



UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS.

Seguimiento del Trasplante Cardíaco con una Estrategia de Monitorización del Rechazo Basada en Ecocardiografía

Tesis presentada por **Don Felipe José Rodríguez Entem**

Directores de Tesis:

Dr. José Manuel Revuelta Soba

Dr. José Antonio Vázquez de Prada Tiffé



Dr. Jose Manuel Revuelta Soba, Catedrático Emérito del Departamento de Ciencias Médicas y Quirúrgicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cantabria,

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado *“Seguimiento del Trasplante Cardíaco con una Estrategia de Monitorización del Rechazo Basada en Ecocardiografía”*, que presenta el Licenciado en Medicina *D. Felipe José Rodríguez Entem*, ha sido realizado bajo mi dirección reuniendo la originalidad y necesaria calidad científica para que pueda ser defendida ante el Tribunal correspondiente para optar al grado de Doctor por la Universidad de Cantabria.

Santander, a 25 de Noviembre de 2015

Fdo. Dr. Jose Manuel Revuelta Soba



Dr. José Antonio Vázquez de Prada Tiffé, Profesor Asociado de Cardiología del Departamento de Medicina y Psiquiatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cantabria,

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado *“Seguimiento del Trasplante Cardíaco con una Estrategia de Monitorización del Rechazo Basada en Ecocardiografía”*, que presenta el Licenciado en Medicina *D. Felipe José Rodríguez Entem*, ha sido realizado bajo mi dirección reuniendo la originalidad y necesaria calidad científica para que pueda ser defendida ante el Tribunal correspondiente para optar al grado de Doctor por la Universidad de Cantabria.

Santander, a 25 de Noviembre de 2015

Fdo. Dr. José Antonio Vázquez de Prada Tiffé.

AGRADECIMIENTOS:

A mis directores de tesis; al Dr. Revuelta por su inestimable ayuda y apoyo en la elaboración de la Tesis y por ser capaz de darme, con su entusiasmo, el impulso necesario sin el cual no hubiese podido finalizar este trabajo. Al Dr. Vázquez de Prada, responsable intelectual de la idea central de la tesis y cuya orientación y consejo han sido esenciales a la hora de llevarla a cabo.

A todos los que formaron parte del equipo de trasplante cardiaco del HU Marqués de Valdecilla durante los años en que fue realizado el estudio: Dr. Martín Durán, Dr. Vázquez de Prada, Dr. Ruano, Dr. Olalla y Dr. González Vílchez, al equipo de enfermería, Dña. Pilar Tejerizo y Dña. María Isabel del Olmo, que junto al Servicio de Cirugía Cardiovascular, consiguieron poner a nuestro Hospital dentro de la élite del trasplante cardiaco, y gracias a cuya entrega y trabajo diario ha sido posible obtener los resultados que refleja esta Tesis.

Al actual equipo de Trasplante Cardiaco, especialmente al Dr. Cobo, por su inestimable ayuda a la hora de recopilar determinados datos del seguimiento.

Al Registro Español de Trasplante Cardiaco, especialmente a su Director el Dr. González Vílchez por la cesión de unos datos que han sido fundamentales para interpretar los resultados de este trabajo.

A mis actuales compañeros de la Unidad de Arritmias, Dr. Olalla, Dra. González Enríquez y Dr. Expósito, con los que comparto mi trabajo diario desde hace años y cuyo apoyo y comprensión me han facilitado mucho el enorme trabajo que ha supuesto llegar hasta aquí.

A toda mi familia, en especial a mis padres a los que debo, gracias a su ejemplo y apoyo, la base de todos los logros tanto profesionales como personales que he ido consiguiendo a lo largo de mi vida.

Finalmente a mi Mujer Charo y a mis hijos, que son los que más han sufrido las largas horas de trabajo que he dedicado a esta Tesis, no solamente por haber sido los que me han dado la fuerza y motivación para llevarla a cabo, sino también porque han sido y siempre serán la razón fundamental que me ha impulsado para lograr cualquiera de las metas que pueda lograr en la vida.

Gracias a Todos.

ÍNDICE

I INTRODUCCIÓN

1. Breve recuerdo histórico	14
2. Situación actual del trasplante cardiaco	17
3. El problema del rechazo en los pacientes con trasplante cardiaco	24
3.1. Clasificación anatomopatológica de los rechazos	24
3.2. Diagnóstico y monitorización del rechazo	36
3.2.1. Historia natural del rechazo	36
3.2.2. Diagnóstico clínico del rechazo	40
3.2.3. Papel de la biopsia endomiocárdica	41
3.2.4. Papel de las técnicas no invasivas en la monitorización del rechazo	46
3.3. Tratamiento de los episodios de rechazo	53

II. FUNDAMENTOS E HIPOTESIS

1. Papel de la biopsia seriada como método de monitorización del rechazo agudo en el trasplante cardiaco	62
2. Limitaciones de la biopsia como método de seguimiento del rechazo	63
3. Limitaciones de la biopsia para guiar el tratamiento del rechazo	64
4. Alternativas a la biopsia como método de monitorización del rechazo	64
5. El control clínico ecocardiográfico como alternativa a las biopsias seriadas	65
5.1. Argumentos que sustentan el uso de un control clínico ecocardiográfico como técnica de <i>screening</i> en el trasplante cardiaco	65
5.2. Potenciales beneficios de una monitorización basada en la ecocardiografía	67
6. Hipótesis	69

III. OBJETIVOS

1. Objetivo principal	72
2. Objetivos específicos	72

IV. MATERIAL, METODOLOGÍA Y DISEÑO

1. Sujetos del estudio	75
1.1. Criterios de inclusión	75
1.2. Características de los pacientes seleccionados	75
2. Seguimiento	80
2.1. Seguimiento clínico	80
2.2. Seguimiento anatomopatológico	82
2.3. Seguimiento ecocardiográfico	86
2.4. Monitorización de la vasculopatía del injerto	87
2.5. Protocolo de inmunosupresión	89
3. Recogida de datos	90
4. Análisis de mortalidad	92
5. Análisis estadístico	93

V. RESULTADOS

1. Impacto de la estrategia de monitorización clínico ecocardiográfica sobre el número de biopsias	96
2. Resultados de las biopsias según la indicación clínica	101
3. Hallazgos anatomopatológicos	104
4. Hallazgos clínicos	108
4.1. Eventos de rechazo durante el primer año	108
4.2. Eventos de rechazo con repercusión hemodinámica	112
4.3. Mortalidad durante el primer año	115
4.4. Pérdida del injerto secundaria a rechazo durante el primer año	116
5. Parámetros evolutivos	118
5.1. Vasculopatía del injerto	118

5.2. Mortalidad global	120
------------------------	-----

VI. DISCUSIÓN

1. Principales hallazgos del estudio	124
2. Reducción del número de biopsias	126
3. Otra alternativa a la monitorización del rechazo	137
3.1 La ecografía como alternativa a la monitorización con biopsias	137
3.2. Otras técnicas de monitorización del rechazo	144
4. Efecto de esta estrategia a corto plazo: rechazo agudo, compromiso hemodinámico y mortalidad al primer año	150
4.1. Efecto de esta estrategia sobre la incidencia de rechazo agudo	150
4.2. Efecto de esta estrategia sobre la incidencia de rechazo con repercusión hemodinámica	152
4.3. Efecto de esta estrategia sobre la mortalidad al primer año	153
5. Efecto a largo plazo de esta estrategia a largo plazo: vasculopatía del injerto y mortalidad a largo plazo	154
5.1. Posibles consecuencias sobre la vasculopatía del injerto	154
5.2. Posibles consecuencias sobre la mortalidad a largo plazo	155

VI. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

VII. CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS



INTRODUCCIÓN

El trasplante cardíaco es considerado actualmente como el tratamiento de elección en la insuficiencia cardíaca terminal refractaria a tratamiento médico o quirúrgico.

Debido a factores como la mayor esperanza de vida de la población y el manejo más eficaz de las cardiopatías crónicas, cada vez son más los pacientes con cardiopatía que llegan a etapas terminales de su enfermedad. Esto ha provocado que recientemente se haya incrementado el número de potenciales pacientes candidatos a recibir este tratamiento.

Durante los últimos años se están produciendo grandes avances tanto en la selección de receptores, la selección y optimización de los donantes, como en el manejo perioperatorio de los pacientes. A pesar de que los resultados han ido mejorando gracias a estos sucesivos avances, el trasplante cardíaco sigue siendo una técnica compleja, en cuyo éxito intervienen multitud de variables.

Desde los inicios, el principal problema y del que se derivan prácticamente todas las complicaciones ha sido el rechazo del injerto por parte del sistema inmunológico del receptor. Los avances en el tratamiento inmunosupresor, así como la incorporación de nuevas técnicas y estrategias diagnósticas para la identificación precoz del rechazo han contribuido también a la obtención de mejores resultados. Sin embargo el rechazo sigue representando en nuestros días un problema importante, por lo que se hace imprescindible optimizar el manejo del rechazo y de la terapia inmunosupresora.

1. Breve recuerdo histórico

El trasplante cardíaco comenzó a ser considerado como una posibilidad quirúrgica experimental a principios del siglo XX, cuando los investigadores Alexis Carrel, cirujano francés que trabajaba en la Universidad de Chicago, en colaboración con el Dr. Charles C. Guthrie sentaron las bases de la técnica quirúrgica de anastomosis vascular y practicaron en 1905 los primeros trasplantes en animales, demostrando que este procedimiento era técnicamente factible ¹.

A pesar de estos prometedores inicios, las investigaciones se desarrollaron lentamente en años posteriores destacando las experiencias del Dr. Frank Mann del grupo de la Clínica Mayo ², y Dr. Vladímir Demikhov en Rusia, quien desarrollo una serie de procedimientos de trasplante cardíaco ortotópico en animales consiguiendo supervivencias de hasta 15 horas una vez excluido el órgano propio de la circulación del receptor animal ³.

Durante los siguientes años se produjeron importantes avances técnicos que contribuyeron a la posibilidad final de llevar a cabo trasplante cardíaco en humanos. Entre ellos destacan la preservación del injerto mediante hipotermia, introducida por el grupo del Dr. Neptune a principios de la década de los 50, o las técnicas de by-pass cardiopulmonar mediante circulación extracorpórea mecánica introducidas por el Dr. Gibbon también en la primera mitad de la década de los 50 ⁴.

A mediados de la década de 1960 existían varios grupos que trabajaban de forma experimental en este tema. Destacaban fundamentalmente dos, el grupo de la Universidad de Stanford liderado por el Dr. Norman Shumway ⁵ y el liderado por el Dr. James Hardy de la Universidad de Mississippi. Fue este último el que en el año 1964 realizó el primer trasplante del corazón de un chimpancé a un hombre de 68 años con enfermedad coronaria severa no revascularizable en situación de insuficiencia cardíaca terminal. Aunque el procedimiento fue técnicamente un éxito, el corazón del simio fue demasiado pequeño para mantener la circulación, falleciendo a las pocas horas ⁶.

Sin embargo fue el grupo liderado por el Dr. Shumway el que realiza a partir del inicio de los años 60 los principales avances, estandarizando la técnica en perros, mejorando los métodos de preservación del órgano y sentando las bases para la posible realización de un trasplante cardiaco en humanos⁷.

Pese a que el grupo de Stanford estuvo a punto de realizar el primer trasplante en un paciente humano, este finalmente se llevó a cabo en Sudáfrica en diciembre de 1967 por el Dr. Christian Barnard y sus colaboradores, aprovechando los conocimientos y la técnica desarrollada por Lower y Shumway, adquiridos tras una estancia en Stanford. El paciente sobrevivió 18 días y murió de neumonía bilateral por *Pseudomona*⁸. Un mes después de este primer trasplante fue el propio Barnard el que realizó el segundo, consiguiendo en este caso una supervivencia de 20 meses.

El primer trasplante en Estados Unidos fue realizado en 1968 por el Dr. Kantrowitz en el Hospital Maimonides de Brooklyn en un neonato con enfermedad de Ebstein que apenas sobrevivió 7 horas tras el procedimiento. El Dr. Shumway, el verdadero padre de la técnica realizó el cuarto trasplante cardiaco del mundo en Stanford el 6 de enero de 1968⁹.

Durante el año 1968 se practicaron 102 trasplantes de corazón en el mundo, con una supervivencia al primer año de apenas el 20%. Esta alta mortalidad se debía fundamentalmente al fenómeno de rechazo del órgano debido a la deficiente inmunosupresión disponible en aquella época. Ello motivó que cundiera el desánimo para continuar con la realización de trasplantes cardiacos como un procedimiento de aplicación clínica, siendo abandonada por muchos centros y reduciéndose drásticamente el número de trasplantes realizados en los años sucesivos.

El grupo de la Universidad de Stanford sin embargo, perseveró en la investigación, centrándose fundamentalmente en la terapia inmunosupresora con lo que fueron mejorando los resultados durante los años siguientes. En 1974 el Dr. Shumway y sus colaboradores publicaron su experiencia a 3 años con 29 pacientes, consiguiendo supervivencias del 49% a los 6 meses y del 30% a dos años¹⁰.

El punto de inflexión en el devenir del trasplante cardiaco fue la introducción de la ciclosporina como tratamiento inmunosupresor en el año 1981. La utilización de este fármaco para evitar el rechazo, asociado a inmunosupresores que ya estaban siendo utilizados desde los primeros trasplantes tales como la azatioprina y los corticoides, redundo en una mejora espectacular de los resultados.

Con ello se abrió la era del trasplante cardíaco como un procedimiento eficaz para los pacientes en estado terminal de la enfermedad cardiaca no susceptible de otro tipo de tratamiento, tal como lo conocemos en nuestros días.

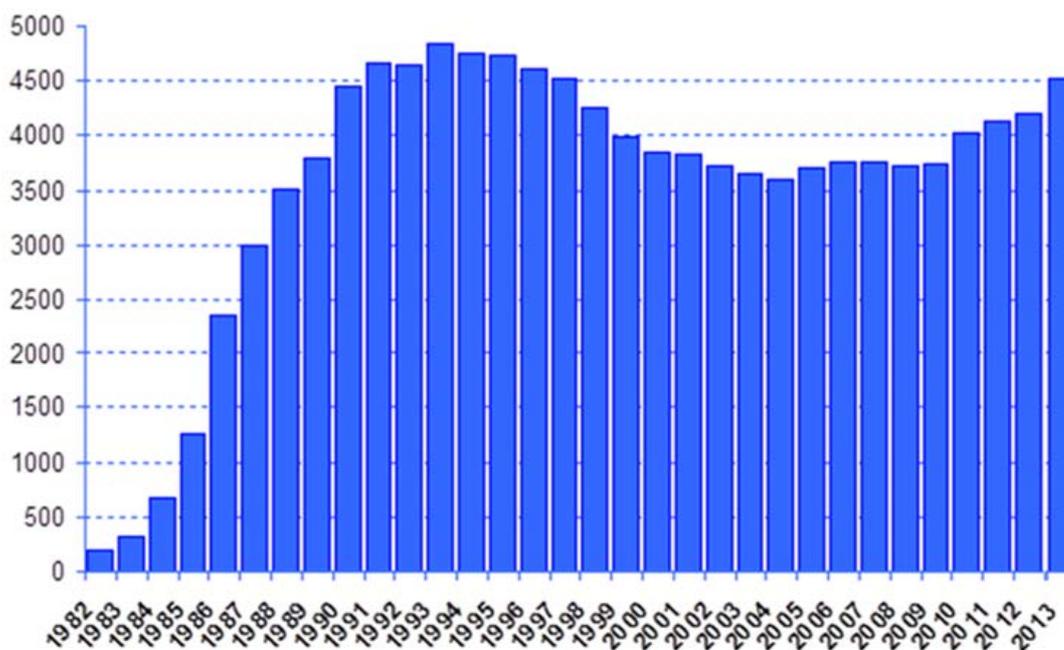
En nuestro país tras una experiencia anecdótica a finales de la década de los 60 el primer trasplante cardiaco fue realizado en el Hospital San Pablo de Barcelona en 1984, multiplicándose en años sucesivos el número de trasplantes realizados. El programa de trasplante del Hospital “Marqués de Valdecilla” de Santander nace ese mismo año, habiéndose realizado hasta la edición de esta tesis un total de 634 trasplantes.

2. Situación actual del trasplante cardiaco

Según los últimos datos publicados por el registro de la *International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT)* en el año 2013, que es el último del que se disponen datos publicados, se realizaron un total de 4477 trasplantes en el mundo ¹¹. En la figura 1.1. se muestra la evolución en el número de trasplantes realizados según la *ISHLT*. Como puede apreciarse tras la realización de los primeros trasplantes de forma esporádica el número de trasplantes se mantuvo estable. A principios de la década de 1980, con el desarrollo de las técnicas de inmunosupresión, se produjo un aumento exponencial del número de procedimientos, alcanzándose un pico durante la década de 1990. Posteriormente, alcanzado este pico se produjo un descenso en la actividad trasplantadora asociada fundamentalmente a una reducción en el número de donaciones, que se ha estabilizado durante los últimos años por encima de los 3500 trasplantes anuales.

Figura 1.1.

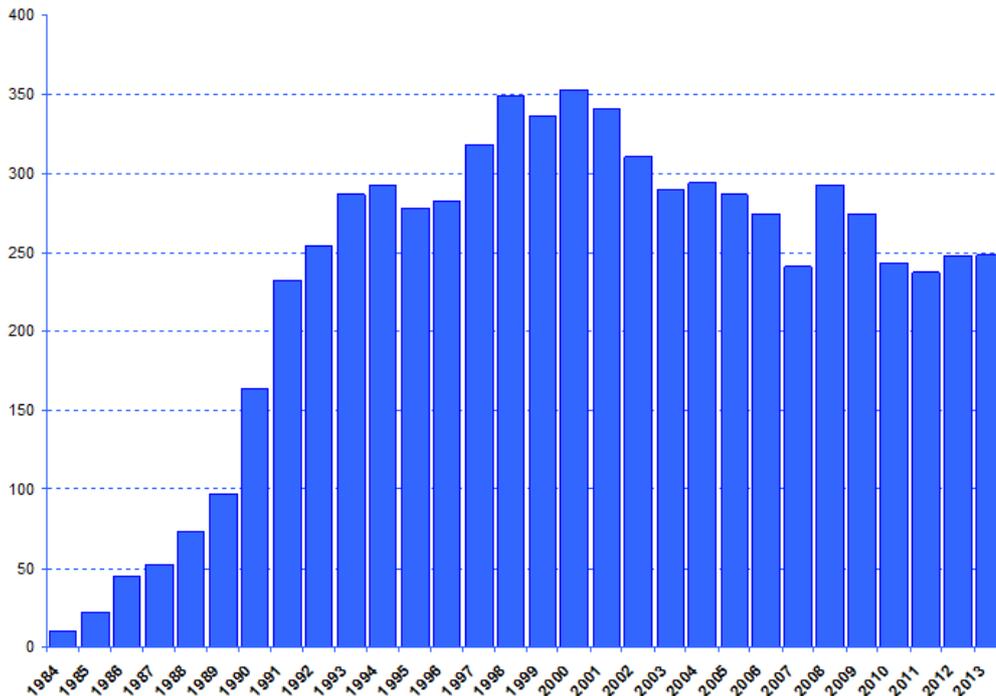
Evolución en el numero de trasplantes según el registro de la ISHLT



En nuestro país existen en la actualidad 19 centros con un programa de trasplante cardiaco establecido, habiéndose realizado 7023 trasplantes desde los inicios hasta el año 2013 ¹². La Figura 2.1. muestra la evolución del número de trasplantes realizados en España, observándose una evolución prácticamente paralela a la del registro internacional.

Fig. 1.2.

Evolución del número de trasplantes en España según el RETC



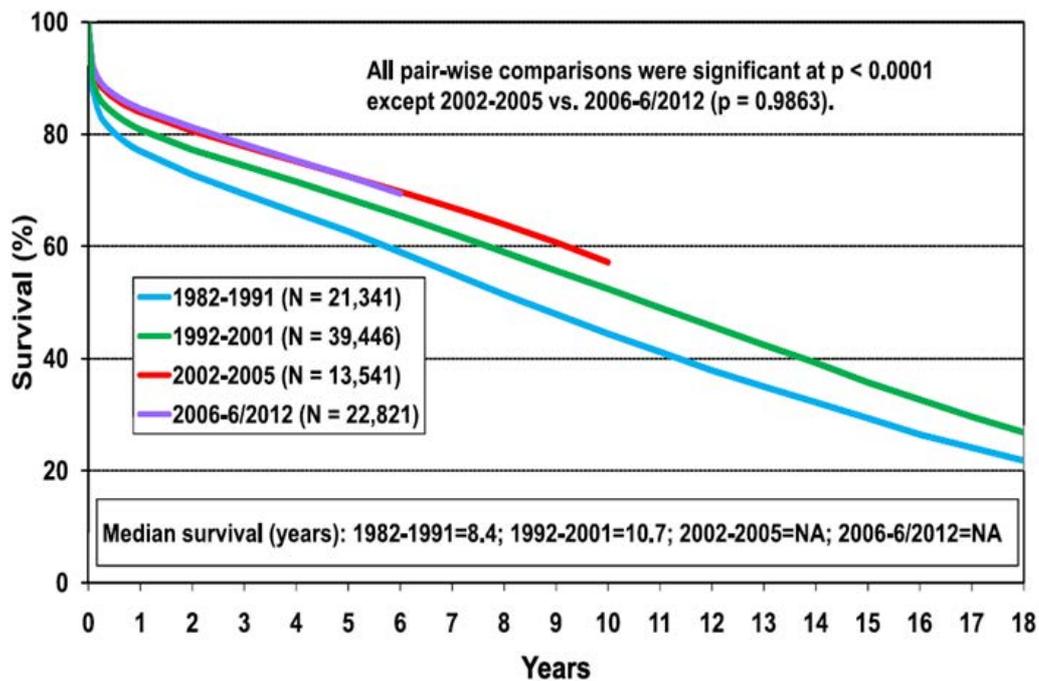
Supervivencia tras el trasplante

La supervivencia de los pacientes trasplantados según el Registro Internacional es de 81% al primer año y 69% al quinto año, con una mediana de supervivencia de 11 años. La supervivencia ha ido mejorando durante los últimos años, con respecto a los trasplantes realizados durante la década de los 80 y 90. Más recientemente, la supervivencia a un año

de los trasplantes realizados entre 2006 y 2012 no muestra diferencias significativas con respecto al periodo entre 2002 y 2005 (Figura 1.3.)

Figura 1.3.

Evolución de la supervivencia tras el trasplante según el registro de la ISHLT



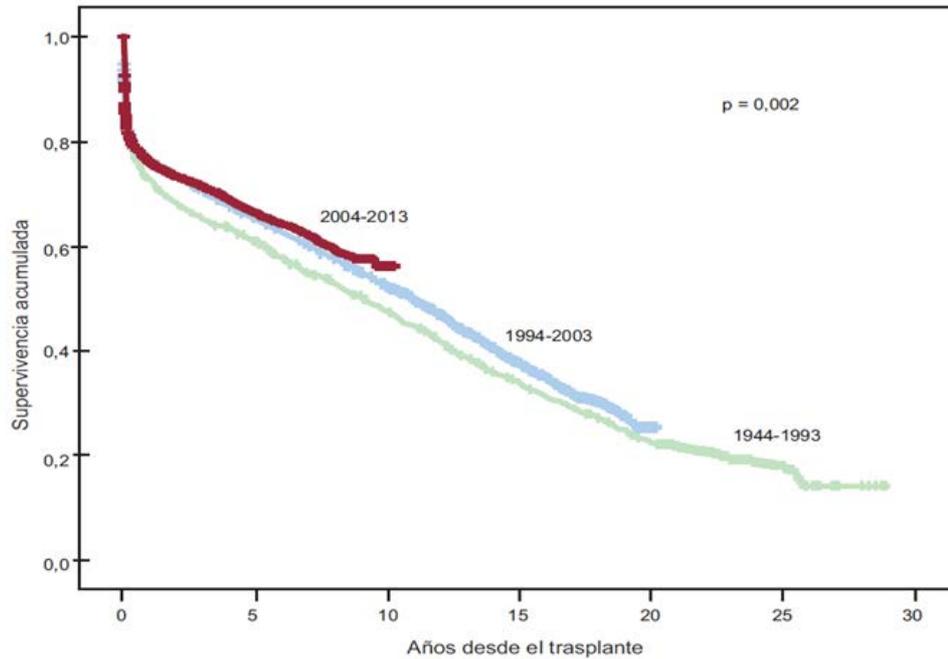
De forma similar, el tiempo medio de supervivencia en la serie española se ha incrementado con los años. Así, mientras en la serie total la probabilidad de supervivencia tras 1, 5, 10 y 15 años es del 78%, el 67%, el 54% y el 40% respectivamente, en los últimos 5 años la probabilidad de supervivencia tras 1 y 5 años es del 85 y el 73% respectivamente (figura 1.4.).

En cuanto a las causas de fallecimiento dependen de múltiples factores. En general la principal causa es el fallo del injerto, la infección y el fallo multiorgánico, aunque las

neoplasias los accidentes cerebro-vasculares y la insuficiencia renal se hacen cada vez más frecuentes a partir del 5 año.

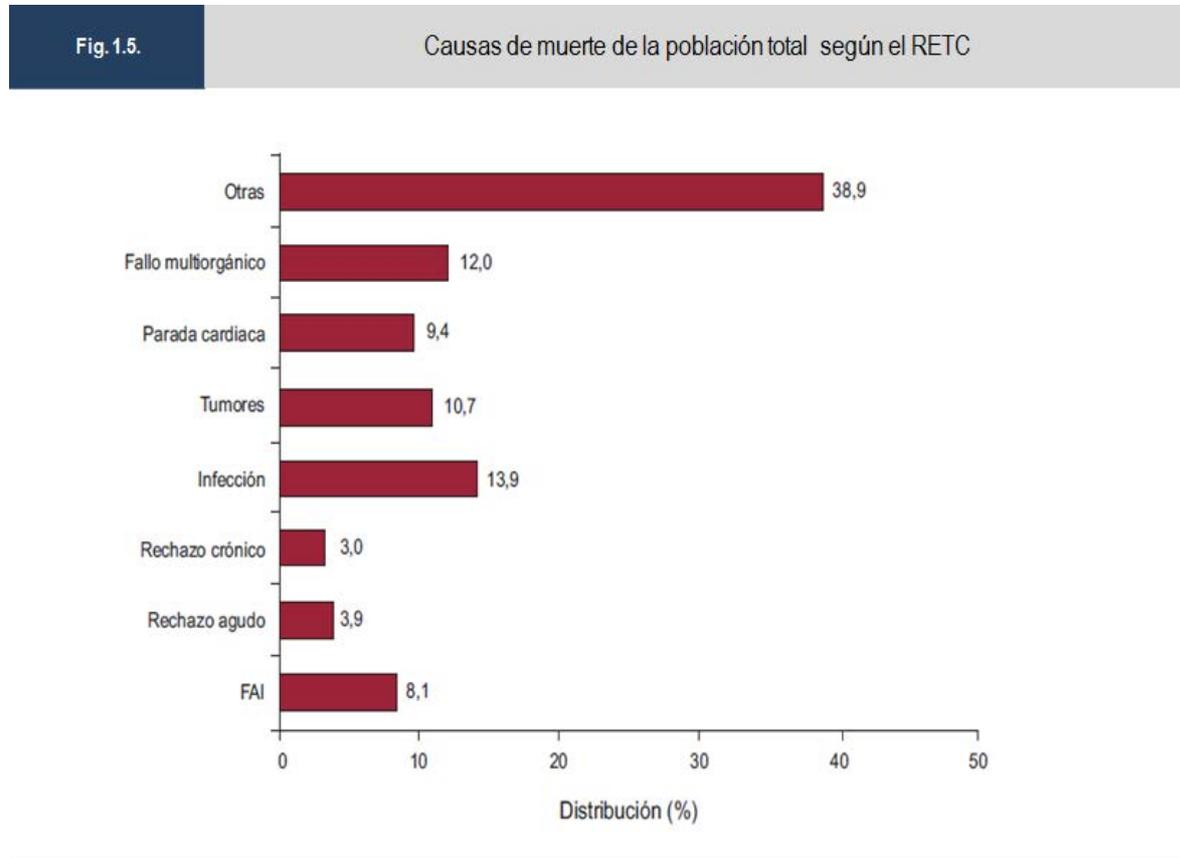
Fig. 1.4.

Evolución de la supervivencia tras el trasplante según RETC



Según los datos publicados por el Registro Español, durante el primer mes tras el trasplante, casi el 50% de los fallecimientos se producen por fallo primario del injerto. Posteriormente durante el primer año, el rechazo agudo y sobre todo las infecciones son la causa principal de muerte. Pasado el primer año, la causa mayoritaria son los tumores y las distintas manifestaciones de la enfermedad vascular del injerto. Según este mismo registro de forma general, las causas de muerte principales son la infección (13,9%), las manifestaciones achacables mayormente a la enfermedad vascular del injerto (rechazo crónico y muerte súbita) (12,4%), el fallo multiorgánico (12%) y los tumores (9,4%). El

rechazo agudo solo supone el 3,9% del total de los fallecimientos. Estos datos se resumen en la figura 1.5.



En el Hospital Marqués de Valdecilla el primer trasplante cardiaco se llevó a cabo en 1984. Desde entonces y hasta diciembre de 2013, fecha de finalización del seguimiento, han sido realizados un total de 592 trasplantes cardiacos. La evolución del número de trasplantes realizados queda reflejada en la figura 1.6. La mediana de supervivencia del global de la serie es de 11,8 años (IQR: 1,6 a 19,9 años). La supervivencia a 1, 5 y 10 año es del 77% 66% y 54% respectivamente. La supervivencia de los pacientes ha ido mejorando a lo largo de los años como se muestra en la figura 1.7. que representa las curvas de supervivencia de la serie estratificadas por década de trasplante.

Figura 1.6.

Evolución del número de trasplantes en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla

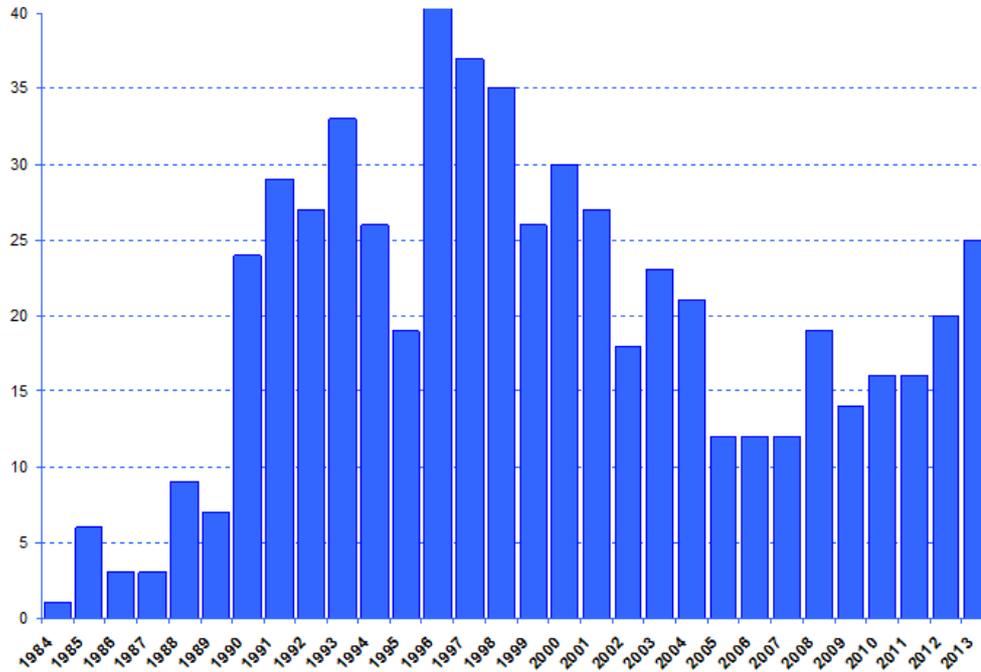
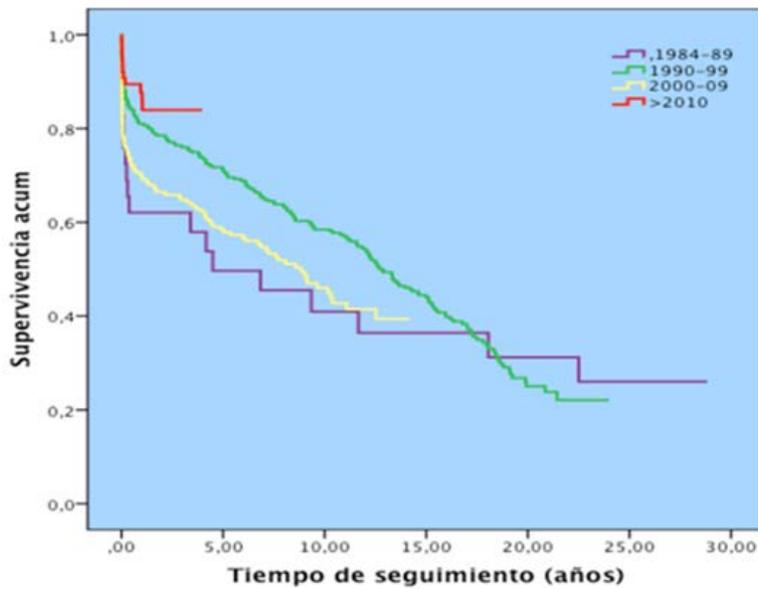


Figura 1.7.

