes trasplantados, ya que en los pacientes no trasplantados no se encuentra correlación del nivel del RNAmTGF β en relación al grado de fibrosis.

Para esquematizar lo anterior se muestran las figuras 18 y 19, que muestran la expresión del RNAmTGF β y de su control interno el GAPDH, en pacientes trasplantados y no trasplantados de acuerdo al estadio, mostrado en la biopsia hepática.

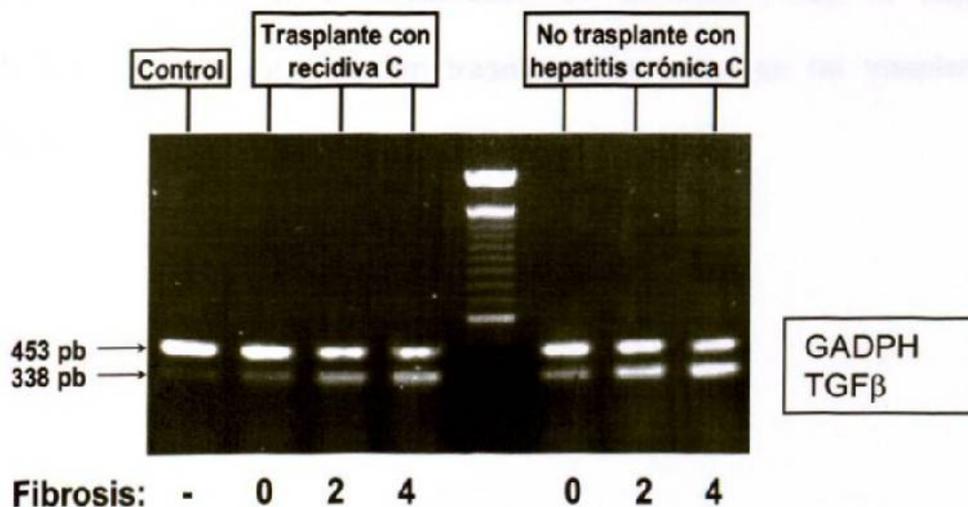
Figura 18.

Expresión de mRNA de TGF β en función del grado de fibrosis) en pacientes con trasplante hepático (Tx) y recidiva de hepatitis C y pacientes no trasplantados (no Tx) con hepatitis C, clasificados según el grado de fibrosis histológica (0,1,2,3,4)



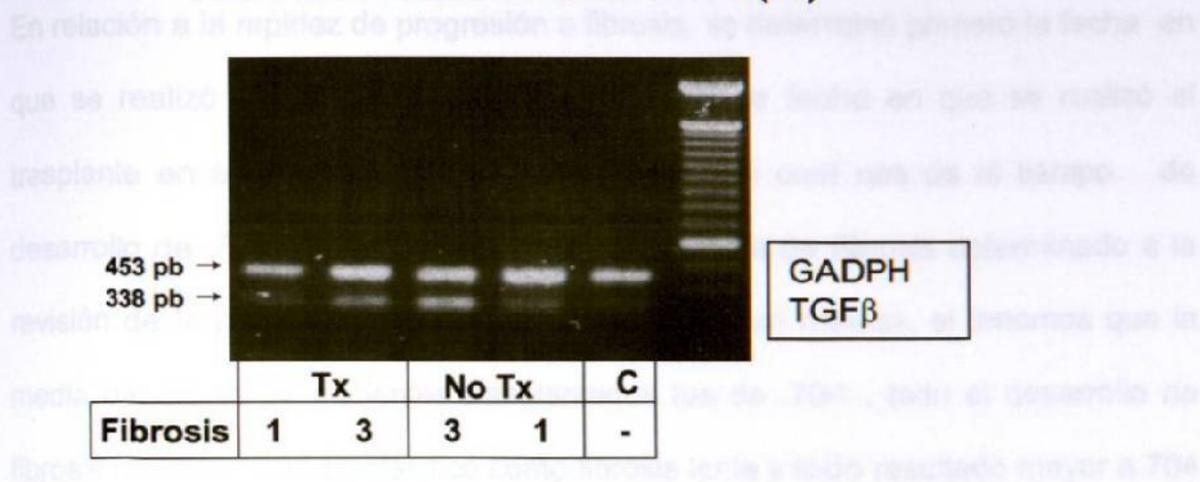
Tx= trasplantados no Tx=no trasplantados C= controles

EXPRESION DE TGF β Y GRADO DE FIBROSIS



3.3.1 Rapidez de progresión a fibrosis

EXPRESIÓN DE TGF β PACIENTES CON HEPATITIS C, CON Y SIN TRASPLANTE HEPATICO (Tx)



Tx= trasplantados no Tx=no trasplantados C= controles

Figura 19. Expresión del RNAmTGF β en función del grado de fibrosis en pacientes trasplantados y no trasplantados con hepatitis C, según el grado de fibrosis histológica.

Las figuras anteriores muestran que a mayor grado de fibrosis determinado por el estadio de acuerdo a la clasificación de Scheuer (179), la expresión del RNAmTGF β es mayor tanto en trasplantados como en no trasplantados, sin diferencias entre ambos grupos.

3.9.1 Rapidez de progresión a fibrosis

En relación a la rapidez de progresión a fibrosis, se determinó primero la fecha en que se realizó la biopsia hepática actual menos la fecha en que se realizó el trasplante en años, o sea dividido en 365 días, lo cual nos da el tiempo de desarrollo de fibrosis, esto se dividía con el estadio de fibrosis determinado a la revisión de la biopsia hepática, y se representaba en medias, si tenemos que la media del grupo de pacientes trasplantados fue de .704 , todo el desarrollo de fibrosis menor a .704 se clasificó como fibrosis lenta y todo resultado mayor a .704 se clasificó como fibrosis rápida , o sea aquel paciente que desarrolló fibrosis en los primeros 5 años del trasplante, con lo cual obtuvimos los siguientes resultados representados en la tabla XVI.

Tabla XVI. Resultado del RNAmTGF β en relación a la rapidez de progresión de la fibrosis.

RNAmTGF β / GADPH	n	\bar{x}	DE	Prueba estadística	p
Fibrosis lenta <.704	32	.291731	.181821	*-2.185	.034
Fibrosis rápida >.704	14	.445957	.292117	** .313	.034

*t de student ** Correlación de Pearson

3.9.2 Índices de Progresión de Fibrosis

Al revisar la tabla XV observamos que existe diferencia entre los dos grupos demostrada por la prueba t y que los pacientes con fibrosis lenta tienen menor expresión de RNAmTGF β que los que desarrollaron fibrosis rápida. Existe una correlación positiva entre el RNAmTGF β y la rapidez de progresión de la fibrosis.

grado de fibrosis en la biopsia hepática (diagrama) antes y tiempo en lista de espera al trasplante, quienes se recien de reafección del virus de hepatitis C, el cual no se si

En la figura 20 se demuestra que a mayor progresión de la fibrosis la expresión del RNAm TGF β es mayor, mostrando que la banda de TGF β que es la marcada en 338 pb se expresa con mayor intensidad que la mostrada en pacientes con progresión lenta de la fibrosis

EXPRESIÓN DE TGF β Y PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS EN PACIENTES CON TRASPLANTE HEPATICO Y RECIDIVA DE HEPATITIS C

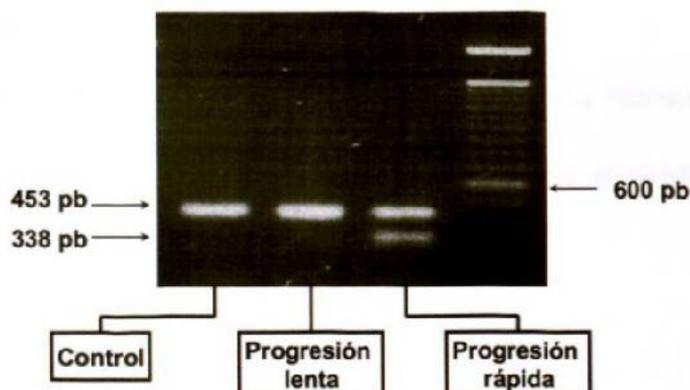


Figura 20. Demostración de la mayor expresión del RNAmTGF β en fotografía del gel de agarosa en los pacientes con progresión rápida de la fibrosis versus pacientes que tuvieron progresión lenta.

3.9.2 Índice de Progresión de Fibrosis

Para determinar el índice de progresión a fibrosis, nos basamos en artículos publicados previamente por el Dr. Poynard, en pacientes con hepatitis crónica C, tomando en cuenta la mediana de la fibrosis por año desde el trasplante, o sea el grado de fibrosis en la biopsia hepática dividido entre el tiempo en años desde el trasplante, que es la fecha de reinfección del virus de hepatitis C, lo cual nos da el tiempo de desarrollo de la fibrosis.

La media de desarrollo de fibrosis por año entre los 46 pacientes trasplantados por recidiva C postrasplante fue de .704 (0.567 -0.840). con una mediana de .3276.

Para determinar el índice de progresión de la fibrosis establecido por Poynard (146), en 1997, dividimos: estadio 4 que corresponde a cirrosis entre la mediana de desarrollo de fibrosis por año y nos da como resultado, los años que se requieren para el desarrollo de cirrosis en la población de pacientes trasplantados.,

El estadio 4 entre la mediana de progresión de fibrosis (.3276) nos da el Índice de Progresión de la Fibrosis, o sea el tiempo en que desarrollará cirrosis = 12 años.

Tabla XVII. Índice de Progresión de Fibrosis en los pacientes trasplantados con recidiva C.

RNAmTGF β / GADPH		
Fibrosis /año desde el trasplante		
N	= 46	Índice de Progresión de Fibrosis
Media	= ,7041	Estadio : Mediana
Error estándar	= .1368	4 : .3276
Mediana	= .3276	= <u>12 años</u>
DE	= .9280	
Mínimo	= .000	
Máximo	= 3.64	

De acuerdo a los resultados de la tabla XVII tenemos que en nuestro grupo de 46 pacientes trasplantados con recidiva C, la duración mediana de progresión a cirrosis fue de 12 años.

A diferencia de la progresión de cirrosis esperada en un paciente con hepatitis crónica C no inmunocomprometidos, según estudios del Dr. Poynard es de 30 años (28-32) (146); por lo que notamos que la progresión de fibrosis en los pacientes trasplantados con recidiva C se acorta de 30 años a 12 años.

3.10 Grado de Inflamación

De acuerdo al grado de inflamación encontrado en el estudio anatomopatológico de la biopsia hepática, siguiendo los lineamientos de Scheuer (179), donde se evalúa el grado de actividad necroinflamatoria, como actividad portal, lobulillar y la suma de ambas como actividad global, de acuerdo a esto categorizamos en inflamación leve cuando la escala era menor o igual a 2 e inflamación moderada a severa cuando la puntuación era de 3 ó más. Tomando en cuenta éstos lineamientos se expresan los resultados en la tabla XVII, donde el grado de Inflamación calculado en la biopsia hepática de los pacientes trasplantados, no muestra relación significativa con el nivel del RNAmTGF β . Ni en pacientes trasplantados, ni en pacientes no trasplantados, lo cual nos habla que no hay relación alguna del RNAmTGF β con la inflamación hepática.

Lo mismo se demuestra en la figura 21 donde se trata de observar la relación entre el grado de inflamación el nivel de RNAmTGF β y el tipo de inmunosupresor usado no encontrándose diferencias en ambos grupos

Tabla XVIII. Resultados comparativos del RNAmTGF β entre los diferentes grupos de pacientes en relación al grado de inflamación.

Inflamación	RNAmTGF β / GADPH						Prueba estadística *
	Portal + Lobulillar		Trasplantados **		No Trasplantados***		
** ****	n	%	$\bar{x} \pm 1DE$	n	%	$\bar{x} \pm 1DE$	p
Inflamación Leve	19	41.3	.302211 \pm .208656	13	37.1	.424338 \pm .243798	* -.507 NS ** .261 NS
Inflamación Mod a Severa	27	58.9	.364326 \pm .243303	22	62.9	.39518 \pm .214115	***.046 NS ****F=.815 NS

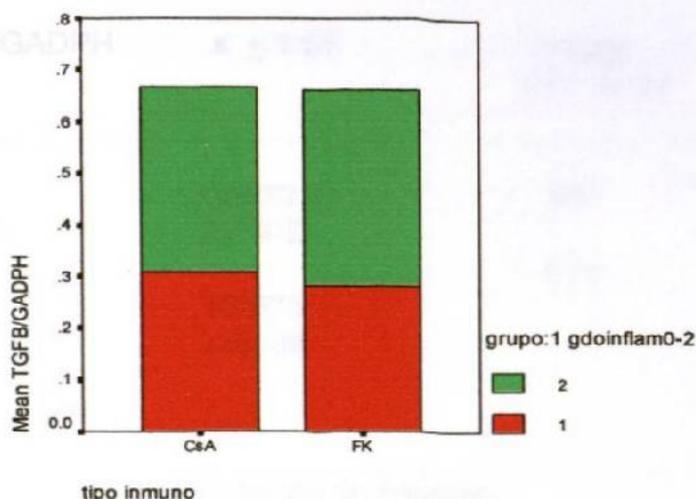
t de Student ** Correlación entre el RNAmTGF β y el grado de inflamación en trasplantados y *** no trasplantados ****ANOVA

En la figura 21, se demuestra que no existe diferencia entre el tipo de inmunosupresor usado, el nivel de RNAmTGF β , y el grado de inflamación, en la biopsia hepática.