Supervivencia de la serie estratificadas por década de trasplante en el HU Marqués de Valdecilla.



3. El problema del rechazo en los pacientes con trasplante cardiaco

La técnica quirúrgica para la realización del trasplante cardiaco fue desarrollada en sus aspectos fundamentales durante la década de 1960, permitiendo ya entonces su realización con buenos resultados. Sin embargo tras la cirugía la supervivencia de los pacientes se reducía drásticamente debido fundamentalmente al fenómeno de rechazo, convirtiéndose en el problema fundamental a resolver para que la técnica llegase algún día a ser viable. Pese a que su incidencia y gravedad se han reducido conforme ha mejorado el tratamiento inmunosupresor, el rechazo del injerto sigue constituyendo en la actualidad una de las complicaciones más temidas en los pacientes sometidos a trasplante cardiaco.

El rechazo consiste en una reacción inmunológica del receptor frente a antígenos del órgano trasplantado, que son reconocidos como extraños por el sistema inmune del receptor. Con ello se desencadena una respuesta compleja que da lugar a la producción de células citotóxicas y anticuerpos que actúan contra los antígenos del órgano trasplantado provocando su destrucción.

3.1. Clasificación anatomopatológica de los rechazos

Tradicionalmente se clasificaba el rechazo en el trasplante cardiaco en tres tipos: rechazo hiperagudo, rechazo agudo y rechazo crónico. Actualmente esta clasificación se ha abandonado y se distinguen los siguientes tipos:

- **Rechazo hiperagudo**
- **Rechazo agudo celular.**
- **Rechazo mediado por anticuerpos o rechazo humoral.**
- **Rechazo crónico o enfermedad vascular del injerto.**

Rechazo hiperagudo

Es la primera respuesta inmunológica que tiene lugar inmediatamente después de realizarse el trasplante. Se trata de una respuesta inmune humoral mediada por anticuerpos preformados frente a antígenos con los que el receptor ha tenido contacto previo (fundamentalmente de los grupos ABO o HLA).

Este tipo de rechazo da lugar a un daño tisular severo del órgano trasplantado de forma inmediata, cursando desde el punto de vista clínico con un deterioro hemodinámico muy severo y precoz, que conlleva muy mal pronóstico.

Afortunadamente en la actualidad este proceso es excepcional debido a las precauciones que se toman en el período perioperatorio, tanto en la selección de donantes adecuados con antígenos compatibles, como mediante la utilización de terapias de desensibilización.

Rechazo agudo celular

El rechazo agudo celular se produce como consecuencia de una activación de linfocitos T, y da lugar a un infiltrado inflamatorio, en ocasiones focal y otras veces difuso, de células mononucleares, predominantemente linfocitos T, localizado en las zonas peri-vasculares y/o en las fibras miocárdicas. En etapas avanzadas puede acompañarse de necrosis y de fenómenos de vasculitis, infiltrados de polimorfonucleares y hemorragia intersticial. Aunque puede ocurrir en cualquier momento de la evolución del trasplante, es mucho más frecuente en etapas precoces.

Tradicionalmente el diagnóstico de este tipo de rechazo se ha basado en el análisis anatomopatológico de muestras tomadas mediante biopsia endomiocárdica. Inicialmente fueron varias las clasificaciones propuestas para la sistematización de las alteraciones anatomopatológicas encontradas en el rechazo agudo^{13,14}. Por ello, con el fin de unificar los criterios diagnósticos de los hallazgos observados en las biopsias y establecer una gradación pronóstica de los mismos, se creó de forma consensuada en 1990 por parte de un grupo de trabajo de la *International Society for Heart and Lung transplantation* una

clasificación que fue universalmente aceptada y utilizada de forma sistemática ¹⁵. Es importante recalcar que esta clasificación ha sido la que ha estado vigente durante los años en que fueron incluidos nuestros pacientes.

En el año 2004 se revisaron y actualizaron los criterios diagnósticos en un intento de simplificar la clasificación y hacerla más útil desde un punto de vista práctico. En esta nueva clasificación se introdujeron algunos cambios importantes, sobre todo en la nomenclatura de los grados de rechazo menos severos ¹⁶. Ambas clasificaciones quedan reflejadas en la tabla 1.1.

Uno de los aspectos más importantes que desde punto de vista práctico han aportado estas clasificaciones, es que la gradación del rechazo es el factor fundamental que determina el momento en que debe iniciarse el tratamiento agudo de los episodios de rechazo. Esta universalmente aceptado que la detección de rechazos ligeros (correspondientes a los grados 0; 1A; 1B y 2 de la antigua clasificación o 0R y 1R de la clasificación actual), en general no precisan tratamiento, mientras que los rechazos significativos desde el punto de vista anatomopatológico (correspondientes a los grados 3A; 3B y 4 de la antigua clasificación o los grados 2R y 3R de la nueva clasificación) requieren la administración de tratamiento antirechazo agudo.

Es importante resaltar que esta práctica, pese a ser universalmente aceptada y haber constituido la base del tratamiento de los rechazos agudos desde la introducción de la biopsia endomiocárdica, está basada en criterios arbitrarios y avalada exclusivamente por los resultados obtenidos al aplicarla en la práctica, puesto que la elaboración de ambas clasificaciones se llevó a cabo con en base a criterios exclusivamente anatomopatológicos, sin evidencias científicas de su validez a la hora de tomar decisiones terapéuticas, puesto que no existen, hasta el momento actual, estudios clínicos controlados y randomizados que comparen el resultado de diferentes estrategias terapéuticas según los diferentes grados de rechazo anatomopatológico.

Tabla 1.1.

Sistema de gradación del rechazo agudo según la ISHLT.

CLASIFICACION 1990		CLASIFICACION 2005	
GRADO RECHAZO	DESCRIPCION	GRADO RECHAZO	DESCRIPCION
GRADO 0 Si rechazo	<i>Ausencia de infiltrado linfocitario</i>	GRADO 0R Si rechazo	<i>Ausencia de infiltrados</i>
GRADO 1A R. ligero focal	<i>Infiltrado focal (peri vascular o intersticial) sin necrosis miocítica.</i>	GRADO 1R R. ligero	<i>Infiltrado intersticial y/o perivascular con no más de un foco de daño miocítico</i>
GRADO 1B R. ligero difuso	<i>Infiltrado difuso sin necrosis.</i>		
GRADO 2 R. moderado focal	<i>Focos con infiltración agresiva y/o necrosis miocítica.</i>		
GRADO 3A R. moderado multifocal	<i>Focos múltiples con infiltración agresiva y/o necrosis miocítica</i>	GRADO 2R R. moderado	<i>Dos o más focos de infiltrado asociado a daño miocítico</i>
GRADO 3B R. moderado difuso	<i>Proceso inflamatorio difuso con necrosis.</i>	GRADO 3R R. severo	<i>Infiltrado difuso con daño miocítico multifocal, hemorragia y/o edema y/o vasculitis.</i>
GRADO 4 R. severo	<i>Infiltrado polimorfo difuso, agresivo, incluyendo linfocitos, eosinófilos y neutrófilos. Hay necrosis así como edema y hemorragia.</i>		

Rechazo mediado por anticuerpos

Además del rechazo agudo celular, se ha descrito un rechazo cuyo mecanismo se basa fundamentalmente en la producción de anticuerpos dirigidos contra antígenos HLA o endoteliales del donante. Dicha entidad se ha denominado tradicionalmente rechazo humoral o más recientemente rechazo mediado por anticuerpos.

Este tipo de rechazo se puso de manifiesto al observarse la presencia de episodios de rechazo con compromiso hemodinámico importante pero sin evidencia de infiltración celular en la biopsia. Mediante la utilización de técnicas de inmunofluorescencia se observó en estos pacientes la presencia de depósitos de inmunoglobulinas, complemento y fibrinógeno a nivel de la pared vascular ¹⁷.

En el rechazo mediado por anticuerpos están implicados fundamentalmente linfocitos B que se transforman en células plasmáticas, las cuales a su vez producen los anticuerpos responsables de la respuesta inmunológica. Los anticuerpos así formados se unen a los antígenos frente a los que han sido producidos dando lugar a la activación de la cascada del complemento, que a su vez por diversos mecanismos es el responsable del daño tisular.

El mecanismo del rechazo mediado por anticuerpos implica también la activación de vías independientes del complemento, pudiendo activarse células endoteliales, con expresión de moléculas de adhesión que determinan la aparición de infiltrados celulares de leucocitos y plaquetas así como la liberación de citokinas ¹⁸.

La primera definición de rechazo humoral como una entidad independiente del rechazo celular parece ya en el documento de consenso publicado en 1990, basándose el diagnóstico en la presencia de un test de inmunofluorescencia positivo ¹⁵. Posteriormente en el año 2004 la ISHLT publica un nuevo documento de consenso en el que se revisan los criterios diagnósticos y la nomenclatura de esta entidad ¹⁶. Según este documento el diagnóstico de rechazo humoral se basaba en la presencia de daño capilar miocárdico con infiltrado intravascular de macrófagos, edema, hemorragia e infiltrado neutrofílico alrededor de los capilares. El diagnóstico se confirma por la presencia de

inmunofluorescencia positiva o tinción con inmunoperoxidasa para anticuerpos frente a inmunoglobulinas y factores del complemento. En otro artículo posterior la ISHLT estandarizó la metodología para la utilización de las técnicas serológicas, histológicas e inmunopatológicas para el diagnóstico del rechazo humoral ¹⁸. Para el diagnóstico definitivo se requería la presencia de disfunción del injerto y/o demostración de anticuerpos circulantes en conjunción con los datos histológicos e inmunopatológicos encontrados en la biopsia.

En los siguientes años se fueron produciendo importantes avances en la comprensión del mecanismo y en el diagnóstico de esta entidad, lo que llevó a la ISHLT a elaborar un nuevo documento de consenso con una nueva clasificación. La principal novedad de este consenso fue eliminar los criterios clínicos y serológicos para la definición de rechazo humoral ¹⁹.

Basado en este consenso se presenta una nueva clasificación definida en un primer documento en 2011 ²⁰ y posteriormente en otro publicado en 2013 en el que se describen con más detalle y se documentan los criterios utilizados en la definición de cada grado de rechazo ²¹. Esta nueva clasificación está basada en graduar el rechazo humoral en función de la presencia de datos histológicos de rechazo tales como la presencia de lesiones endoteliales, infiltrados celulares, edema y hemorragia intersticial y lesiones vasculares y otros fenómenos inmunopatológicos definidos fundamentalmente por la detección de depósitos de anticuerpos, inmunoglobulinas y diferentes factores del complemento, mediante la utilización de técnicas de inmunohistoquímica o inmunofluorescencia.

En la tabla 1.2. quedan reflejadas tanto la antigua clasificación de 2005 y como los criterios utilizados para la nueva clasificación.

Tabla 1.2.

Sistema de gradación del rechazo humoral según la ISHLT.

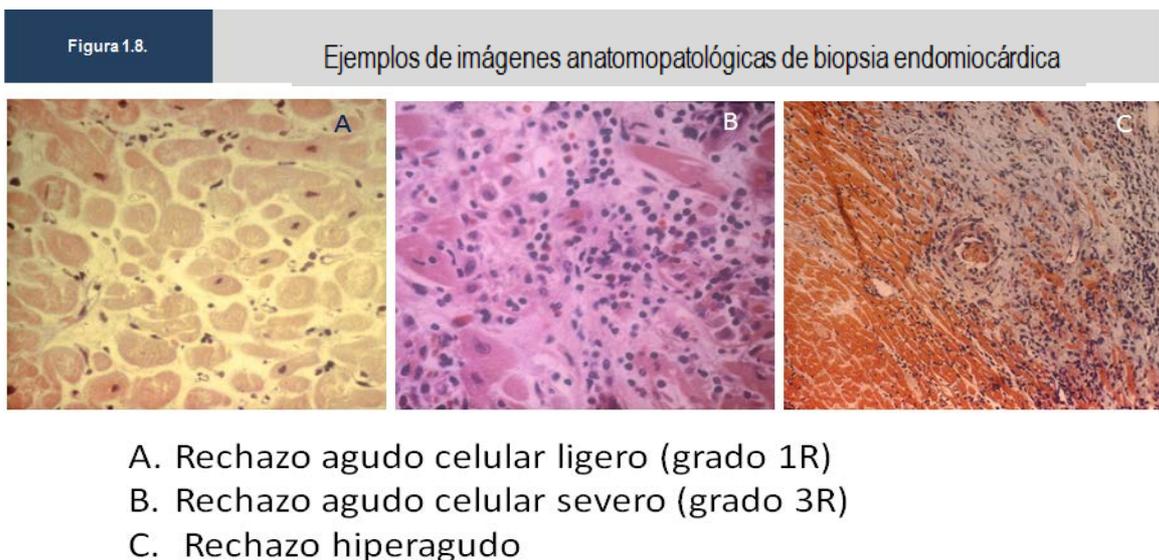
CLASIFICACION 2005		CLASIFICACION 2011/2013	
GRADO RECHAZO	DESCRIPCION	GRADO RECHAZO	DESCRIPCION
AMR 0	<i>Negativo para rechazo mediado por anticuerpos. Ausencia de alteraciones histológicas o inmunitarias Características.</i>	pAMR0	<i>Sin datos de rechazo histológico ni inmunopatológico</i>
AMR 1	<i>Positiva para rechazo mediado por anticuerpo. Alteraciones histológicas características Inmunofluorescencia o inmunoperoxidasas positivas (CD68, C4d)</i>	pAMR1(H+)	<i>Datos histológicos pero no inmunopatológicos</i>
		pAMR1(I+)	<i>Datos inmunopatológicos pero no histológicos</i>
		pAMR2	<i>Datos histológicos e inmunopatológicos</i>
		pAMR3	<i>Cambios muy severos con fragmentación capilar hemorragia intersticial e infiltrados inflamatorios extensos</i>

El rechazo humoral aparece frecuentemente en fases precoces del trasplante, aunque puede también aparecer tras varios años de realizado el trasplante ¹⁸. Afecta preferentemente a mujeres, pacientes con un panel elevado de anticuerpos reactivos en el

screening, cross-match positivo, recipientes seropositivos para CMV y sensibilizados para OKT3 ²². Afecta aproximadamente al 7% de los pacientes trasplantados, y esta típicamente asociado a un peor pronóstico que el rechazo celular, con mayor grado de disfunción, presentando repercusión hemodinámica en casi la mitad de los casos ²³. Se ha asociado también a una mayor frecuencia de vasculopatía del injerto.

El tratamiento es controvertido debido a la ausencia de una evidencia sólida. Un pequeño estudio sugiere una mejoría en los resultados mediante la intensificación o modulación de la inmunosupresión con anticuerpos antilinfocito, corticoides y plasmaféresis ²⁴. Actualmente el tratamiento de esta entidad se basa en la eliminación de los anticuerpos circulantes mediante técnicas de plasmaféresis o inmunoadhesión y en la reducción de la producción de dichos anticuerpos por parte de los linfocitos B con diversos fármacos como inmunoglobulinas endovenosas, anticuerpos monoclonales como el Rituximab.

Durante los últimos años se ha dado mucha importancia a este tipo de rechazo, puesto que es probable que esté presente en muchos episodios de rechazo en los que no se observan lesiones anatomopatológicas de severidad en la biopsia endomiocárdica convencional, pero que cursan con repercusión clínica y hemodinámica severas y que tienen además un peor pronóstico.



Vasculopatía del injerto

La vasculopatía del injerto durante mucho tiempo denominado rechazo crónico, representa junto con los procesos neoplásicos la principal causa de mortalidad de los pacientes a partir del tercer año de trasplante. Puede aparecer tras varios meses o años después del trasplante. Su incidencia Según el registro de la ISHLT es del 9% a 1 año, 34% a 5 años y 48% a 8 años ¹¹.

Se trata de un proceso cuyos mecanismos no son del todo conocidos, habiéndose atribuido tradicionalmente su origen a un daño inmunológico mediado por anticuerpos sobre la pared de los vasos. Actualmente se admite la intervención tanto de procesos de inmunidad celular como incluso de otros factores no inmunológicos ²⁵. En cualquier caso las lesiones vasculares pueden condicionar un progresivo deterioro de la función del injerto que da lugar a un aumento de mortalidad a largo plazo de estos pacientes ²⁶.

Las lesiones coronarias son diferentes a las producidas por la aterosclerosis común, que suele afectar a la porción proximal de los vasos, y ser excéntrica y focal. La vasculopatía del injerto por el contrario se corresponde con un engrosamiento intimal de distribución difusa, concéntrico, sin calcificación de las placas, y que predomina en la porción media y distal de los vasos ²⁷.

Un problema importante con la enfermedad vascular del injerto es que clínicamente es difícil de detectar, dado que el corazón trasplantado, al estar denervado, no manifiesta clínicamente la isquemia igual que un corazón nativo.

El diagnóstico se establece mediante coronariografía y especialmente con la ayuda de ultrasonido intravascular (IVUS); este método estima la enfermedad vascular mediante la medición del máximo grosor intimal (maximal intimal thickness- MIT-) y del índice intimal (medido a partir de las áreas luminal e intimal). Con este método, se ha identificado hasta un 80% de engrosamiento intimal el primer año de trasplante ²⁸. La ecografía endovascular tiene un papel predictor de los resultados a largo plazo, que viene avalado por estudios en los que se demuestra que los pacientes que presentan un MIT mayor a 0,5 mm tienen más

mortalidad, pérdida del injerto, infarto y eventos cardíacos mayores no fatales; asimismo, los que tienen un aumento del MIT sobre 0,5 mm en 1 año (entre 20 y 37%), también presentan similares problemas ^{29,30}.

Para evitar la aparición de estas lesiones se han utilizado varias técnicas. El manejo de la hiperlipidemia con estatinas ha demostrado reducir los niveles de colesterol, reducir la incidencia de enfermedad vascular y mejorar la supervivencia ^{31,32}. En otro estudio también randomizado diltiazem resultó beneficioso en evitar la aparición de vasculopatía del injerto ³³. Finalmente los nuevos agentes antiproliferativos sirolimus y everolimus han demostrado utilidad en la prevención de esta patología al compararlos con inmunosupresión basada en azatioprina ^{34,35}.

En cuanto al tratamiento de la vasculopatía ya instaurada su tratamiento se basa en primer lugar en modificaciones del régimen de inmunosupresión, puesto que se ha visto que intensificándolo se puede evitar que progrese la enfermedad vascular del injerto e incluso inducir su regresión ³⁶. La utilización de sirolimus también ha mostrado ventajas en controlar la vasculopatía ya instaurada ^{37,38}.

Se ha visto que en lesiones susceptibles de tratamiento percutáneo, la angioplastia y especialmente el uso de stents permiten mantener permeables arterias con enfermedad vascular del injerto. Sin embargo, no se conoce su impacto sobre la viabilidad del injerto ni sobre la supervivencia ³⁹. Tampoco se sabe con seguridad cuál es el rol de los stents liberadores de drogas.

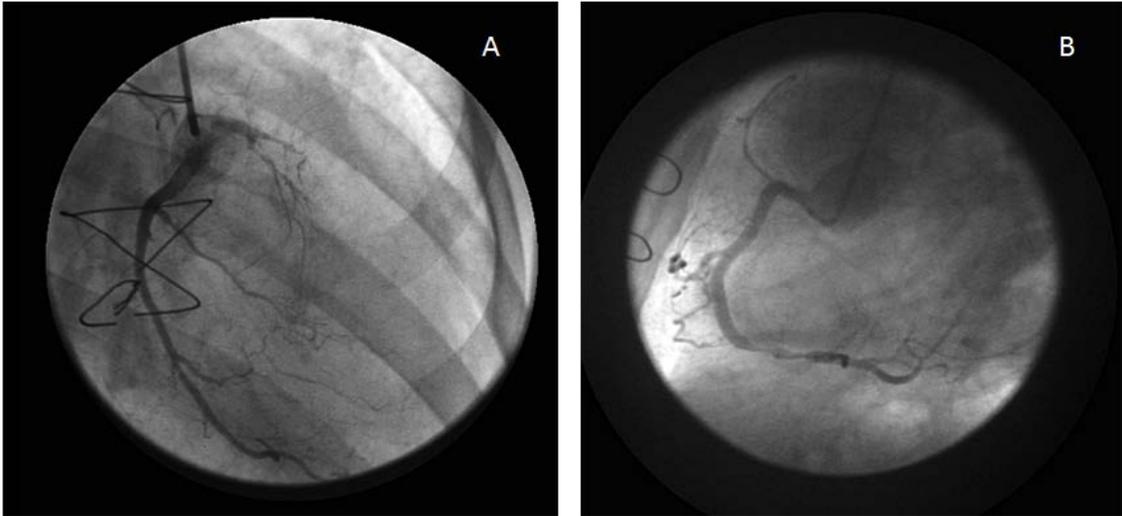
La cirugía de revascularización coronaria se considera una opción solo en casos seleccionados, ya que la naturaleza difusa de la enfermedad vascular del injerto hace poco probable que este tipo de revascularización sea útil ⁴⁰.

En los casos en los que la enfermedad está muy avanzada puede condicionar disfunción importante del injerto e incluso riesgo de muerte súbita pese a estar preservada la función sistólica, debe plantearse la posibilidad de retrasplante.

En las figuras 1.9 y 1.10. muestran algunos ejemplos de vasculopatía tanto en la coronariografía convencional como con técnica intravascular.

Figura 1.9.

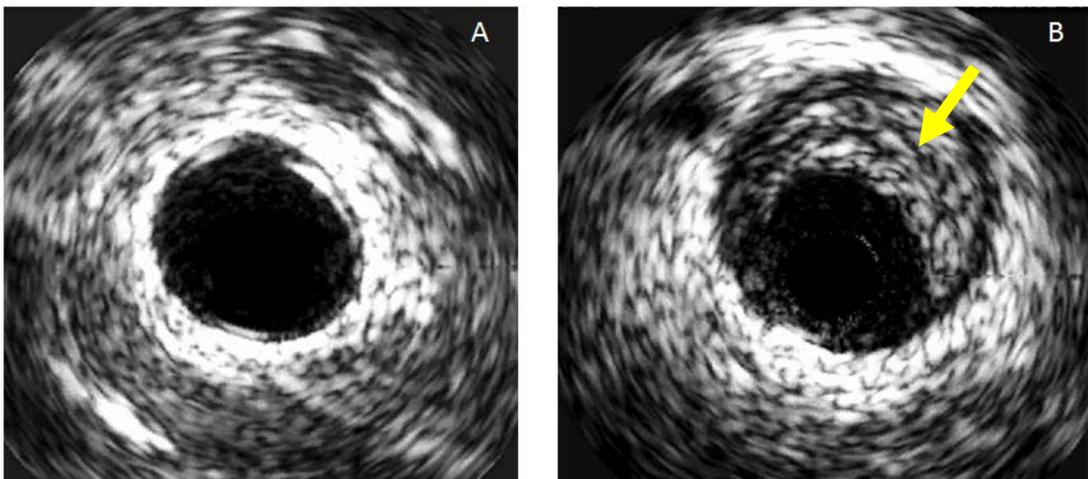
Vasculopatía del injerto, angiografía.



Vasculopatía severa del injerto con obstrucción del la descendente anterior en coronariografía 5º año (A). Vasculopatía severa del injerto con lesión severa en coronaria derecha en coronariografía 5º año (B)

Figura 1.10.

Vasculopatía del injerto, imagen intravascular



Ecografía con IVUS en descendente anterior de paciente con trasplante cardiaco. Inicialmente se observa un ligero engrosamiento intimal difuso (A) y a nivel más distal (B) se detecta una placa estenosante muy excéntrica (flecha)

Relación entre rechazo agudo y vasculopatía

Un punto tradicionalmente fuente de controversia ha sido la posible relación de los episodios repetidos de rechazo agudo con el desarrollo de rechazo vascular a largo plazo. En este sentido se ha especulado sobre el posible efecto deletéreo a largo plazo que los episodios de rechazo no detectado podrían tener sobre la incidencia de vasculopatía del injerto. Aunque la fisiopatología de la vasculopatía no es del todo conocida, algunos autores han relacionado la presencia de rechazo agudo con un aumento a largo plazo de la incidencia de vasculopatía. Varios estudios iniciales encontraron una correlación entre la presencia de vasculopatía precoz del injerto y el número de rechazos celulares significativos detectados en la biopsia durante el primer año ^{41,42}.

Más recientemente este papel del rechazo celular como determinante de la vasculopatía ha sido puesto en duda. Varios autores han puesto de manifiesto que el rechazo mediado por anticuerpos tiene un papel mucho mayor en el desarrollo de vasculopatía del injerto y la mortalidad cardiovascular a largo plazo. Esto, unido al papel de mecanismos autoinmunes y de otro tipo de factores cardiovasculares que también influyen en el desarrollo de esta patología, hace pensar que la incidencia de rechazos agudos tiene un papel marginal en el desarrollo de la vasculopatía del injerto ⁴³.

3.2. Diagnóstico y monitorización del rechazo

El diagnóstico del rechazo ha sido desde los inicios del trasplante cardiaco un tema controvertido. La detección precoz de las lesiones anatomopatológicas han representado la piedra angular de este diagnóstico, incluso antes de que se produzcan manifestaciones clínicas. El papel de otras técnicas es en general secundario y está en la mayoría de los casos por definir.

Pese al avance de las técnicas de inmunosupresión el rechazo agudo sigue representando un problema frecuente en los pacientes sometidos a trasplante cardiaco. Una vez superados los primeros días después del trasplante, en los cuales la principal causa de mortalidad son las complicaciones derivadas de la cirugía y el rechazo hiperagudo, uno de los principales determinantes pronósticos de estos pacientes es el rechazo agudo.

3.2.1. Historia natural del rechazo

El rechazo es un proceso prácticamente universal que aparece en forma de brotes episódicos. Estos brotes son más frecuentes e intensos cuanto más cercanos estamos al momento del trasplante, y van disminuyendo en intensidad y frecuencia a medida que pasa el tiempo. En muchos casos estos episodios se resuelven espontáneamente (probablemente a causa de la inmunosupresión de base).

Cuando aparecen datos de rechazo en una biopsia realizada de forma rutinaria, no puede diferenciarse si este proceso se encuentra en fase de progresión o por el contrario está en regresión. Si el proceso de rechazo estuviera en fase de progresión, tampoco es posible saber si esta progresión va a continuar hasta poner en peligro la función del injerto, o bien se va a estabilizar en algún momento e iniciar espontáneamente la fase de regresión. Algunos episodios de rechazo que no se resuelven espontáneamente, y progresan hacia grados más avanzados, pudiendo llegar a comprometer la función del injerto. Esta situación puede detectarse por ecocardiografía, sin que el hecho de que exista cierto grado de disfunción del injerto implique que el rechazo sea ya irreversible.

Como ya se ha dicho la presencia de rechazo anatomopatológico se considera de forma generalizada como un criterio suficiente para iniciar el tratamiento antirechazo, independientemente de que en realidad no sepamos a ciencia cierta si dicho rechazo va a resolverse espontáneamente o puede incluso estar ya en fase de resolución. Además no existen evidencias que sustenten que iniciar el tratamiento solamente en el momento en que aparecen evidencias de “compromiso” del injerto, independientemente del grado anatomopatológico de rechazo suponga un mayor riesgo para la viabilidad del mismo.

Es decir desconocemos en que momento de la historia natural del rechazo existe posibilidad de comprometer la viabilidad del injerto si no se inicia el tratamiento, y se asume de forma general que hacerlo en fases precoces es fundamental para que el rechazo revierta. Sobre esta premisa se basa la estrategia tanto de monitorización como del tratamiento del rechazo agudo, pese a que, como se ha visto, no existen evidencias sólidas que sustenten la necesidad de un tratamiento precoz del episodio de rechazo.

Por otro lado el tratamiento frente a los rechazos agudos produce un aumento del nivel de inmunosupresión que tiene también efectos secundarios, y por tanto no tratar episodios de rechazo que potencialmente pueden resolverse espontáneamente podría suponer además un beneficio en términos de reducir los efectos perjudiciales derivados de la inmunosupresión.

Patrón temporal de la incidencia del rechazo

La incidencia de rechazo agudo es elevada durante el primer año después del trasplante y una vez rebasado este periodo el número de rechazos agudos se reduce de forma considerable y comienza a desarrollarse el fenómeno de vasculopatía del injerto que es la responsable del tradicionalmente denominado rechazo crónico.

En las series clásicas aproximadamente el 40% de los pacientes trasplantados presentaban un primer rechazo durante el primer mes y el 60% en los seis primeros meses ⁴⁴. Es por tanto en este primer año en el que tiene una especial importancia diagnosticar y tratar adecuadamente estos episodios.

De hecho, se asume que la mitad de los rechazos clínicamente significativos, los que suscitan una actuación terapéutica, ocurren durante el primer mes y casi todos los rechazos restantes se producen en los 6 meses siguientes ⁴⁵. Tras el primer año de trasplante la aparición de rechazo se reduce de forma muy significativa, por lo que las biopsias rutinarias se dilatan en el tiempo o simplemente se suprimen.

Además con los avances producidos en tratamiento inmunosupresor, el número global de rechazos agudos se ha reducido considerablemente durante los últimos años, pasando de un 30% en el primer año entre los años 2004-2006 al 25% entre 2010-2011, según datos del registro internacional de ISHLT ¹¹. Así mismo según datos de este mismo registro, en el momento actual, la mortalidad por rechazo supone aproximadamente un 10% del total hasta que se cumple el primer año de trasplante. Posteriormente la mortalidad por rechazo agudo celular se hace mucho menor, siendo prácticamente testimonial en etapas muy avanzadas del trasplante

Pauta clásica de monitorización del rechazo

Como consecuencia de la distribución temporal de los rechazos más frecuentes en las primeras semanas y progresivamente menos frecuentes a lo largo del primer año, pasando a ser anecdóticos a partir de entonces, se han elaborado calendarios de biopsias rutinarias en los que la frecuencia de estas se ajusta a la distribución de los rechazos agudos. El grupo de Stanford que fue el que introdujo esta técnica durante los años 1980 elaboró un esquema universalmente aceptado y en el que se ha basado la monitorización del rechazo.

Pese a que la tendencia general es reducir el número de biopsias que se llevan a cabo a los pacientes, muchos centros siguen realizando protocolos que implican la realización de un gran número de biopsias sobre todo durante los primeros meses. La tabla 1.3. muestra las actuales recomendaciones establecidas en las últimas guías de la *ISHLT* publicadas en 2010.