Tabla XIX. Resultados comparativos de los niveles de expresión de $\text{RNAmTGF}\beta$ en los pacientes trasplantados.

Resultados

Pacientes Trasplantados



grupo 1: inflamación leve

grupo 2 = inflamación moderada a severa

CsA= ciclosporina FK= tacrolimus

Figura 21. Relación del grado de Inflamación, el nivel del $\text{RNAmTGF}\beta$ y el tipo de Inmunosupresor usado.

3.11 Tipo de Inmunosupresor usado

Se buscó relación entre el tipo de Inmunosupresor usado y la expresión del $\text{RNAmTGF}\beta$, para lo cual se estudiaron 46 pacientes trasplantados, 30 (65%) con uso de CsA y 16 pacientes (35%) con uso de FK. No se encontró relación significativa entre el tipo de Inmunosupresor calcineurínico usado y el nivel de $\text{RNAmTGF}\beta$ en los pacientes Trasplantados. Lo cual muestra en la tabla XVIII.

Tabla XIX. Resultados comparativos del RNAmTGF β en los pacientes trasplantados en relación al tipo de Inmunosupresor usado

RNAmTGF β / GADPH	$\bar{x} \pm 1$ DE	Prueba estadística	p
CsA n = 30 (65%)	.336533 \pm .227972	* -.086	NS
FK n = 16 (35%)	.342675 \pm .239199	** .013	NS

* prueba t de Student **Correlación de Pearson

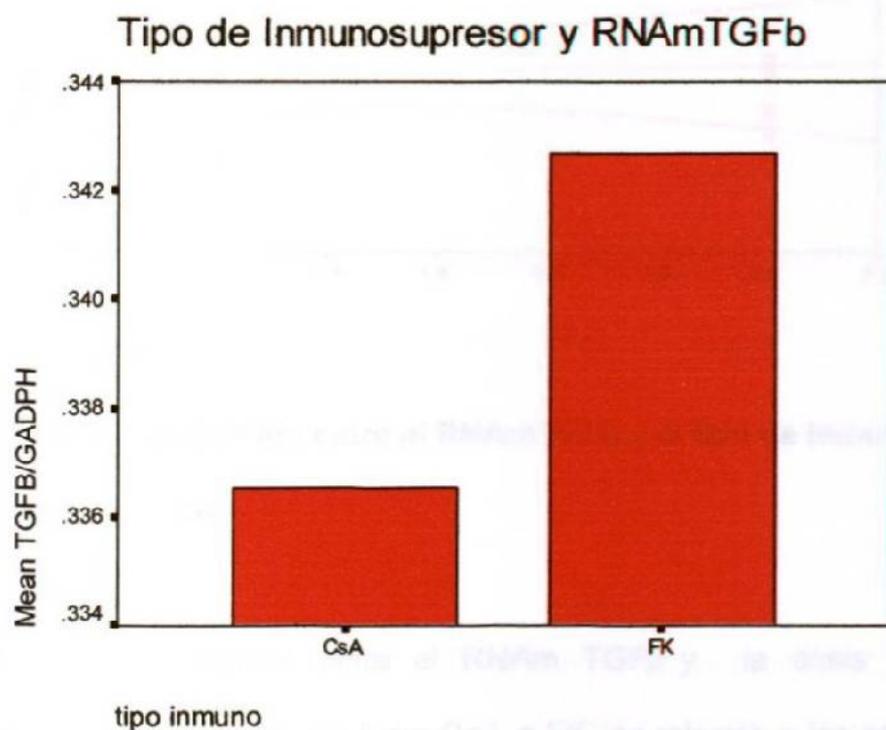


Figura 22. Relación entre el RNAmTGF β y el tipo de Inmunosupresor usado.

En la figura 22, pareciera haber diferencias en relación al nivel de RNAm TGF β y el tipo de inmunosupresor usado: CsA o FK, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas desde el punto de vista estadístico. Notando en la figura 24 ausencia de correlación, es decir, relación lineal entre nivel de RNAmTGF β y el tipo de Inmunosupresor usado.

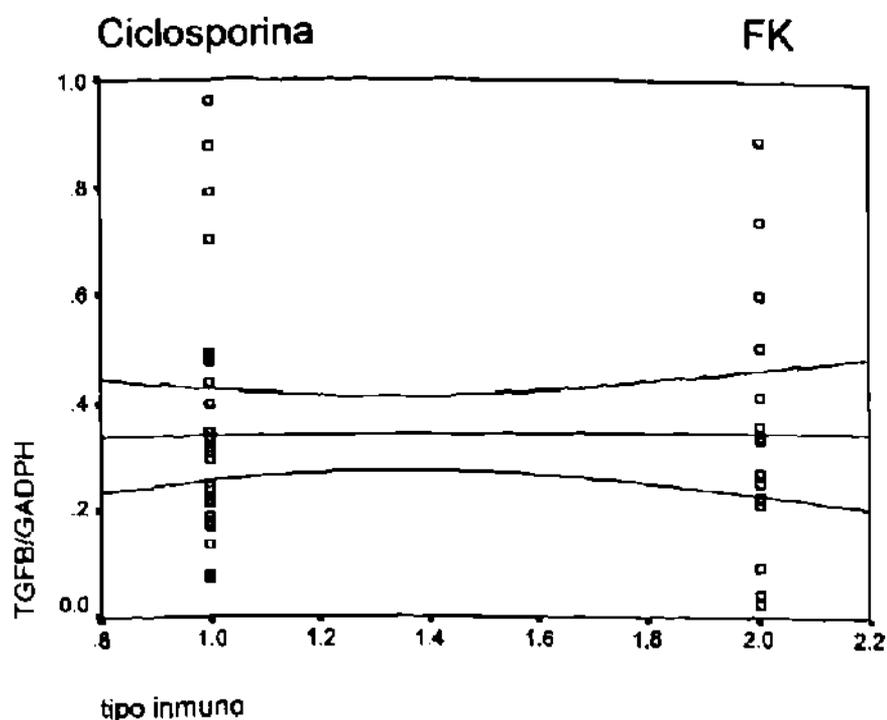


Figura 23. Correlación entre el RNAmTGF β y el tipo de Inmunosupresor Usado.

Se buscó la relación entre el RNAm TGF β y la dosis acumulada de el inmunosupresor usado, ya fuera CsA o FK en relación a los años de su uso, no encontrándose diferencias significativas, excepto en el grupo que incluye mayor número de pacientes, los pacientes trasplantados entre 1 a 5 años postrasplante,

tal vez si se aumentara el tamaño de la muestra entre los demás grupos, habría diferencias significativas. Éstos resultados se expresan en medias y desviación estándar en la tabla XX.

.Tabla XX. Resultado de RNAmTGF β en relación de la dosis acumulada del inmunosupresor usado clasificado de acuerdo a los años de su uso.

Tiempo del TH	Dosis acumulada			Dosis acumulada			Prueba estadística	p
	Ciclosporina*		RNAmTGF β	Tacrolimus**		RNAmTGF β		
	(mg)			(mg)				
n	$\bar{x} \pm 1DE$	$\bar{x} \pm 1DE$	n	$\bar{x} \pm 1DE$	$\bar{x} \pm 1DE$			
< 1 año	5	80680 \pm 23716.3	.32928 \pm .306607	0	NA	NA	*.057	NS
1- 5 años	13	229871 \pm 136792	.217446 \pm .113411	13	2450.50 \pm 2164.00	.357246 \pm .237295	**-.014	NS
6 -10 años	5	443255.56 \pm 244708.3	.407000 \pm .267577	2	6682.5 \pm 818.12	.407400 \pm .264034		
+ de 10 años	7	578253.57 \pm 116754.10	.447883 .188757	1	2090.0	.0238		
Total pacientes	30			16				

*Correlación de Pearson: entre tiempo de trasplante y uso de CsA

** Correlación de Pearson: entre el tiempo del trasplante y uso de FK

** NA= no aplica

Lo mismo se demuestra en la siguiente figura dónde no existe diferencia entre el tipo de inmunosupresor usado, el nivel de RNAmTGF β y el grado de fibrosis en la biopsia hepática



Figura 24. Relación del RNAmTGF β de acuerdo al grado de fibrosis y al tipo de inmunosupresor usado.

El esquema inmunosupresor usado incluía aparte de un inhibidor de la calcineurina, ya fuera CsA o FK, esteroides, por lo que se determinó además la correlación con la dosis acumulada de esteroides que se ejemplifica en la siguiente tabla XX.

Tabla XXI. Correlación entre el RNAmTGF β y la dosis acumulada de corticoesteroides

RNAmTGF β / GADPH	n	\bar{x}	DE	Prueba estadística * Sig (2 colas) p
RNAmTGF β	46	.338670	.229289	*-0.94 NS
Dosis acumulada De corticoesteroides	46	.13636	25167.83	

*Correlación de Spearman

3.12 Variables diversas

Se buscó correlación del RNAmTGF β con otras variables, como son edad en años, genotipo, carga viral, nivel de transaminasas, AST, ALT, bilirubina, fosfatasa alcalina, gamaglutamintraseptidasa, albúmina no encontramos diferencias significativas, los resultados se muestran en la tabla XXII.

Tabla XXII. Correlación del RNAmTGF β con variables diversas

RNAmTGF β / GADPH	\bar{x}	DE	Prueba Estadística *	p Sig (2 colas)
RNAmTGF β	.338670	.229289		
Edad del receptor	57.51	7.84		.114 NS
Viremia	** 1 760534	1623847.32	F= .071	NS
Genotipo	** 1.16667	.7213	F= 1.253	NS
Rechazo	** 1.54	.50	F= .008	NS
Bolos de cortis	1.54	.50		-.058 NS
AST	80.76	65.49		.228 NS
ALT	98.35	82.62		-.023 NS
FA	252.39	93.86		.017 NS
GGT	145.28	208.83		-.171 NS
BT	1.41	1.25		.117 NS
Albúmina	42.59	4.24		-.210 NS

*Correlación de Spearman ** ANOVA

Sin embargo al correlacionar el nivel del RNAmTGF β con el sexo si encontramos diferencias significativas, lo cual se muestra en la tabla XXIII.

Tabla XXIII. Correlación entre el RNAmTGF β y el sexo del receptor

	n	\bar{x}	DE	Mínimo	Máximo	Prueba estadística	p
RNAmTGF β	46	.338670	.229289	.0238	.9510	*.344	.019
sexo masculino	31	.292726	.223747	.0238	.9591	** -2.019	.050
sexo femenino	15	.433620	.217657	.1645	.8861		

* Correlación de Spearman ** t de Student

Observamos una correlación positiva entre sexo y RNAmTGF β con un incremento en el nivel de RNAmTGF β en el sexo femenino sobre el masculino.

Los mismos datos se muestran en la siguiente figura, donde se demuestra el nivel de RNAmTGF β en función del sexo del receptor.

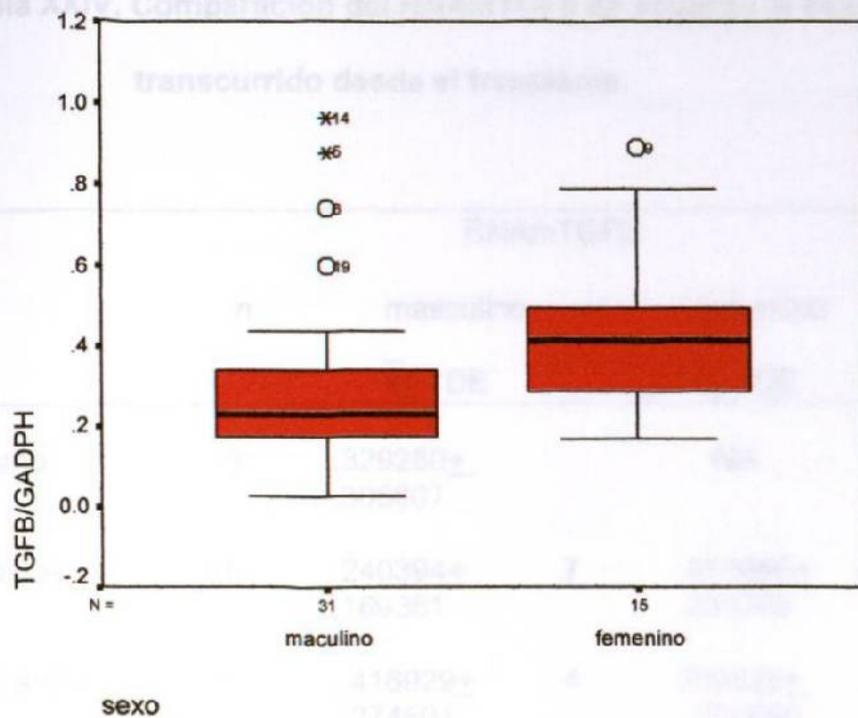


Figura 25. Relación entre el RNAmTGFβ y el sexo del receptor

Si categorizamos el grupo de pacientes trasplantados por sexo y el tiempo que tienen desde que se realizó el trasplante, los resultados se esquematizan en la tabla XXIV. Dónde se muestran diferencias significativas entre ambos sexos en las pacientes femeninas con menos de 5 años postrasplante, dónde el nivel del RNAmTGFβ se encontró en mayor cantidad.

Tabla XXIV. Comparación del RNAmTGF β de acuerdo al sexo y al tiempo transcurrido desde el trasplante.

	RNAmTGF β							
	n	masculino		n	femenino		Prueba estadística	
		\bar{x}	+ 1DE		\bar{x}	+ 1DE	*	p
< 1 año	5	.329280+	.306607		NA			
1-5 años	16	.240394+	.169361	7	.413886+	.231706	2.023	.050
5-10 años	7	.416929+	.274501	4	.389825+	.250680	.162	NS
>10 años	3	.221100+	.186582	4	.511950+	.198037	-1.968	NS

* t de student

Se conoce por datos de la UNOS que existe una interacción entre el sexo del receptor, la infección de VHC y la evolución del trasplante y la sobrevida del injerto, que al parecer es menor en el sexo femenino, aunque nosotros encontramos una correlación positiva entre el sexo femenino y el nivel de RNAmTGF β , sin embargo no existe correlación entre el sexo y el índice de progresión de la fibrosis, como se muestra a continuación.

Tabla XXV. Velocidad de progresión de la fibrosis en relación al sexo del Receptor.

	Velocidad de progresión de la fibrosis				Índice de progresión a cirrosis	
	n	%	\bar{x}	DE	mediana	
Sexo Masculino	31	68	.7935	1.0692	.4946	8.08
Sexo Femenino	15	32	.5194	.5224	.2676	14.94

Correlación de Pearson: $-.140$ $p = NS$ t de student $t=.938$ $p=NS$

Ahora si tomamos en cuenta los datos del donante tenemos que: Si correlacionamos la edad del donante en grupos de edad, encontramos una correlación positiva y estadísticamente significativa, ya que a mayor edad del donante la velocidad de progresión de la fibrosis es mayor en el receptor. Observamos además en la siguiente tabla, el índice de progresión a cirrosis descrito por Poynard (146), encontrando que cuando la mediana de edad del donante tuvo la más lenta progresión a cirrosis fue el grupo comprendido entre los 31 a 40, desarrollando cirrosis en 32.23 años y la más rápida progresión a cirrosis

correspondiente a 2.7 años, se encontró cuando la mediana en la edad del donante se encontraba entre 71 a 80 años.

Lo anterior se ejemplifica en la tabla XXVI, y en la figura 26.

Tabla XXVI. Correlación entre la edad del donante categorizado por grupos de edad y la velocidad de progresión de la fibrosis en el receptor

	Velocidad de progresión de la fibrosis					Índice de progresión a cirrosis
	n	%	\bar{x}	DE	mediana	
Edad del donante Por grupos	46	100	3.22	1.97	.3276	12.21
10-20	12	26.1	1.17	.39	.3276	12.21
21-30	9	19.6	1.22	.44	.2126	18.81
31-40	5	10.9	1.00	.00	.1241	32.23
41-50	8	17.4	1.50	.53	.7061	5.66
51-60	5	10.9	1.40	.53	.5630	7.10
61-70	3	6.5	1.33	.58	.6541	6.11
71-80	4	8.7	1.75	.50	1.4587	2.74

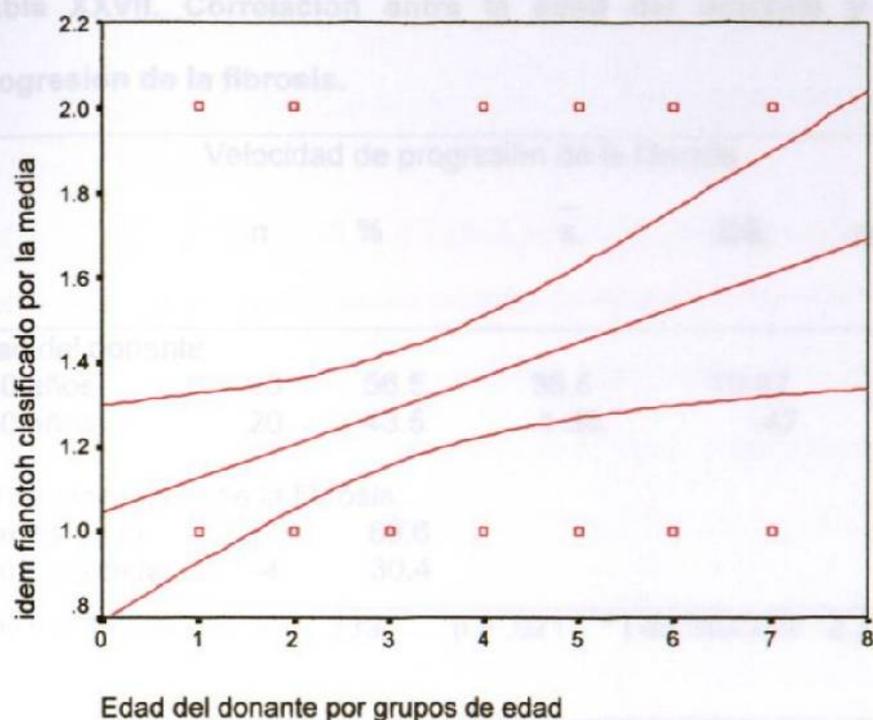


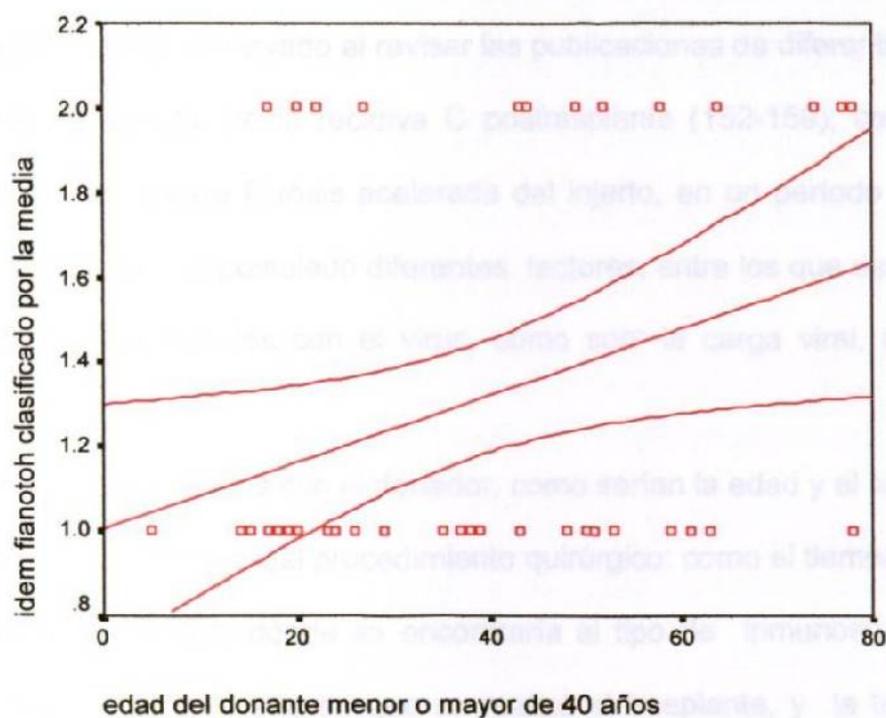
Figura 26. Correlación entre la edad del donante categorizado por grupos de edad y la velocidad de progresión de la fibrosis en el receptor

Si categorizamos a los donantes en grupos de mayor de 40 años y menor de 40 años y lo correlacionamos con la velocidad de progresión de la fibrosis observamos que. Al usarse donantes cada vez de mayor edad, tiene una correlación positiva con la velocidad de progresión de la fibrosis en el receptor, ya que, en donantes menores de 40 años, el índice de progresión a cirrosis fue de 17.34 años contra 5.71 años si el donante era mayor de 40 años, lo siguiente se ejemplifica en la tabla XXVII y el la figura 27.

Tabla XXVII. Correlación entre la edad del donante y la velocidad de progresión de la fibrosis.

	Velocidad de progresión de la fibrosis				índice de progresión a cirrosis	
	n	%	\bar{x}	DE	mediana	
Edad del donante						
< 40 años	26	56.5	38.5	19.47	.2306	17.34 *
> 40 años	20	43.5	1.30	.47	.6995	5.71
Vel de progresión de la fibrosis						
Fibrosis lenta	32	69.6				
Fibrosis rápida	14	30.4				

Correlación de Pearson: .339 $p = .021$ * t de Student: -2.371 $p = .022$



Correlación de Pearson .328 $p = .026$

Figura 27. Correlación entre la edad del donante y la velocidad de progresión de la fibrosis en el receptor

CAPITULO IV

DISCUSION

El Hepatitis por virus C, es la indicación más importante en la actualidad para el trasplante hepático, tanto en los centros de Europa como en Estados Unidos de Norteamérica, sin embargo, la recidiva del virus C en ellos, es universal ,presentando en los primeros meses postrasplante cuadro de hepatitis aguda en 25-45% de los pacientes, seguido por hepatitis crónica del 80-100% de los pacientes trasplantados, con desarrollo de cirrosis en el injerto, en un rango que va de un 3 a un 33% de los casos en un lapso aproximado de 5 años(157). Lo anterior ha sido observado al revisar las publicaciones de diferentes autores, sobre la historia natural de la recidiva C postrasplante (152-159), concordando todos ellos en que existe fibrosis acelerada del injerto, en un período de tiempo corto.

Por lo cual se han postulado diferentes factores, entre los que destacan:

Factores relacionados con el virus, como son: la carga viral, el genotipo y las quasiespecies;

Factores relacionados con el donador, como serían la edad y el sexo;

Factores relacionados al procedimiento quirúrgico: como el tiempo de isquemia;

Factores externos, dónde se encontraría el tipo de inmunosupresión usado, la coinfección viral, el año en que se realizó el trasplante, y la terapia antiviral; Y

factores relacionados al huésped, como serían el sistema de histocompatibilidad, la raza y el sistema inmune.

El factor transformante de crecimiento β , ha sido implicado en la fibrogénesis en pacientes con enfermedades crónicas del hígado, tanto en hepatitis crónica como en cirrosis, siendo la isoforma TGF β -1, la más relacionada a fibrosis, teniendo que es un mediador molecular de la fibrosis tisular, y su incremento es directamente proporcional con el aumento del RNAm de la colágena tipo 1 (98,100). Por medio de tinciones de inmunohistoquímica en la biopsia hepática se determinó la proteína TGF- β 1 en pacientes con hepatopatía crónica en las áreas de fibrosis, pero no en las áreas de enfermedad inactiva, ni en áreas de tejido normal (192). También se ha observado incremento del TGF β en enfermedad venooclusiva (129). Sin embargo la relación entre el TGF β y la fibrosis no está limitado solamente al hígado, lo cual ha sido estudiado por numerosos autores, quienes han hallado también dicho incremento en otras enfermedades y su asociación a fibrosis como a nivel renal en la glomerulonefritis (193), en la nefropatía diabética (194), en el rechazo del injerto postrasplante renal (82, 98,195), en enfermedades pulmonares como serían la fibrosis idiopática (129) y la fibrosis de origen autoinmune (196). En dermatología se ha asociado el incremento de la expresión del RNAm TGF β a la esclerosis sistémica (197), a la aparición de cicatriz queloide (198), a las cicatrices hipertróficas postquemaduras (199) y al síndrome de eosinofilia-mialgia(200). En el área vascular se asocia a la reestenosis vascular arterial (201). En el sistema nervioso central se ha observado una correlación positiva entre el TGF β y la fibrosis intraocular(202) y se menciona además su incremento en la artritis reumatoide (203).

La síntesis de TGF- β varía entre individuos y esto depende principalmente de aspectos hereditarios en el gen que expresa el TGF β , lo cual implica en algunos individuos, mayor riesgo de fibrosis. Así, si el órgano trasplantado es obtenido de un individuo con genotipo altamente productor de TGF β , en un paciente receptor genéticamente del mismo tipo, el riesgo de rechazo agudo y rechazo resistente a esteroides es mayor., lo cual se ha observado del mismo modo en el rechazo crónico. Existen varios estudios en pacientes postrasplantados de riñón y de pulmón que muestran incremento en la expresión del RNAmTGF β y de la expresión de la proteína total del TGF β (80,81,82,83). La síntesis de TGF- β varía de manera individual, siendo determinada en el órgano trasplantado por una serie de insultos; los que pueden ser inmunológicos, daño causado por anticuerpos y por la respuesta inflamatoria (IFN. γ , TNF α), así como factores no inmunológicos como la isquemia de reperfusión, la infección por citomegalovirus, la hipertensión arterial, la hiperlipidemia y la hiperfiltración, dónde al haber daño endotelial, se producen una serie de citocinas, y factores de crecimiento, entre ellos el TGF- β , cuya función es tratar de reparar el daño. Del mismo modo han surgido en los últimos años gran cantidad de artículos que miden citocinas, especialmente TGF β , en muestras de plasma y suero, que(técnicamente no es lo mismo, ya que las plaquetas son la fuente principal de TGF- β como resultado de la degradación de las mismas durante el proceso de formación de coágulo *in vitro*, por lo que sería mejor medirlo en suero) , sin embargo no reportan el uso de ninguna medida para detectar daño plaquetario en suero, basándose en lo reportado por Gainger y cols(204), que dicen no encontrar diferencias entre suero y plasma para la

medición del TGF- β total o la forma activa. Lo ideal sería usar técnicas bien validadas para la determinación de TGF- β (205), debido a que es un marcador inespecífico y puede elevarse en cualquier proceso inflamatorio fibrótico del organismo.