Tabla 1.3

Calendario de biopsias propuestas por la ISHLT

Biopsia 1,2,3,4 y 5	Semanalmente
Biopsia 6,7 y 8	Cada 14 días
Biopsia 9 y 10	Cada 3 semanas
Biopsia 11, 12 y 13	Cada 4 semanas
Posteriormente hasta completar el primer año	Cada 5 a 6 semanas

Diversas circunstancias pueden modificar el calendario propuesto, fundamentalmente la frecuencia y la severidad de los rechazos, cambios en la inmunosupresión o las comorbilidades

3.2.2 Diagnóstico clínico del rechazo

Las manifestaciones clínicas del rechazo son muy variables en función de las características del paciente y del grado de severidad del rechazo. Con la utilización de los actuales protocolos de inmunosupresión, gran parte de los rechazos que se producen cursan de forma asintomática.

En algunos casos, pueden asociarse síntomas y signos inespecíficos como disnea, astenia o edemas y en los casos más severos insuficiencia cardiaca franca y semiología de bajo gasto. En ocasiones se producen también alteraciones de laboratorio en forma de leucocitosis, elevación de enzimas hepáticas, CPK o LDH. En la radiografía de tórax pueden apreciarse cardiomegalia o datos de congestión pulmonar. En todo caso las manifestaciones clínicas evidentes aparecen en un porcentaje muy pequeño de pacientes, son inespecíficas y suelen reflejar estadios avanzados de rechazo, asociados a mal pronóstico ⁴⁶.

En todo caso, la incidencia de trastornos hemodinámicos severos durante un episodio de rechazo es baja. Según los datos del registro *Cardiac Transplant Research Database* la incidencia de rechazo con repercusión hemodinámica es del 5% ⁴⁷. Además los episodios de rechazo agudo con compromiso hemodinámico presentaron, según este registro una elevada mortalidad, con supervivencia del 60% a los tres meses en aquellos pacientes con repercusión hemodinámica frente a supervivencias del 95 % en los casos de rechazo sin repercusión hemodinámica. Se observó también en esta serie como la presencia de un grado de rechazo bajo en la biopsia realizada durante el episodio constituye un dato de mala pronóstico a largo plazo, con una supervivencia a los dos años inferior a la de los pacientes con grados avanzados de rechazo.

Tradicionalmente, debido a la gran variabilidad y escasa especificidad de los signos clínicos, así como la idea de que una detección precoz de los episodios de rechazo podría mejorar el pronóstico de los mismos, la clínica no ha sido considerada como un marcador poco sensible de rechazo y por tanto poco adecuado para monitorizar la presencia de rechazo agudo.

Por este motivo se han tratado de utilizar diversos métodos capaces de detectar la presencia de rechazo antes de la aparición de manifestaciones clínicas y hemodinámicas, con la idea de instaurar el tratamiento en las fases más precoces posibles.

Sin embargo, la hipótesis de que, si los episodios subclínicos de rechazo no son detectados muy precozmente y tratados de forma conveniente, el proceso continuará de forma progresiva pudiendo llegar a producir lesiones irreversibles y acabar destruyendo el injerto tampoco ha sido demostrada, e incluso puesta en cuestión por algunos autores ⁴⁸.

3.2.3. Papel de la biopsia endomiocárdica

Introducida a principios de la década de los 70 ⁴⁹, y desarrollada fundamentalmente a partir del inicio de la década de los 80 ⁵⁰, la biopsia endomiocárdica ha sido considerado desde entonces, de forma unánime, el método de elección para el diagnóstico y estratificación pronóstica de los episodios de rechazo agudo, y como uno de los principales avances en la historia del trasplante cardiaco.

Basándose en la distribución temporal del rechazo ⁴⁴, se han creado una serie de protocolos que establecen un calendario de biopsias seriadas. La mayor parte de los protocolos se basan en la realización de biopsias rutinarias que suelen ser semanales durante el primer mes, quincenales durante los meses dos y tres, mensual hasta el sexto mes y bimensual hasta el primer año.

Puesto que tras el primer año de trasplante la incidencia de rechazo es mucho menor, el número de biopsias se reduce drásticamente. Incluso, en muchos programas de trasplante, dejan de realizarse biopsias de forma rutinaria una vez superado el primer año ^{51,52}.

La biopsia endomiocárdica no solo se realiza de forma rutinaria siguiendo los esquemas que hemos descrito anteriormente, sino que también se ha utilizado en otros contextos como:

1. Confirmación del diagnóstico de rechazo en aquellos casos en los que por la clínica u otras pruebas complementarias se sospeche la presencia del mismo.

2. Monitorización de la resolución del episodio de rechazo agudo una vez instaurado el tratamiento inmunosupresor.
3. Control del rechazo tras la retirada de corticoides.
4. Control tras tratamiento concomitante que haya podido modificar la farmacocinética de los fármacos inmunosupresores, y por lo tanto el grado de inmunodepresión del paciente.

Pese a que la biopsia ha sido y sigue siendo el eje central del manejo de los pacientes sometidos a trasplante cardiaco es una técnica con importantes limitaciones (tabla 1.4.)

Tabla 1.4.

Limitaciones de la biopsia endomiocárdica

Relativas a la interpretación

Sensibilidad y especificidad desconocidas

Rechazo mediado por anticuerpos

Variabilidad inter e intra-observador

Técnica "no validada"

Relativas a la técnica

Invasiva

Coste elevado

Complicaciones (Perforación cardiaca Insuficiencia tricúspide)

Muestras limitadas a ventrículo derecho

Rendimiento diagnóstico de la biopsia

Una de las principales limitaciones de la biopsia endomiocárdica es que su rendimiento diagnóstico no se conoce de forma precisa. De hecho se han descrito frecuentes discrepancias entre los resultados de la biopsia y otros marcadores clínicos o ecocardiográficos de rechazo. En las series clásicas, la incidencia de falsos negativos estaba en torno al 5%. Spiegelhalter et al ⁵³, utilizando un modelo matemático a los resultados obtenidos de biopsias con tres muestras diferentes, estiman una incidencia de falsos negativos entre el 2-5%. Precisamente uno de los principales obstáculos para la determinación de la especificidad y sensibilidad de la prueba viene dado por la falta de un patrón oro con el que comparar los resultados.

Zerbe et al ⁵⁴ publican una serie de 15 piezas de corazones trasplantados obtenidos en autopsia, comparando el análisis anatomopatológico de la misma con el resultado de muestras obtenidas con biotomo en diferentes zonas de la pieza anatómica. Comprueban que el número de muestras tenidas en cuenta aumenta considerablemente la sensibilidad de la prueba, de modo que se pasa del 67% cuando solamente se considera una muestra al 98% cuando se analizan las siete muestras obtenidas con biopsia. Sin embargo este aumento en la sensibilidad va asociado a una reducción de la especificidad que pasa del 95% al 80%. Además, como es lógico, la obtención de varias tomas de tejido en diferentes puntos durante el mismo procedimiento puede aumentar la incidencia de complicaciones derivadas de la técnica.

Nakhleh et al ⁵⁵ analizaron los resultados obtenidos en múltiples muestras obtenidas con biotomo en autopsias de 22 pacientes trasplantados comparándolos con los obtenidos mediante el análisis anatomopatológico completo del corazón, que puede considerarse el patrón oro para el diagnóstico del rechazo. La sensibilidad de la biopsia tomando una sola de las muestras de cada corazón fue de solamente el 55%. La sensibilidad mejoró ostensiblemente al considerar 5 muestras diferentes pasando a un 79%, pero seguía existiendo un número importante de muestras normales en pacientes en los que la autopsia había demostrado rechazo. Por lo tanto la naturaleza focal de las lesiones

anatomopatológicas puede condicionar posibles errores de muestreo, que pueden corregirse en parte aumentando el número de muestras obtenidas. Sin embargo siguen sin detectarse un número no desdeñable de rechazos.

Otra posible fuente de falsos negativos podría deberse a la presencia de rechazo vascular o humoral, que no son detectados con la biopsia convencional. Recientemente Subherwal et al ⁵⁶ publican los resultados de una serie de 6113 biopsias realizadas en 487 pacientes durante el primer año de trasplante durante los años 1990 y 2000. Analizan el resultado de la biopsia y comparan los resultados con la presencia de datos clínico ecocardiográficos de rechazo. Mientras que la incidencia de rechazo celular se reduce desde un 54% en los primeros años a un 55 al final del estudio, la presencia de disfunción del injerto no asociado a la presencia de rechazo celular queda estable en torno al 20% a lo largo de los años. Atribuyendo este efecto los autores a la presencia de rechazo humoral.

También se ha puesto de manifiesto el efecto contrario, es decir, la presencia de rechazo anatomopatológico severo y persistente en las biopsias seriadas que no se acompañan de disfunción del injerto ⁵⁷. A esto debe añadirse la gran diferencia Inter-observador para diferenciar entre grado de rechazo 1A y 3A ⁵⁸.

Tradicionalmente, los resultados obtenidos en las biopsias de rutina han sido utilizados para establecer la indicación de tratamiento antirechazo. Existe el acuerdo generalmente aceptado para la intensificación del tratamiento inmunosupresor en todos los rechazos anatomopatológicos por encima del grado 3A. Esta pauta de tratamiento se basa de todos modos en un planteamiento empírico, sin que existan evidencias claras que lo sostengan. De hecho existe cierta controversia en cuanto a la indicación de tratamiento en los rechazos de grado 2, puesto que en muchos casos estos se resuelven espontáneamente manteniendo el mismo nivel de inmunosupresión ⁵⁹. Incluso algunas series han encontrado la resolución espontánea de rechazos moderados en un importante porcentaje de pacientes sobre todo en fases avanzadas del trasplante ^{60,61}.

Complicaciones de la biopsia

La incidencia de efectos adversos significativos varía entre el 1 al 6%, con una mortalidad del 0.03% ⁶². Algunas de las principales complicaciones de esta técnica quedan reflejadas en la tabla 1.5.

Tabla 1.5.	Complicaciones de la biopsia endomiocárdica
Complicaciones precoces	
hemorragias pelvianas (vía femoral),	
diseción de la vena cava superior (vía yugular),	
perforación del ventrículo derecho con taponamiento	
Otras complicaciones menos frecuentes (reacciones vagales, arritmias y trombosis venosa profunda)	
Complicación de aparición tardía	
Insuficiencia tricuspídea por rotura de cuerdas	

Una de las complicaciones más temidas es la perforación cardíaca, cuya incidencia es del 0.42 %. ⁶³. Además la de perforación miocárdica puede en general ser manejada de forma conservadora, siendo excepcional la necesidad de pericardiocentesis o cirugía evacuadora.

Una complicación característica de los pacientes trasplantados a los que se realizan un gran número de biopsias es la aparición de insuficiencia tricuspídea. Su incidencia es muy elevada oscilando según las series entre el 47 y el 98% de los pacientes, pudiendo llegar a ser moderada-severa hasta en un tercio ^{64,65}.

La aparición de insuficiencia tricuspídea severa se asocia generalmente a fallo de coaptación de las valvas, presumiblemente asociada a la lesión provocada por el paso repetido del biotomo a través de la válvula ⁶⁵. Se han propuesto también como factores favorecedores la distorsión del anillo secundaria a la propia intervención quirúrgica, o la presencia de hipertensión pulmonar en el receptor.

Generalmente la insuficiencia tricuspídea es bien tolerada y cursa de forma asintomática. Ocasionalmente sin embargo puede ser hemodinámicamente significativa y requerir el reemplazo quirúrgico de la válvula en hasta un 2% de los pacientes sometidos a trasplante. Generalmente esta cirugía es necesaria en fases tardías y tras la realización de un importante número de biopsias ⁶⁵.

3.2.4. Papel de las técnicas no invasivas en la monitorización del rechazo

La biopsia endomiocárdica ha sido con gran diferencia la técnica más utilizada para la monitorización del rechazo agudo en pacientes sometidos a trasplante cardiaco. Sin embargo se trata de una técnica que, como se ha visto, presenta importantes limitaciones. Debido a estas limitaciones, durante los últimos años se han desarrollado nuevas alternativas en un intento de detectar el rechazo de forma eficaz mediante la utilización de una metodología más sencilla y sin necesidad de realizar maniobras invasivas. En este sentido la ecocardiografía ha sido una de las técnicas más utilizadas, aunque recientemente se han ido introduciendo también otras alternativas

Papel de la ecocardiografía en el seguimiento del rechazo agudo

La monitorización continua del rechazo mediante biopsias seriadas se basa en el concepto de que el rechazo precoz, si se deja a su evolución natural, avanza hasta hacerse de grado severo y puede dañar de forma irreversible la función del injerto. Con este razonamiento, tradicionalmente se ha considerado la monitorización seriada con biopsias endomiocárdicas como el método de referencia (“gold standard”) para la detección del rechazo cardiaco. Sin embargo, además de sus importantes limitaciones, la biopsia

endomiocárdica sólo nos proporciona datos anatomopatológicos del estado del injerto, sin aportar ninguna información funcional del mismo. En este sentido, una de las potenciales ventajas de la ecocardiografía y de otras técnicas de imagen cardíaca, estaría en la detección del rechazo cardíaco de forma no-invasiva, a través de la observación de datos agudos de disfunción del injerto.

Como consecuencia del proceso de rechazo tienen lugar una serie de cambios estructurales en el injerto que pueden ser detectados mediante estudio ecocardiográfico, y que constituyen la base de la utilización de esta técnica para monitorizar el rechazo. El proceso de rechazo comienza con infiltración linfocitaria y edema miocárdico, que desde el punto de vista funcional afecta precozmente a la función diastólica. Si el proceso continúa, finalmente se llega a producir necrosis de miocitos, lo que acaba afectando a la función sistólica ⁶⁶. Ambos procesos pueden ser detectados de forma no-invasiva con ecocardiografía.

Inicialmente aparecen datos de disfunción diastólica que pueden progresar hacia un patrón restrictivo que a veces se acompaña de aumento de la masa ventricular, y si el proceso de rechazo sigue progresando, finalmente acaba en disfunción sistólica. La presencia de datos de disfunción diastólica tiene elevada sensibilidad pero una baja especificidad para detectar los episodios de rechazo mientras que la disfunción sistólica, siendo menos sensible es mucho más específica, especialmente en ausencia de otros datos que pudieran explicarla ⁶⁷.

Se han publicado múltiples estudios intentando correlacionar datos precoces de disfunción diastólica por diversos métodos con la presencia de rechazo, con resultados en algunos casos prometedores. Sin embargo cuando se han analizado estos parámetros de forma global, se aprecia una gran variabilidad entre los estudios, en muchos casos claramente discordantes, por lo que no existe evidencia de que el uso de los índices Doppler en la detección evolutiva del rechazo agudo de forma aislada pueda ser útil ⁶⁸.

La explicación está en que en el paciente trasplantado, aparte de por episodios de rechazo agudo, la función diastólica se puede afectar por múltiples variables ajenas al rechazo reduciendo la especificidad de los índices tomados individualmente. Aunque probablemente aportan información clínicamente útil, actualmente se consideran insuficientes para tomar decisiones clínicas.

Otros parámetros testados para la detección del rechazo han sido los derivados del Doppler tisular. Esta es menos dependiente de las condiciones de llenado y debería por ello ser más sensible y específica que los parámetros Doppler convencionales para la detección de las alteraciones precoces de la función diastólica en el proceso de rechazo. Son varios los estudios que han intentado correlacionar disminuciones de las velocidades diastólicas del anillo mitral con el rechazo agudo pero los resultados han sido bastante inconsistentes y conflictivos. Aunque algunos estudios han encontrado correlación entre disminuciones de la velocidad de la onda e' y el rechazo otros no han sido capaces de confirmar este dato ⁶⁹. En la práctica, el aumento de sensibilidad se acompaña de una especificidad insuficiente, por lo que resulta poco útil para su aplicación clínica ⁷⁰.

Más recientemente, se han utilizado parámetros de deformación ("strain" y "strain rate") que permiten detectar de forma bastante sensible la afectación subclínica de la contractilidad y elasticidad del miocardio, por, lo que deberían resultar ideales para detectar de forma precoz los procesos de infiltración celular, edema y daño en los miocitos propio del proceso de rechazo. Sin embargo, cuando se han aplicado las técnicas de análisis de parámetros de deformación basadas en el Doppler tisular-color, los resultados han sido inconsistentes y poco reproducibles ⁷¹.

Las técnicas de análisis de deformación más modernas basadas en el "speckle-tracking" resuelven muchos de los problemas inherentes a las técnicas basadas en Doppler tisular-color. Por este motivo, esta técnica se considera en la actualidad como la técnica de referencia para detectar alteraciones sutiles o incipientes en la función miocárdica. Recientemente se han publicado diversos estudios aplicando esta técnica en la detección del rechazo. De nuevo, los resultados han sido dispares y mientras algunos autores

encuentran que la combinación de parámetros normales puede ayudar a descartar el rechazo, en otros casos fracasaron en detectar cambios en los diversos parámetros de deformación en pacientes con rechazo asintomático ^{72,73}. En general actualmente se considera que las técnicas de análisis de deformación por “speckle-tracking” muestran cierta correlación con el rechazo anatomopatológico, y su futuro como predictor fiable de rechazo cardíaco parece prometedor, aunque será necesaria más experiencia para poder establecer su papel exacto en la aplicación clínica rutinaria ⁷⁴.

Valor global de la ecocardiografía

En definitiva no existe en el momento actual ningún parámetro ecocardiográfico que haya demostrado una correlación adecuada con la biopsia endomiocárdica. Sin embargo, desde el punto de vista práctico la ecocardiografía juega un importante papel en la monitorización, el diagnóstico y la evaluación de la respuesta al tratamiento del rechazo, y de hecho son las más utilizadas en la práctica clínica diaria.

Tradicionalmente los estudios que han evaluado los parámetros ecocardiográficos lo han hecho utilizando como referencia el rechazo “anatomopatológico”, obteniendo como hemos visto un rendimiento diagnóstico muy variable. Sin embargo, cuando se aplican para la detección del rechazo “clínico”, son mucho más sensibles y sobre todo muy específicas.

En la práctica, se puede asumir que un paciente asintomático y con una buena función sistólica del injerto por ecocardiografía no tiene en ese momento un rechazo clínicamente significativo. También se asume de forma general que un paciente que desarrolla manifestaciones clínicas de insuficiencia cardíaca o disfunción global del injerto, tiene una altísima probabilidad de presentar un rechazo agudo significativo.

Por su rapidez y disponibilidad, la ecocardiografía resulta de gran utilidad en el seguimiento habitual de los pacientes trasplantados, y desde el punto de vista clínico, nos permite tomar decisiones inmediatas en muchos casos. Por ello una gran mayoría de grupos de trasplante utiliza de habitual esta técnica como apoyo a la biopsia para la monitorización del rechazo, así como en la toma de decisiones terapéuticas.

Otras técnicas de monitorización del rechazo

La resonancia magnética puede detectar con mayor precisión aumentos bruscos en la masa ventricular, dato poco sensible pero muy específico de rechazo. Lo mismo ocurre con la función sistólica. Además, con técnicas de cuantificación de los valores de T2 se puede detectar con gran sensibilidad la presencia de edema miocárdico y con técnicas de realce precoz con gadolinio se puede detectar la inflamación. La técnica más utilizada es la cuantificación de T2, aumentada en el rechazo. Se han reportado diversos estudios en animales y en humanos que han demostrado una buena sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de rechazo. Sin embargo, esta técnica tiene ciertos problemas de reproducibilidad y en general adolece de falta de disponibilidad, especialmente para estudios clínicos seriados, motivos por los que no se aplica habitualmente en este contexto en la práctica clínica ⁷⁵.

Otra de las alternativas propuestas para la monitorización del rechazo agudo han sido técnicas basadas en las propiedades electrofisiológicas del injerto. La presencia de rechazo agudo y el daño miocárdico asociado pueden dar lugar a alteraciones en las propiedades eléctricas del tejido miocárdico, que pueden ser puestas de manifiesto por alteraciones del patrón electrocardiográfico o detectadas mediante la modificación de parámetros medidos por marcapasos implantados a los pacientes. Han sido muchos los estudios publicados en este sentido y pese a que algunos estudios iniciales fueron prometedores, los resultados han sido heterogéneos y en todos los casos se ha encontrado una especificidad limitada. Por otro lado supone la implantación de un dispositivo, no exento de complicaciones propias de los marcapasos a largo medio-plazo en pacientes que no requieren en la mayoría de los casos estimulación permanente. Esto ha hecho que salvo grupos muy concretos estas técnicas hayan caído en desuso ⁴⁶.

Recientemente se han desarrollado métodos basados en la monitorización de la respuesta inmune mediante el estudio de la expresión de determinados marcadores génicos de células mononucleares de sangre periférica. De nuevo los resultados son prometedores, aunque serán necesarios estudios más amplios para demostrar su eficacia ⁷⁶.

En definitiva, pese a que en algunos casos los resultados iniciales pueden ser prometedores, ninguno de los test no invasivos descritos en la literatura han demostrado tener un rendimiento diagnóstico adecuado para sustituir a la biopsia endomiocárdica en la detección precoz del rechazo anatomopatológico. De hecho, en el momento actual ninguna de las técnicas no invasivas anteriormente descritas forman parte de la práctica cotidiana de monitorización del rechazo de forma generalizada ⁶⁹.

Esto no es el caso de la ecocardiografía, que presenta una serie de ventajas que la hacen especialmente útil en la práctica habitual. Además, pese a que la evaluación de parámetros ecocardiográficos de forma aislada tiene importantes limitaciones, la utilización del estudio ecocardiográfico de forma global y apoyado en los datos clínicos del paciente tiene un valor diagnóstico incuestionable. Esto ha hecho que en la realidad clínica de muchos de los principales grupos de trasplante, esta técnica se ha convertido en una de las herramientas fundamentales para el seguimiento de los pacientes.

Evolución en nuestro centro de la pauta clásica de monitorización del rechazo

Inicialmente en el Programa de Trasplante Cardíaco del Hospital Marqués de Valdecilla (Santander), se siguió una pauta de monitorización del rechazo basada en la realización de biopsias seriadas según el modelo de Satnford. De este modo se realizaba de manera estricta un calendario fijo de de biopsias similar al descrito por este grupo.

Sin embargo debido a las importantes limitaciones diagnosticas la biopsia y a los inconvenientes relacionados con la incomodidad para el paciente y los problemas logísticos frecuentemente planteados que esta práctica suponía y evaluando la relación riesgo beneficio de este tipo de calendarios, se intentó encontrar algún método complementario con el fin de decidir cuándo era estrictamente necesario realizar una biopsia sin seguir el protocolo de forma demasiado rígida. Con la experiencia acumulada hasta entonces por nuestro grupo, y de forma empírica se planteó un enfoque basado en la monitorización de la función del injerto por ecocardiografía y las manifestaciones clínicas del paciente.

Dicha práctica se puso en marcha a partir de 1990 y consistía en espaciar las biopsias programadas según el esquema clásico de Stanford siempre y cuando el paciente estuviera asintomático y el ecocardiograma no mostrará datos de rechazo.

De este modo se modificó el clásico esquema de monitorización en la que el eje de las decisiones dependía del resultado de las biopsias periódicas a otro en el que la decisión de hacer biopsia o tratar un posible episodio de rechazo dependía de un estricto seguimiento clínico y ecocardiográfico. De este modo el calendario de biopsias dejó de tener una estructura rígida y se adoptó uno más flexible.

Esta práctica representa el eje del presente trabajo y es descrita con más detalle en la sección de Métodos.

3.3. Tratamiento de los episodios de rechazo

El principal problema con el que se ha enfrentado el trasplante cardiaco desde sus orígenes ha sido la severa mortalidad de los receptores en etapas precoces como consecuencia de los fenómenos de rechazo del injerto. Mientras que la técnica quirúrgica estuvo disponible desde etapas muy precoces, el punto de inflexión en la historia del trasplante cardiaco como una técnica aplicable de forma generalizada se produjo gracias al desarrollo de la terapia inmunosupresora, que modulando y reduciendo la respuesta inmune del receptor permitían una supervivencia prolongada del injerto.

El objetivo fundamental que se busca con la administración de los fármacos inmunosupresores es crear una tolerancia a largo plazo del injerto frente al sistema inmune del receptor, consiguiendo paralelamente que el funcionamiento de dicho sistema inmune sea lo más adecuado posible, para evitar así efectos secundarios indeseables. Este objetivo no es siempre sencillo de alcanzar, puesto que una inmunosupresión intensa puede ser responsable de un aumento en la incidencia de infecciones, neoplasias y otros efectos secundarios que repercutirán en un aumento de la mortalidad de los pacientes. Así mismo, una inmunosupresión inadecuadamente baja puede elevar la incidencia de rechazos. Debe tenderse a obtener un balance entre ambos fenómenos que permita evitar el rechazo sin elevar en exceso la incidencia de efectos indeseables.

Los primeros métodos utilizados para el tratamiento del rechazo se basaban en la utilización de radiaciones ionizantes para la destrucción selectiva de las células del sistema inmune. Sin embargo estas técnicas suponían una destrucción temporal del sistema inmune con abundantes complicaciones, fundamentalmente en forma de infecciones, por lo que su uso quedó en el olvido una vez que se desarrollaron otras técnicas farmacológicas menos agresivas.

Pese a que han sido muchos los avances en el terreno de la inmunosupresión en pacientes sometidos a trasplante, todavía en la actualidad no existe un consenso general sobre este tema, siendo relativamente heterogéneos los protocolos utilizados por los diferentes

centros. Los principales tratamientos inmunosupresores utilizados en el tratamiento de los pacientes sometidos a trasplante cardiaco quedan reflejados en la tabla 1.6.

Tabla 1.6.		Principales fármacos inmunosupresores	
Corticoides			
Inhibidores de la calcineurina		Ciclosporina	Tacrolimus
Inhibidores de la síntesis de purinas		Azatioprina	Micofenolato
Inhibidores de la síntesis de mTOR		Sirolimus	Everolimus
Anticuerpos			
Policlonales			
Monoclonales.		OKT3	Daclizumab
			Basiliximab

Los corticoides han sido una de las bases fundamentales en el tratamiento de los pacientes tras un trasplante cardiaco desde sus inicios. Su mecanismo de acción es multifactorial, actuando en la mayoría de los procesos que regulan la respuesta inmune ⁷⁷. Han sido utilizados tanto en terapia de mantenimiento para prevención del rechazo, formando parte de la mayoría de los protocolos de inmunosupresión, como para el tratamiento de los rechazos agudos, constituyendo el tratamiento de primera elección en esta entidad. El principal problema de estos fármacos utilizados de forma crónica es la aparición de numerosos efectos secundarios. En los últimos años se tiende a una progresiva y cada vez más precoz reducción de las dosis de corticoides después del trasplante, llegando en

muchos a casos a la retirada cada vez más precoz de los mismos tras los primeros meses de trasplante. La utilización de protocolos que favorecen la retirada precoz de corticoides ha demostrado que mejora la supervivencia del injerto y reduce el perfil de riesgo cardiovascular de los pacientes ^{78,79}.

Los anticalcineurínicos han sido la base fundamental de la inmunosupresión en los pacientes sometidos a trasplante de órganos sólidos. La introducción de la ciclosporina en los primeros años de la década de los años 1980 ha sido uno de los hitos en la historia de los trasplantes, condicionando de forma decisiva el aumento de supervivencia de los pacientes trasplantados y constituyó un factor fundamental en el definitivo desarrollo y avance de esta técnica ^{81,82}, La dosis de ciclosporina debe ser controlada mediante una monitorización de los niveles de fármaco en sangre debido al bajo índice terapéutico y a las importantes variaciones individuales en su farmacocinética ⁸³.

Tacrolimus es un antibiótico macrolido que actúa de forma muy similar a la ciclosporina ⁸⁴. Los estudios iniciales que compararon la utilización de ciclosporina frente a tacrolimus, mostraron que ambos fármacos presentaban tasas de rechazo y de supervivencia similar pero con una menor tasa de complicaciones para tacrolimus fundamentalmente relacionados con la toxicidad renal. En algún estudio más reciente se ha encontrado una menor tasa de rechazos con tacrolimus, aunque sin mejoría en la mortalidad. Pese a ser por tanto equivalentes en términos de eficacia, su mejor perfil de seguridad ha hecho que en los últimos años la ciclosporina sea progresivamente desplazada por el tacrolimus en los protocolos de inmunosupresión. En todo caso se acepta de forma generalizada que los anticalcineurínicos son el tratamiento estándar en todos los pacientes sometidos a trasplante cardiaco. ^{85,86}.

Los Inhibidores de la síntesis de purinas o antimitóticos constituyen otro de los grupos farmacológicos fundamentales de la inmunosupresión crónica de los pacientes trasplantados La azatioprina fue el primero de estos fármacos en aparecer y desde su introducción ha formado parte de muchos de los protocolos de inmunosupresión que se han ido utilizando, participando en la mejora de la supervivencia de los pacientes tras el

trasplante. El micofenolato es un agente antiproliferativo similar a la azatioprina. En estudios comparativos randomizados, se ha comprobado que el micofenolato presenta una significativa reducción en el número de rechazos y una mejora de la supervivencia a un año con respecto a azatioprina, presentando además un mejor perfil de seguridad ⁸⁷. Algunos autores han señalado también un posible efecto beneficioso de micofenolato sobre la vasculopatía del injerto ⁸⁸. Actualmente ha sustituido a la azatioprina en la mayoría de los protocolos de inmunosupresión y está considerado de primera elección asociado a anticalcineurínicos.

Los inhibidores de señal de proliferación actúan mediante el bloqueo de varias fases de la cascada de activación de los receptores de la interleukina-2. Las potenciales ventajas de este grupo de fármacos son fundamentalmente su ausencia de nefrotoxicidad en comparación a los fármacos anticalcineurínicos y la reducción de procesos neoplásicos de novo. Estos agentes han sido comparados con azatioprina en regímenes de triple terapia, encontrándose una reducción significativa en el número de rechazos, aunque sin repercusión en la mortalidad ⁸⁹. También se ha relacionado a este grupo de fármacos con un posible efecto beneficioso en la vasculopatía del injerto ³⁵. En general su uso viene limitado fundamentalmente por la aparición de efectos secundarios, tales como mielosupresión, mucositis de repetición o neumonitis, que obligan a la retirada del fármaco en hasta un 25% en cuatro años,

A finales de la década de los 70 se produce un nuevo avance en el tratamiento del rechazo con la introducción de anticuerpos policlonales antilinfocitos. Se trata de anticuerpos frente a linfocitos T humanos obtenidos mediante la inoculación de dichos linfocitos en receptores animales, cuyo sistema inmunológico elabora los anticuerpos, que más tarde son purificados del suero del animal receptor. Se han utilizado varios preparados de este tipo, generalmente como tratamientos de inducción. El más utilizado es el derivado de suero murino o Timoglobulina. Con dicho preparado se han demostrado menores tasas de rechazo en el primer año, pero a expensas de un mayor número de infecciones oportunistas. La principal limitación de estos tratamientos es el elevado número de

infecciones, destacando las producidas por citomegalovirus, así como reacciones de hipersensibilidad severas durante su administración debido a que se trata preparados de origen animal.

Más recientemente se han introducido anticuerpos monoclonales de los que el más importante es el OKT3. Se trata de un anticuerpo monoclonal de origen murino frente al receptor CD3 del complejo de activación de los linfocitos T, cuyo bloqueo condiciona la inactivación de las células T citotóxicas. Aunque ha sido utilizado en tratamientos de inducción, ha demostrado una gran eficacia en tratamientos de rescate frente a rechazos agudos persistentes ⁹⁰. La principal limitación del uso de este fármaco ha sido elevado número de efectos secundarios.

En los últimos años han surgido nuevos anticuerpos monoclonales sintetizados mediante ingeniería genética, que actúan contra la cadena alfa del receptor de la interleucina-2 (antígeno CD25), el cual se expresa sobre la superficie de los linfocitos-T como respuesta a estímulos antigénicos. Se trata de basiliximab y daclizumab que han sido utilizados en terapia de inducción como alternativa al OKT3. Estos nuevos fármacos presentan una mejor tolerabilidad y han demostrado reducir el número de rechazos cuando son utilizados como terapia de inducción, aunque los estudios realizados hasta la fecha han mostrado resultados contradictorios y deberán ser corroborados en un futuro por estudios más potentes ^{91,92}.