Por lo anterior decidimos realizar la determinación directamente del tejido hepático, mediante RT-PCR, la cual es la técnica de elección para detectar poca cantidad de RNAm en muestras de tejido pequeñas, técnica ya validada por el Dr. Didier Auboeuf en Lyon, Francia (176) modificada por centrifugación con Cloruro de Cesio para lograr obtener mayor cantidad y mayor pureza del RNA, que hasta el momento se había realizado por técnicas de Northern-blot. Nuestros hallazgos muestran que, al hacer la determinación del RNAmTGF β , directamente en tejido hepático, para observar la influencia que éste pudiera tener en la fibrosis y en la rapidez de progresión de la misma, en los pacientes con trasplante hepático secundario a hepatopatía crónica C y recidiva del virus de la hepatitis C postrasplante, se ha demostrado en éste estudio que el TGF β juega un papel importante en la fibrosis del injerto en los pacientes con trasplante hepático y recidiva C, se demostró que el RNAmTGF β se expresa en el tejido hepático, independientemente del grado de lesión encontrado en la biopsia hepática; que la expresión es más intensa cuanto mayor es el grado de fibrosis, encontrando una correlación positiva, a mayor grado de fibrosis mayor expresión del RNAmTGF β , así mismo que la expresión de éste factor se ve incrementada y muestra una correlación positiva en pacientes con mayor rapidez de progresión a fibrosis, o sea el hecho que el nivel de RNAmTGF β es mayor en pacientes que desarrollan

fibrosis rápida, en comparación con quienes desarrollan fibrosis lenta. Por lo tanto, el TGF β podría ser una diana para futuras intervenciones terapéuticas en éstos pacientes...

Se ha reportado en la literatura, por Poynard (146) un índice de progresión a cirrosis de 30 años entre los pacientes con hepatitis crónica secundaria al virus de la hepatitis C. En nuestro trabajo encontramos que el índice de progresión a cirrosis en los pacientes con trasplante hepático y recidiva del virus de la hepatitis C fue de 12 años, lo cual nos muestra una clara disminución en el tiempo de desarrollo de cirrosis en el paciente inmunocomprometido.

Sin embargo un dato importante , es el hecho de que no se encontraron diferencias significativas en el nivel de expresión del RNAmTGF β en pacientes trasplantados con recidiva C y en pacientes no trasplantados con los diferentes estadios de la hepatitis crónica C, lo cual sugiere que existen otros mecanismos profibrogénicos activados y/o que los mecanismos colagenolíticos están disminuidos , para poder justificar la progresión acelerada del depósito de colágena en el injerto hepático de éstos pacientes. La mayor rapidez de progresión de la fibrosis en los pacientes trasplantados con recidiva C, debe ser multifactorial y secundaria a mecanismos no reflejados por el grado de expresión del TGF β . Quedó demostrado que la expresión del RNAm TGF β no tiene ningún efecto sobre el grado de respuesta inflamatoria determinado en le tejido hepático por estudio anatomopatológico.

Sin embargo el estímulo crónico promueve la fibrosis y un aumento de la síntesis de componentes de matriz extracelular. (81,133). Del mismo modo, en pacientes

con trasplante renal, cardíaco y pulmonar, se demostró que existía influencia del tipo de inmunosupresor fundamental (inhibidores de la calcineurina: Ciclosporina o Tacrolimus) y el mayor o menor estímulo sobre la producción de TGF β (124-127), teniendo la Ciclosporina un efecto estimulador sobre la producción de TGF β y el Tacrolimus (FK-506) un efecto frenador sobre el mismo, (131-133). Este posible efecto regulador de la ciclosporina y el tacrolimus sobre el TGF β no había sido investigado en el trasplante hepático, aunque existe una cita en la literatura del Dr. Mohamed Mostafa (133), en el que realizó análisis de inmunofluorescencia semicuantitativo de TGF β 1 en biopsias hepáticas de pacientes postrasplantados, donde se determinó la forma activa del TGF- β 1 en bajas cantidades en el donador del tejido, pero esto se veía incrementado a los 6 días del trasplante en aquellos que ingerían ciclosporina, a diferencia de los que usaban tacrolimus, sin embargo, la muestra de pacientes fue pequeña por lo que no se pudieron hacer conclusiones válidas;

El segundo punto que deseábamos investigar era si los inmunosupresores tenían alguna influencia sobre el grado de fibrosis, encontrando que a diferencia de lo que estaba previamente descrito en trasplante renal, cardíaco y pulmonar, notamos que la intensidad de la expresión del RNAm TGF β no se ve influida por el tipo de Inmunosupresor anticalcineurínico usado, por lo que pueden usarse de manera indistinta cualquiera de los dos inhibidores de la Calcineurina, ya sea Ciclosporina o Tacrolimus, en el paciente trasplantado por hepatopatía crónica secundario a virus C concluyendo que no son factores determinantes en la recidiva C postrasplante. Ya había sido previamente descrito la ausencia de

correlación entre el tipo de inmunosupresor usado y el nivel del RNAm TGF β por diferentes autores, el Dr. Michel I Nicholson de Gran Bretaña, quien describe que el TGF β tiene influencia fibrogenica en el trasplante renal, sin embargo no existieron diferencias significativas entre receptores tratados con Cs o FK. El encuentra otros genes profibrogénicos que pudieran estar implicados como son la colágena tipo III, TIMP1, TIMP 2 y tenascina incrementado en pacientes que reciben CsA que los que reciben FK. Hughes et al (205), han descrito también que no existieron diferencias entre la terapéutica de CsA o FK en concentraciones séricas de la forma activa del TGF β , a diferencia de lo que estaba anecdóticamente descrito en la literatura (205).

El Dr. David Multimer y cols.(170) del Hospital Queen Elizabeth y la Universidad de Birmingham , Gran Bretaña, recientemente han publicado un artículo donde revisaron 101 biopsias postrasplante, de 56 pacientes trasplantados por infección de virus de hepatitis C, para determinar el rango de progresión de fibrosis y su asociación entre la edad y sexo del donante, encontrando un rango medio de progresión de fibrosis de .78 unidades por año postrasplante, en pacientes cuyo donante fue menor de 40 años el tiempo para desarrollar cirrosis fue de 10 años, contra 2.7 años cuando la edad del donante fue más de 50 años. En nuestro estudio encontramos una correlación positiva entre la edad del donante y la velocidad de progresión de la fibrosis en el receptor, con un punto de corte, menor que el ya descrito; si el donante es mayor de 40 años la progresión a fibrosis se ve incrementada en más de 3 veces, esto es a mayor edad del donante la aparición de fibrosis es más temprana. El índice de progresión de fibrosis fue de

5.71 años cuando la edad del donante era mayor de 40 años y de 17.34 años cuando era menor de 40 años.

La trascendencia de este hallazgo radicaría en que, cuando no puede evitarse el uso de donantes de mayor edad en pacientes portadores de hepatopatía crónica secundaria a VHC, deberá anticiparse que tendrán un curso de hepatitis más agresiva, por lo que a estos pacientes, especialmente, se les debe proponer terapia antiviral postrasplante inmediato. (170)

Aunque había sido previamente descrito por datos de la UNOS, la interacción entre el receptor femenino, la infección por VHC y la evolución del trasplante, y la menor supervivencia del injerto (169), nosotros encontramos una correlación positiva entre el nivel de RNAmTGF β y el sexo femenino del receptor, encontrándose mayor expresión del RNAm TGF β en el sexo femenino que en el masculino, y sobretodo en los primeros 5 años del trasplante, esto podría sugerirnos, que el sexo del receptor puede tener alguna influencia en la severidad de la recidiva del virus C postrasplante. No encontramos correlación entre el sexo del receptor y el índice de progresión de fibrosis, para lo cuál, se tendría que llevar a cabo un seguimiento a largo plazo para determinar la sobrevida del injerto y del paciente en función del sexo.

En resumen observamos que el TGF β tiene influencia sobre la fibrogénesis hepática de la recidiva C postrasplante, sin embargo no es un factor único, lo anterior nos confirma que el proceso de fibrogénesis hepática es multifactorial, por lo cual deberán realizarse estudios para dilucidar otros factores, como por ejemplo las observaciones encontradas en nuestro estudio en cuanto a la edad del

donante y el sexo del receptor que de confirmarse por otros estudios serían un punto importante en la historia natural de la recidiva del virus C en pacientes postrasplante hepático y anticiparíamos que los receptores del sexo femenino y co-donantes mayores de 40 años, tendrían recidiva más severa por lo que podríamos realizar intervenciones terapéuticas tempranas en éstos pacientes.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

El RNAm del factor transformante de crecimiento β se expresa en el tejido hepático de pacientes con hepatitis C antes y después del trasplante, independientemente de cual sea el grado de lesión.

La expresión del RNAmTGF β es más intensa cuando mayor sea el grado de fibrosis en pacientes con recidiva C postrasplante, encontrándose una correlación positiva, mientras que en los pacientes no trasplantados con hepatitis crónica C no hubo correlación.

No se encontraron diferencias significativas en el nivel de expresión del RNAmTGF β en pacientes trasplantados con recidiva C y en pacientes no trasplantados con hepatitis crónica C.

En los pacientes trasplantados con recidiva C, la expresión del RNAmTGF β es más intensa en aquellos pacientes con mayor rapidez de progresión de fibrosis.

El índice de progresión a fibrosis en el paciente trasplantado con recidiva C es de 12 años.

El grado de inflamación encontrado en la biopsia hepática no se relaciona con la intensidad de expresión del RNAmTGF β

La intensidad de la expresión del RNAmTGF β no se ve influida por el tipo de inmunosupresor anticalcineurínico usado.

La edad del donante impacta de manera relevante sobre el índice de progresión de la fibrosis, ya que a mayor edad del donante, menor tiempo de desarrollo de cirrosis, siendo la edad mayor de 40 años el punto de corte al cual se acelera la progresión a fibrosis hasta 3 veces más que en los menores de 40 años.

El sexo femenino del receptor se correlaciona a mayor expresión del RNAm TGF β .

No se encontró correlación entre el nivel de RNAmTGF β , y variables como genotipo, carga viral, ni el nivel de transaminasas.

CAPITULO VI

PERSPECTIVAS

Estudiar y descubrir otros factores claves, tanto genéticos, como de respuesta inflamatoria y de fibrogénesis hepática (péptido aminoterminal del procolágeno tipo III , colágeno IV, laminina, tenascina, undulina y ácido hialurónico) así como de colagenólisis (metaloproteinasa MMP-2)) o inhibidores de la metaloproteinasas (TIMP-1 y TIMP-2) que nos permitan realizar intervenciones terapéuticas tempranas pre y postrasplante inmediato para evitar la severidad de la recidiva C y la pérdida del injerto.

El progreso en la regulación molecular de la fibrosis y en su tratamiento, será el futuro en ésta materia. Los avances en terapia génica, al encontrar blancos tisulares específicos, el poder usar moléculas pequeñas como inhibidores de citocinas.

El poder lograr un mejor y mayor conocimiento acerca de la regulación del crecimiento y apoptosis de las células estrelladas.

Y en un futuro el uso de microchips al secuenciar el genoma humano nos permitirá determinar el grado de polimorfismo genético que predice la severidad de la fibrosis y determinar patrones de expresión multigénica para poder realizar intervenciones clínicas y terapéuticas, como sería, la terapia génica dirigida a las células hepática podía usarse para reemplazar un gen perdido, expresar un gen que no se expresa normalmente, interferir con la expresión de un gen, o reparar un gen mutado.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Parrilla P. Perspectiva Histórica de los Trasplantes de Organos. Memorias del curso: Trasplante de órganos células: dimensiones éticas regulatorias.15-25. (2001)
2. Keeffe E.B, Hepatology: A Century of Progress. Liver Transplantation at the Millennium. Clin Liv Dis .4:242-255. (2000)
3. Moore FD, Birch AG and Dagher F.Immunouppression and vascular insufficiency in liver trasplantation.Ann N Acad Sci.102:729. (1964)
4. Starlz TE, Marchioro TL and Von Kaulla KN: Homotransplantation of liver in humans. Surgery, Gynecology and Obsterics.117:659. (1963)
5. Kalayouglu M, Sollinger WH and Stratta RJ .Extended preservation of the liver for clinical transplantation. Lancet. 1:617. (1988)
6. Starlz TE: History of liver and other splachnic organ transplantation. *In* Busuttill RW, Klintmalm GB (eds): Transplantation of the Liver. Philadelphia, WB Saunders. p 3. (1996)
7. Calne RY and Williams R. Liver trasplantation in man .I. Observations on technique and organization in five cases. BMJ. 4:535. (1968)
8. Iwatsuki S, Starlz TE and Todds S. Experience in 1,000 liver transplants under cyclosporine-steroid therapy: A survival report. Trasplant Proc . 20 (suppl1):498. (1998)
9. Starlz TE, Iwatsuki S and Van Thiel DH: Evolution of liver transplantation Hepatology. 2:614. (1982)
10. Starzl TE, Todo S and Fung J. FK506 for human liver, kidney and pancreas transplantation. Lancet.2:1000. (1989)
11. Denton M.D, Magee C.C and Sayegh M.H. Immunosuppressive strategies in transplantation. Lancet.353:1083-1091. (1999)
12. Harihara Y, Makuuchi M and Kawarasaki H. Initial experience with living related liver transplantation at the University of Tokyo Trasplant Proc. 30 :129-131 (1996)
13. Marcos A. Right lobe living donor liver transplantation: a review.

Liver Transpl. 6:3-20 (2000)

14. Schiano TD, Schluger LK, Gondolesi G and Miller CM. Adult Living Donor Liver Transplantation: The Hepatologist's perspective. *Hepatology*. 33:3-9 (2001)
15. Azoulay D, Astarcioglu I and Bismuth H. Split liver transplantation: The Paul Brousse policy. *Ann Surg* .224:737-748. (1996)
15. Nagayasu T and Platt JL: Progress in xenotransplantation. *Graft* 1:19. (1998)
17. Mañez R. Xenotrasplantes. Memorias del Curso: Trasplante de órganos y células: dimensiones éticas regulatorias. (2001)
18. Yoshida Y, Tokusashi Y and Ogawa K. Intraesplenic transplantation of normal hepatocytes prevents Wilson's disease in Long-Evans cinnamon rats. *Gastroenterology*. 111:1654-1660. (1996)
19. Mito M and Kusano M: Hepatocyte transplantation in man. *Cell Transplantation*. 2:65-74. (1993)
20. Grossman M, Rader DJ and Muller DWM . A pilot study of ex vivo gene therapy for homozygous familial hypercholesterolemia. *Nature Med*. 1:1148-1154. (1995)
21. Matesanz R and Miranda B. Organ Donation: "The Spanish Model". *Transplant Proc* 28:11. (1996)
22. Miranda B, Fernández L, Matesanz R. The Potential Organ Donor Pool: International Figures. *Transplant Proc* 29:160-1606 (1997)
23. Manyalich M, Cabrer C, Paredes D. Memorias del curso el nuevo ciclo vital: proceso de donación y trasplante de órganos y tejidos. Santander (2001)
24. Miranda B, Segovia C, Sánchez M, Felipe C, Naya MT and Matesanz R. Evolution of Organ Procurement and Donor Characteristics in Spain. *Transplant Proc* .27:2384-2388. (1995)
25. López-Navidad A, Domingo Pand Viedma MA. Professional Characteristics of the Trasplant Coordinator. *Transplant Proc* 29: 1607-1613 (1997)

26. Devlin J, O'Grady J. Indications for referral and assessment in adult liver transplantation: A clinical guideline. *Gut* 45:7-25. (1999)
27. Baker A, Dhawan A and Heaton N. Who needs a liver transplant?(new disease specific indications). *Arch Dis Child*. 79:460-467. (1998)
28. Poupon RE, Lindor KD, Cauch-Dudek K, Dickson ER, Poupon R and Heathdote EJ. Combined analysis of randomized controlled trial of ursodesoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 113:884-890. (1997)
29. Neuberger J. Transplantation for primary biliary cirrhosis. *Seminar Liver Dis*. 17:137-146. (1997)
30. Sebagh M, Frages O, Dubel L, Samuel D, Bismuth H and Reynes M. Histological features predictive of recurrence of primary biliary cirrhosis after liver transplantation. *Transplantation* .65:1328-1333. (1998)
31. Dmitrewski J, Hubscher SG, Mayer D and Neuberger JM. Recurrence of primary biliary cirrhosis in the liver allograft: the effect of immunosuppression. *J Hepatol*. 24:253-257. (1996)
32. Weisner RH, Grambsch PM, Dickson ER; Ludwig J, Mac Carty RL, Hunter EB. primary sclerosing cholangitis: Natural history, prognostic factors and survival analysis. *Hepatology* 10:430-436.
33. Martin P. Orthotopic liver transplantation for primary sclerosing cholangitis. *Ann Surg*. 25:472-483. (1997)
34. Harrison RF, Davies MH, Neuberger JM and Hubscher SG. Fibrous and obliterative cholangitis in liver allografts: evidence of recurrent primary sclerosing cholangitis?. *Hepatology* 20:356-361. (1994)
35. Rimola A. Indicaciones del Trasplante Hepático. *Cirrosis. S/E. En curso de actualización en Trasplante Hepático .Capítulo III. España.* 35-44. (1998)
36. Vierling JM, Teperman LW and Brownstein AP. Hepatitis B liver transplant symposium .American Liver Foundation. (1998)
37. Naoumov NV, Lopes AR, Burra P, Caccamo L, Iemmolo RM, de Mann RA, Basendine M, O'Grady JG, Portmann BC, Anschuetz G, Barrett CA, Williams R, and Atkins M. Randomized trial of lamivudine versus hepatitis immunoglobulin for long-term prophylaxis of

- hepatitis B recurrence after liver transplantation. *J Hepatol* 34:888-894. (2001)
38. Perillo RP, Wright T, Rakela J, Levy G, Schiff E, Gish R, Martin P, Dienstag J, Adams P, Dickson R, Anschuetz G, Bell S, Conreay L; Brown N and the lamivudine North America trasplant group. *Hepatology* 33:424 - 432. (2001)
 39. Sánchez-Fueyo A, Rimola A, Grande L, Costa J, Mas A, Navasa M, Cirera I, Sánchez-tapias JM and Rodes J. Hepatitis B Immunoglobulin discontinuation followed by hepatitis B virus vaccination: a new strategy in the prophylaxis of hepatitis B virus recurrence after liver transplantation. *Hepatology* 31:496-500. (2000)
 40. Hoofnagle JH, Kresina T, Fuller RK, Lake JR, Lucey MR, Sorrell MF. Liver trasplantation for alcoholic liver disease: Executive statement and recommendations. Summary of a National Institutes of Health workshop. December 6-7. Bethesda, Maryland. *Liver Transpl Surg* 3:347-350. (1997)
 41. Pereira SP and Williams R. Liver Trasplantation for alcoholic liver disease at King's College Hospital: Survival and quality of live. *Liver Transpl Surg* 3:245-250. (1997)
 42. Czaja A J. Diagnosis and therapy of autoimmune liver disease. *Med Clin North Am* 80:973-94 (1996)
 43. Ahmed M, Multimer D, Hathaway M, Hubscher S, Mac Master P and Elias E. Liver trasplantation for autoimmune hepatitis: A 12 years- experience. *Transplant Proc.* 29: 496. (1997)
 44. O'Grady JG. Recurrence of primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis and autimmune chronic hepatitis after liver transplantation: Fact or Fancy ? *Liver Transpl* 25:281-285.
 45. Kintmalam G, Ramanan J and Jennings L. International registry of hepatic tumors in liver transplantation. Current treatments and overall results. XVI International Congress of the Transplantaton Society. Book of abstracts 102, Barcelona (1996)
 46. Busuttil RW and Farmer DG. The surgical treatment of primary hepatobiliar malignancy. *Liver Transpl Surg* 2:114-130. (1996)
 47. Otto G, Heuschen U, Hoffman WJ, Krumm G, Hinz U and Herfarth C. survival and recurrence after liver transplantation versus liver resection for hepatocellular carcinoma. A retrospective

analysis. *Ann Surg* 277:424- 432. (1998)

48. Vilana R, Bruix J, Bru C, Ayuso MC, Solá M and Rodés J. Tumor size determines the efficacy of percutaneous ethanol injection for the treatment of small hepatocellular carcinoma. *Hepatology* .16: 353:357. (1992)
49. Castells A, Bruix J, Bru C, Montayá X, Boix L and Rodés J. Transarterial embolization for hepatocellular carcinoma. Antibiotic prophylaxis and clinical meaning of postembolization fever. *J Hepatol*. 22:410-415. (1995)
50. Penn I. Hepatic Transplantation for primary and metastatic cancer of the liver. *Surgery* .110:726-735. (1991)
51. Mazzaferro, Regalia E, Docio V, Andreola S, Pulvirenti A and Brozzetti F. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 334:693 (1996)
52. William M. Lee and Roger Williams . Acute Liver failure. Part 4th. *EUA. Cambridge University Press* 173-222. (1997)
53. Arroyo V, Bosch J, Bruix J, Ginés P, Navasa M and Rodés J. Therapy in Hepatology. *Barcelona Ars Medica* (2001)
54. Poulos JE, Bacon RR. Liver transplantation for hereditary hemochromatosis. *Dig Dis Sci*. 14:316-32. (1996)
55. Schilsky ML, Scheinberg IH and Sternlieb I. Liver transplantation for Wilson's disease: Indications and outcome. *Hepatology*. 19:583-587. (1994)
56. McDermont WV, Stone MO, Bohte A and Trey C. Budd-Chiari syndrome. Historical and clinical review with an analysis of surgical corrective procedures. *Am J Surg*. 147:463-467. (1984)
57. Bearman SI. The syndrome of hepatic veno-occlusive disease after bone marrow transplantation. *Blood* .85:3005-3020. (1995)
58. Ringe B, Lang H, Oldhafer KJ, Gebel M and Flemming P. Which is the best surgery for Budd-Chiari syndrome: venous decompression or liver transplantation? A single center experience with 50 patients. *Hepatology*. 21:1337-1344. (1995)
59. Consenso Español para los Grupos de Trasplante Hepático (Asociación

Española para el estudio del hígado) Indicaciones y
 contraindicaciones de Trasplante. España, 2001

60. Berenguer J, Parilla P. *Trasplante Hepático*. Madrid: Editorial Elba S.A, S/E (1999)
61. Lange PA, Stoller JK, *The hepatopulmonary syndrome. Effect of liver transplantation*. Clin Chest Med. 17:115-123. (1996)
62. Ramsay MA, Simpson BR, Nguyen AT, Ramsay KJ, East C and Klintmalm GB. *Severe pulmonar hipertensión in liver trasplant candidates*. Liver Transpl Surg. 3:494-500. (1997)
63. Penn I. *Evaluation of the candidate with a previous malignancy*. Liver Transpl Surg. 2:109-113. (1997)
64. Carithers R. L. *Liver Transplantation. AASLD Practice Guidelines*. Liver Transpl 6:122-135. (2000)
65. Organización Nacional de Trasplantes (ONT)
 (<http://w.w.w.msc.es/ont/home.htm>)
66. UNOS Scientific Registry Data September 15, 1997
 (<http://w.w.w.unos.org/>).
67. Pierce GA, Graham HM, Kauffman Jr, Wolf J.S. and The United Network for Organ Sharing. 1984 to 1994. *Trasplant Proc* 28: 12-15. (1996)
68. *Liver transplantation listing criteria . United Network for Organ Sharing (UNOS), January 1998*
69. Hutchinson I. *Mode of action of Immunosuppressive agents. Round Table Series. Royal Society of Medicine* 49:25-32. (1997)
70. Borel JF, Feurer C, Guber HU and Tahelin H. *Biological effects of Cyclosporine A. a new antilymphocyte agent . Agents actions*. 468-475. (1976)
71. Calne RY, White DJG, et al: *Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases ,and 2 livers*. Lancet 2:1033. (1979)
72. Iwatsuki S, Starlz TE, Todd S, et al. *Experience in 1,000 liver transplants*

- under cyclosporine-steroid therapy: A survival report. *Transplant Proc* 20(suppl1):498 (1988)
73. Denton MD, Magge CC, Sayegh MH. Immunosuppressive strategies in transplantation. *Lancet* 353:1083-1091. (1999)
 74. Randomised trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporin in prevention of liver allograft rejection. European FK506 multicentre liver Study Group. *Lancet* 344:423 (1994)
 75. A Comparison of Tacrolimus (FK 506) and Cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation The U.S. Multicenter FK506 Liver Study Group. *N Engl J Med.* 331:1110-1114 (1994)
 76. Bennett WM, Burdman EA and Andoh TF. Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs. *Nephrol Dial Transplant* ;9 (suppl,4).141-145. (1994)
 77. Fennell RH. The toxic effect of Immunosuppressive drugs. *Transplant Proc* 5(suppl 4):149-151 (1986)
 78. Lipsky JJ. Mycophenolate mofetil. *Lancet.* 348:1357-1359. (1996)
 79. Kahan BD. The Role of Rapamycin in Chronic Rejection Prophylaxis: A Theoretical Consideration. *Graft* 2(supp II):93-96. (1998)
 80. Groth CG, Backman L, Morales JM, Calne R, Kreis H, Lang P, Touraine JL, Claesson K, Campistol JM, Durand D, Wramner L, Brattstrom C, and Charpentier B. Sirolimus (Rapamycin)-based therapy in human renal transplantation. *Transplantation.* 67:1036-1042 (1999)
 81. Kreis H, Cisterne JM, Land W, Wramner L, Squifflet JP, Abramowicz D, Campistol JM, Grinyo JM, Mourad G, Berthoux FC, Brattstrom C, Lebranchu Y, and Vialtel P. Sirolimus in association with mycophenolate mofetil induction for the prevention of acute graft rejection in renal allograft recipients. *Transplantation.* 69:1252-1260 (2000)
 82. Kahan BD, Julian BA, Pescovitz MD, Vanrenterghem Y, and Neylan J, for the rapamune study group. Sirolimus reduces the incidence of acute rejection episodes despite lower cyclosporine doses in Caucasian recipients of mismatched primary renal allografts: a phase II trial. *Transplantation* 6:1526-1532. (1999)