Regímenes de inmunosupresión tras el trasplante cardiaco

Debido a la historia natural del rechazo y la evolución temporal del mismo la utilización del tratamiento inmunosupresor en el trasplante cardiaco se lleva a cabo en tres ámbitos diferentes:

1. Terapia de inducción.
2. Terapia de mantenimiento.
3. Terapia del rechazo agudo.

La terapia de inducción consiste en la aplicación preventiva y precoz de tratamiento inmunosupresor citolítico en la fase hiper aguda del trasplante. La utilización de estas terapias se basa en asumir que el riesgo de rechazo es máximo en los momentos inmediatamente posteriores al trasplante. A pesar de que existe una amplia experiencia en la utilización del tratamiento de inducción en el trasplante cardiaco su utilización sigue siendo controvertida, puesto que no existen hasta el momento grandes ensayos clínicos controlado y prospectivo que permitan establecer una indicación definitiva de la terapia de inducción. La utilización es variable de unos centros a otros de manera que aproximadamente el 50% de los centros que realizan trasplante utilizan este tipo de terapia de forma rutinaria en adultos ¹¹. En general se asume que dicho tratamiento debe ser individualizado y aplicado solamente en determinadas situaciones.

Mientras que la terapia de inducción, no es universalmente aceptada, la terapia de mantenimiento constituye la piedra angular del tratamiento inmunosupresor. En este caso el objetivo crear una tolerancia a largo plazo del injerto frente al sistema inmune del receptor, consiguiendo paralelamente que el funcionamiento de dicho sistema inmune sea lo más adecuado posible, para evitar así efectos secundarios indeseables. Como hemos visto disponemos de un amplio arsenal de tratamientos que pueden ser utilizados de diversas maneras. En general los regímenes de inmunosupresión han mejorado sus resultados como consecuencia tanto de la mejora en los inmunosupresores, así como la adecuación de las dosis en función de las necesidades en cada momento.

Puesto que el rechazo sigue una evolución temporal bastante predecible durante el primer año, con una incidencia máxima en los primeros meses, que se reduce de manera muy significativa a lo largo del primer año, se asume que en las primeras etapas del trasplante debe utilizarse regímenes de inmunosupresión más agresivos que pueden ir reduciéndose progresivamente en función de la evolución del paciente.

Aunque no existen evidencias sólidas que avalen ninguna pauta inmunosupresora sobre otras, por lo general se asume que el tratamiento de mantenimiento inicial debe basarse

en una triple terapia que incluya: un anticalcineurínico asociado a micofenolato o a un inhibidor de la síntesis de mTOR y a tratamiento corticoideo.

Del mismo modo se asume que los niveles de inmunosupresión deben ir en descenso a lo largo del primer año. En general se recomienda una reducción progresiva de las dosis de anticalcineurínico, basada en la monitorización de sus niveles plasmáticos, que se reducen progresivamente durante los primeros seis meses para quedar estabilizados a partir de entonces.

Con respecto a los corticoides, a pesar de que tampoco existen evidencias sólidas, se acepta la supresión de los mismos incluso dentro de los 6 primeros meses de trasplante en función de la presencia de efectos secundarios y de los episodios de rechazo ⁹³. Esta práctica viene avalada por estudios observacionales en los que se consigue una alta tasa de supresión completa de los corticoides sin que con ello se modifique de forma significativa la mortalidad por rechazo. En todo caso aún está por determinar en qué momento y a qué ritmo debe realizarse la retirada de corticoides, puesto que no existen datos en la literatura suficientes como para establecer cuál de las dos estrategias es mejor ⁹⁴.

En definitiva se asume que los niveles de inmunosupresión deben ser los menores posibles y las pautas más recientes tienden a reducir los niveles de inmunosupresión basándose en la historia natural del rechazo, pese a que no existen evidencias sólidas que avalen ningún régimen en concreto.

Con respecto al tratamiento de los episodios de rechazo agudo tradicionalmente se ha basado en la administración de bolos endovenosos de corticoides, aunque existen varias opciones terapéuticas adicionales, cuyo uso depende del estado clínico del paciente y de los hallazgos anatomopatológicos. Pese a ser una recomendación universalmente aceptada de nuevo se hace en base a la experiencia acumulada, sin que existan evidencias sólidas sobre cuál debe ser el régimen más adecuado o la dosis a administrar.

En pacientes asintomáticos en los que se detecta rechazo agudo en la biopsia se acepta un tratamiento basado en un aumento de los niveles basales de inmunosupresión o con dosis

orales de corticoides, aunque en muchos casos también se recurre a bolos endovenosos de corticoides a menor dosis ⁹⁵. En grados moderados de rechazo en muchos casos se acepta incluso no realizar ningún tratamiento y extremar el control clínico y/o anatomopatológico.

Los episodios de rechazo agudo con repercusión hemodinámica son tratados generalmente con bolos de corticoides, recurriendo a tratamiento citolítico, plasmaferesis o inmunoglobulinas cuando no se ha producido una respuesta adecuada al tratamiento corticoide inicial o cuando la repercusión hemodinámica es severa. Cuando los episodios de rechazo son humorales la pauta es similar aunque se tiende a ser más agresivo.

En conclusión, el tratamiento inmunosupresor constituye la base tanto del mantenimiento del injerto tras el trasplante como del tratamiento de los episodios de rechazo agudo. A pesar de la mejoría en estos tratamientos, la utilización de nuevos fármacos no ha demostrado en ningún ensayo randomizado un efecto directo sobre la supervivencia de los pacientes, incluso en aquellos casos en los que el número de rechazos se ha reducido.

Los episodios de rechazo agudo son tratados mediante bolos de corticoides, consiguiéndose por lo general buenas respuestas y una alta tasa de resolución. La base de este tratamiento así como de la monitorización de los resultados del mismo es la biopsia endomiocárdica. Pese a que de forma generalizada se recomienda el tratamiento de los rechazos asintomáticos, incluso cuando solamente son moderados, no existe ninguna evidencia que abale esta práctica y de hecho muchos autores la han puesto en cuestión.

No debe olvidarse además que se trata de fármacos con niveles importantes de toxicidad, y que la inmunosupresión en si misma puede condicionar importantes efectos deletéreos en los pacientes, por lo que debe buscarse un equilibrio que permita mantener la viabilidad del injerto con el menor nivel de inmunosupresión posible.



FUNDAMENTOS E HIPOTESIS

1. Papel de la biopsia seriada como método de monitorización del rechazo agudo en el trasplante cardiaco

La realización de biopsias endomiocárdicas seriadas es el paradigma sobre el que se basan los protocolos de monitorización del rechazo en pacientes sometidos a trasplante cardiaco. El seguimiento de los pacientes tras un trasplante cardiaco se basa en la realización de biopsias rutinarias seriadas en el tiempo, encaminadas a una detección precoz de los episodios de rechazo para un tratamiento lo más precoz posible.

Esta estrategia universalmente aceptada se organiza temporalmente siguiendo un “calendario de biopsias”, que fue elaborado en los inicios de la introducción de esta técnica por el grupo de Stanford, basándose en la distribución temporal de los episodios de rechazo a lo largo del tiempo. El modelo de Stanford constituye la base para organizar el régimen de biopsias en la inmensa mayoría de los grupos de trasplante. Pese a ello, este modelo se basa en la práctica habitual y no está sustentado por evidencias científicas firmes. No existe ningún ensayo aleatorizado y controlado que haya comparado un acercamiento basado en biopsias con otros modelos en los que no se realicen biopsias seriadas.

Sin olvidar las ventajas que supuso la incorporación de la biopsia endomiocárdica en el manejo de los pacientes, sobre todo durante el primer año, la tendencia actual ha sido de

forma más o menos generalizada, intentar reducir el número de biopsias realizadas a los pacientes. Para ello se han investigado múltiples técnicas alternativas, sin que ninguna de ellas haya conseguido un rendimiento diagnóstico adecuado para sustituir a la biopsia.

Por otro lado la estrategia de realizar biopsias seriadas de forma rutinaria se basa en el principio, tampoco demostrado, de que un tratamiento lo más precoz posible de los episodios de rechazo puede repercutir en el pronóstico a corto y largo plazo del injerto. De nuevo este principio se basa en conocimientos empíricos y entra en conflicto con algunos de los datos que conocemos sobre la historia natural de los episodios de rechazo. En realidad no está claro cuando es el mejor momento para decidir iniciar dicho tratamiento y si hacerlo de forma precoz mejora el pronóstico de los pacientes.

Por tanto pese a ser una práctica universalmente aceptada, y constituir en la actualidad el paradigma del seguimiento de los pacientes esta estrategia se basa en evidencias poco consistentes.

2. Limitaciones de la biopsia como método de seguimiento del rechazo

La principal limitación de la biopsia como método diagnóstico para el rechazo agudo es precisamente su dudosa validez diagnóstica. La falta de un “*gold standard*” de comparación dificulta su evaluación, pero aun así tanto su sensibilidad como su especificidad han sido puestas en duda en numerosas ocasiones, cuestionando su idoneidad como método de *screening* para la detección del rechazo.

Además en el rendimiento diagnóstico de los programas de biopsias seriadas es escaso en la era de los modernos inmunosupresores por ser muy baja la tasa de biopsias positivas que se encuentran en el seguimiento, sobre todo en etapas tardías del trasplante.

Además Los protocolos de seguimiento con biopsias seriadas suponen la realización de forma rutinaria de un elevado número de procedimientos, sobre todo en fases precoces del trasplante y no debemos olvidar que la biopsia endomiocárdica es un procedimiento

invasivo que puede producir complicaciones, y cuya realización supone la necesidad de una serie de medios e infraestructuras que complican y encarecen el seguimiento de los pacientes.

3. Limitaciones de la biopsia para guiar el tratamiento del rechazo

El seguimiento mediante biopsias seriadas supone además la base sobre la que se asienta el tratamiento de los eventos de rechazo agudo. Una de las principales justificaciones para seguir este tipo de protocolos se basa en el principio según el cual el tratamiento de los episodios de rechazo debe ser lo más precoz posible. Esto conlleva una serie de consecuencias prácticas que podrían ser negativas para el seguimiento de los pacientes:

- En primer lugar la realización de múltiples biopsias rutinarias supone la detección de un elevado número de rechazos subclínicos sin repercusión sobre la funcionalidad del injerto, cuya trascendencia en el pronóstico de los pacientes es poco conocida.
- Esto a su vez redundaría en un incremento en el número de rechazos tratados y por tanto en la inmunosupresión que reciben los pacientes, sin que exista seguridad de que ello modifique positivamente la evolución del injerto a largo plazo.

4. Alternativas a la biopsia como método de monitorización del rechazo

Teniendo en cuenta las limitaciones e inconvenientes de la biopsia para la monitorización del rechazo, se ha planteado la posibilidad de utilizar otras técnicas diagnósticas con el objeto de limitar el número de biopsias, así como para facilitar el proceso de toma de decisiones sobre el tratamiento del rechazo ante un evento concreto.

Sin embargo ninguna técnica individualmente ha conseguido hasta el momento resultados suficientemente concluyentes como para sustituir de forma generalizada a la biopsia como método de *screening*.

5. El control clínico ecocardiográfico como alternativa a las biopsias seriadas

Dentro de las posibles alternativas en este sentido, la ecocardiografía constituye una de las técnicas que más se ha utilizado para complementar la monitorización del rechazo. En general los parámetros ecocardiográficos basados en la detección de disfunción diastólica, tal y como sucede con otras técnicas no invasivas, son insuficientemente específicos para una aplicación clínica generalizada. Sin embargo la utilización de criterios ecocardiográficos de rechazo de menor sensibilidad pero más específicos asociados a la valoración conjunta de parámetros clínicos podría utilizarse como método de monitorización del injerto para determinar el momento en que sea necesario hacer la biopsia.

La falta de sensibilidad de la ecocardiografía para diagnosticar rechazos en fase muy precoz que sí podrían ser detectados mediante biopsia ha sido el principal motivo para no considerar esta técnica como una alternativa a la biopsia. Sin embargo esta limitación se hace en base al presupuesto de la necesidad de tratar todos los rechazos detectados por la biopsia, lo cual, como ya se ha dicho está basado en argumentos empíricos sin que existan evidencias firmes que lo demuestren e incluso ha sido puesto en entredicho.

Además no debemos olvidar que se trata de una técnica no invasiva, sencilla, accesible y barata que la hace especialmente atractiva como técnica de screening.

5.1. Argumentos que sustentan el uso de un control clínico ecocardiográfico como técnica de *screening* en el trasplante cardiaco

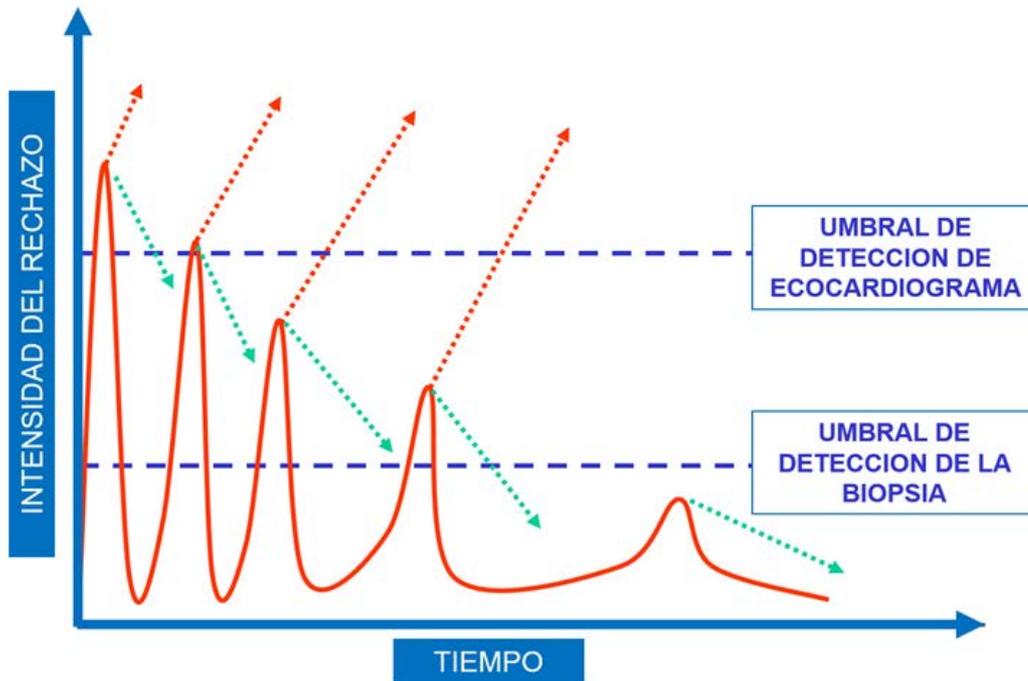
La alternativa propuesta como hipótesis de trabajo de este estudio consiste en fundamentar el seguimiento del rechazo en la realización de estudios ecocardiográficos seriados que monitoricen la función del injerto.

La formulación de esta hipótesis está basada en una serie de premisas teóricas que pueden resumirse en los siguientes puntos:

1. El rechazo es un proceso prácticamente universal cuya historia natural es en forma de brotes episódicos. Estos episodios son más frecuentes e intensos cuanto más cercanos estamos al momento del trasplante, y van disminuyendo en intensidad y frecuencia a medida que transcurre el primer año.
2. Muchos de estos episodios se resuelven espontáneamente (probablemente a causa de la inmunosupresión de base). Sin embargo, cuando hacemos una biopsia y encontramos datos de rechazo, no podemos saber si este proceso se encuentra en fase de progresión o por el contrario está en regresión. Si el proceso de rechazo estuviera en fase de progresión, tampoco podemos saber si esta progresión va a continuar hasta poner en peligro la función del injerto, o bien se va a estabilizar en algún momento e iniciar espontáneamente la fase de regresión (figura 2.1.).
3. Aquellos episodios de rechazo que no se resuelven espontáneamente, y que por tanto progresan hacia grados mayores, llegan a comprometer en algún momento la función del injerto. Esta situación puede detectarse por ecocardiografía, sin que el hecho de que exista cierto grado de disfunción del injerto implique que el rechazo sea ya irreversible.
4. Al situar nuestro umbral de tratamiento del rechazo en el punto de «compromiso» ecocardiográfico del injerto, evitamos tratar innecesariamente todos aquellos rechazos que se van a resolver espontáneamente (bien porque no van a seguir avanzando o porque de hecho ya estaban en regresión en el momento del diagnóstico).

Figura. 2.1.

Representación gráfica de la evolución de los episodios de rechazo (explicación en el texto).



5.2. Potenciales beneficios de una monitorización basada en la ecocardiografía

Los beneficios que cabrían esperarse de esta monitorización y por tanto la justificación para ponerla en marcha son:

1. Por una parte la reducción del número de biopsias que quedaría limitado a aquellos casos en que existiese una causa para hacerlo, reduciendo al máximo su realización exclusivamente "rutinaria".
2. La realización de un menor número de biopsias debería suponer una mayor comodidad para el paciente por verse liberado de una prueba invasiva con sus potenciales complicaciones y que además requiere ingreso hospitalario. Puede

suponer la liberación de los recursos del propio programa de trasplante necesarios para realizar la prueba y una reducción del gasto derivado de la misma.

3. Finalmente esta estrategia podría tener la ventaja de reducir la morbilidad y mortalidad por infecciones sin que por ello aumentara la mortalidad por rechazo, derivadas del tratamiento “innecesario” de rechazos detectados por biopsia y que no se pondrían de

Debe por ello quedar claro que al menos inicialmente no se pretende la sustitución completa de la biopsia por la ecocardiografía como método de seguimiento del rechazo. Se trata de utilizar ambas técnicas de forma complementaria, de manera que la realización o no de estudio anatomopatológico venga condicionado por el resultado previo de la ecocardiografía.

La génesis de esta hipótesis debe entenderse desde la perspectiva de un contexto clínico específico que es el programa de trasplante cardiaco de nuestro hospital. La estructura organizativa del Programa de Trasplante Cardiaco de nuestro hospital ha permitido desde prácticamente sus inicios, que el seguimiento de los pacientes se halla realizado por un grupo homogéneo de cardiólogos, con la particularidad de ser especialistas en trasplante cardiaco y a la vez expertos ecocardiografistas.

Tras la instauración de nuestro programa de trasplante se estableció un sistema de seguimiento de los pacientes trasplantados basado en un control clínico con monitorización del rechazo mediante biopsias seriadas que se acompañó de seguimiento ecocardiográfico del injerto, realizándose este de forma seriada y por los propios miembros del equipo.

A medida que aumentaba la experiencia se fue poniendo de manifiesto que en muchos casos era posible monitorizar el rechazo mediante el control ecocardiográfico de la función del injerto y la clínica del paciente. En muchos de los episodios de rechazo no era necesario esperar al resultado de la biopsia endomiocárdica para la toma de decisiones tanto diagnósticas como terapéuticas.

Con estas premisas, se fue reduciendo progresivamente el número de biopsias que se realizaba a los pacientes, mediante la anulación de aquellas previamente programadas según el protocolo, pero en las que los datos clínicos y ecocardiográficos indicaran una muy baja probabilidad de rechazo. De forma gradual se fue comprobando que esta estrategia no parecía repercutir de forma negativa en el pronóstico, en la mortalidad, o en el número de rechazos hemodinámicamente significativos de estos pacientes.

Lo que inicialmente era una actitud empírica y poco sistematizada, se fue convirtiendo poco a poco en una estrategia bien definida en la que se realizaba a los enfermos un seguimiento basado en la realización de controles clínicos y ecocardiográficos y en la que el papel de la biopsia quedaba reducido a aquellos casos en los que tras la aplicación de esta técnica quedaran dudas razonables acerca de la posibilidad de rechazo.

6. Hipótesis

Nuestra hipótesis de trabajo es por tanto que, dadas las limitaciones del seguimiento con biopsias seriadas tras un trasplante cardiaco, y teniendo en cuenta las potenciales ventajas de un seguimiento ecocardiográfico, es posible, en la práctica diaria, utilizar una estrategia de monitorización del rechazo basada en parámetros clínico/ecocardiográficos.

Esta hipótesis se basa en que no está demostrado que en la historia natural del rechazo la detección de episodios anatomopatológicos, sin afectación funcional del injerto, deriven necesariamente hacia grados severos e irreversibles de rechazo. Es decir, sería cuestionable el concepto de que un diagnóstico anatomopatológico precoz tenga realmente ventajas pronosticas. Por ello podría ser suficiente con diagnosticar y tratar los episodios de rechazo únicamente ante datos de repercusión funcional del injerto, sin que esto repercuta de forma negativa en su evolución.



OBJETIVOS

1. Objetivo principal

El objetivo fundamental de este estudio es demostrar que una estrategia de monitorización basada en un control clínico ecocardiográfico puede ser una alternativa a la monitorización basada en biopsias seriadas que habitualmente ha venido realizándose por la mayor parte de los grupos de trasplante cardiaco, y que su implantación no repercute negativamente en la evolución y el pronóstico de los pacientes.

2. Objetivos específicos

2.1. Demostrar que la introducción de esta estrategia de monitorización, repercute en una reducción significativa en el número de biopsias realizadas a los pacientes.

2.2. Demostrar que la reducción de biopsias no repercute negativamente en la evolución de los rechazos. Se valorará

- a. La incidencia de rechazos con repercusión hemodinámica.
- b. La mortalidad por rechazo durante este primer año.

2.3. Demostrar que esta estrategia no tiene una repercusión negativa sobre los pacientes a largo plazo. Se valorará:

- a. La incidencia de vasculopatía del injerto.
- b. La supervivencia actuarial a largo plazo.
- c. Las causas de mortalidad general y por rechazo a largo plazo.

IV

MATERIAL,
METODOLOGÍA Y
DISEÑO

Para demostrar la posibilidad de monitorizar el rechazo de los pacientes sometidos a trasplante cardiaco mediante un seguimiento basado en la ecocardiografía, diseñamos un estudio descriptivo en el que se analiza retrospectivamente la cohorte de pacientes sometidos a trasplante cardiaco de forma consecutiva en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla durante un periodo de once años.

El periodo seleccionado para inclusión de los pacientes se estableció en base a la incorporación durante esos años y de forma progresiva de una nueva metodología en el seguimiento de los pacientes por parte del grupo de trasplante de nuestro hospital. Durante estos años los datos de los pacientes fueron recogidos prospectivamente en fichas diseñadas para la monitorización y recogida de datos referentes a episodios de rechazo y biopsias e incluidas en una base de datos creada a tal efecto.

Este diseño tiene su origen en la metodología adoptada por el grupo de trasplante, que decidió a finales de la década de los 80, la introducción de un protocolo de seguimiento del rechazo basado en la utilización de la ecocardiografía seriada de forma complementaria a la biopsia con el fin de conseguir una reducción progresiva en el número de biopsias realizadas. Durante la década de los 90 se fue incorporando esta metodología para quedar

finalmente implantada de forma completa a principios de la década de los 2000. Para la evaluación de los resultados se decidió crear una base de datos específica que es la que se ha tomado como base para realizar este estudio. Se estableció como fecha final del seguimiento a largo plazo el uno de enero de 2013.

1. Sujetos del estudio

1.1. Criterios de inclusión

Los pacientes entraron en el estudio atendiendo a los siguientes criterios de inclusión:

Pacientes sometidos a trasplante cardiaco en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla entre el 1 de enero de 1992 y el 31 de diciembre de 2003.

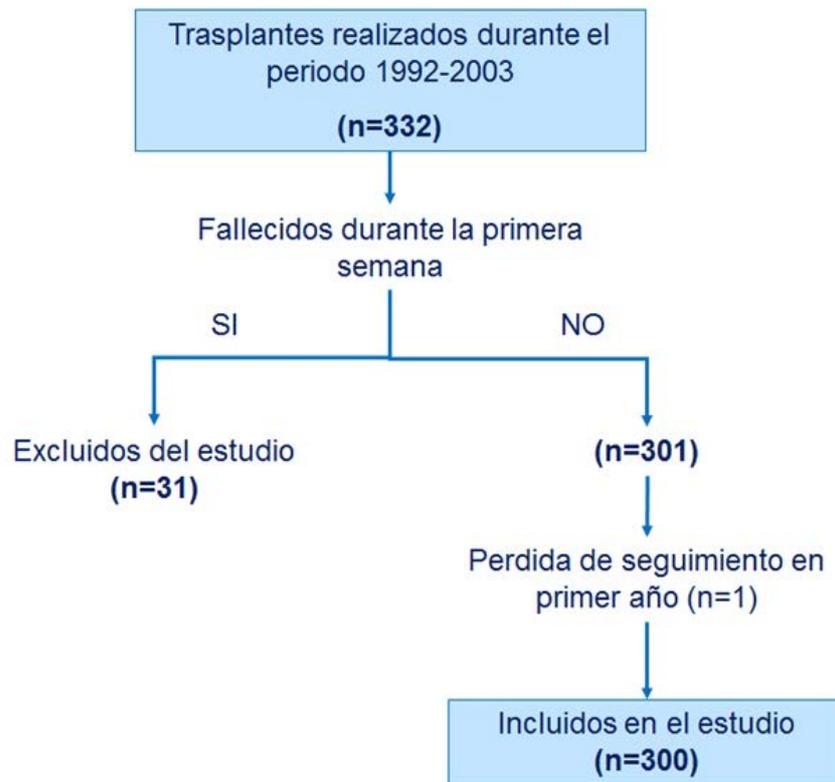
1. Presentar una supervivencia superior a una semana tras el trasplante. Se excluyen por tanto los pacientes fallecidos durante la primera semana de trasplante, teniendo en cuenta que no se realizan biopsias rutinarias durante este periodo, y que la mortalidad durante el mismo depende fundamentalmente del efecto provocado por la mortalidad quirúrgica inmediata y la mortalidad derivada de rechazo primario hiperagudo del injerto.
2. Haber cumplido seguimiento completo en nuestro centro durante el primer año, o hasta el momento de la muerte en aquellos pacientes fallecidos durante el primer año.

1.2. Características de los pacientes seleccionados.

Durante el periodo de inclusión del estudio se realizaron un total de 332 trasplantes cardiacos en nuestro de los cuales fueron incluidos en el estudio 300 trasplantes, 31 pacientes fueron excluidos por fallecer durante la primera semana y otro por perderse su seguimiento durante el primer año (figura 4.1.).

Figura 4.1.

Esquema de inclusión de los trasplantes en el estudio



Todos los pacientes fueron sometidos a trasplante cardiaco ortotópico. Diez de los procedimientos fueron retrasplantes, siendo el resto de los pacientes trasplantados por primera vez. De los diez pacientes sometidos a retrasplante en siete el primer procedimiento fue realizado con anterioridad al periodo de inclusión, mientras que tres pacientes habían sido incluidos ya previamente en su primer trasplante, por lo que finalmente son incluidos 300 trasplantes en 297 pacientes.

Las características más relevantes previas al trasplante de los pacientes incluidos en el estudio se muestran en la tabla 4.1.

Tabla 4.1		Características de los pacientes incluidos en el estudio.
Edad (años)		52 ± 11
Sexo, varón (%)		260 (86%)
Grado funcional previo al trasplante		
	II	6 (2%)
	III	117 (39%)
	IV	177 (59%)
Grupo sanguíneo		
	A	148 (49.4%)
	B	21 (7%)
	AB	13 (4.3%)
	O	118 (39.3%)
Fracción de eyección en % (media ± SD)		19 ± 7
Índice cardiaco (media ± SD)		2 ± 0.54
Resistencias vasculares pulmonares en U. Wood (media ± SD)		2.5 ± 1.4
Peso medio en Kg (media ± SD)		72 ± 14
Talla media en cm (media ± SD)		169 ± 11
Índice de masa corporal (media ± SD)		26.3 ± 15.5
Patología asociada previa al trasplante		
Hipertensión arterial		83 (27.6%)
Diabetes mellitas		17 (5.6%)
Insuficiencia renal		37 (12.3%)
Hipercolesterolemia		80 (26.6%)
Enfermedad pulmonar obstructiva		70 (23.3%)
Vasculopatía periférica		27 (9%)
Citomegalovirus (+)		176 (58%)

La causa más frecuente para la realización del trasplante fue la cardiopatía isquémica (46.5%), seguida de la miocardiopatía dilatada (30.5%). El resto de pacientes fue trasplantado por otras causas que quedan reflejadas en la tabla 4.2.

Tabla 4.2.

Patología que motivo el trasplante cardiaco..

Miocardiopatía dilatada idiopática	89 (30.5%)	
Cardiopatía isquémico	139 (46,5%)	
Miocardiopatía valvular	31 (10%)	
Miocardiopatía hipertrófica	7 (2%)	
Rechazo/Fallo primario	10 (3%)	
Otras	24 (8%)	
Miocardiopatía alcohólica		4
Miocardiopatía por antineoplásicos		5
Miocarditis		4
Amiloidosis		4
cardiopatía congénita		3
Miocardiopatía postparto		1
Miocardiopatía restrictiva		3

En todos los casos se realizó trasplante cardiaco ortotópico. El trasplante fue exclusivamente cardiaco en todos salvo en un paciente en que se realizó trasplante renal asociado. Otros datos relevantes asociados a la realización del trasplante quedan reflejados en la tabla 4.3.

Tabla 4.3.

Datos asociados al trasplante.

Características del donante

Edad (media \pm SD)	34.2 \pm 13
Peso (media \pm SD)	72.8 \pm 13.6
Talla (media \pm SD)	172.1 \pm 8.8
Índice de masa corporal (media \pm SD)	24.5 \pm 3.7

Causa de muerte del donante

Accidente cerebro-vascular	91 (30.3%)
Etiología traumática	127 (42.3%)
Otras causas	18 (6%)
Desconocida	64 (21.4%)

Trasplante urgente	82 (27%)
Tiempo de isquemia en minutos (media \pm SD)	167 \pm 51
Técnica bicava	98 (32.7%)
CEC previa	75
DAI previo	27
Tratamiento con amiodarona	73
Tratamiento inotrópico previo	94
Asistencia ventricular previa	4

2. Seguimiento

Se analiza retrospectivamente la evolución de los pacientes durante el primer año de trasplante, puesto que es durante este periodo cuando tiene mayor relevancia la incidencia de rechazo agudo y por tanto la realización de biopsias seriadas.

Para ello se revisan todos los eventos clínicos, las biopsias, los resultados de las ecocardiografías y la medicación inmunosupresora hasta completarse la revisión al primer año de cada paciente.

Además de este análisis exhaustivo del primer año se analiza la mortalidad y la presencia de coronariopatía del injerto hasta la finalización del seguimiento del paciente ya sea por fallecimiento, por pérdida de seguimiento o por haberse completado la fecha final de seguimiento del estudio.

2.1. Seguimiento clínico

Todos los pacientes sometidos a trasplante cardiaco en nuestro centro son seguidos en una consulta de Cardiología específica establecida para dicho fin. Dicha consulta está dotada de forma permanente de un cardiólogo especializado en el control de estos pacientes y con formación ecocardiográfica.

La periodicidad de las consultas se establece en función de la evolución clínica del paciente, aunque de forma general se establece un control semanal tras el alta hasta el primer mes, quincenal hasta el tercer mes, mensual hasta el sexto mes e individualizado en función de la evolución clínica después del sexto mes.

En cada una de estas visitas se realiza un control clínico del paciente incluyendo una anamnesis y exploración física general que incluye control de peso, tensión arterial y frecuencia cardiaca. Así mismo se realiza un control analítico en el que se incluyen estudio de función renal, iones, perfil hepático y lipídico, hemograma y niveles de fármacos inmunosupresores.

En todos los controles se realiza estudio ecocardiográfico según se especifica más adelante y se programa la posibilidad de realizar biopsia endomiocárdica que se llevará a cabo según el programa de biopsias que también se analiza más adelante. La realización de estudios adicionales se decide en función de la evolución clínica del paciente.

En caso de detectarse rechazo se procede al tratamiento del mismo y en caso contrario el paciente es citado para la siguiente visita. En cada una de las visitas se ajusta la medicación inmunosupresora en función de la evolución del injerto y de los parámetros analíticos y niveles de fármacos.

Todos los datos clínicos de cada una de las visitas realizadas por los pacientes quedan reflejados en una ficha individual para cada paciente independiente de la historia clínica (anexos 1 y 2). En dicha ficha se incluyen los datos clínicos relevantes, los resultados de las analíticas rutinarias, las mediciones ecocardiográficas, todos los tratamientos que toma el paciente incluyendo las dosis y los niveles de inmunosupresores. Además dichas fichas refleja los datos correspondientes a todos los episodios de ingreso de los pacientes, quedando anotados los resultados de las pruebas complementarias realizadas durante dicho ingreso.

Al finalizar el primer año se realiza una revisión en la que además de las pruebas habituales incluye estudio hemodinámico con coronariografía y biopsia endomiocárdica, Estudio Holter, ergometría convencional y radiografía de tórax.

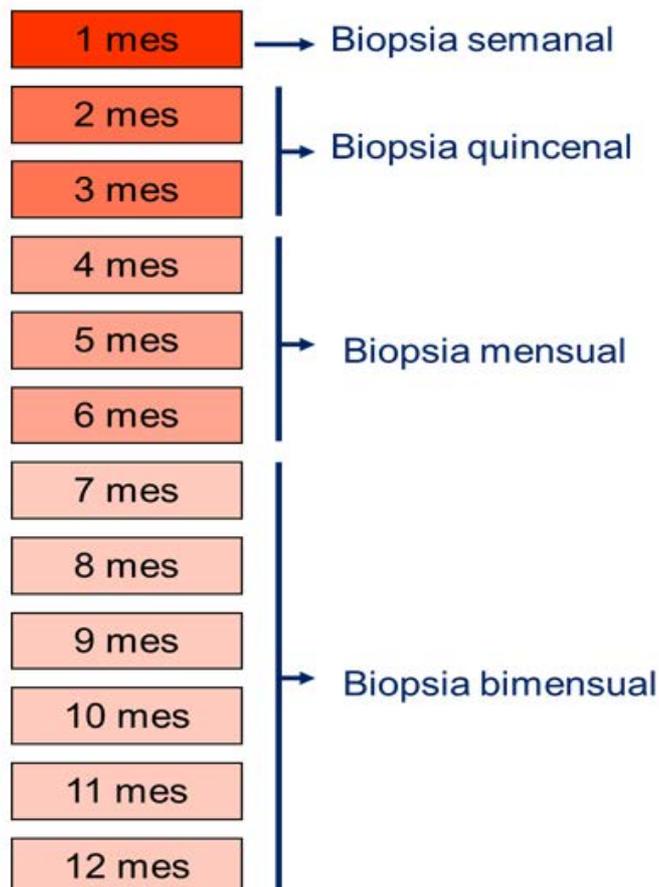
Superado el primer año de trasplante se realizan revisiones cuatrimestrales durante el segundo año y semestrales a partir del tercer año en función de la evolución clínica del paciente. Dichas revisiones incluyen en todos los casos anamnesis y exploración, analítica, electrocardiograma y ecocardiografía. Las revisiones anuales se completan con la realización de estudio Holter y ergometría. Se realiza estudio hemodinámico con coronariografía de forma rutinaria en las revisiones del tercer, quinto y décimo año. No se realizan de forma rutinaria biopsias endomiocárdicas a partir de la revisión del primer año.

2.2. Seguimiento anatomopatológico

Inicialmente se venía siguiendo en nuestro centro un programa de biopsias seriadas consistente en la realización de una biopsia semanal durante el primer mes, quincenal durante los meses dos y tres, mensual hasta el sexto mes y bimensual a partir del sexto mes en función de la evolución clínica (figura 4.2.). Aunque se trata de un esquema arbitrario es similar al que se realiza en la mayor parte de grupos de trasplanta cardiaco. Con este esquema se pretende detectar de forma precoz todos los episodios de rechazo durante el primer año, periodo de tiempo en que aparecen con mayor frecuencia.

Figura 4.2.

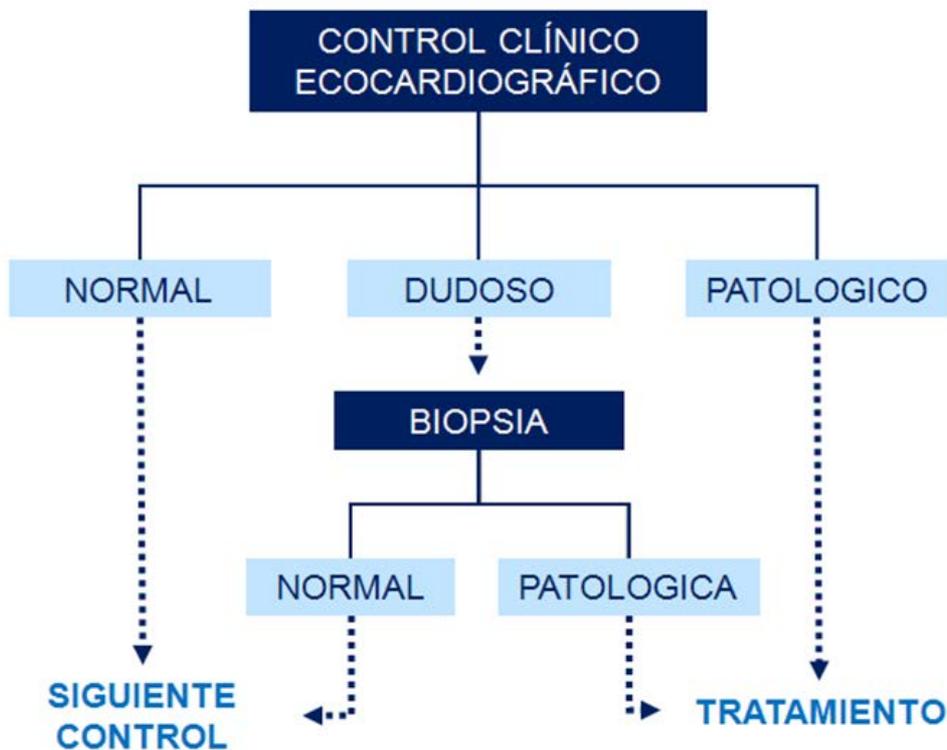
Esquema del calendario de biopsias durante el primer año



Este esquema se fue flexibilizando a medida que el programa de trasplantes acumulaba mayor experiencia, de manera que la frecuencia de las biopsias se alteraba en función de la evolución clínica y ecocardiográfica del paciente. Si no existían datos patológicos las biopsias se espaciaban, reduciendo el número global de las que se llevaban a cabo. Por otro lado, en aquellos casos en los que los datos clínicos y ecocardiográficos sugerían de forma clara la presencia de rechazo, se procedía al tratamiento del mismo sin necesidad de confirmación anatomopatológica. Con el paso del tiempo y tras comprobar que la vigilancia clínica y ecocardiográfica de los pacientes permitía en muchos casos prescindir de la biopsia, se fue progresivamente reduciendo el número de las que se hacían de forma rutinaria. Por lo general la biopsia quedó supeditada a la clínica y al control ecocardiográfico de la función del injerto, reservándose su realización a aquellos casos en los que existían dudas diagnósticas (figura 4.3.).

Figura 4.3.

Algoritmo básico del manejo de los pacientes guiado por ecocardiografía



Aspectos técnicos de la biopsia

La obtención de las muestras para biopsia endomiocárdica se realizó mediante acceso venoso yugular derecho o a través de la vena femoral derecha. Para la cateterización a través de vía subclavia se utiliza introductor Cordis 7F de 43 cm montado sobre cateter pig-tail que es retirado al entrar en ventrículo derecho colocándose posteriormente biotomo Cordis 7F de 50 cm con cazoleta de 5.3 mm³. Se extraen 4-6 fragmentos del endocardio ventricular derecho en la zona próxima a la porción apical del septo ventricular derecho. Para el acceso femoral se utiliza un introductor transeptal para adultos 8F Medtronic de 60 cm, retirando la vaina e introduciendo un biotomo 7F de 104 cm Cordis con cazoleta de 5.2 mm³. En ambos casos el procedimiento se realiza mediante control con fluoroscopia, obteniendo las muestras en la zona apical o septal del VD.

Todos los fragmentos deben ser remitidos al laboratorio para su estudio, incluso aquellos que pudieran parecer grasa o coágulos.

Cada pieza debe tener al menos un 50% de miocardio, de lo contrario la muestra se considerará inadecuada⁴⁵. No es apropiado sumergir el tejido en suero fisiológico, puesto que pueden producirse artefactos en las células, ni dejar el tejido sobre grasa o papel de filtro. El método de estudio habitual de las muestras se realiza mediante estudio con microscopía óptica. No obstante en casos seleccionados también son utilizados técnicas de inmunofluorescencia.

Inmediatamente después de su obtención, se sumergen las muestras de tejido obtenidas en una solución de formol al 10% tamponado (tampón fosfato) a temperatura ambiente y son transportados al laboratorio de anatomía patológica.

Las muestras son procesadas con técnica estándar e incluidas en bloque de parafina. Del bloque de parafina se realizan secciones múltiples de 4mm de espesor. Se cortan varias secciones al menos de tres profundidades y se colocan sobre 3 portaobjetos que se tiñen con hematoxilina eosina y uno con tricrómico de Masson. Con el tejido sobre parafina, en

caso necesario se pueden realizar técnicas de inmunoperoxidasa con anticuerpos específicos y PCR para detección de infecciones oportunistas.

En caso de que se considere necesaria la realización de técnica de inmunofluorescencia por las características clínicas del paciente, se reserva una pieza en fresco y se remite inmediatamente al laboratorio de Anatomía patológica en una gasa humedecida con suero fisiológico.

Se considera que el análisis de tres fragmentos constituye una muestra representativa para detectar rechazo.

Las muestras fueron clasificadas según de la ISHLT del año 1990 ¹⁵, que era la que se encontraba vigente durante los años en que fueron realizados los procedimientos a los sujetos del estudio. Ver tabla 1.1.

2.3. Seguimiento ecocardiográfico

Con la misma periodicidad con que se programan las biopsias en los esquemas clásicos, se realiza en nuestro centro una monitorización ecocardiográfica de los pacientes. Los estudios ecocardiográficos son realizados por el mismo cardiólogo que lleva a cabo el control clínico del paciente, perteneciente al equipo de trasplante y con experiencia en ecocardiografía.

Para la obtención de los estudios ecocardiográficos se utilizaron un ecógrafo Agilent modelo Sonos 500 y Sonos 4500 con transductor Agilent s3.

Todos los estudios fueron registrados en cintas de video individuales para cada paciente. Ello permite la comparación seriada de los diferentes estudios realizados en cada una de las ocasiones en que el paciente es controlado.

Se realizó en todas las revisiones un estudio ecocardiográfico, que incluye la determinación de al menos siguientes parámetros:

- Diámetros sistólicos y diastólicos, grosor de pared posterior del ventrículo izquierdo y del septo interventricular medidos en ECO modo-M;
- Cuantificación global y segmentaria de la contractilidad de ambos ventrículos con cálculo de la fracción de eyección ventricular izquierda;
- Detección y cuantificación de derrame pericárdico;
- Medición de diámetro de la vena cava inferior por vía subxifoidea.

La realización de determinaciones complementarias dentro del estudio ecocardiográfico se estableció de forma individual según las características clínicas del paciente en ese momento, a criterio del médico que realizaba la exploración.

Se definieron previamente unos criterios para la definición de rechazo ecocardiográfico que están reflejados en la tabla 4.5.

Tabla 4.5

Criterios ecocardiográficos de rechazo

Disfunción sistólica definida por:

- fracción de eyección < 50% o
- caída de la fracción de eyección < 10 puntos con respecto a control previo.

Aumento de grosor de paredes (septo + pared posterior > 4 mm) con respecto a control previo

No se valoran parámetros Doppler de forma rutinaria.

La determinación de la fracción de eyección se lleva a cabo combinando el método cuantitativo descrito por quiñones et al ⁹⁶ sin corrección para la contractilidad apical, con una estimación visual ⁹⁷.

2.4. Monitorización de la vasculopatía del injerto

El seguimiento de la enfermedad vascular del injerto se realizó mediante un programa de coronariografías seriadas. Dichos procedimientos se llevaron a cabo de forma rutinaria siguiendo el esquema anteriormente expuesto. También se realizó coronariografía cuando se ponía de manifiesto la presencia de isquemia en alguna prueba no invasiva o si se producía una caída en la función del injerto que no pudiese ser explicada por la presencia de rechazo.

Las lesiones coronarias encontradas en la angiografía fueron rutinariamente clasificadas según el esquema propuesto por la *Cardiac Transplant Research Database* ⁹⁸. Dicha clasificación establece tres grados de lesión: ligera, moderada o severa en base a la lesión

más severa encontrada en cada uno de los segmentos coronarios analizados y en función de la afectación del tronco de la coronaria izquierda, los vasos principales y las ramas (tabla 2.6).

Tabla 4.6		Clasificación de la coronariopatía del injerto (ver texto).		
Grado de vasculopatía	Tronco común	Vaso principal	Ramas	
LIGERO	≤50%	lesión más severa ≤70%	Estenosis aislada de una rama >70% o cualquier lesión	
MODERADO	50-70%	lesión >70% en un solo vaso	Estenosis aislada >70% en ramas de dos sistemas	
SEVERO	>70%	dos o más vasos con lesiones >70%	Estenosis aislada >70% en los tres sistemas	

El término vaso principal hace referencia a la porción proximal o tercio medio de la descendente anterior izquierda o la arteria circunfleja; o cuando la coronaria derecha es dominante o codominante a la totalidad del vaso hasta la salida de la arteria descendente posterior, incluida la cruz. Se definen como ramas las arterias diagonales, las marginales obtusas, el tercio distal de cualquiera de los vasos principales y cualquier lesión en una coronaria derecha no dominante.

2.5. Protocolo de inmunosupresión

La medicación inmunosupresora utilizada durante el periodo de tiempo en que fueron incluidos los pacientes se basaba fundamentalmente en un protocolo de “triple terapia” con ciclosporina, azatioprina y corticoides.

La inmunosupresión se puede estructurar en tres fases: una inicial de inducción, la terapia de mantenimiento crónico y el tratamiento de los episodios de rechazo agudo.

Como terapia de inducción, se comenzó con ciclosporina a una dosis de 3 a 5 mg por Kg de peso ajustándose la dosis a la función renal, y azatioprina a dosis de 2 a 3 mg por Kg.

De forma crónica se mantuvo de manera indefinida una triple terapia inmunosupresora con ciclosporina a dosis ajustada a la función renal del paciente y manteniendo niveles plasmáticos de fármaco en un rango entre 100 y 350 ng/ml dependiendo del tiempo transcurrido desde el trasplante. Se asoció azatioprina manteniéndose a una dosis de 2-3 mg por Kg de peso titulada en función del recuento leucocitario, y prednisona que se administra en pauta descendente según la evolución del paciente hasta su total supresión si esta evolución lo permite. En caso de toxicidad por ciclosporina estaban previstos protocolos de conversión a tacrolimus y a rapamicina. En caso de aparecer efectos secundarios de azatioprina se utilizó micofenolato de forma sustitutiva.

Como tratamiento estándar del rechazo agudo se instaura tratamiento mediante corticoides endovenosos a altas dosis (500-1000mg de metilprednisolona endovenosa cada 24 horas durante tres días en función de la severidad del rechazo). En caso de deterioro hemodinámico severo o ante la falta de respuesta al tratamiento con corticoides, se utiliza OKT3 a dosis de 5 mg diarios durante 10-14 días. Se contempla la posibilidad de tratamiento oral con esteroides a dosis más bajas (1mg/Kg de peso durante tres días en pauta descendente) en caso de rechazos sin repercusión hemodinámica.

3. Recogida de datos

La obtención de los datos referentes al seguimiento de los pacientes se realizó mediante el análisis retrospectivo de la ficha de seguimiento de cada uno de ellos (ver anexo 1 y 2).

Los datos obtenidos fueron completados y contrastados con:

- La historia clínica, analizando los datos clínicos obtenidos de las notas de evolución que hacían referencia a los eventos clínicos asociados al seguimiento, así como los datos analíticos y exploratorios de cada revisión. Así mismo se analizaron todos los episodios de ingreso del paciente contenidos en la historia clínica del paciente durante el primer año.
- Los resultados de las **ecocardiografías** fueron obtenidos de los informes incluidos en la ficha de seguimiento y del análisis de las grabaciones de video individuales en caso de ser necesario.
- Los **episodios de rechazo** fueron categorizados en base a los datos clínicos contenidos en la historia clínica y/o la ficha individual, así como los obtenidos del resultado de la biopsia, contrastándolo con el informe emitido por el Servicio de Anatomía patológica.
- Para establecer el **grado de coronariopatía** se complementó la información de la historia clínica con la recogida en los informes emitidos por el Servicio de Hemodinámica, y fueron analizadas todas las coronariografías realizadas al paciente durante el periodo de seguimiento para evaluar la presencia de coronariopatía del injerto.
- Para completar los datos referentes a la **terapia inmunosupresora**, incluyendo las dosis de los fármacos y los niveles plasmáticos de los mismos, se contrastaron los datos obtenidos de la ficha individual de cada paciente con los informes emitidos por el servicio de farmacología clínica.

- Para el análisis de la **mortalidad** de los pacientes haciendo especial hincapié en la etiología del mismo, se utilizaron los datos de la ficha y la historia clínica, que fueron completados con informes clínicos de otros hospitales o consultas telefónicas a los médicos responsables en caso de que el evento que produjo la muerte tuviera lugar en otro hospital.

Todos los datos referentes a cada paciente fueron incluidos en una ficha que reflejaba:

- 1- Los datos de filiación y epidemiológicos de los pacientes.
- 2- Los datos referentes al trasplante.
- 3- Los eventos significativos durante el primer año de seguimiento.
- 4- La presencia de coronariopatía y la mortalidad durante todo el tiempo de seguimiento.
- 5- Todos estos datos fueron incluidos en una base de datos Access, en el que quedaron reflejados cada una de las variables analizadas en cada paciente.

En la tabla 4.7. se definen los criterios para la definición de los eventos clínicos.

tabla 4.7.	Definición de los eventos
Evento hemodinámico:	Presencia de alteraciones hemodinámicas significativas y/o signos de insuficiencia cardiaca que requirieron tratamiento inotrópico
Evento ecocardiográfico	Presencia de alguno de los datos ecocardiográficos considerados como sugerentes de rechazo agudo (tabla 2.5.)
Evento anatomopatológico	Presencia en una biopsia con un grado de rechazo superior o igual a IIIa.

Se consideró evento de rechazo agudo todo aquel que hubiese requerido la administración de tratamiento inmunosupresor agudo. Se clasificaron los rechazos en función de la causa que condicionó el tratamiento (la situación clínica y hemodinámica del paciente, el resultado de la ecocardiografía, el resultado de la biopsia, o una combinación de alguna de ellas). Se define rechazo hemodinámico como aquel en el que se produce una reducción de la FE por debajo del 30%, una reducción superior al 25% de la FE basal o la necesidad de tratamiento inotrópico.

Se estableció además una clasificación de las biopsias que queda reflejada en la tabla 2.8.

tabla 4.8.	Definición de las biopsias
Biopsia rutinaria	Previamente programadas sin que existiera ningún dato previo sugerente de rechazo.
Biopsia de confirmación por sospecha clínico-ecocardiografica	Realizadas para confirmar la presencia de rechazo sospechado por la presencia de datos clínicos, y/o ecocardiográficos.
Biopsia de control tras episodio de rechazo	Realizadas para valorar la evolución de un rechazo después de haber instaurado tratamiento.

4. Análisis de mortalidad

Para el análisis de mortalidad se compararon los datos los 300 pacientes incluidos en nuestra serie con 3280 pacientes pertenecientes al Registro Español de Trasplante Cardíaco (RETC) y correspondientes al mismo periodo cronológico de nuestro estudio (1998-2003). Se excluyen los pacientes fallecidos durante la primera semana, al igual que se había hecho

en la serie de nuestro centro. Los datos del RETC fueron obtenidos a través de su responsable (Dr. González Vílchez), de acuerdo con la normativa establecida por la Sección de Insuficiencia Cardíaca y Trasplante de la Sociedad Española de Cardiología.

4. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa informático SPSS en su versión 11.5.

Se realizó un análisis descriptivo de la serie utilizando estimadores de tendencia central (media y mediana) y de variabilidad (desviación estándar) para las variables cuantitativas continuas. Las variables categóricas fueron presentadas como porcentaje.

La supervivencia se analiza mediante curvas de supervivencia calculadas mediante el test de Kaplan-Meier y la comparación entre ellas, con el método de log rank test. Se consideraron diferencias significativas valores de $p < 0,05$.



RESULTADOS

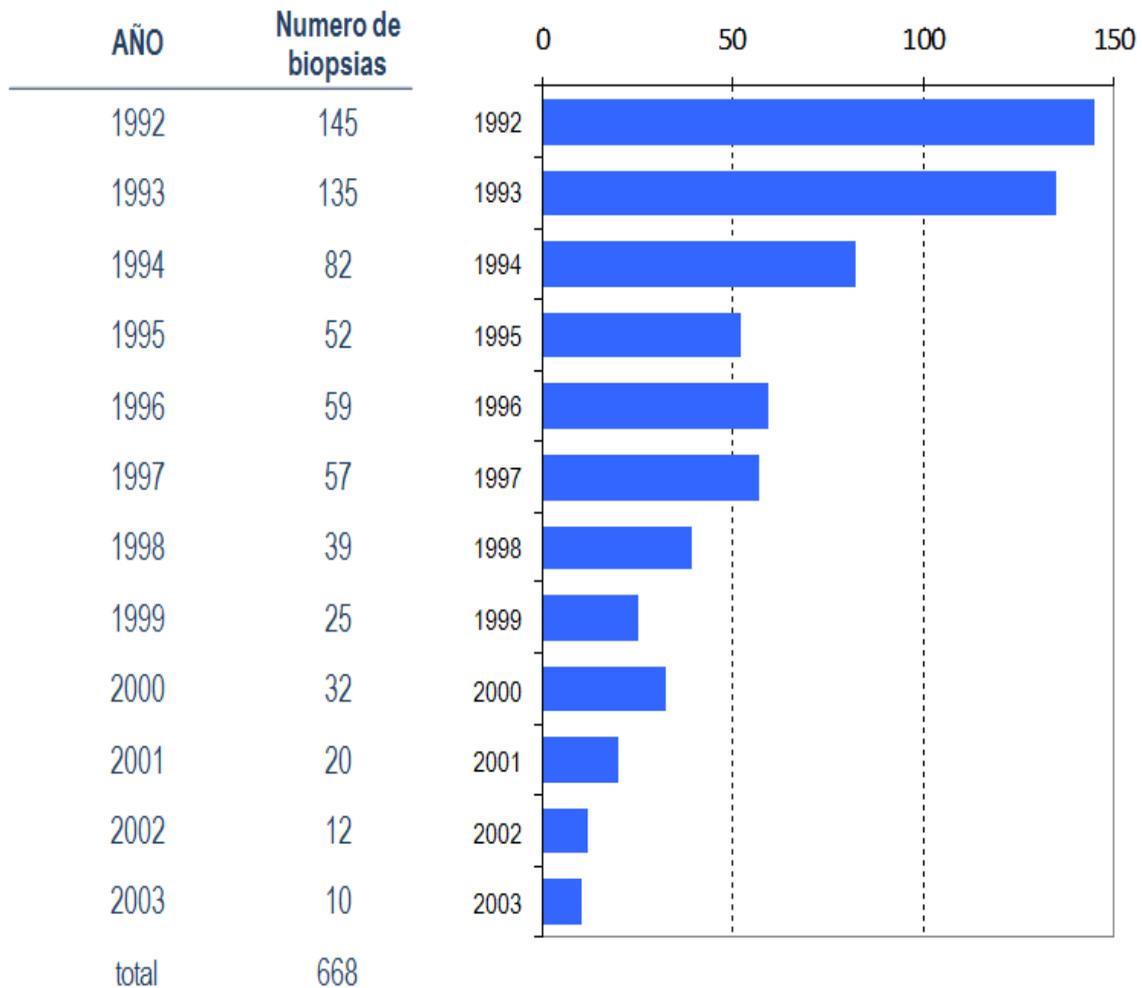
1. Impacto de la estrategia de monitorización clínica ecocardiográfica sobre el número de biopsias

En los 300 trasplantes incluidos en el estudio se realizaron un total de 668 biopsias durante el primer año. La media de biopsias por paciente durante este primer año fue 2.2 ± 2.1 , la mediana fue de 2 con un rango de 0-12.

Al analizar la evolución temporal en el número global de biopsias durante el primer se observa un descenso progresivo, pasándose de las 145 realizadas en el año 1992 a solamente 10 en el año 2003 (Figura 5.1.)

Figura 5.1.

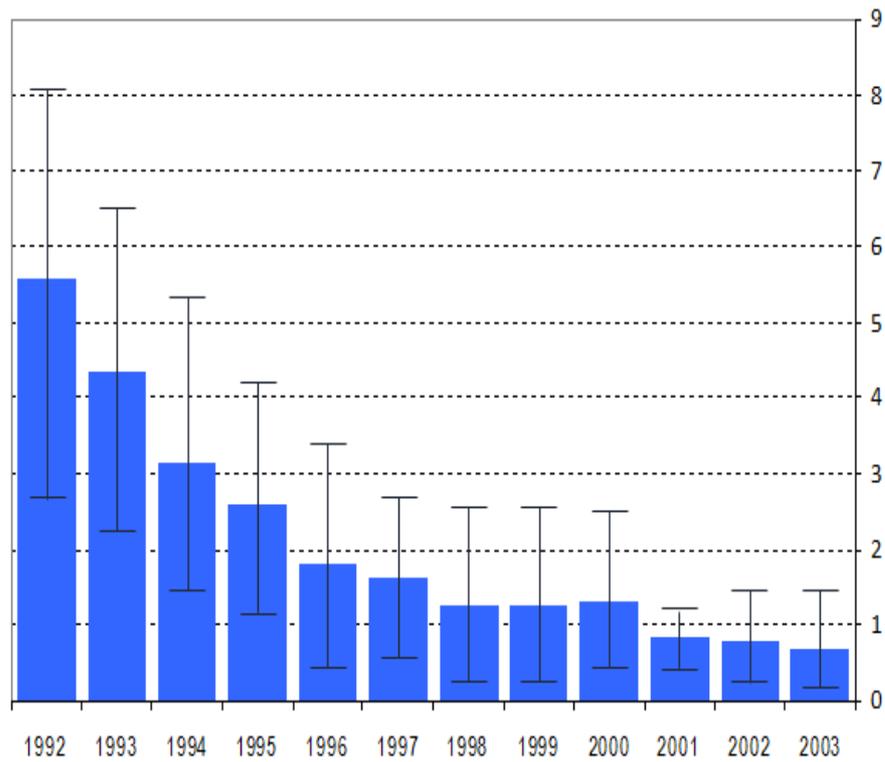
Evolución temporal del número de biopsias totales y representación gráfica



También se produjo una importante reducción en el número medio de biopsias realizadas a cada paciente, pasando de una media de 5.58 ± 2.77 en 1992 hasta $0.67 \pm 0,72$ en 2003. El rango de biopsias se redujo drásticamente desde 0 a 12 en 1992 a 0 a 2 en el año 2003 (Figura 5.2.).

Figura 5.2.

Evolución de la media de biopsias realizadas por paciente y representación gráfica.

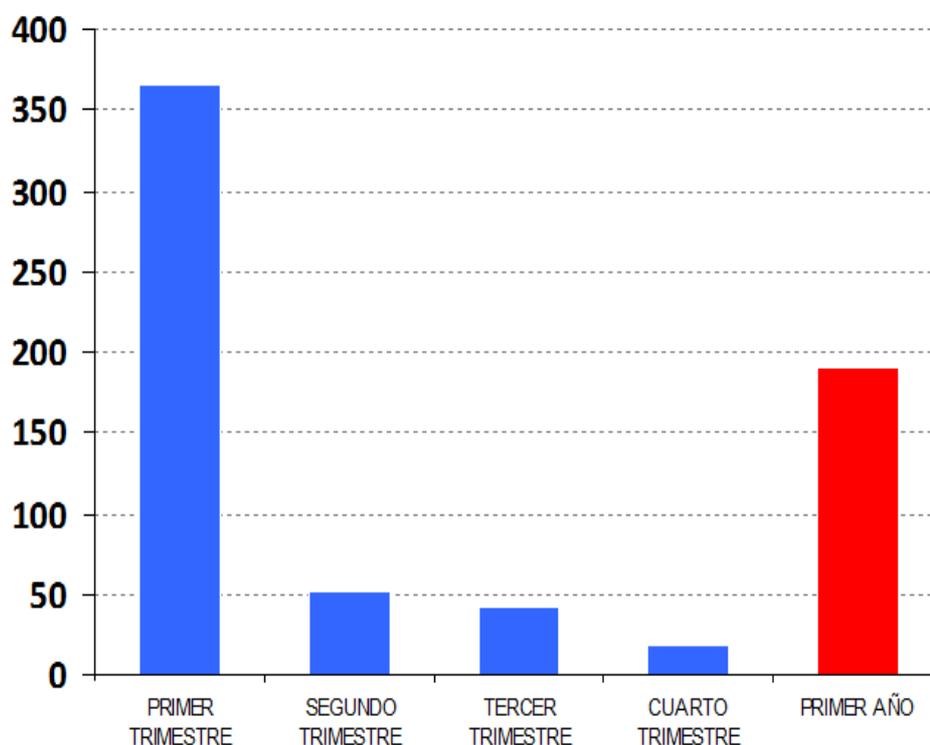


Año	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003
Media	5,58	4,4	3,2	2,6	1,8	1,6	1,3	1,3	1,3	0,8	1	0,7
SD	2,774	2,184	2,01	1,14	1,45	0,97	1,12	1,02	0,76	0,48	0,68	0,72
Rango	0-12	0-9	0-9	0-6	0-6	0-4	0-4	0-4	0-3	0-2	0-2	0-2

Distribución temporal del número de biopsias durante el primer año de trasplante

De las 668 biopsias totales 365 (54.6%) fueron realizadas antes de cumplirse el primer trimestre tras el trasplante. Así mismo 119 (biopsias 17.8%) fueron realizadas al cumplirse el primer año de trasplante. El resto de biopsias realizadas se realizaron desde el tercer mes hasta el final del primer año, tal como se refleja en la Figura 4.1

Figura 5.3. Distribución de las biopsias según la etapa en la que fue realizada



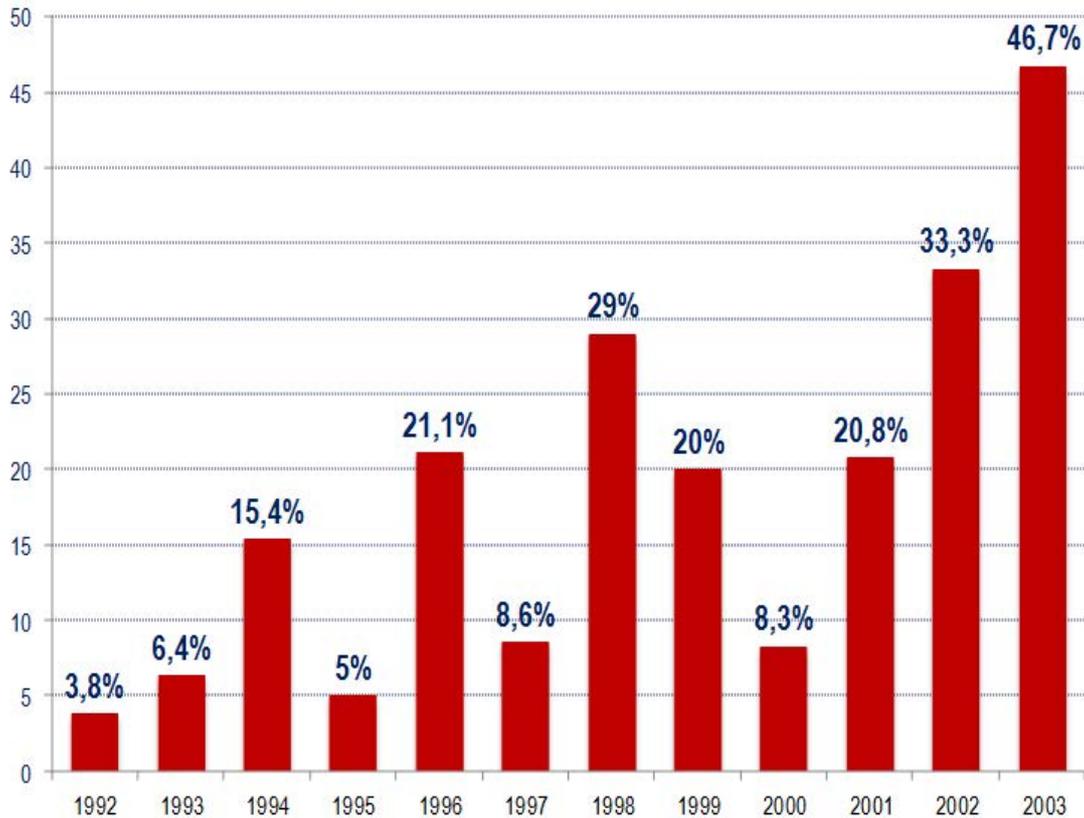
Pacientes sin ninguna biopsia durante el primer año

Un total de 50 pacientes no recibió ninguna biopsia durante el periodo de seguimiento del estudio, lo que representa el 16.7% del total de la serie. El porcentaje de pacientes a los que no se realizó biopsia paso del 3,8% en 1992 al 46,7% en 2003 tal como se muestra en la

Figura 5.4. La mayor parte de los pacientes que recibió una sola biopsia durante el periodo en los últimos años de inclusión de pacientes fue la biopsia rutinaria realizada al primer año.