83. Eckhoff DE, McGuire B, Sellers, Contreras J, frenette L, Young C, Hudson S and Bynon JS. The Safety and Efficacy of a two -dose Daclizumab (Zenapax) induction therapy in liver transplant recipients. *Transplantation* 69:1867-1872
84. Safadi R, and Friedman SL. Hepatic Fibrosis. Role of Hepatic Stellate Cell Activation. *Medscape Gastroenterology e Journal* 4:4 (2002)
85. Schuppan D, Ruehl M, Somasundaram R and Hahn EG. Matrix as modulator of modulator of stellate cell and hepatic fibrogenesis. *Seminar Liver Dis.* 21:351-372. (2001)
86. Iredale JP, FRCP, Liver Research Group. Hepatic Stellate Cell Behavior during resolution of Liver Injury. *Seminar Liver Dis.* 21.427-436. (2001)
87. Friedman SL. The cellular basis of hepatic Fibrosis: Mechanisms and treatment strategies. *N Engl J Med* .328:1828-1835. (1993)
88. Solís-Herruzo JA. Factores Involucrados en la Fibrogénesis Hepática. *Gastroenterol Hepatol* 23:186-199 (2000)
89. Franklin J; Therapeutic approaches to organ fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol* .29:79-89. (1997)
90. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis and integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem.* 275:2247-2250. (2000)
91. Jonsson JR, Ando Y, Keleman L, Clouston AD and Powell EE. Angiotensin Converting enzyme inhibition attenuates the development of hepatic fibrosis in the rat bile duct ligation model. *Hepatology* 32:191 A. (2000)
92. Epstein FH, Border WA and Noble NA. Trasforming growth factor β in tissue fibrosis. *N Engl J Med.* 331:1286-1292. (1994)
93. Derynck R, Jarrett A, Chen JE, Eaton DH, Bell JR, Assoian RK, Roberts AB, Sporn MB and Goeddel DV. Human transforming growth factor $-\beta$ complementary DNA sequence and expression in normal and transformed cells. *Nature* 316:701-705. (1985)
94. Epstein FH, Blobel GC, Schiemann WP and Lodish HF. Role of

Transforming growth factor β in Human Disease. *N Engl J Med.*342:1350-1358. (2000)

95. Prashar Y, Khanna A, Sehajpa P, Sharma VK and Suthanthrian MI. Stimulation of transforming growth factor $-\beta$ 1 transcription by cyclosporine. *FEBS Lett* 358:109-112. (1995)
96. Ahuja SS, Shirataus S, Danielpour D, Balow JE and Boumpas DT. Regulation of transforming growth factor $-\beta$ 1 and its receptor by cyclosporine in human T lymphocytes. *Transplantation* 60:718-23. (1995)
97. Waltenberg J, Miyazono K, Funahashi A, Wanders A, and Heldin CH. Transforming Growth Factor β and Organ transplantation. *Transplant Proc* 25:2038-40. (1993)
98. Czaja BJ, Weiner FR, Flanders KC, Giambone MA, Wind R, Biempica L and Zem MA. In vitro and in vivo association of transforming growth factor β 1 with hepatic fibrosis. *J Cell Biol* 108:2477-82. (1989)
99. Nakatsukasa H, Nagy P and Everts RP. Cellular distribution of transforming growth factor- β , and procollagen types I, III, IV transcripts in carbon tetrachloride - induced rat liver fibrosis. *J Clin Invest* 85:1833- 43. (1990)
100. Castilla A, Prieto J and Fausto N. Transforming growth factors β 1 and β 2 in chronic liver diseases. *N Engl J Med.* 324 :933-934 (1991)
101. Jakowlew SB, Mead JE, Danielpour D, Wu J, Roberts AB and Fausto N. Transforming growth factor- β (TGF- β) isoforms in rat liver regeneration: messenger RNA expression and activation of latent TGF- β . *Cell Regulation.*2:535-548. (1991)
102. Armendariz-Borunda J, Seyer JM, Kang AH and Raghov R. Regulation of TGF β gene expression in rat liver intoxicated with carbon tetrachloride. *The FASEB J.*4:215-221. (1991)
103. Roberts AB, Anzano MA, Wakefield LM, Roche NS, and Stern DF. Type β transforming growth factor: A bifunctional regulator of cellular growth. *Proc Natl Acad Sci USA.*83:119-123. (1985)
104. Bisell DM, Wang SS, Jamnagin WR and Roll J. Cell-specific expression of

Transforming Growth Factor- β in Rat Liver. Clin Invest.96:447-455. (1995)

105. Penttinen RP, Kobayashi S and Bornstein P. Transforming growth factor β increases mRNA for matrix proteins both in the presence and in the absence of changes in mRNA stability. Proc Natl. Acad Sci USA.85:1105-1108. (1988)
106. Cheifetz S, Bassols A, Stanley K, Ohta M, Greenberg J and Massagué J. Heterodimeric transforming growth factor β . J. Biol. Chem. 263:10783-10789. (1988)
107. Branton MH and Kopp JB. TGF- β and fibrosis. Microbes Infect (France) 15:1349-1365. (1999)
108. Little DM, Haynes LD, Alam T, DoeGeraghty JG, Sollinger HW and Hullett DA. Does transforming growth factor β 1 play a role in the pathogenesis of chronic allograft rejection?. Transpl Int. 12:393-401. (1999)
109. Hutchinson IV, Turner DM, et al. Influence of Cytokine genotypes on allograft rejection. Transplant Proc 30:862-863 (1998)
110. Hutchinson IV. The Role of Transforming Growth Factor- β in Transplant rejection. Transplant Proc 31(Suppl 7A),9S-13S. (1999)
111. Bathgate AJ, Pravica V, Perrey C, Therapondos G, Plevris JN, Hayes PC and Hutchinson IV. The Effect of Polymorphism in Tumor Necrosis Factor- β , Interleukin-10 and transforming Growth factor- β 1 genes in Acute Hepatic Allograft Rejection. Transplantation. 69:1514-1517. (2000)
112. Massagué J. The TGF- β Family of Growth and Differentiation Factors. Cell. 49:437-438. (1987)
113. Demirici G, Hoshino K and Nashan B. Expression patterns of integrin receptors and extracellular matrix proteins in chronic rejection of human liver allografts. Transpl Immunol. 7: 229-237. (1999)
114. Qui T, Atsuchi N, Ooshima A, Takeshita A and Ueno H. Blockade of type β transforming growth factor signalling prevents liver fibrosis and dysfunction in the rat. Proc Nat Acad Sci USA. 96:2345-2349. (1999)
115. Nakamura T, Sakata R, Ueno T, Sata M and Ueno H. Inhibition of Transforming Growth Factor β prevents progression of Liver

Fibrosis and Enhances Hepatocyte regeneration in
Dimethylnitrosamine-treated rats. *Hepatology*.32:247-255.
(2000)

116. Khanna A, Radhakrishna V, Suthanthran M. Stimulation of TGF- β expression by FK-506 (tacolimus). *J Heart Lung Trasplant* 16: 255. (1997)
117. Muller AR, Platz KP, Berg T, et al. Long-term follow-up in hepatitis C patients with respect to immunosuppression. *Trasplant Proc*. 28: 3241-2. (1996)
118. Hutchinson IV. The mode of action of Prograf (tracolimus) and its significance for long-term graft survival. *New Horiz Kid Trasplant* 1: 22-6. (1997)
119. Chen YG, Liu F and Massagué J. Mechanism of TGF β receptor inhibition by FKBP12. *EMBO J* .1: 3866-76. (1997)
120. Okadome T, Oeda E, Saitoh M, Ichijo H, Moses HL, Miyazono K and Kawabatas M. Characterization of the interaction of FKBP12 with the Trasforming Growth Factor- β Type I receptor in Vivo*. *Journ Bio Chem* .271:21687-90. (1996)
121. Wang T, Li BY, Danielson PD, Shah PC, Rockwell S, Lechleider RJ, Martin J, Manganaro T and Donahoe PK. The immunophilin FKBP12 Functions As a common inhibitor of the TGF β Family Type I Receptors. *Cell* 86:435-44. (1996)
122. Zhang JG, Walmsley MW, Moy JV, Cunningham AC, Talbot D, Dark JH and Kirby JA. Differential effects of cyclosporin A and Tacrolimus on the production of TGF- β : implications for the development of obliterative bronchiolitis after lung trasplantation. *Traspl Int* .11(Suppl1):S325-S327 (1998)
123. Chang MJ, Kinnunen P, Hawkers J, Brand T and Schneider MD. FKBP-12 recognition is dispensable for signal generation by type I trasforming growth factor- β receptors*. *The Journ Bio Chem* .271:22941-44 (1996).
124. Mohamed MAS, Walmsley M, Robertson H, Kirby JA and Talbot D. The Effect of Cyclosporine A and Tacrolimus on cultured Human Epithelial Cells: The Role of TGF- β *Trasplant Proc* 31:1173. (1999)

125. Mohamed MAS, Robertson H, Booth T, Balupuri S, Kirby JA, Talbot D. TGF- β Expression in renal transplant biopsies. *Transplantation*. 69:1002-1005. (2000)
126. Khanna A, Li B, Stenzel KH and Suthanthiran M. Regulation of new DNA synthesis in mammalian cells by cyclosporine. *Transplantation*. 57: 577-81. (1994)
127. Nabel G. A transformed view of cyclosporine. *Nature*. 397:471-472. (1999)
128. Cuhaci B, Kumar MSA, Bloom RD, Pratt B, Hausman G, Laskow DA, Alidoost M, Grotkowski C, Cahill K, Butani L, Strugill BC and Pankewycz OG. Transforming growth factor β levels in human allograft chronic fibrosis correlate with rate of decline in renal function. *Transplantation*. 68:785-790. (1999)
129. Anscher MS, Peters WP, Reisenbichler H, Petros WP, Pharm D and Jirtle RL. Transforming Growth Factor β as a predictor of liver and lung fibrosis after autologous bone marrow transplantation for advanced breast cancer. *N Engl J Med*. 328:1592-1598. (1993)
130. Jain S, Fumess PN and Nicholson ML. The Role of transforming Growth factor beta in chronic renal allograft nephropathy. *Transplantation* 69:17509-1766. (2000)
131. Inigo PJ, Campistol JM, Lario S, Bescos M, Rivera F and Oppenheimer F. Relationship between TGF- β 1 plasma levels and immunosuppressive therapy in Renal Transplant recipients. *Journ American society Nephrology* 10 (Abstracts). 758A-759a, a3836 (1999)
132. Coupes BM, Williams S, Roberts ISD, Short CD, Johnson RWG and Brenchley PEC. Differential expression of TGF β during Immunosuppression with Tacrolimus and Cyclosporine A (CsA) in Human Renal Allograft Recipients. *J Am Soc Nephrol* : 725A, abst. A3668. (1999)
133. Mohamed MAS, Burt AD, Robertson H, Kirby JA and Talbot D. TGF- β expression in protocol transplant biopsies: A comparative study between Cyclosporine-A (CyA) and Tacrolimus (FK-506) Immunosuppression. *Transplant Proc* 33:1378-1380. (2001)

134. Marco M, Schouten J, Treatment Action Group (TAG). The Hepatitis Report. Version 1.0. July 2000
135. Alter MJ, Kruszon-Moran D and McQuillan GM: Prevalence of Hepatitis C virus infection in the United States (letter). *N Engl J Med* 341:2095. (1999)
136. Alter MJ, Kruszon-Moran D and Nainan OV. The prevalence of the Hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 341:556-562. (1999)
137. Arthur RR, Hassan NF and Abdallah MY. Hepatitis C antibody prevalence in blood donors in different governorates in Egypt. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 91:271-274. (1997)
138. Choo QL, Kuo G and Weiner AJ. Isolation of cDNA cloned derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244:359-362. (1989)
139. Forns X and Bukh J. The molecular Biology of Hepatitis C virus. *Clinics in Liver Disease*. 3:1-23 (1999)
140. Draza KE. *Molecular Biology of Hepatitis C infection*. *Liver Transpl* 6:396-406. (2000)
141. Pawlotsky JM. Molecular diagnosis of viral hepatitis. *Gastroenterology* 122:1554-1568. (2002)
142. Aach RD, Stevens CE and Hollinger BF. Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis. An analysis with first and second assays. *N Engl J Med* 1991;325:1325-1329 (1991)
143. Mc Hutchinson JG; Person JL and Govindarajan S. Improved detection of hepatitis C virus antibodies in high-risk populations. *Hepatology* .15:19-25. (1992)
144. Ghany MG, Chan TM and Sánchez-Pescador R. Correlation between serum HCV RNA and aminotransferase levels in patients with chronic HCV infection. *Dig Dis Sci* 41:2213-8. (1996)
145. Muñoz LE. Diagnóstico de la infección por virus C. Consenso Nacional sobre Hepatitis C. Junio 28-29, San Miguel de Allende, Gto, Mex. 29-37. (2002)
146. Poynard T, Bedossa P and Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 349:825-32. (1997)

147. De Moliner L, Pontisso P and De Salvo GL. Serum and liver HCV RNA levels in patients with chronic hepatitis C: correlation with clinical and histological features. *Gut* 42:856-860. (1998)
148. Prieto M, Berenguer M, Rimola A, Loinaz C, Barrios C and Clemente G. Liver transplantation in hepatitis C. A Spanish multi-center experience. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 10: 771-776. (1998)
149. Araya V, Rakela J, Wright T. Hepatitis C after orthotopic liver transplantation. *Gastroenterology*. 112: 575-82. (1997)
150. Fukumoto T, Berg T, Ku Y, Bechstein WO, Knoop M, Lemmens HP, Lobreck H, Hopf U and Nehaus P. Viral dynamics of hepatitis C Early after orthotopic liver transplantation: evidence for rapid turnover of serum virions. *Hepatology*. 24 : 1351-54. (1996)
151. Forns X, Garcia M, Feliu A, retortillo MG, Moitinho E, costa J, Mas A, Grande L, Navasa M and rodés J. Hepatitis C virus (HCV) kinetics and quasispecies evolution during and immediately after liver transplantation. *Hepatology* 34:362A. (2001)
152. Féray C, Gigou M, Samuel D, Paradise V, Wilberg J, David MF, Urdea M, Reynes M, Brechot C and Bismuth H. Paradise. The Course of Hepatitis C Virus Infection after Liver Transplantation. *Hepatology*. 20:1137-1143. (1994)
153. Gane EJ, Portmann BC, Naoumou NV, Smith HM, Underhill JA, Donaldson PT, Maertens G and Williams R. Long-Term outcome of Hepatitis C infection after liver transplantation. *N Engl J Med*. 334:815-820. (1996)
154. Boker KH, Dalley G, Bahr MJ, Maschek H, Tillmann HL, Trautwein C, Oldhaver K, Bode U, Pichlmayr and Manns MP. Long-Term outcome of Hepatitis C virus infection after liver transplantation. *Hepatology*. 25:203-210. (1997)
155. Prieto M, Berenguer M, Rayon JM, Cordoba J, Arguello L and Carrasco D. High incidence of allograft cirrhosis in hepatitis C virus genotype 1b infection following transplantation: relationship with rejection episodes. *Hepatology* 29:250-256. (1999)
156. Féray C., Caccamo L, Alexander GJM, Ducot B, Gugenheim J, Casnovas T, Loinaz C, Gigou M, Burra P, Barkholt L, Estefan R, Bizollon T, Lerut J, Franza AM, Bernard PH, Nachbaur K, Bismuth H, Schalm SW and Samuel D. European Collaborative Study on factors influencing outcome after liver transplantation