Figura 5.4.

Evolución del porcentaje de pacientes monitorizados sin biopsia antes de la revisión del primer año

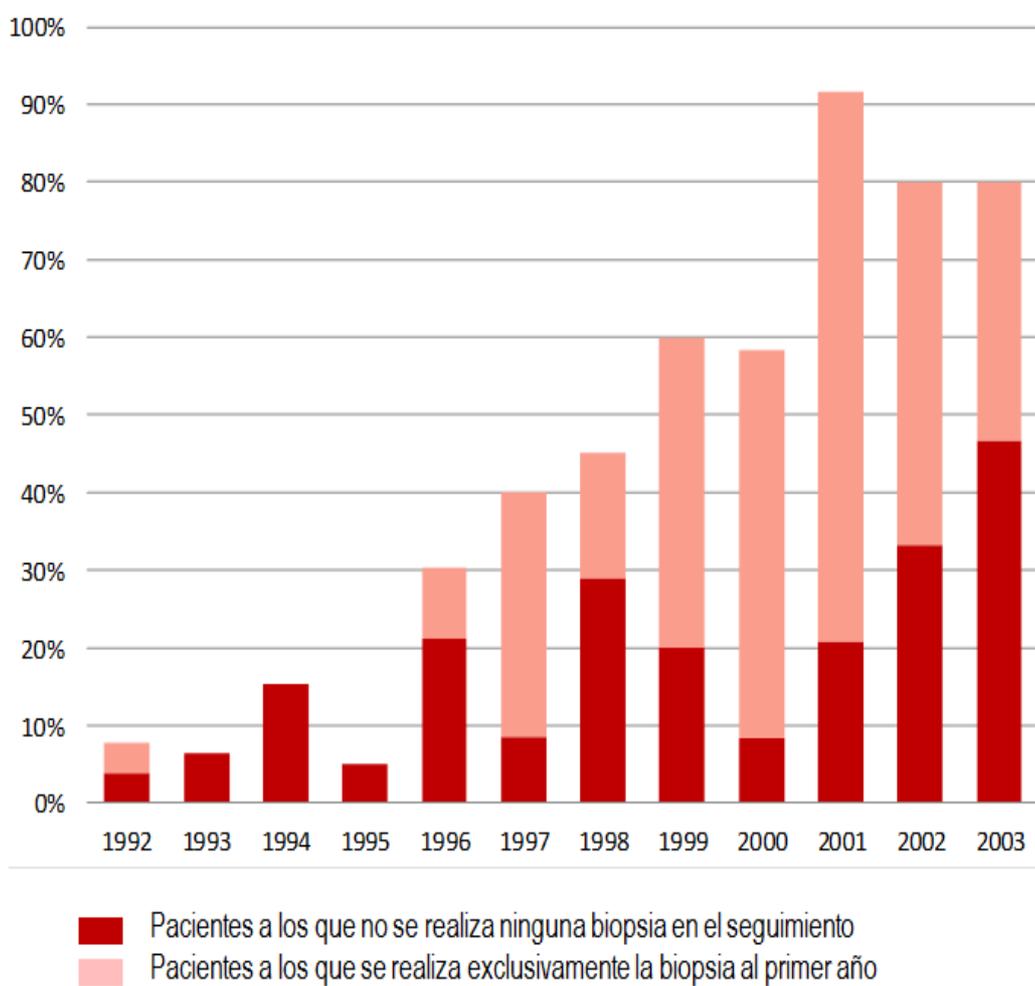


La figura 5.5. muestra la evolución porcentual de los pacientes que no recibieron ninguna biopsia y los que solamente recibieron la biopsia rutinaria realizada en la revisión de control al primer año. Este grupo de pacientes representa un subgrupo a los que no se realizó ninguna biopsia desde la realización del trasplante hasta la revisión rutinaria al primer año. Por tanto esos pacientes fueron monitorizados exclusivamente con la estrategia clínico ecocardiográfica durante el primer año sin necesidad de biopsias, frente

al resto de pacientes en los que fue necesaria al menos una biopsia, por diferentes motivos antes de la revisión del primer año.

Figura 5.5.

Evolución del porcentaje de pacientes monitorizados sin biopsia

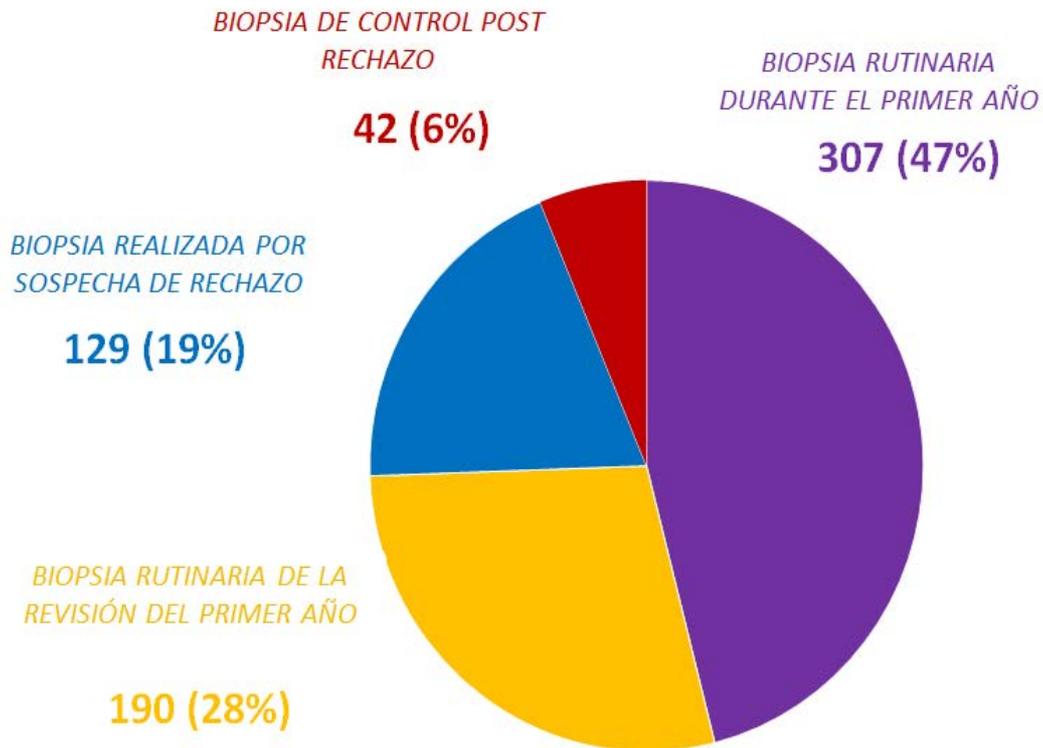


2. Resultados de las biopsias según la indicación clínica

De las 668 biopsias totales, 497 (74.4%) fueron realizadas de forma rutinaria sin que existiera por tanto una sospecha previa de rechazo, 129 (19.3%) se llevaron a cabo por la sospecha previa clínico y/o ecocardiográfica de rechazo y 42 (6.2%) como control para valorar la respuesta al tratamiento de un episodio de rechazo ya diagnosticado. De las 497 biopsias rutinarias 190 (38%) correspondieron a la biopsia realizada al cumplirse el primer año, mientras que 307 (62%) fueron biopsias rutinarias realizadas a lo largo del primer año. (Figura 5.6.)

Figura 5.6.

Distribución de las biopsias según la indicación clínica



Se realizaron por tanto 171 biopsias no rutinarias, 42 como control a un episodio de rechazo previo y 129 biopsias para confirmar los datos de rechazo clínico y/o ecocardiográfico. De estas últimas en 6 casos la biopsia se realizó exclusivamente por la presencia de sospecha de rechazo clínico sin parámetros ecocardiográficos compatibles con rechazo. En otros 82 pacientes existían exclusivamente una sospecha ecocardiográfica, encontrándose el paciente asintomático, mientras que en los 41 casos restantes la biopsia pretendía confirmar la presencia de un rechazo clínico y ecocardiográfico. Estos datos quedan resumidos en la figura 5.7.

Figura 5.7. Indicación de la biopsia no rutinarias (sospecha de rechazo o control postrechazo)

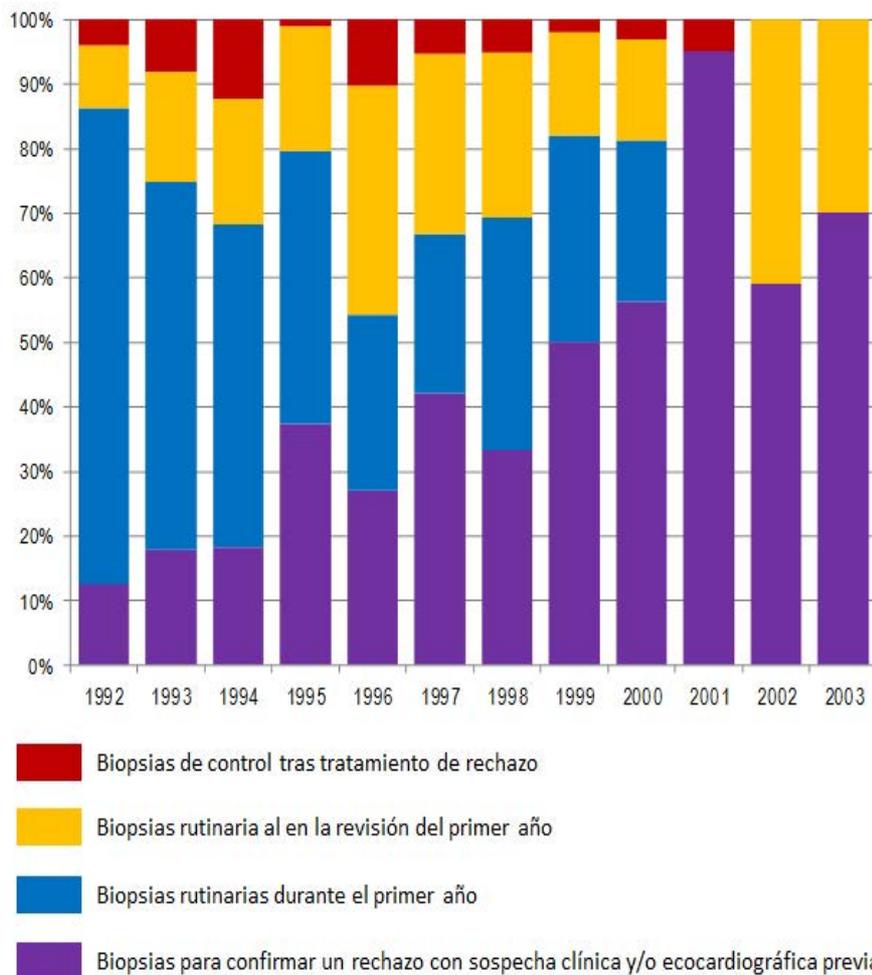


La proporción de biopsias rutinarias realizadas durante el primer año se redujo considerablemente a lo largo de los años del estudio de manera paralela a un aumento de la proporción de biopsias que se realizaron para confirmar la presencia de un rechazo previamente sospechado por datos clínico ecocardiográficos.

En cuanto al número de biopsias realizadas como control tras un episodio de rechazo después de haber instaurado tratamiento, se mantuvieron estables (grafica 5.8.). Del mismo modo se mantuvo relativamente estable el número de biopsias realizadas al cumplir el primer año de trasplante. La figura 5.8. muestra la evolución en porcentajes de cada uno de estos tipos de biopsia poniendo de manifiesto esta tendencia a una reducción progresiva del número de biopsias rutinarias, mientras que las biopsias de confirmación representan en los últimos años la mayoría de las biopsias realizadas. Durante los tres últimos años de seguimiento no se realizó ninguna biopsia rutinaria a ningún paciente durante los primeros 12 meses.

Figura 5.8.

Proporción de cada una de las indicaciones por las que se realizó la biopsia a lo largo del tiempo



3. Hallazgos anatomopatológicos

Como ya se explicó en la metodología el análisis del resultado de la biopsia se realizó según la clasificación vigente en aquellos años (ver tabla 1.1)

De un total de 668 biopsias realizadas 200 (29.9%) presentaron un grado de rechazo significativo definido como rechazo clasificado como grado 3A o superior (tabla 5.1.). un total de 87 (29%) pacientes presentaron al menos algún rechazo anatomopatológico durante el seguimiento.

Tabla 5.1.		Resultado de las biopsias.	
Grado de rechazo	n	%	
4	6	0.9	
3B	14	2.1	
3A	180	27.1	
2	30	4.5	
1	126	18.8	
0	312	44.6	
total	668		

Se analiza además la correlación anatomopatológica con el tipo de indicación clínica por el que fue realizada la biopsia (tabla 5.2.). El rendimiento diagnóstico de la biopsia varió dependiendo de la indicación por la que era realizada. De las 497 biopsias rutinarias que se realizaron sin sospecha clínica previa, 121 (24.3%) presentaban algún grado de rechazo moderado o severo, mientras que en las 129 biopsias realizadas por existir una sospecha clínica y/o ecocardiográfica previa de rechazo, 65 (50.4%) presentaron rechazo anatomopatológico. Finalmente de las 42 biopsias que fueron realizadas como control a un episodio previo de rechazo 14 (33.3%) presentaron un grado significativo de rechazo.

Tabla 5.2

Resultado de las biopsias según de indicación clínica por el que fue realizada la biopsia.

	Biopsias rutinarias	Biopsias por sospecha de rechazo	Biopsias post rechazo
Grado de			
4	1	5	0
3B	2	10	2
3A	118	50	12
2	18	8	4
1	91	22	13
0	267	34	11

Pacientes con rechazo en una biopsia rutinaria sin sospecha clínico ecocardiográfica previa

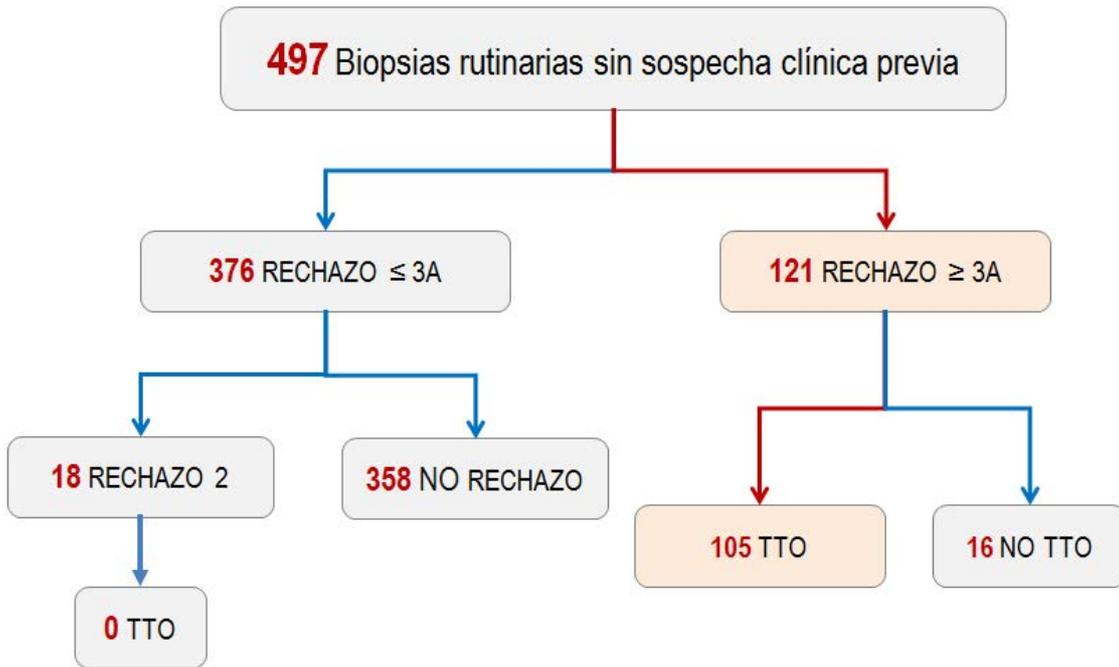
De las 497 biopsias rutinarias que se realizaron sin sospecha clínica previa en 121 pacientes se encontró un grado de rechazo 3A o superior y en 18 pacientes se encontró rechazo de grado 2.

De aquellos pacientes con un grado de rechazo 3A o superior en 16 se decidió no instaurar tratamiento debido a una situación clínica y ecocardiográfica óptima. En el momento de la biopsia este grupo de pacientes tenía una FE media de $66.12 \pm 5,03\%$, y el evento se produjo $4,94 \pm 5,3$ meses después del trasplante. Ninguno de los pacientes con rechazo anatomopatológico que por su situación clínica y ecocardiográfica no fueron tratados, presentó rechazo o pérdida del injerto en los siguientes 6 meses.

En cuanto a los 18 rechazos de grado 2 en una biopsia rutinaria, ninguno de los pacientes recibió tratamiento (FE media de $66,8 \pm 6,33\%$, $5,95 \pm 5,35$ meses desde el trasplante). En

ningún caso se produjo rechazo o pérdida del injerto en los siguientes 6 meses de seguimiento. El flujo de decisiones en estos casos queda reflejado en la figura 5.9.

Figura 5.9. Flujo de actuación en biopsias realizadas sin sospecha diagnóstica previa



Pacientes con rechazo en una biopsia con sospecha clínico y/o ecocardiográfica previa

En 129 pacientes se realizó la biopsia por sospecha clínico y/o ecocardiográfica de rechazo. De ellos 65 (50.4%) presentaron rechazo moderado severo instaurándose tratamiento en todos ellos. Ocho pacientes con sospecha ecocardiográfica de rechazo presentaron en la biopsia rechazo grado 2, de los cuales todos menos uno recibieron tratamiento. Finalmente 56 pacientes a los que se hizo biopsia para confirmar el diagnóstico de sospecha de rechazo clínico-ecocardiográfica, no presentaron rechazo anatomopatológico. En 25 de estos pacientes se instauró tratamiento pese al resultado negativo de la biopsia, por la presencia

de disfunción y/o alteraciones hemodinámicas severas, mientras que en los restantes 31 pacientes se optó por no instaurar tratamiento. Estos fueron analizados por separado y en todos ellos los datos que inicialmente sugerían la presencia de rechazo fueron considerados dudosos y se optó por seguimiento estrecho. En ninguno de ellos se observó evolución hacia rechazo agudo en sucesivas revisiones.

Los resultados quedan resumidos en la figura 4.6.

Finalmente de los 14 pacientes que presentaron rechazo significativo en una biopsia de control tras un rechazo previo, se instauró tratamiento en todos ellos. Cuatro pacientes presentaron rechazo grado 2 de los cuales ninguno recibió tratamiento.

Figura 5.10.

Flujo de actuación en biopsias realizadas por sospecha diagnóstica clínica y/o ecocardiográfica previa



4. Hallazgos clínicos

4.1. Eventos de rechazo durante el primer año

Durante el primer año de trasplante se produjeron un total de 282 episodios considerados como rechazo y tratados con tratamiento inmunosupresor en 91 pacientes lo que supone una incidencia global de rechazo durante el primer años del 29 %. La tabla 5.3. muestra la evolución de esta incidencia de rechazo durante los años de inclusión.

Tabla 5.3.	Proporción de pacientes con episodio de rechazo tratado durante el primer año	
AÑO	Porcentaje de pacientes con rechazo	
1992	34%	
1993	32%	
1994	34%	
1995	35%	
1996	30%	
1997	34%	
1998	35%	
1999	25%	
2000	20%	
2001	17%	
2002	26%	
2003	20%	

La media de episodios de rechazo tratado fue de $0,88 \pm 1.55$ por paciente. Esta media de rechazos por paciente se redujo de 1.54 ± 1.27 en 1992 a $0,67 \pm 0,72$ en el año 2003 (tabla 4.10.)

Tabla 5.4

Media de rechazos tratados por paciente

AÑO	MEDIA	SD
1992	1.54	2.06
1993	1.2	2.14
1994	1.54	1.54
1995	1.2	1.76
1996	1.27	2.01
1997	0.71	1.1
1998	0.77	1.2
1999	0.4	0.82
2000	0.58	1.22
2001	0.17	0.38
2002	0.53	1.19
2003	0.67	1.39

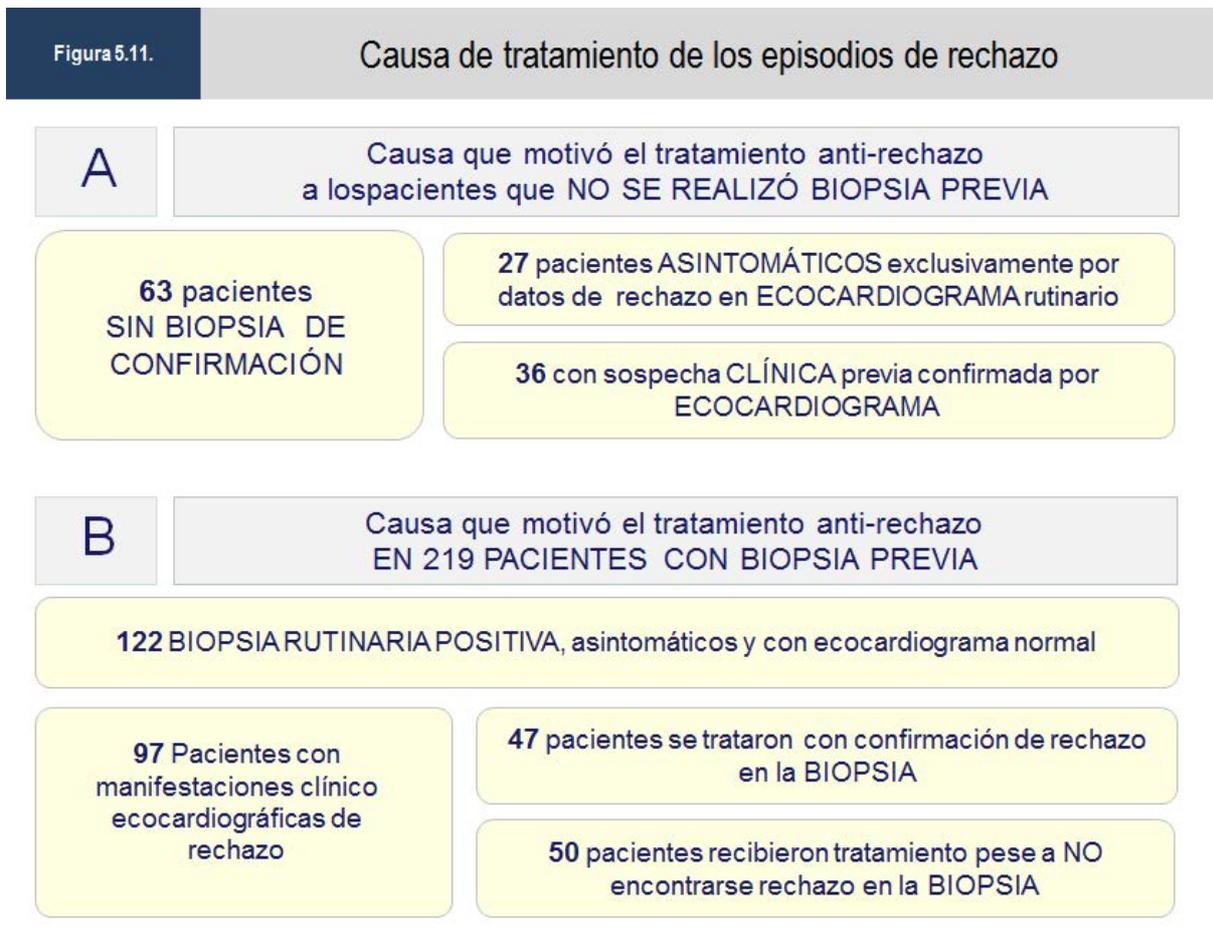
Causas por las que se trató el rechazo

En 63 episodios de rechazo en (22.3%) se decidió iniciar tratamiento anti-rechazo sin realizar una biopsia previa. De ellos en 27 existían exclusivamente datos ecocardiográficos de rechazo, encontrándose los pacientes asintomáticos en el momento del evento mientras que en 36 casos presentaban datos clínicos compatibles con rechazo que se confirmaron con hallazgos ecocardiográficos sugestivos de rechazo. Estos datos quedan resumidos en la figura 5.11.A

En los restantes 219 eventos se realizó una biopsia previa a la instauración del tratamiento. Ciento veintidós rechazos fueron tratados exclusivamente por la presencia en la biopsia de datos de rechazo anatomopatológico, no existiendo datos ecocardiográficos o clínicos

sugestivos de rechazo. De ellos en 110 la biopsia estaba programada de forma rutinaria y en los restantes 12 la biopsia se realizó como seguimiento a un episodio previo de rechazo.

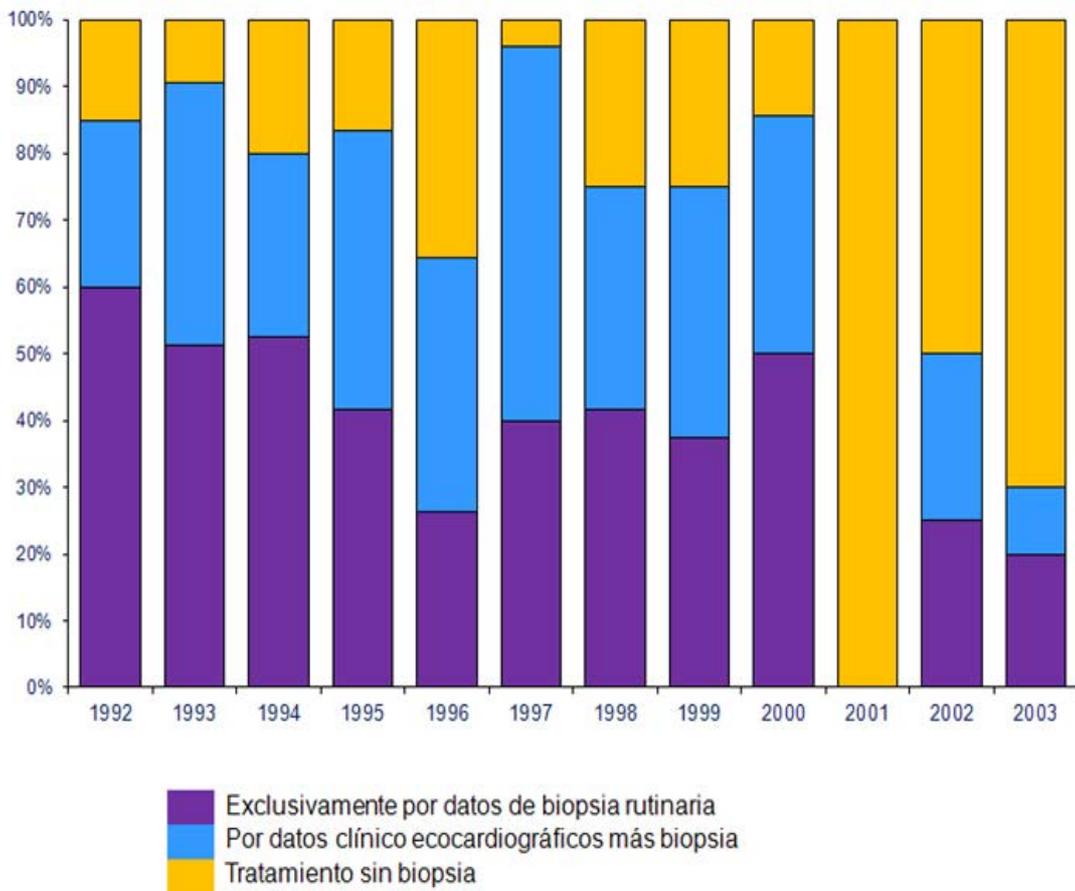
En 97 eventos la biopsia se realizó para confirmar la presencia de datos sugestivos de rechazo en el control clínico o ecocardiográfico del paciente. De este grupo en 47 pacientes la biopsia mostró signos de rechazo moderado severo, mientras que en los otros 50 pacientes la biopsia no confirmó anatomopatológicamente la sospecha clínico ecocardiográfica, aunque los datos clínicos y ecocardiográficos hicieron optar finalmente por la instauración tratamiento antirrechazo. Estos datos quedan resumidos en la figura 5.11.B



Cuando se analiza la causa que motivo el tratamiento de los pacientes a lo largo del tiempo (figura 5.12.) puede apreciarse que la reducción del número global de biopsias se asocia a una reducción en la proporción de pacientes tratados tras una biopsia rutinaria que pasa del 60% en 1992 al 22% en 2003, mientras que la proporción de pacientes que fueron tratados sin realización de biopsia previa, exclusivamente atendiendo a criterios clínicos y/o ecocardiográficos, pasó del 13% en 1992 al 65% en 2003. La proporción de episodios en los que la biopsia se utiliza para confirmar la presencia de un rechazo sospechado tras un primer análisis clínico y ecocardiográfico se mantiene estable, aunque con cierta tendencia a reducirse durante los últimos años del estudio.

Figura 5.12.

Evolución del motivo de tratamiento de los pacientes a lo largo del tiempo



4.2. Eventos de rechazo con repercusión hemodinámica

De los 300 pacientes incluidos en el estudio 28 pacientes presentaron un episodio con repercusión hemodinámica severa durante el primer año según los criterios definidos en métodos. Esto supone una incidencia de rechazo hemodinámico del 9.33%. Se produjeron un total de 33 episodios de este tipo de rechazo, lo que representa un 11.7% de todos los episodios. La evolución de los rechazos hemodinámicamente significativos según el año de inclusión en el estudio queda reflejado en la tabla 5.5.

AÑO	Nº pacientes	Rechazos HD	%
1992	26	4	15.4%
1993	31	5	16.2%
1994	26	4	15.4%
1995	20	0	0%
1996	33	5	15.2%
1997	35	2	5,7%
1998	31	2	6,5%
1999	20	1	5%
2000	24	2	12,5
2001	24	0	0%
2002	15	2	13,3%
2003	15	1	6.7%

La fracción de eyección media durante el episodio fue de $26,86 \pm 5,63\%$. Los resultados de las biopsias de todos los episodios de rechazo hemodinámico están representados en la tabla 5.6.

Tabla 5.6.