- for hepatitis C. *Gastroenterology*.117:619-625. (1999)
157. Berenguer M, Ferrell L, Watson J, Prieto M, Kim M, Rayon M, Cordoba J, Herola A, Ascher N, Mir J, Berenguer J, and Wright T. HCV-related fibrosis progression following liver transplantation: increase in recent years. *J Hepatol*.32:673-684. (2000)
 158. Testa G, Crispin JS, Netto GJ, Goldstein RM, Jennings LW and Brkic BS. Liver Transplantation for Hepatitis C: recurrence and disease progression in 300 patients. *Liver Transpl* .6:553-561. (2000)
 159. Sánchez-Fueyo A, Restrepo JC, Lorenc Q, Bruguera M, Grande L, Sánchez Tapias JM, Rodés J and Rimola A. Impact of the recurrence of hepatitis C virus infection after liver transplantation on the long-term viability of the graft. *Transplantation*.73:56-63. (2002)
 160. Gane EJ, Naoumov UN, Qian KP, Mondelli MU, Maertens G, Portmann BC, Lau J and Williams R. A Longitudinal analysis of hepatitis C virus replication following liver transplantation. *Gastroenterology* .110: 167-77. (1996)
 161. Rimola A, Restrepo JC and Sánchez-Tapias JM. Incidence and predictive factors of severe HCV recurrence after liver transplantation. *J Hepatol* 1998; 28(suppl.1): 42.
 162. Gane EJ, Portmann BC, Naumov NV, et al. Long-term outcome of hepatitis C infection after liver transplantation. *N Engl J Med*. 334: 815-20. (1996)
 163. Shuhart MC, Bronner MP, Gretch DR, et al. Histological and clinical outcome after liver transplantation for hepatitis C. *Hepatology* 26; 1646-52. (1997)
 164. Wright T, Donegan E, Hsu H, Ferrell L, Lake JR and Kim M. Recurrent and Acquired hepatitis C viral infection in liver transplant recipients. *Hepatology*.16:865-876. (1992)
 165. Samuel D and Feray C. Recurrence of hepatitis C virus infection after liver transplantation. *J Hepatol*.31(suppl 1):217-221. (1999)
 166. Berenguer M, López-Labrador FX and Wright T. Hepatitis C and liver transplantation. *J Hepatol*. 35:666-678. (2001)
 167. Di Martino V, Brenot C, Samuel D, Saurini F, Paradis V, and Reynés M. Influence of liver hepatitis C virus RNA and hepatitis C virus

genotype on Fas-mediated apoptosis after liver transplantation for hepatitis C. *transplantation*.70:1390-1396. (2000)

168. Charlton M, Seaberg E, Wiesner R, Everhart J, Zetterman R, Lake J, Detre K and Hoofnagle J. Predictors of patients and graft survival following liver transplantation for hepatitis C. *Hepatology* .28.823-830. (1998)
169. Forman LM, Lewis JD, Berlin JA, and Lucey MR. The Interaction of recipient gender and hepatitis C infection on patients and allograft survival after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* .34:244 A. (2001)
170. Multimer D. Liver donor age influences graft outcome following transplantation for hepatitis C. *Gut*.51:248-252. (2002)
171. Baron PW, Sindram D, Higdon D, Howell DN, Gottfried MR, Tuttle-Newhall JE and Clavien PA. Prolonged rewarming time during allograft implantation predisposes to recurrent hepatitis C infection after liver transplantation. *liver transpl* .6:407-412. (2000)
172. Prieto M, Nicolás D, Rayón JM, Berenguer M, Carrasco D, Mir J, and Berenguer J. Donor-recipient HLA matching does not predict accelerated progression of hepatitis C following liver transplantation in genotype 1b infection. *Hepatology* .32:261. (2000)
173. Sheiner PA, Schwartz ME, Mor E, et al. Severe and Multiple rejection episodes are associated with early recurrence of hepatitis C after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 21.30-34. (1995)
174. Chirwing JM, Przybyla AE and Mac Donald RJ. Isolation of biologically active ribonucleic acid from sources rich in ribonuclease. *Biochemistry* 18:5294-5299.
175. Braun DC. Preparation of Total RNA by Cesium Chloride Centrifugation. *Molecular Biology protocols: purification of total RNA*. (2001)
176. Auboeuf D, Vidal H., et al. The use of the reverse transcription – competitive polymerase chain reaction to investigate the in vivo regulation of gene expression in small tissue samples. *Anal Biochem* 245:141-148. (1997)
177. Martorana AM, Zheng G, Springall F, et al. Absolute quantitation of specific mRNAs in cell and tissue samples by comparative PCR. *BioTechniques* 27:136-144. (1999)

178. Dallman MJ, Porter ACG. Semi-quantitative PCR for the analysis of gene expression.
179. Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J Hepatol* .13: 372-374. (1991)
180. Scheuer PJ. Chronic Hepatitis : What is activity and how should it be assessed?. *Hepatology* 30:103-105 . (1997)
181. Desmet J. *J Hepatol* 19:1513-1520. (1994)
182. Charlton M, Seaberg E, Wiesner R, et al. Predictors of patient and graft survival following liver transplantation for hepatitis C. *Hepatology* 28:823-830. (1998)
183. Gane E, Naoumov NV, Qian KP, et al. A Longitudinal Analysis of Hepatitis C virus replication following Liver transplantation. *Gastroenterology*.110:167-177. (1996)
184. Samuel D, Feray C. Recurrence of hepatitis C virus infection after liver transplantation. *J Hepatol* 31: (suppl1):217-221. (1999)
185. Ahmed A, Keefe EB. Hepatitis C virus and Liver Transplantation. *Clin Liv Dis* 5:1-18. (2001)
186. Everson GT. Advances and controversies in Liver Transplantation. Posttransplantation Prevention and treatment of Recurrent Hepatitis. *Liver Transpl* 6:S35-S40. (2000)
187. Ballardini G, De Raffe E, Groff P, et al. Timing of reinfection and mechanism of hepatocellular damage in transplanted hepatitis C virus-reinfected liver. *Liver Transpl* 8:10-20. (2002)
188. Brambilla S, Bellati S, Asti M, et al. Dynamics of hypervariable region 1 variation in Hepatitis C virus infection and correlation with clinical and virological features of liver disease. *Hepatology* 27:1678-1686. (1998)
189. Gretch DR, Polyak SJ, Wilson JJ, et al. Tracking Hepatitis C virus quasispecies major and minor variants in symptomatic and asymptomatic liver transplant recipients. *J. Virol.* 70:7622-7631. (1996)
190. Sánchez-Fueyo A, Jiménez Barcons M, Rimola A, et al. Influence of the dynamics of the hypervariable region 1 of the Hepatitis C virus (HCV) on the histological severity of HCV recurrence after liver

- transplantation. *J Virol* 9999:1-10. (2001)
191. Belli SL, Zavaglia C, Battista A, et al. influence of Immunogenetic background on the outcome of recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Hepatology* 31:1345-1350. (2000)
 192. Nagy P, Schaff Z and Lapis K. immunohistochemical detection of transforming growth factor- β 1 in fibrotic liver disease. *Hepatology*.14:269-273. (1991)
 193. Yoshioka K, Takekuma T and Murakami K. Transforming growth factor β protein and mRNA in glomeruli in normal and diseased human kidneys. *Lab Invest*.68:154-163. (1993)
 194. Yamamoto T, Nakamura T and Noble NA. Expression of transforming growth factor β is elevated in human and experimental diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA*.90:1814-1818. (1993)
 195. Shihab F, Yamamoto T and Nast C. Acute and chronic allograft rejection in the human kidney correlate with the expression of the TGF- β and extracellular matrix proteins. *J Am Soc Nephrol* .4:671.abstract (1993)
 196. Deguchi Y. Spontaneous increase of transforming growth factor β production by bronchoalveolar mononuclear cells of patients with systemic autoimmune diseases affecting the lung. *Ann Rheum Dis* .51:362-365. (1992)
 197. Kulozik M, Hogg A and Lankat -Buttgereit. Localization of transforming growth factor β 2 with a 1(I)procollagen mRNA in tissue sections of patients with systemic sclerosis. *Jclin Invest*.86:917-922. (1990)
 198. Peltonen J, Hsiao LL and Jakkola S. Activation of collagen gene expression in keloids: co-localization of type I and VI of collagen and transforming growth factor β 1 mRNA. *J Invest dermatol* 97:240-248. (1991).
 199. Gahahary A, Shen YJ, Scott PG. Enhanced expression of mRNA for transforming growth factor β type I, and type III prochollagen in human post-burn hypertrophic scar tissue. *J Lab Clin Med* .122:465-473. (1993)
 200. Varga J, Uitto J and Jimenez SA. the cause and pathogenesis of eosinophilia-myalgia syndrome. *Ann Intern Med*.116:140-147. (1992)

201. Nikol S, Isner JM and Pickering JG. Expression of transforming growth factor β 1 is increased in human vascular restenosis lesion. *J Clin Invest.* 90:1582-1592. (1992)
202. Connor TB Jr, Roberts AB and Sporn MB. Correlation of fibrosis and transforming growth factor β type 2 levels in the eye. *J Clin Invest.* 83:1661-1666. (1989)
203. Lafayatis R, Thompson NL and Remmers EF. Transforming growth factor β production by synovial tissues from rheumatoid patients and streptococcal cell wall arthritic rats: studies on secretion by synovial fibroblast-like cells and immunohistologic localization. *J Immunol* 143:1142-1148. (1989)
204. Grainger DJ, Mosedale DE and Metcalfe JC. Active and acid activable TGF β in human sera, platelets and plasma. *Clin Chim Acta.* 235:11. (1995)
205. Hughes JR, Hughes VF and Trull AK. Analyses & Commentaries . *Transplantation.* 68:468-472. (1999)
206. Dallman J and Porter ACG. Semiquantitative PCR for analysis of gene expression . *Biochemistry* 13:3606. (1989)
207. Sambrook J, Fritsch EF and maniatitis T. *Molecular cloning: A laboratory Manual* , 2nd ed pp 7.19. Cold Spring harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY

APENDICES

APENDICE A
DECLARACION DE HELSINKI

Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial: Recomendaciones para orientar a los médicos en los trabajos de investigación biomédica con sujetos humanos.

Adoptada por la **18a Asamblea Médica Mundial** (Helsinki, Finlandia, junio de 1964), revisada por la **29a Asamblea Médica Mundial** (Tokio, Japón en 1975), en Venecia, Italia en 1983, en Hong Kong en 1989 y a **48 Asamblea General** en Somerset West, República de Sudáfrica, 1996.

Introducción

El médico tiene por misión la protección de la salud de la población. Su conocimiento y conciencia están completamente dedicados a esta función.

En su Declaración de Ginebra, la Asociación Médica Mundial constriñe al médico con las palabras "La salud de mi paciente será mi primera consideración" y el Código Internacional de Deontología Médica declara que "el médico ha de actuar sólo en interés del paciente cuando adopte cualquier medida que pueda debilitar su condición física o mental"

La finalidad de la investigación biomédica con sujetos humanos debe ser el perfeccionamiento de los métodos diagnósticos, terapéuticos y profilácticos y el conocimiento de la etiología y la patogenia de la enfermedad

En la práctica médica actual, la mayoría de los métodos diagnósticos, terapéuticos y profilácticos entrañan riesgos. Esto afecta especialmente a la investigación biomédica

El progreso de la medicina requiere investigaciones que en último término deben basarse en la experimentación en el hombre.

En el terreno de la investigación biomédica, conviene establecer una distinción fundamental entre la investigación médica efectuada en un paciente con fines esencialmente diagnósticos o terapéuticos y aquella cuya finalidad esencial es puramente científica y no posee ningún *valor* diagnóstico o terapéutico directo para el sujeto.

La ejecución de investigaciones susceptibles de afectar al medio ambiente requiere especial precaución; por otra parte, se respetará siempre el bienestar de los animales empleados en la investigación.

En atención a que, para el progreso de la ciencia y para el bienestar de la humanidad doliente, se ha hecho indispensable aplicar al hombre los resultados de las experiencias de laboratorio para obtener más conocimiento científico, y para ayudar a la humanidad doliente, la Asociación Médica Mundial ha formulado las recomendaciones que siguen con objeto de que sirvan de norma a todos los médicos que realicen trabajos de investigación biomédica con seres humanos. Estas recomendaciones serán objeto de revisión en el futuro. Es importante poner en relieve que las normas que figuran en este cuerpo doctrinal no se proponen otra finalidad que servir de guía a los médicos de todo el mundo. Nada exime al médico de su responsabilidad penal, civil y ética con respecto a las leyes de sus propios países.