Resultado de las biopsias en los episodios de rechazo con repercusión hemodinámica

Grado de rechazo	n	%
No biopsia	24	75,6
0	2	5,4
1	2	5,4
2	0	0
3a	3	8,2
3b	2	5,4
4	0	0
total	33	100

Se realizó biopsia en 9 de estos episodios (27.3%), de los cuales 4 (44,4%) no presentaron rechazo anatomopatológico pese a la importante repercusión hemodinámica, siendo la fracción de eyección media en estos episodios de $28,77 \pm 5,45\%$. De los 9 episodios, en 3 el rechazo provocó finalmente la pérdida del injerto, siendo la biopsia negativa en dos de ellos y mostrando rechazo grado 3 A en el otro.

En 24 episodios de rechazo hemodinámicamente significativo se inició tratamiento sin realización de biopsia. En este grupo la fracción de eyección media fue de $27,32 \pm 5,18\%$. De estos 24 pacientes fallecieron y/o fueron retrasplantados finalmente 5 (20.8%).

Por tanto, de los 33 episodios de rechazo hemodinámicamente significativo 12 (36.3%) provocaron la muerte o retrasplante del paciente (8 pacientes fallecidos y 4 pacientes retrasplantados). En este subgrupo la fracción de eyección media en el momento del diagnóstico fue de $28,62 \pm 7,8\%$. De ellos 7 fueron tratados sin realizar biopsia, 2 presentaron un rechazo 3 A o superior en la biopsia, un paciente presentó un rechazo de grado 1 y dos rechazo grado 0. En la tabla 5.7. quedan reflejados los principales datos clínicos de este grupo de pacientes en los que el rechazo supuso la pérdida del injerto.

Tabla 5.7.

Episodios de rechazo que condicionaron pérdida del injerto (fallecimiento o retrasplante)

	Año de TC	Mes desde el TC	Biopsias previas	Rechazos tratados	FE	Resultado biopsia	Tratamiento	Evento
1	1992	4	4	1	30	No	OKT3	Re-TC
2	1992	10	10	5	32	3A	OKT3	Re-TC
3	1993	4	6	3	34	No	OKT3	Re-TC
4	1996	8	2	2	31	No	OKT3	Re-TC
5	1993	2	2	2	20	No	OKT3	Éxito
6	1993	3	4	1	25	0	OKT3	Éxito
7	1994	10	1	1	30	0	OKT3	Éxito
8	1996	2	2	3	34	No	OKT3	Éxito
9	1996	8	1	4	30	1	OKT3	Éxito
10	2000	5	1	2	15	No	OKT3	Éxito
11	2003	2	0	0	40	3A	corticoides	Éxito
12	2003	1	0	0	30	No	OKT3	Éxito

Analizando la evolución de este grupo con más detalle se observó cómo, uno de los pacientes falleció como consecuencia de un rechazo agudo precoz, durante el primer mes de trasplante, sin haberse realizado previamente ninguna biopsia (paciente nº 12), En otro caso el paciente falleció en el segundo mes por un episodio de rechazo relacionado con el abandono de la medicación inmunosupresora (paciente nº 11). En cuatro pacientes la aparición del rechazo hemodinámico fue precedida de la detección de rechazo anatomopatológico sin repercusión en parámetros clínicos ni hemodinámicos, instaurándose tratamiento antirechazo adecuado antes de producirse la repercusión hemodinámica (pacientes nº 1, 2, 3,6). Finalmente 6 pacientes presentan rechazo hemodinámico sin que se hubiese realizado una biopsia rutinaria previa (pacientes nº 4, 5, 7, 8,9, 10).

Se produjeron un total de 28 rechazos con repercusión hemodinámica en 21 pacientes que no produjeron la pérdida del injerto ni el fallecimiento del paciente. De todos ellos ninguno falleció antes del primer año. La FE media en la revisión anual fue de $61.5 \pm 6.7\%$ y solamente uno presentó FE menor del 55% en dicha revisión. Este último paciente falleció por infección al tercer año habiéndose normalizado la función VI.

4.3. Mortalidad durante el primer año

De los 300 trasplantes incluidos en el estudio, 253 (84,33%) completaron el primer año de seguimiento.

Por tanto 47 pacientes fallecen o fueron retrasplantados durante el primer año (4 fueron retrasplantados 43 fallecieron)

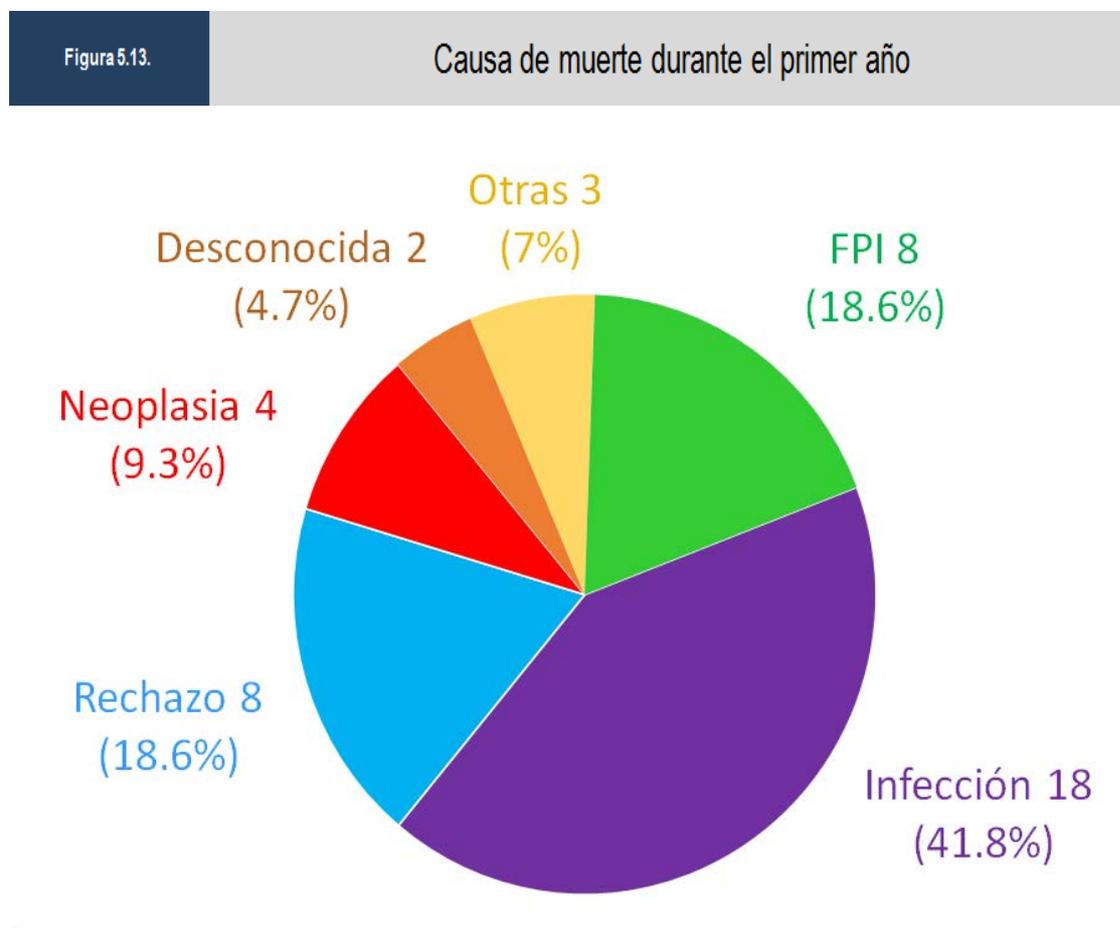
Ocho pacientes fallecen de forma precoz como consecuencia de un fallo primario del injerto lo que supone el 18.6%. En dichos pacientes al exitus se produjo una media de 14.6 ± 4.2 días después del trasplante como consecuencia del fallo primario del injerto o complicaciones del mismo. Un paciente falleció de forma precoz a los 15 días de la cirugía como consecuencia de un taponamiento tardío secundario a dehiscencia de suturas.

La principal causa de mortalidad durante el primer año fueron los procesos infecciosos, con 18 pacientes fallecidos (41.8%).

La mortalidad por rechazo agudo supuso la segunda causa produciéndose en 8 pacientes (18.6%). En este grupo el fallecimiento se produjo con una media de 134 ± 112 días tras el trasplante. Se les realizó una media de 1.38 ± 1.3 biopsias antes del fallecimiento y se trataron 1.6 ± 1.4 rechazos previos al que causó la muerte. La FE media al diagnóstico fue del $31 \pm 10.9\%$.

Otras causas menos frecuentes fueron las neoplasias (4 pacientes (20.9%)), y el suicidio que se produjo en un paciente. En dos pacientes no se llegó a determinar la causa del fallecimiento.

En la figura 5.13. se resumen todas las causas de muerte de los 43 pacientes fallecidos.



4.4. Pérdida del injerto secundaria a rechazo durante el primer año

Un total de 12 (4%) pacientes perdieron el injerto por rechazo durante el primer año. De ellos 4 fueron retransplantados y 8 fallecieron como consecuencia del rechazo.

Las características de estos 12 pacientes se resumen en la tabla 5.8

Tabla 5.8.

pacientes perdieron el injerto por rechazo durante el primer año

Total de pacientes=12 (4 retrasplante/8 fallecimiento)

Tiempo medio desde el trasplante (días)	265±109
Media de biopsias previas	2.74±2.9
Media de rechazos tratados previos	2±1.54

El resultado de la biopsia durante el episodio de rechazo que motivo la pérdida del injerto fue variable y se resume en la tabla 5.9.

Tabla 5.9.

Resultado de las biopsias en los pacientes que perdieron el injerto por rechazo

Grado de rechazo	n	%
No biopsia	7	58.3
0	2	16.7
1	1	8.3
2	0	0
3a	2	16.7
3b	0	0
4	0	0

5. Parámetros evolutivos

Para evaluar la posible repercusión negativa de rechazos no detectados y por tanto no tratados, derivados de la restricción en el número de biopsias que supuso la implantación de nuestro modelo de seguimiento basado en parámetros clínico ecocardiográficos, se analizó la incidencia a largo plazo de la vasculopatía del injerto, así como de la mortalidad global y la mortalidad por rechazo

5.1. Vasculopatía del injerto

La incidencia de vasculopatía del injerto fue del 8.4%. 34.3% y 52.3% al primer, quinto y décimo año respectivamente (tabla 5.10)

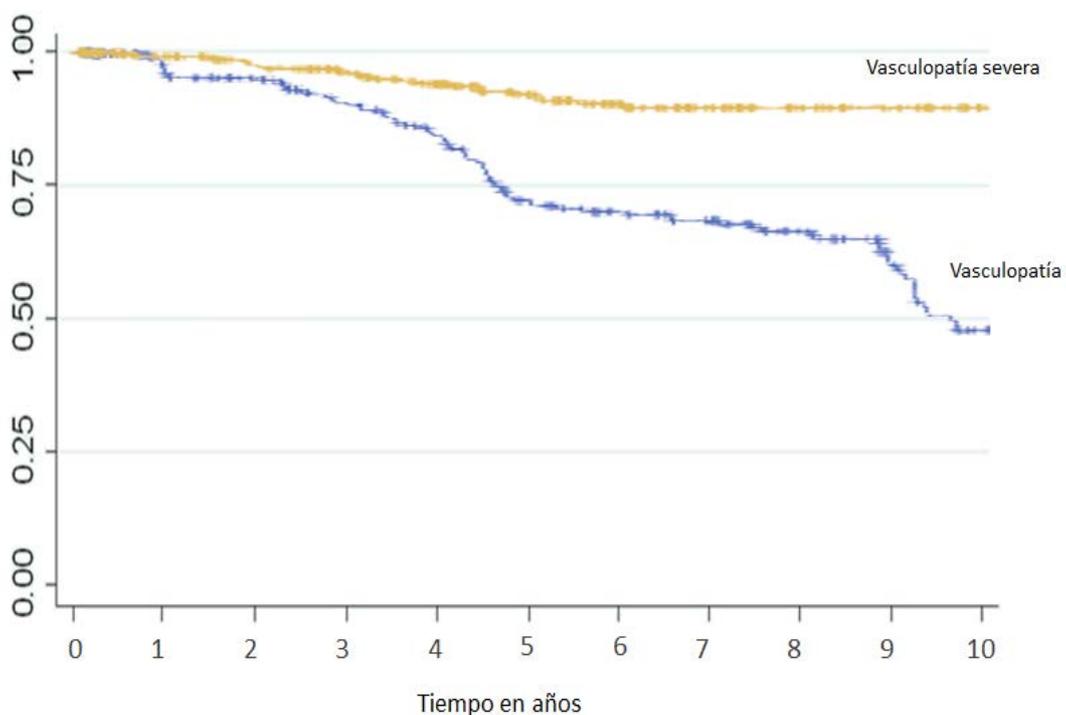
Tabla 5.10.		Vasculopatía encontrado al primer quinto y décimo año .	
Primer año		(Pacientes en seguimiento 245)	
		n	%
normal		226	
Vasculopatía		19	8.4%
	ligera	16	7.1%
	moderada	2	0.8%
	severa	1	0.5%
Quinto año		(Pacientes en seguimiento 207)	
		n	%
normal		136	
Vasculopatía		71	34.3%
	ligera	38	18.4%
	moderada	24	11.6%
	severa	10	4.8%
Décimo año		(Pacientes en seguimiento 84)	
		n	%
normal		40	
Vasculopatía		44	52,3%
	ligera	22	26.2%
	moderada	13	15.4%
	severa	9	10.7%

Además de estos hallazgos, en dos pacientes se puso de manifiesto la presencia de espasmo coronario en el contexto de coronarias angiográficamente normales, y en otros dos pacientes se observó la presencia de segmentos coronarios intramiocárdicos. Ninguno de ellos presentó durante el seguimiento síntomas de isquemia coronaria, evidencia de necrosis miocárdica o muerte súbita. Como consecuencia de esta vasculopatía se realizó angioplastia con *stent* en cuatro pacientes y otro requirió revascularización quirúrgica. Tres pacientes fueron sometidos a un trasplante como consecuencia de una vasculopatía severa del injerto. En 10 pacientes se atribuyó la causa del fallecimiento a una vasculopatía severa, presentando otros 6 pacientes muerte súbita, aunque sin evidencia previa de vasculopatía.

En la figura 4.9. se muestra la curva de supervivencia libre de vasculopatía y de vasculopatía severa en los pacientes de la serie.

Figura 5.14.

Supervivencia actuarial libre de vasculopatía y vasculopatía severa (Kaplan-Meier)



5.2 Mortalidad global

La supervivencia actuarial de la serie fue de 67.4%, 52.9%, 39.8%, 22.8% a los 5, 10 15 y 20 años respectivamente, sin existir diferencias estadísticamente significativas con respecto a los pacientes incluidos en RETC (figura 5.16).

Figura 5.14.

Supervivencia actuarial de nuestra serie comparada con la del RETC (Kaplan-Meier)

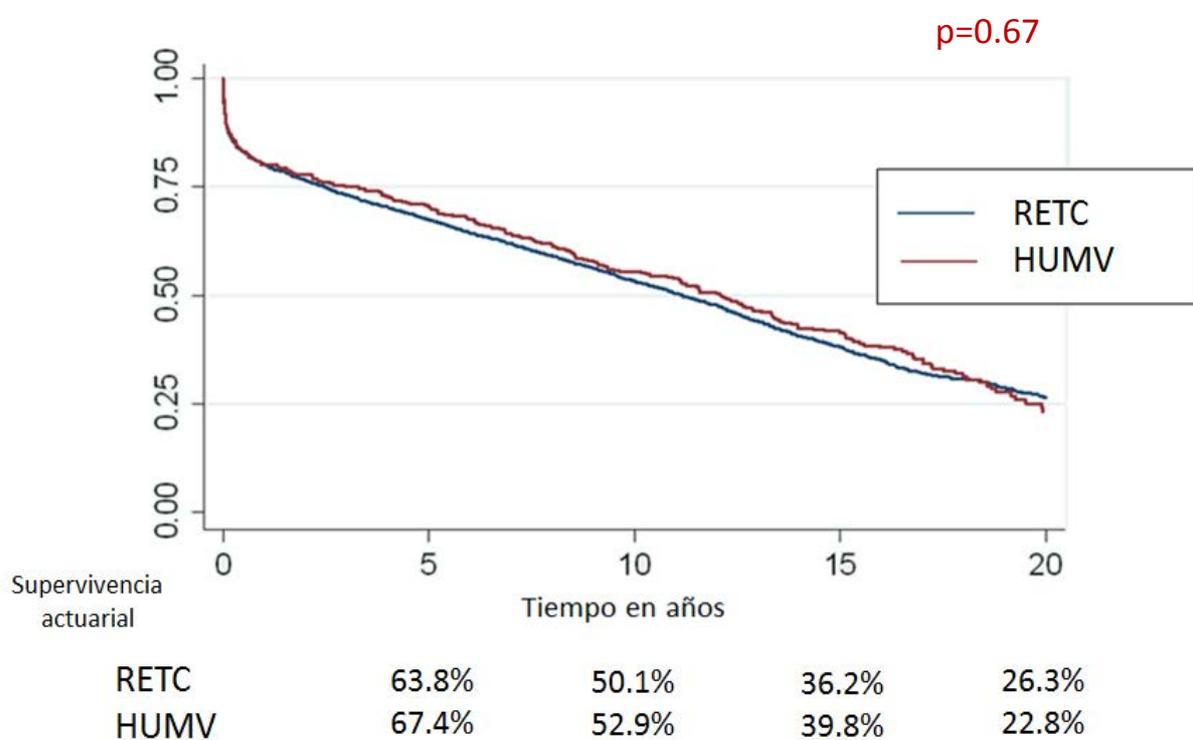


Figura 5.15.

Causa de muerte después del primer año





DISCUSIÓN.

1. PRINCIPALES HALLAZGOS DEL ESTUDIO

En este estudio se analiza el impacto producido por la introducción progresiva de un esquema de monitorización del rechazo basado en controles clínico ecocardiográficos seriados, en una serie de pacientes trasplantados en nuestro centro durante un periodo de once años. El hallazgo fundamental del estudio es que la implantación del nuevo esquema de monitorización del rechazo repercute en una reducción drástica del número de biopsias que se realiza a los pacientes, existiendo un porcentaje importante de pacientes que son monitorizados sin realizarles ninguna biopsia durante el primer año tras el trasplante. Además con un seguimiento mínimo de diez años los pacientes manejados con esta estrategia presentan un pronóstico superponible al seguimiento convencional.

Estos resultados vienen a cuestionar la necesidad de un régimen de seguimiento estricto mediante biopsias seriadas, que ha sido desde la introducción de esta técnica uno de los paradigmas fundamentales en el manejo de los pacientes tras un trasplante cardiaco.

Los hallazgos del estudio pueden resumirse en los siguientes puntos.

A. Reducción del número de biopsias.

1. La implantación de una estrategia de seguimiento clínico y ecocardiográfico consigue una reducción muy significativa de la media de biopsias realizadas, muy por debajo de los esquemas estándar basados en la realización de biopsias seriadas recomendados actualmente por las guías y utilizados por la mayoría de grupos de trasplante.
2. Esta reducción del número de biopsias se hace a expensas, fundamentalmente, de una restricción de las biopsias rutinarias. De este modo se produce, una vez consolidado el nuevo esquema de seguimiento, la supresión de la mayor parte de las biopsias rutinarias durante el primer año de trasplante en la mayoría de los pacientes. Esto supondría un cambio sustancial en el papel de la biopsia durante el seguimiento,

que pasaría de ser el eje fundamental del seguimiento, a una técnica de apoyo en situaciones concretas y en base a una sospecha previa de rechazo.

3. La reducción de las biopsias que se produce como consecuencia de esta estrategia, permite un seguimiento sin ninguna biopsia en un gran número de pacientes.

B. Efecto sobre los rechazos agudos y la mortalidad al primer año.

1. La reducción del número de biopsias realizadas no repercute en un aumento del número de rechazos tratados. Por el contrario se pone de manifiesto una reducción en la incidencia de rechazos tratados que se produce a expensas de una disminución en el número de rechazos anatomopatológicos detectados en biopsias rutinarias.

2. La reducción en el número de rechazos tratados es atribuible a una reducción en la detección de rechazos sin repercusión clínico/ecocardiográfica, que sin embargo hubiesen sido detectados anatomopatológicamente mediante la realización de biopsias rutinarias. Esto no parece repercutir en una mayor incidencia de rechazos con repercusión hemodinámica ni en la mortalidad por rechazo de los pacientes durante el primer año.

C. Efecto a largo plazo.

1. La mortalidad global, incluida la mortalidad por rechazo, no aumentaron significativamente en el seguimiento a largo plazo y son comparables a las repostadas en los pacientes del Registro Español de Trasplante Cardíaco en los que se sigue realizando mayoritariamente una monitorización guiada por biopsia.

2. La incidencia de vasculopatía del injerto también es superponible a la observada en los grandes registros tanto nacionales como internacionales.

2. REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE BIOPSIAS

Es posible reducir el número de biopsias mediante un seguimiento clínico/ecocardiográfico

La monitorización del rechazo en pacientes trasplantados se ha basado tradicionalmente en la realización de un programa de biopsias rutinarias seriadas, que se llevan a cabo secuencialmente siguiendo un calendario establecido, fundamentalmente a lo largo del primer año. Estos estudios programados van encaminados al diagnóstico y tratamiento precoz de los episodios de rechazo. Pese a que se trata de una estrategia empírica, de cuya eficacia no existen evidencias sólidas, son pocas las experiencias que han intentado desarrollar alguna alternativa a este planteamiento. De hecho, no existe hasta el momento actual ninguna experiencia publicada en la que los pacientes sometidos a trasplante cardíaco sean monitorizados de forma exclusiva con seguimiento clínico guiado casi exclusivamente por ecocardiografía.

La estrategia planteada por nuestro grupo de trasplante consistía en monitorizar el rechazo mediante un esquema diagnóstico basado en un estrecho seguimiento clínico y ecocardiográfico, con el objetivo fundamental de reducir el número de biopsias. La realización de la biopsia quedaría relegada exclusivamente a aquellos casos en que se plantearan dudas diagnósticas tras una evaluación de los datos clínicos y los obtenidos por la ecocardiografía.

Este planteamiento viene a romper con el axioma tradicionalmente establecido según el cual en los pacientes sometidos a trasplante cardíaco, la detección y tratamiento precoces del rechazo, antes de que aparezcan manifestaciones clínicas o ecocardiográficas de rechazo, constituye una de las bases para evitar la aparición de rechazos avanzados severos y asegurar la supervivencia del injerto.

Es importante considerar, con respecto a la génesis en nuestro centro de este sistema de seguimiento de los pacientes trasplantados, que no fue fruto de una decisión puntual, sino que se desarrolló como consecuencia de un el proceso de implantación progresivo a lo

largo de varios años. El periodo de inclusión de pacientes en la serie refleja precisamente aquellos años en los que tuvo lugar la implementación definitiva de este sistema de seguimiento.

Nuestra experiencia demuestra que efectivamente se produjo una reducción muy significativa del número de biopsias a medida que se fue aplicando esta estrategia. En este sentido se pasó de una media superior a 5 biopsias por paciente en 1992 hasta una media de 0.67 en el año 2003.

Más aún, cuando esta estrategia quedó definitivamente establecida, la gran mayoría de los pacientes fueron seguidos exclusivamente con un acercamiento clínico ecocardiográfico, realizándose biopsias únicamente de forma puntual a algunos pacientes para confirmar el diagnóstico en casos dudosos, o como seguimiento de un rechazo previo.

De este modo durante los tres últimos años del estudio, más del 80% de los pacientes no fueron sometidos a ninguna biopsia durante el primer año.

La reducción en el número de biopsias es significativa respecto a la práctica actual de monitorización del rechazo

Este nuevo planteamiento en el seguimiento del trasplante cardiaco supone una ruptura con la práctica habitual que ha venido tradicionalmente utilizándose, en la que la biopsia endomiocárdica ha sido, y sigue siendo la piedra angular del seguimiento.

En el año 2010 fueron publicadas las últimas guías para el manejo de los pacientes sometidos a trasplante cardiaco avaladas por la ISHLT⁹³. En dichas guías se establece la necesidad de realizar biopsias seriadas periódicas de forma rutinaria al menos hasta los 6-12 primeros meses en todos los pacientes sometidos a trasplante cardiaco. Se admite como única excepción a esta práctica la posibilidad de seguimiento ecocardiográfico sin biopsias rutinarias en pacientes pediátricos. Así mismo, trascurrido el primer año, se acepta la no realización de biopsias si el paciente no presenta alto riesgo de rechazo. En una monitorización convencional dichas guías recomiendan la realización de una biopsia

semanal hasta la sexta semana después del trasplante, quincenal hasta el segundo mes, cada 3-4 semanas hasta el sexto mes y posteriormente cada 5-6 semanas hasta completar el primer año. Teniendo esto en cuenta, la aplicación estricta de las guías supondría para un paciente estándar como mínimo una media de 18-20 biopsias durante el primer año. Aunque probablemente estas cifras no reflejen lo que se hace en la totalidad de los grupos de trasplante en el momento actual, sobre todo en aquellos con más experiencia, la diferencia con nuestros resultados es llamativa.

A pesar de lo que establecen las guías, durante los últimos años, la tendencia general ha sido intentar reducir el número de biopsias ⁹⁹. Sin embargo tomando como referencia varios estudios recientemente publicados en los que por diversos medios se intenta limitar el número de biopsias realizadas a los pacientes, podemos ver como en la práctica este número sigue siendo bastante elevado.

El estudio IMAGE ⁷⁶ incluyó 602 pacientes, para comparar la monitorización con análisis de perfil de expresión genética frente a un esquema de monitorización convencional de biopsias seriadas, precisamente en un intento de reducir el número de biopsias. El grupo control, por tanto, debería reflejar la práctica habitual de seguimiento en los 13 grupos de trasplante americano que participaron en el ensayo. Este estudio demostró una tasa similar de eventos pese a una reducción significativa del número de biopsias realizadas en el grupo con monitorización mediante técnicas de perfil de expresión genética. En el grupo control de monitorización convencional se realizó una media de 5.1 biopsias en el segundo semestre del primer año, teniendo en cuenta que no fueron contabilizadas las que se llevaron a cabo en los seis primeros meses de inclusión, que supondrían 8-10 más si se aplican las recomendaciones de las guías .

En el estudio publicado por Orrego et al ¹⁰⁰ en el año 2012 se analiza una cohorte histórica de 256 pacientes frente a otra más reciente de 128 pacientes en la que se intenta limitar el número de biopsias a partir del sexto mes. La cohorte histórica utilizada como control debería por tanto de nuevo reflejar la práctica habitual en un centro con amplia experiencia en trasplante cardiaco. En la cohorte inicial se realizaron una media de 8.8

biopsias antes del sexto mes y 1.6 desde el sexto mes al primer año. En el grupo en el que se pretendía limitar el número de biopsias, la media de biopsias realizadas durante los primeros seis meses fue de 8.3, y de 0.4 desde el sexto mes hasta completado el primer año. De nuevo muy por encima de las cifras de nuestro estudio

El grupo del Royal Brompton Hospital ¹⁰¹ publica una serie histórica de 258 pacientes en la que se pretende analizar el valor de la biopsia en el primer año de trasplante. En dicha serie se analizan los resultados de las biopsias realizadas durante el primer año en dos cohortes de pacientes con diferentes regímenes de inmunosupresión. Para la monitorización de los pacientes se siguió un régimen de biopsias estándar, obteniéndose una media de 14.5 biopsias por paciente, independientemente del régimen de inmunosupresión utilizada.

Finalmente Strecker et al ¹⁰² publican una serie descriptiva en un único centro alemán, de pacientes trasplantados entre los años 2000 y 2011 en la que se analizaba el resultado de las biopsias endomiocárdicas. Se incluyeron un total de 142 pacientes a los que se realizó una media de 8,8 biopsias durante el primer año.

En definitiva, todas estas cifras están muy por encima de las 2.2 biopsias de media durante el primer año en la globalidad de nuestra serie, y más aún del 0.8-0.7 de media de biopsias en los pacientes incluidos en los tres últimos años.

Pese a que en muchos casos existe intención previa de limitar el número de biopsias, las cifras que reflejan estos estudios son significativamente mayores que las nuestras, por lo que parece que efectivamente nuestro estudio refleja una reducción importante de biopsias en la práctica habitual y no solamente respecto a las indicaciones de las guías.

Las cifras de biopsias durante el proceso de implantación de esta estrategia durante los primeros años, muestran ya una clara reducción respecto al recomendado en las guías y a los datos publicados en la mayoría de los estudios. De hecho el número de biopsias durante estos primeros años es superponible al que se realiza actualmente en algunos centros que tienen como objetivo una reducción de las biopsias que realizan en su programa ⁹⁹.

Situaciones en las que esta aceptado limitar el número de biopsias

Aunque las guías de manejo del paciente trasplantado desaconsejan la monitorización del rechazo mediante el uso exclusivo de la ecocardiografía, en el paciente pediátrico se acepta esta posibilidad (indicación IIa con nivel de evidencia C).

La recomendación de reducir el número de biopsias en los pacientes pediátricos se fundamenta en una supuesta menor incidencia de rechazos en la población pediátrica, así como una mayor repercusión de las complicaciones en este tipo de pacientes. Sin embargo esta recomendación no está basada en evidencias sólidas y de hecho probablemente la menor incidencia de rechazo en edades tempranas este más relacionada con el menor número de biopsias que se realizan que con una menor incidencia real de rechazo en estos pacientes, puesto que esto no ha sido demostrada científicamente.

En todo caso en la población pediátrica el número de biopsias realizadas es menor. Recientemente Godown et al ¹⁰³ publican un estudio en el que se analiza la variación en el número de biopsias realizadas a pacientes pediátricos y adolescentes tanto entre centros como a lo largo del tiempo, comparando los resultados de 25 centros analizados en el año 2006 con los datos de 48 centros obtenidos en 2014 incluidos en la base de datos del *Pediatric Heart Transplant Study*. Este estudio pone de manifiesto una gran heterogeneidad en el número de biopsias realizadas, existiendo algunos grupos en los que se lleva a cabo un acercamiento no invasivo frente a otros en los que el número de biopsias es similar al del paciente adulto. Así en los datos obtenidos en el año 2014, diez de los 48 centros no realizan ninguna biopsia a sus pacientes durante el primer año y otros seis realizan solamente una. Pese a ello la mediana de biopsias realizadas de forma global fue de 3.5, no existiendo diferencias significativas con respecto a los datos que se habían obtenido en el año 2006. Sí se observó un menor número de biopsias a los pacientes adolescentes con una mediana de 6 en 2014 frente a 8 en el año 2006.

Esto pone de manifiesto que en población pediátrica se está realizando un acercamiento no invasivo basado en la ecocardiografía, pese a que no existen datos publicados que

avalen este acercamiento y sin que en principio se haya detectado una peor evolución a largo plazo de los pacientes seguidos con esta estrategia. De algún modo, nuestra experiencia en adultos es similar a lo que ya se acepta en población pediátrica, e igualmente se trata de una estrategia basada más en una experiencia empírica que en evidencias probadas científicamente.

Aunque tradicionalmente se han realizado biopsias en fases tardías del trasplante, las actuales guías aceptan también un seguimiento sin biopsias, transcurrido el primer año, en pacientes de bajo riesgo.

Sin embargo en un importante número de centros se ha mantenido la monitorización con biopsias incluso en etapas muy avanzadas del trasplante. En el estudio publicado por Stehlik et al ¹⁰⁴ en 2006, se analizan las biopsias realizadas a 4932 pacientes en 33 centros americanos integrados en el Cardiac Transplant Research Database Group. Aunque existía una gran variabilidad entre los diferentes centros, la gran mayoría de ellos seguía realizando biopsias a largo plazo, solamente un centro dejaba de realizar biopsias tras el primer año, dos al segundo año y otros dos centros a partir del tercer año, mientras el resto realizaban biopsias al menos hasta el quinto año.