Principios fundamentales

Los trabajos de investigación biomédica con sujetos humanos deberán ajustarse a los principios científicos generalmente reconocidos y basarse en pruebas de laboratorio y ensayos en animales practicados como es debido, así como un conocimiento profundo de la literatura científica.

El plan y la implementación de todo método de experimentación en sujetos humanos deberán formularse claramente en un protocolo de experimentación que se transmitirá, para ser examinado, comentado y enjuiciado, a un comité constituido al efecto, independiente del investigador y del promotor. Se sobreentiende que este comité independiente se atiene a las leyes y regulaciones del país en que se realiza la investigación.

Todo trabajo de investigación biomédica con sujetos humanos ha de estar sólo a cargo de personas que posean la debida preparación científica y bajo vigilancia de un profesional de la medicina con la necesaria competencia clínica. La responsabilidad sobre el ser humano objeto de un experimento debe recaer siempre en una persona capacitada médicamente y jamás en el propio sujeto de la investigación, ni siquiera aunque éste haya dado su consentimiento

Sólo será lícito llevar a cabo trabajos de investigación biomédica con sujetos humanos si el objetivo propuesto justifica el inherente riesgo a que se expone el paciente.

Antes de emprender un trabajo de investigación biomédica con sujetos humanos, habrá que sopesar con el mayor esmero los riesgos previsibles y las ventajas que cabe esperar para el individuo objeto de la experiencia o para otras personas cualesquiera. En todo caso, el interés del sujeto debe prevalecer por encima de los intereses de la ciencia y de la sociedad.

Debe respetarse siempre el derecho de cada individuo participante en la investigación a salvaguardar su integridad personal. Habrán de adoptarse todas las precauciones necesarias para respetar la intimidad del sujeto y para reducir al mínimo las repercusiones del estudio sobre la integridad física y mental del sujeto y sobre su personalidad.

Los médicos deberán abstenerse de participar en proyectos de investigación que requieran la participación de sujetos humanos a menos que tengan el convencimiento de que los riesgos inherentes se consideran predecibles. En todo caso, deberán interrumpir la investigación si se comprueba que los riesgos superan a las posibles ventajas.

En la publicación de los resultados de sus investigaciones, el médico deberá respetar siempre la exactitud de los resultados. Los informes sobre experimentos cuya práctica no se haya ajustado a los principios expuestos en la presente Declaración no deberán aceptarse para su publicación.

En todo trabajo de investigación sobre seres humanos, se informará debidamente al posible sujeto de los objetivos, los métodos, las ventajas previstas y los posibles riesgos inherentes al estudio así como de las incomodidades que éste pueda acarrear. Habrá de informarse al sujeto de que, si lo desea, puede abstenerse de participar en el estudio y de que es libre de retirar su consentimiento de participación en cualquier momento. El médico deberá obtener, a ser posible por escrito, el consentimiento del sujeto, libremente otorgada.

En la obtención del consentimiento informado para el proyecto de investigación, el médico habrá de obrar con particular precaución si el sujeto se encuentra en una relación de dependencia respecto de él o puede consentir por coacción. En ese caso deberá obtener el consentimiento del paciente ya informado un médico que no participe en la investigación y que sea independiente por completo de esa relación oficial.

En caso de incapacidad legal del paciente, se solicitará la autorización de su tutor o representante legal, de conformidad con la legislación nacional. En caso de incapacidad física o mental que hiciere imposible obtener el consentimiento, o cuando el sujeto sea menor, el permiso del pariente responsable suplirá al del enfermo, de conformidad con la legislación nacional. Siempre que el menor sea capaz de dar su consentimiento, habrá de obtenerse éste además de la autorización de su tutor legal.

En el protocolo de la investigación figurará siempre una declaración sobre las consideraciones éticas inherentes al caso y se indicará que se han tenido en cuenta los principios enunciados en la presente Declaración.

Investigación médica asociada a la asistencia profesional (investigación clínica).

En el curso del tratamiento de un enfermo, el médico debe estar en libertad de recurrir a una nueva medida diagnóstica o terapéutica si, a su juicio, ésta ofrece fundadas esperanzas de salvar la vida, de restablecer la salud o de aliviar el dolor del paciente.

Habrán de sopesarse los potenciales beneficios, los riesgos y las molestias que puede reportar todo nuevo método en comparación con las ventajas de los mejores métodos diagnósticos y terapéuticos actualmente en uso.

En cualquier estudio médico deberá aplicarse a todos los pacientes -incluidos los del grupo o grupos de control, si los hubiere- el método diagnóstico o terapéutico de mayor eficacia comprobada.

La negativa del paciente a participar en un estudio jamás deberá afectar la relación médico-enfermo.

Si el médico estimara indispensable no obtener el consentimiento del sujeto informado, deberá exponer las razones concretas de ello en el protocolo experimental que examinará el comité independiente (1, 2).

La facultad de combinar la investigación médica y la asistencia al enfermo, con el fin de adquirir nuevos conocimientos médicos, debe reservarse exclusivamente a aquellos casos en que la investigación médica se justifique por su posible valor terapéutico o diagnóstico para el paciente.

Investigación biomédica no terapéutica con sujetos humanos (investigación biomédica no clínica).

En las investigaciones médicas llevadas a cabo en un ser humano con fines puramente científicos, la misión del médico consiste en proteger la vida y la salud de la persona sometida a la experimentación biomédica.

Los sujetos deberán ser voluntarios, lo mismo si se trata de personas sanas que de pacientes cuya enfermedad no guarde relación con la experimentación proyectada.

Cuando el investigador o el equipo de investigación consideren que puede ser peligroso proseguir la investigación deberán interrumpirla.

En las investigaciones en seres humanos, el interés de la ciencia y de la sociedad jamás deberá prevalecer sobre las consideraciones relacionadas con el bienestar del sujeto.

APENDICE B
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE, MODELO PARA PACIENTES CON TRASPLANTE HEPATICO

TITULO DEL ESTUDIO: Fibrogénesis hepática en pacientes con trasplante de hígado y recidiva de infección por virus de la hepatitis C: papel patogénico del TGF β .

Investigador principal: Dr. Antoni Rimola

Colaboradores: Dres. Parés, Caballeria, Miquel y Cisneros.

INFORMACION PARA EL PACIENTE:

La mayoría de pacientes, que como Ud, han recibido un trasplante hepático por una cirrosis por virus C presentan la reaparición del virus en el nuevo hígado. Ello suele causar una hepatitis crónica la cual presenta un curso que aún o está bien definido, pero que puede ser muy variable de un paciente a otro. No obstante, una proporción de pacientes desarrollan cicatrices en el nuevo hígado debido a su infección por virus C, lo que puede alterar su correcto funcionamiento. Las cicatrices son conocidas técnicamente con el nombre de *fibrosis*, y su formación con el nombre de *fibrogénesis*, palabra que figura en el título del estudio. Los mecanismos y factores que influyen en el desarrollo de estas cicatrices no son conocidos.

Por ello hemos diseñado el presente estudio con objeto de conocer determinados factores que podrían jugar un papel importante en la formación de cicatrices en el nuevo hígado infectado por virus C. Uno de estos factores es el TGF β que figura en el título del estudio y que podría ser uno de los mayores responsables de las mencionadas cicatrices. Asimismo, también nos interesa conocer si el tratamiento contra el rechazo que recibe Ud. puede influir en la aparición de las cicatrices hepáticas.

El mejor conocimiento de los procesos que provocan cicatrices en el hígado de los pacientes que, como Ud., tienen un trasplante hepático puede en un futuro contribuir a mejorar su tratamiento.

Para la realización de este estudio solo hace falta un poco de tejido hepático que se puede obtener aprovechando parte de la biopsia que hemos de practicarle a Ud. por motivos estrictamente de su salud y de control de nuevo hígado. Por tanto, la participación en este estudio no representa ningún riesgo ni ningún esfuerzo especial para Ud.

Su decisión de participar en este estudio es completamente voluntaria. En caso de no aceptar su participación, debe saber que ello no repercutirá negativamente en su control y tratamiento ni alterará la relación con su médico. Asimismo, puede Ud. retirar su consentimiento en cualquier momento.

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE.

Titulo del estudio: Fibrogénesis hepática en pacientes con trasplante de hígado y recidiva de infección por virus de la hepatitis C: papel patogénico del TGFβ.

Yo.....

(nombre y apellidos, escritos por el propio paciente)

1. He leído la hoja de información que se me ha entregado.
2. He podido hacer preguntas sobre el estudio.
3. He recibido suficiente información sobre el estudio.
4. He hablado con
(nombre del médico que le ha informado)
5. Comprendo que mi participación es voluntaria.
6. Comprendo que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que ello repercuta en mis atenciones médicas.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del paciente

Firma del médico

DNI del paciente:

Fecha:.....

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE. MODELO PARA PACIENTES SIN TRASPLANTE HEPATICO

TITULO DEL ESTUDIO: Fibrogénesis hepática en pacientes con trasplante de hígado y recidiva de infección por virus de la hepatitis C: papel patogénico del TGF β .

Investigador principal: Dr. Antoni Rimola

Colaboradores: Dres. Pares, Caballeria, Miquel y Cisneros.

INFORMACION PARA EL PACIENTE:

La mayoría de pacientes que han recibido un trasplante hepático por una cirrosis por virus C presentan la reaparición del virus en el nuevo hígado. Ello suele causar una hepatitis crónica la cual presenta un curso que aún o está bien definido, pero que puede ser muy variable de un paciente a otro. No obstante, una proporción de pacientes desarrollan cicatrices en el nuevo hígado debido a su infección por virus C, lo que puede alterar su correcto funcionamiento. Las cicatrices son conocidas técnicamente con el nombre de *fibrosis*, y su formación con el nombre de *fibrogénesis*, palabra que figura en el título del estudio. Los mecanismos y factores que influyen en el desarrollo de estas cicatrices no son conocidos.

Por ello hemos diseñado el presente estudio con objeto de conocer determinados factores que podrían jugar un papel importante en la formación de cicatrices en el nuevo hígado infectado por virus C. Uno de estos factores es el TGF β que figura en el título del estudio y que podría ser uno de los mayores responsables de las mencionadas cicatrices. Asimismo, también nos interesa conocer si el tratamiento contra el rechazo que reciben estos pacientes puede influir en la aparición de las cicatrices hepáticas.

Este tipo de estudio necesita la participación de dos grupos de pacientes: el grupo de pacientes con trasplante hepático, que es el grupo en quienes interesa comprobar si existen las alteraciones mencionadas anteriormente o no, y otro grupo de pacientes sin enfermedades en el hígado, quienes lógicamente no presentan ninguna de las alteraciones a estudiar. Este segundo grupo, con el hígado normal, es necesario para poder comparar los resultados obtenidos en los pacientes trasplantados con su nuevo hígado alterado por el virus C.

Para la realización de este estudio hace falta un poco de tejido hepático que se puede obtener fácilmente aprovechando la operación a la que debe Ud. ser sometido. Durante esta operación el cirujano visualizará perfectamente su hígado y podrá realizarle una biopsia hepática sin que ello represente ningún riesgo para Ud. La realización de la biopsia dura aproximadamente un minuto por lo que su intervención quirúrgica prácticamente no se alargará.

Su decisión de participar en este estudio es completamente voluntaria. En caso de no aceptar su participación, debe saber que ello no repercutirá negativamente en su control y tratamiento ni alterará la relación con su médico. Asimismo, puede Vd. retirar su consentimiento en cualquier momento.

Si decide participar en el estudio le expresamos nuestro agradecimiento no solo en nombre propio sino también y muy especialmente en el de los pacientes con trasplante hepático a los que va dirigido este estudio.

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE.

Titulo del estudio: Fibrogénesis hepática en pacientes con trasplante de hígado y recidiva de infección por virus de la hepatitis C: papel patogénico del TGF β .

Yo.....

(nombre y apellidos, escritos por el propio paciente)

1. He leído la hoja de información que se me ha entregado.
2. He podido hacer preguntas sobre el estudio.
3. He recibido suficiente información sobre el estudio.
4. He hablado con
(nombre del médico que le ha informado)
5. Comprendo que mi participación es voluntaria.
6. Comprendo que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que ello repercuta en mis atenciones médicas.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del paciente

Firma del médico

DNI del paciente:

Fecha:.....

RESUMEN AUTOBIOGRAFICO

Laura Esthela Cisneros Garza

**Candidata para el Grado de
Doctorado en Medicina con especialidad en Hepatología**

**Tesis: FIBROGENESIS HEPÁTICA EN LA RECIDIVA C POSTRASPLANTE:
PAPEL PATOGENICO DEL TGF β**

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Biografía:

Datos Personales: Nacida el 24 de Octubre de 1962 en la ciudad de Monterrey N.L.México. Hija del Sr. Héctor Cisneros Ramos y Sra. María Teresa Garza Cantú.

Escolaridad: Egresado de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León con el grado de Médico Cirujano y Partero en 1985.

Experiencia profesional: Gastroenterología: laborando desde hace 14 años en el Instituto Mexicano del Seguro Social.

Endoscopia Digestiva diagnóstica y terapéutica de Marzo a Noviembre de 1997 en el Hospital Fujigaoka, Universidad de Showa, Yokohama, Japón.

Hepatología: Entrenamiento en Hepatología y en transplante hepático de Abril del 2000 a Septiembre del 2001 en el Hospital Clinic i Provincial de Barcelona España.