Son bastantes las evidencias que establecen el escaso valor de la biopsia en fases avanzadas del trasplante. White et al ⁵¹ analizando 1123 biopsias realizadas tras el primer año observan rechazo en solamente el 0.6% de ellas. Otros grupos ^{105, 106} han encontrado tasas muy similares poniendo además de manifiesto que la no realización de biopsias no repercute en el pronóstico de los pacientes. El ya mencionado registro multicéntrico publicado por Stehlik et al ¹⁰⁴ demostró una incidencia de rechazo en las biopsias realizadas tras el primer año del 5% sobre un total de 24137 pacientes año. Al comparar los resultados obtenidos por aquellos grupos que realizaban biopsias rutinarias tardías frente a los que abandonaban esta práctica, no existían diferencias significativas ni en la incidencia de rechazo ni en la supervivencia global de los pacientes.

La gran incógnita sigue siendo si estas prácticas de reducir el número de biopsias en fases avanzadas del trasplante pueden ser aplicadas a fases más precoces del trasplante en pacientes adultos. Las experiencias previas para reducir el número de biopsias durante el primer año son escasas y están limitadas a series cortas y basadas en estudios retrospectivos descriptivos. En este sentido Sisson et al ¹⁰⁷ publican un estudio incluyendo 100 pacientes consecutivos en los que se redujo de forma progresiva el número de biopsias realizadas durante el primer año. Basados en la baja tasa de rechazo encontrada en los primeros pacientes a los que se realizó una media de 10 biopsias tratan de reducir las biopsias en los siguientes pacientes consiguiendo en 82 pacientes consecutivos incluidos posteriormente una media de 5 biopsias. En este caso no se utilizó ningún método no invasivo para monitorizar el rechazo de modo que esta experiencia refleja los resultados de una estrategia basada exclusivamente en la reducción de las biopsias programadas de forma rutinaria. Pese a reducir estas biopsias los autores no encontraron una mayor tasa de rechazos ni un incremento de la mortalidad en la serie con respecto a los resultados de otras series que llevaban a cabo programas de seguimiento mucho más estrictos.

En definitiva se asume que a medida que transcurre el tiempo la necesidad de biopsia es menor, y que podrían evitarse, según las guías a partir del primer año. De nuevo estas recomendaciones se basan en evidencias poco consistentes y se desconoce si pueden ser aplicadas en fases anteriores.

Replanteamiento del papel de la biopsia con esta nueva estrategia de seguimiento del rechazo.

La reducción del número de biopsias en nuestro estudio se debe fundamentalmente a la reducción de las biopsias rutinarias. Esto se ha llevado a cabo aplicando de forma progresiva el esquema de monitorización que nos habíamos planteado para nuestros pacientes (figura 4.3.). Esta estrategia se aplica de forma plena en los tres últimos años de estudio en los que no se realizó ninguna biopsia de rutina durante el primer año a ningún paciente.

Paralelamente la proporción de biopsias realizadas para confirmar la presencia de rechazo por sospecha clínico/ecocardiográfica aumentan proporcionalmente, manteniéndose estables las biopsias realizadas para seguimiento de un rechazo ya tratado.

La importancia de estos hallazgos radica en que esta es la primera experiencia en que un grupo amplio de pacientes es monitorizado sin la utilización de biopsias rutinarias para detección de rechazo subclínico.

Bajo nuestro punto de vista la biopsia debería tener un papel de apoyo, enfocado fundamentalmente a la confirmación de aquellos casos en los que existan dudas diagnósticas con el seguimiento clínico ecocardiográfico.

En este sentido, este nuevo enfoque del seguimiento de los pacientes trasplantados supone un conflicto con las actuales guías de actuación ⁹³. En estas se establece como recomendación de clase IIa que el seguimiento estándar de los pacientes sometidos a trasplante cardiaco es la realización de biopsias endomiocárdicas seriadas durante los primeros 6 -12 meses del postoperatorio. Sin embargo consideran indicación de clase III, y por tanto no recomiendan, el uso de la ecocardiografía como método alternativo para la monitorización de los pacientes para seguimiento del rechazo. En ambos casos se trata de recomendaciones basadas en la opinión del panel de expertos, puesto que no existen evidencias solidas que lo sustenten y por tanto ambas reciben un nivel de evidencia C.

Curiosamente, como hemos dicho, en pacientes pediátricos se acepta la posibilidad de una reducción del número de biopsias en base a una estrategia de *screening* ecocardiográfico con indicación IIa. Esta recomendación se basa por una parte en la mayor probabilidad de complicaciones a largo plazo como consecuencia de las biopsias, así como los inconvenientes de una técnica cruenta en pacientes de corta edad. Se justifica además en una menor incidencia de rechazo en pacientes pediátricos con respecto a los adultos, aunque esta podría explicarse simplemente por el hecho de realizar un menor número de biopsias a estos pacientes. En definitiva esta recomendación tampoco se sustenta sobre evidencias firmes y recibe un nivel de evidencia C.

Nuestros datos también sustentan que la utilización de la ecocardiografía representa un pilar fundamental en la toma de decisiones para en el manejo de los pacientes. De las 129 biopsias realizadas por existir dudas clínico/ecocardiográficas, solamente 6 se realizaron atendiendo exclusivamente a parámetros clínicos, mientras que en 82, es decir el 64% de las mismas, se llevaron a cabo atendiendo exclusivamente a criterios ecocardiográficos.

Por otra parte nuestra experiencia también muestra que, no solamente se reduce el número de biopsias rutinarias, sino que paralelamente se reducen las biopsias que se realizan para confirmar casos que resultan dudosos con control clínico/ecocardiográfico. Esto puede explicarse porque a medida que se afianza esta estrategia, la experiencia acumulada aumenta la confianza en el seguimiento reduciéndose aquellos casos en los que la biopsia se hace necesaria por dudas diagnósticas.

Limitaciones de la biopsia como técnica diagnóstica para monitorizar el rechazo

De los datos de nuestro estudio pueden extraerse algunas conclusiones sobre las limitaciones de esta técnica, tanto como método de monitorización del rechazo como como para constituir la base para el tratamiento de los pacientes tras el trasplante.

Pese a su utilización generalizada y a ser considerada el pilar fundamental para el diagnóstico del rechazo en los pacientes trasplantados en la práctica, la biopsia adolece de importantes limitaciones. No debemos olvidar que no existe ningún parámetro o prueba complementaria que permita establecer su sensibilidad y especificidad.

En nuestra experiencia el rendimiento diagnóstico de la biopsia es bastante bajo. El 30 % de las biopsias realizadas mostraron algún grado de rechazo. Cuando la biopsia se realizó de forma rutinaria el 24% mostraban rechazo mientras que cuando la biopsia se realizaba con una sospecha clínico ecocardiográfica previa el porcentaje llegaba al 50%.

Con los actuales regímenes de inmunosupresión, el número de biopsias que muestran rechazo significativo cuando se utilizan protocolos de biopsias rutinarias adaptados a las

recomendaciones actuales de las guías es realmente muy bajo. De este modo en un estudio recientemente publicado Baran et al ¹⁰⁸ para comparar dos regímenes de inmunosupresión se llevaron a cabo un total de 1747 biopsias de las cuales solamente 23 mostraron rechazo significativo, lo que representa un 0.013% de todas las biopsias realizadas. En otro estudio similar realizado por grupo de trasplante cardiaco del Hospital Royal Brompton ¹⁰¹ se realizaron un total de 3729 biopsias en 258 pacientes durante el primer año, de las cuales solamente 93 resultaron positivas para rechazo, por lo que solamente el 2.6% de las biopsias realizadas mostraron rechazo significativo.

Aunque la baja proporción de biopsias con rechazo de estos estudios contrasta con los resultados de nuestro estudio, estos resultados se deban probablemente a que el número de biopsias por paciente en ambos estudios fue muy superior al nuestro.

Finalmente debe tenerse en cuenta que la biopsia entra a formar parte de la estrategia de seguimiento de nuestros pacientes, precisamente para discernir aquellos casos dudosos en los que los métodos no invasivos, que aisladamente ofrecen un rendimiento diagnóstico subóptimo, ofrecían dudas. En este caso la biopsia pretende confirmar rechazos con sospecha clínica previa con los métodos no invasivos, por lo que al aumentar la probabilidad pre-test debería mejorar el rendimiento diagnóstico.

Limitaciones de la biopsia para guiar el tratamiento

La biopsia endomiocárdica es considerada en el momento actual la base del tratamiento anti-rechazo de los pacientes tras un trasplante cardiaco. Los criterios anatomopatológicos para decidir cuándo un rechazo puede ser considerado candidato a recibir tratamiento inmunosupresor son arbitrarios, y se basan en el consenso de expertos y no en evidencias científicas basadas en estudios randomizados.

En las actuales guías de manejo de los pacientes trasplantados se establece como indicación de clase I el tratamiento con corticoides endovenosos a dosis alta, en todos aquellos episodios de rechazo celular severo (3R) encontrados de forma casual en una biopsia rutinaria de seguimiento aun sin presentar signos clínico ecocardiográficos de

rechazo. En casos de rechazo moderado establecen la posibilidad de tratamiento tanto con bolos endovenosos de corticoides, como mediante la utilización de regímenes orales. En ambos casos se trata de recomendaciones basadas en el consenso del panel de expertos ⁹³.

Solamente en aquellos casos de rechazo moderado en los que no existan alteraciones clínicas y que se produzcan después de los 12 meses de realizado el trasplantes se contempla la posibilidad de no instaurar tratamiento, aunque se sugiere la necesidad de realizar un estricto seguimiento clínico ecocardiográfico y de llevar a cabo biopsias de control.

Pese a que estas recomendaciones son universalmente aceptadas, como las mismas guías reconocen, se basan en evidencias bastante débiles.

En nuestra experiencia la mayor parte de las biopsias rutinarias en las que se detectó rechazo moderado-severo fueron tratadas con bolos de corticoides. Sin embargo en 16 pacientes se decidió no instaurar tratamiento debido a una situación clínica y ecocardiográfica óptimo. Pese a que esta práctica sería cuestionable atendiendo a las recomendaciones actuales, cuando se analizó la evolución posterior de estos pacientes se comprobó que ninguno presentó rechazo o pérdida del injerto en los siguientes 12 meses, lo que pone de manifiesto que en casos seleccionados se puede optar por un seguimiento estrecho del injerto sin tratamiento en pacientes asintomáticos y sin datos ecocardiográficos de rechazo.

Estos datos por tanto vienen a cuestionar la necesidad de tratar todos los rechazos anatomopatológicos que se encuentran de forma casual al hacer biopsias seriadas si las condiciones clínicas y ecocardiográficas del injerto son óptimos.

Otras series han encontrado la resolución espontánea de rechazos moderados en un importante porcentaje de pacientes sobre todo en fases avanzadas del trasplante. Winters et al ⁶⁰ estudian 4398 biopsias en 208 pacientes consecutivos, de las cuales 401 presentaban rechazo moderado por encontrarse uno o dos focos de rechazo. En esta serie el 85% de estos rechazos se resolvió espontáneamente y solamente el 15% progreso a

formas más avanzadas de rechazo. Además el progreso de las lesiones hacia grados más severos no se relacionó con la supervivencia de los pacientes.

En definitiva, es posible que debido al elevado número de biopsias que se llevan a cabo de forma rutinaria, sean detectados cierta cantidad de rechazos cuyo tratamiento finalmente no fuera necesario. Además, los rechazos que no son detectados por no utilizar un seguimiento con biopsias seriadas, pero que no afectan la funcionalidad del injerto, no parecen suponer un riesgo importante en la evolución del mismo.

3. Otras alternativas a la monitorización del rechazo

3.1. La ecografía como alternativa a la monitorización con biopsias

La biopsia endomiocárdica ha sido con gran diferencia la técnica más utilizada para la monitorización del rechazo agudo en pacientes sometidos a trasplante cardíaco. Sin embargo se trata de una técnica que, como se ha visto, presenta importantes limitaciones.

Con este trabajo hemos pretendido demostrar que la ecocardiografía puede ser una herramienta útil asociada a un control clínico estrecho y utilizando la metodología adecuada.

Uno de los principales problemas de a la ecocardiografía con respecto a la biopsia en la monitorización del rechazo ha sido la deficiente correlación entre los parámetros ecocardiográficos y anatomopatológicos en el rechazo agudo.

Probablemente una de las explicaciones a este fenómeno estriba en la premisa según la cual la biopsia representa el *patrón oro* de referencia para el diagnóstico del rechazo ¹⁰⁹. Previamente se han analizado las limitaciones de la biopsia como método diagnóstico, tanto en su sensibilidad como en su especificidad, así como su escaso rendimiento a la hora de guiar el tratamiento del rechazo, sobre todo con las pautas de inmunosupresión actuales.

Por otro lado la monitorización con biopsias seriadas se basa en la consideración de la historia natural del rechazo como un proceso episódico progresivo, que requiere un tratamiento precoz para evitar su progresión a estadios irreversibles. Esta presunción también ha sido puesta en tela de juicio. No todos los rechazos avanzan necesariamente hasta dañar la función del injerto y muchos de ellos pueden resolverse espontáneamente. Según esto, el umbral de tratamiento basado en datos anatomopatológicos sería demasiado bajo y una posible alternativa sería establecer el tratamiento en los casos en que comenzasen a producir disfunción sistólica del injerto.

En definitiva el esquema de biopsias tradicionalmente aceptado y actualmente vigente según las guías actuales está de nuevo, basado en presupuestos cuya validez es discutible.

Parámetros ecocardiográficos utilizados para la detección del rechazo agudo

La base de la utilización de la ecocardiografía para monitorizar el rechazo viene dada por el hecho de que como consecuencia del proceso de rechazo tienen lugar una serie de cambios estructurales en el injerto que pueden ser detectados mediante estudio ecocardiográfico.

Según esto la ecocardiografía permitiría la detección del rechazo cardiaco de forma no-invasiva, a través de la observación de datos agudos de disfunción del injerto. En este sentido la ecocardiografía tendría la hipotética ventaja de aportar información funcional aparte de la meramente estructural que proporciona la biopsia. Sabemos que el proceso de rechazo comienza con infiltración linfocitaria y edema miocárdico, que desde el punto de vista funcional afecta precozmente a la función diastólica. Posteriormente se produce necrosis de miocitos, que acaba afectando a la función sistólica ⁶⁶.

Por tanto inicialmente aparecerán datos de disfunción diastólica que pueden progresar hacia un patrón restrictivo ocasionalmente acompañado de aumento de la masa ventricular, y si el proceso de rechazo sigue progresando, finalmente acabar en disfunción sistólica.

Uno de los primeros cambios ecocardiográficos que se puso de manifiesto en los pacientes que desarrollaban un rechazo agudo fue la presencia de un engrosamiento de las paredes ventriculares ¹¹⁰ y un incremento de la masa ventriculares ¹¹¹. Sin embargo estos cambios suelen aparecer cuando el fenómeno de rechazo se encuentra ya en fases avanzadas, y se convirtió en un signo poco frecuente desde la introducción de la ciclosporina. Ninguno de estos parámetros ecocardiográficos ha demostrado claramente utilidad en la práctica por su escasa sensibilidad y especificidad y por la dificultad de interpretar los hallazgos en determinados casos.

Se han publicado múltiples estudios intentando correlacionar datos precoces de disfunción diastólica por diversos métodos con la presencia de rechazo. En concreto, se han evaluado todos los parámetros clásicos de función diastólica por *Doppler* (velocidad pico de ondas E y A, relación E/A, tiempo de deceleración y tiempo de hemipresión de la onda E, tiempo de relajación isovolumétrica y análisis del flujo en venas pulmonares).

Valantine et al ¹¹² en 1987 demostraron una excelente correlación entre los valores de función diastólica y la biopsia endomiocárdica en 55 pacientes a los que se realizó estudios ecocardiográficos seriados analizando este tipo de parámetros. Sin embargo, en un estudio posterior Mannaerts et al ¹¹³ comparan los datos de disfunción diastólica obtenidos mediante estudio *Doppler* pulsado transmitral con el resultado de la biopsia realizado durante el mismo día, demostrando un amplio solapamiento de los parámetros ecocardiográficos de disfunción diastólica entre los pacientes con rechazo en la biopsia y los que no lo tenían, que se atribuyó a la gran cantidad de variables hemodinámicas que pueden modificar los parámetros de disfunción diastólica en los pacientes trasplantados.

Recientemente Mena et al ⁶⁸ publican una revisión sistemática de las publicaciones entre 1967 y 2005, en la que se analizaban los resultados de los principales estudios que utilizaron parámetros de disfunción diastólica para la detección de rechazo. Observan una gran variabilidad entre los estudios, en muchos casos claramente discordantes y concluyen que debido a la inconsistencia de los trabajos publicados y a la escasa sensibilidad observada en los mismos no existe evidencia para utilizar estos parámetros como técnica

de detección precoz del rechazo agudo y que serán necesarios más estudios para llegar a conclusiones aplicables en la práctica. En el paciente trasplantado, aparte del rechazo agudo, la función diastólica se puede afectar por múltiples variables tales como las condiciones de llenado, la postcarga, la presencia de hipertrofia ventricular, una dinámica auricular alterada, el tamaño ventricular inapropiado, etc. Por tanto, no parece lógico esperar que índices aislados o combinaciones de parámetros de función diastólica puedan servir para discriminar los episodios de rechazo. Aunque sin duda estos índices aportan información clínicamente útil, actualmente se consideran insuficientes para tomar decisiones clínicas.

También son controvertidos los datos existentes sobre los parámetros de *Doppler* tisular. Esta técnica es en principio menos dependiente de las condiciones de llenado y debería ser más sensible y específica que los parámetros *Doppler* convencionales para la detección de las alteraciones precoces de la función diastólica en el proceso de rechazo.

Dandel et al ¹¹⁴ analizaron el pico diastólico precoz y el tiempo de relajación medidos el mismo día a la realización de 408 biopsias, correlacionándolo con la presencia de grados moderados y severos de rechazo. Se calcularon sensibilidades superiores al 90% para ambos parámetros y valores predictivos positivos del 96%. Los autores se plantean a raíz de estos resultados la posibilidad de reducir el número de biopsias utilizando esta técnica de forma rutinaria para seleccionar previamente a los pacientes. Sin embargo los resultados de múltiples estudios publicados con posterioridad han sido de nuevo bastante inconsistentes y conflictivos a la hora de demostrar esta correlación, y los parámetros de *Doppler* tisular, que empezaron a ser utilizados de forma bastante generalizada, han ido cayendo posteriormente en desuso ⁶⁹. En la práctica, esta mayor sensibilidad se acompaña de una especificidad insuficiente, por lo que resulta poco útil para su aplicación clínica ⁷⁰.

Otros estudios más complejos han intentado demostrar la hipótesis de que el rechazo se acompaña de alteraciones en el “*untwist*” diastólico precoz de ambos ventrículos, midiendo las diferencias temporales entre el comienzo de la onda E y la onda e', tanto en el anillo mitral como en el tricuspídeo. Sin embargo, las diferencias detectadas no fueron

suficientes para ser utilizadas de forma aislada como criterio de diagnóstico ¹¹⁵. En todo caso desde un punto de vista práctico, podemos afirmarse que si se detecta una velocidad diastólica tisular normal y que se mantiene a lo largo del tiempo, la posibilidad de rechazo agudo por biopsia es baja.

Los llamados parámetros de deformación ("*strain*" y "*strain rate*") introducidos más recientemente han demostrado una elevada sensibilidad para detectar la afectación subclínica de la contractilidad y elasticidad miocárdica en diversas patologías como isquemia, miocardiopatía o toxicidad farmacológica. Estos resultados positivos hacían pensar a priori que serían adecuados para detectar forma precoz la infiltración celular, el edema y el daño en los miocitos propios del proceso de rechazo. Sin embargo, cuando se han aplicado las técnicas de análisis de parámetros de deformación basadas en el *Doppler* tisular-color, los resultados han sido inconsistentes y poco reproducibles ⁷¹.

Más recientemente se ha utilizado el análisis de los parámetros de deformación miocárdica mediante *speckle-tracking* con resultados prometedores. A priori deberían resolver muchos de los problemas inherentes a las técnicas basadas en *Doppler* tisular-color (dependencia del ángulo de interrogación y del movimiento de traslación, baja resolución espacial). De hecho esta técnica se considera en la actualidad como referencia para detectar alteraciones sutiles o incipientes en la función miocárdica y por lo tanto podría ser muy útil como técnica para la detección del rechazo de forma precoz.

Mingo-Santos et al. ⁷⁴ analizando 34 pacientes y comparando los resultados de la ecocardiografía con los de la biopsia, encuentran que la combinación de parámetros normales de *strain* global longitudinal de ambos ventrículos puede ayudar a descartar el rechazo, evitando la realización de esta cuando el resultado fuese normal. En este mismo sentido Clemmensen et al. ⁷³ encuentran una correlación entre reducción del *strain* global longitudinal y el rechazo, que mejora después del tratamiento. Sato et al ¹¹⁶ analizando estos parámetros en 274 biopsias, encontraron como la presencia de una reducción del 25% en el índice de torsión ventricular izquierda se correlacionaba con la presencia de rechazo moderado-severo, con una sensibilidad del 74% y una especificidad del 95%.

Angermann et al ¹¹⁷ utilizaron técnicas de retrodispersión integrada (*backscatter*) en 2D, en 55 pacientes y correlacionaron los valores encontrados con los resultados de 220 biopsias. Esta técnica ecocardiográfica permite mediante el análisis de las propiedades acústicas caracterizar el tejido miocárdico. Encontraron que incrementos en los valores telediastólicos de retrodispersión integrada a nivel de la pared posterior y el septo permitían la identificación de grados moderados y severos de rechazo, así como la caracterización del grado de rechazo.

Sin embargo las series publicadas utilizando estas técnicas son limitadas y heterogéneas y los parámetros estudiados son técnicamente complejos de adquirir y difícilmente reproducibles, por lo que estos resultados deberán ser establecidos en estudios multicéntricos más amplios, y en cualquier caso no son susceptibles de ser aplicados en la práctica de forma generalizada en el momento actual.

Papel general de la ecocardiografía en el seguimiento del rechazo

Por lo tanto, ningún parámetro ecocardiográfico aislado ha demostrado ser capaz de predecir de forma reproducible los valores de la biopsia, y por tanto sustituir a esta para la monitorización del rechazo. Sin embargo el estudio ecocardiográfico utilizado de forma global, permite establecer una monitorización bastante fiable del estado del injerto, y además se trata de una técnica sencilla, fácilmente accesible y barata, representando probablemente una técnica muy adecuada para el seguimiento de los pacientes.

De forma general podemos afirmar que la disfunción diastólica es un dato muy sensible pero poco específico de rechazo mientras que la disfunción sistólica, siendo menos sensible es mucho más específica, especialmente en ausencia de otros datos que pudieran explicarla ¹¹². Cuando se trata de aplicar la ecocardiografía para compararla con el diagnóstico de rechazo “anatomopatológico”, su sensibilidad y especificidad son muy variables y además se establecen en base a un patrón oro que como hemos visto tiene muchas limitaciones. Sin embargo, aplicadas a la detección del rechazo “clínico”, son mucho más sensibles y sobre todo muy específicas.

En un porcentaje no desdeñable de pacientes la biopsia endomiocárdica resulta negativa o de bajo grado pese a presentar datos clínicos y ecocardiográficos de rechazo importante. En estos casos la detección de disfunción sistólica del injerto con ecocardiografía permite establecer el diagnóstico y estimar la gravedad del rechazo, recomendándose iniciar el tratamiento antirrechazo sin necesidad de esperar a los resultados de la biopsia o incluso si en esta no se detectan datos de rechazo. Por otro lado se acepta que una monitorización ecocardiográfica seriada permite estimar la presencia de rechazo significativo, basándose en que desde un punto de vista práctico, se puede asumir con suficiente certeza que un paciente asintomático y con una buena función sistólica del injerto por ecocardiografía no tiene en ese momento un rechazo clínicamente significativo y que por el contrario, la presencia de disfunción sistólica del injerto es un dato que marca una alta probabilidad de rechazo severo ⁴⁵.

Por ello, pese a sus limitaciones, la ecocardiografía ocupa en la práctica clínica un lugar fundamental en la monitorización, el diagnóstico y la evaluación de la respuesta al tratamiento del rechazo, y de hecho es una de las técnicas más utilizadas en el manejo clínico diario de los pacientes.

Además por su rapidez y disponibilidad, la ecocardiografía resulta una metodología útil y el seguimiento habitual de los pacientes trasplantados, y desde el punto de vista clínico, ayuda frecuentemente a la toma inmediata de decisiones.

Muchos grupos de trasplante tienen amplia experiencia en la toma de decisiones clínicas basadas en la ecocardiografía y asumen estas prácticas en el seguimiento de sus pacientes en el día a día. Nuestros resultados vienen a corroborar esta idea de utilizar la ecocardiografía como un método complementario, considerado en su globalidad, interpretado dentro del contexto clínico del paciente y sin olvidar la posible utilización de la biopsia para casos dudosos.

En este sentido la gran diferencia con la mayor parte de los estudios publicados en la literatura es que estos se han focalizado en la mayoría de los casos hacia la detección no

invasiva del rechazo anatomopatológico con el fin de sustituir a las biopsias seriadas como método de monitorización.

Probablemente este fracaso se deba por una parte, a haber centrado el interés en un solo parámetro, sin tener en cuenta otros factores clínicos y además intentando establecer su valor diagnóstico mediante comparación con la biopsia, asumiendo el dudoso paradigma de que la biopsia es el patrón oro de referencia, cuando como se ha visto esta técnica presenta múltiples limitaciones.

3.2. Otras técnicas de monitorización del rechazo

Pese a que la ecocardiografía es en la práctica la técnica no invasiva probablemente más utilizada para la monitorización del rechazo agudo en el seguimiento de pacientes sometidos a trasplante cardiaco, no deja de tener también importantes limitaciones que han favorecido el desarrollo de una serie de técnicas alternativas. Algunas de estas técnicas han demostrado resultados prometedores, aunque en el momento actual ninguna de ellas presenta suficiente cuerpo de evidencia como para ser considerada una alternativa a la biopsia endomiocárdica.

Una de las técnicas más prometedoras en este sentido es la resonancia magnética, que presenta la ventaja de ser una técnica no invasiva y cuya disponibilidad pese a ser menor

Varios han sido los parámetros utilizados para detectar el rechazo mediante técnicas de resonancia. El tiempo de relajación T2 ha sido uno de los más estudiados, demostrando una buena correlación con la biopsia en modelos animales ¹¹⁸. Este parámetro permite estimar el contenido en agua de un determinado tejido, poniendo de manifiesto áreas con mayor hiperemia o edema. Marie et al ¹¹⁹ demostraron utilizando este parámetro en 68 pacientes a los que se realizó biopsia y resonancia, una sensibilidad del 89% con una especificidad del 70% para la detección de rechazos moderados severos, aunque con un valor predictivo positivo de solamente un 35%. En este mismo estudio se puso de manifiesto que la gran mayoría de pacientes con biopsia normal que desarrollaban rechazo en el seguimiento tenían un estudio T2 patológico, planteándose la posibilidad de que este

parámetro pudiera ser utilizado como predictor de futuros rechazos. Una de las principales limitaciones de esta técnica sin embargo había sido puesto de manifiesto por Wisenberg et al ¹²⁰ que demostraron que este parámetro no era válido durante el primer mes postrasplante debido a que aparecía en la mayoría de pacientes independientemente de la presencia o no de rechazo. A pesar de ello Usman et al ¹²¹ han publicado recientemente un pequeño estudio piloto en el que analizaron los resultados obtenidos en 74 biopsias con los tiempos T2 obtenidos mediante resonancia con una buena correlación tanto para rechazo celular como humoral. En cualquier caso Dado que los datos son controvertidos, y pese a estos prometedores resultados, serán necesarios ensayos más amplios para establecer la verdadera utilidad de este parámetro en la práctica clínica.

Algunos autores han tratado determinar la presencia de rechazo mediante la utilización de técnicas de contraste con gadolinio, puesto que las zonas de hipercaptación precoz tras administración del contraste podrían reflejar la situación de hiperemia secundaria al proceso inflamatorio que se produce en el tejido con rechazo agudo. Recientemente Taylor et al ¹²² demostraron mediante esta técnica en 50 pacientes una sensibilidad del 100% con una especificidad del 73%. En todo caso serán necesarias series más amplias para confirmar estos resultados. Así mismo se ha tratado de determinar la presencia de rechazo mediante la detección de pequeñas áreas necróticas mediante el estudio de zonas de realce tardío con gadolinio, aunque no se ha correlacionado la presencia de estas áreas con el rechazo en la biopsia, con muy escasa sensibilidad para la detección de rechazo moderado severo ¹²³.

Recientemente Krieghoff et al ¹²⁴ compararon los resultados obtenidos en 146 biopsias realizadas a 73 pacientes, con los resultados de la resonancia utilizando los mismos parámetros que habitualmente se emplean para la detección de miocarditis, encontrando una excelente correlación cuando se utilizaba una combinación de parámetros, con resultados superponibles a los obtenidos en el diagnóstico de la miocarditis. Sin embargo, Miller et al ¹²⁵, en un estudio similar analizan 88 biopsias en 22 pacientes a los que se le realizó resonancia el mismo día, encontrando que esta no era capaz de detectar de forma

fiable la presencia de rechazo en la biopsia, pese a encontrar de forma aislada correlación con alguno de los parámetros estudiados.

En definitiva, pese a que algunos resultados son prometedores, no existe evidencia suficiente como para utilizar la resonancia cardiaca de forma rutinaria para el control del rechazo en pacientes con trasplante cardiaco. Además de la falta de evidencias sólidas, la disponibilidad de la técnica es evidentemente más limitada que la de la ecografía.

Otra de las alternativas propuestas para la monitorización del rechazo agudo han sido técnicas basadas en las propiedades electrofisiológicas del injerto. La presencia de rechazo agudo y el daño miocárdico asociado pueden dar lugar a alteraciones en las propiedades eléctricas del tejido miocárdico, que pueden ser puestas de manifiesto por alteraciones del patrón electrocardiográfico. Se han utilizado varias técnicas como el electrocardiograma de promedio de señal, el estudio de la dispersión del QT o estudios de variabilidad miocárdica. Todos ellos sin embargo no han podido ser aplicados en la clínica por su escasa sensibilidad, puesto que este tipo de alteraciones solamente se hacen evidentes en grados avanzados de rechazo ⁶⁹.

También se ha tratado de detectar estas alteraciones mediante el análisis de los electrogramas endocavitarios obtenidos tras la implantación de marcapasos. Estas técnicas se basan en la reducción de la señal endocavitaria y la modificación de los valores de impedancia que se producen durante los episodios de rechazo. El grupo del *German Heart Institute* de Berlín publicó los resultados de una serie de 32 pacientes en los que se realizó una estrategia de monitorización del rechazo basada en el análisis seriado de la señal endocavitaria obtenida tras la implantación de un marcapasos bicameral asociada a una monitorización de parámetros ecocardiográficos ¹²⁶. Pese a que no fueron utilizadas para la toma de decisiones se realizaron biopsias endomiocárdicas seriadas a todos los pacientes. La monitorización no invasiva permitió el diagnóstico de 22 de los 27 episodios de rechazo que fueron tratados. El análisis retrospectivo de las biopsias determinó un valor predictivo negativo de la monitorización con marcapasos para la detección de rechazo anatomopatológico significativo. Tras la publicación de estos resultados, y utilizando esta

técnica, este grupo ha reducido significativamente el número de biopsias que realiza de forma rutinaria a sus pacientes ⁴⁶.

Esta técnica ha sido mejorada mediante la utilización de potenciales evocados ventriculares tras estimulación. Se trata de analizar la pendiente máxima de la porción negativa de la onda T de la respuesta ventricular evocada obtenida durante pulsos cortos de estimulación ventricular mediante la utilización de electrodos epicárdicos especiales, encontrándose una correlación entre la amplitud de la señal y el grado de rechazo en la biopsia ¹²⁷.

Utilizando esta técnica Bourge et al ¹²⁸ publican los resultados de un estudio multicéntrico americano en el que a 30 pacientes se les implantó un sistema epicárdico de estas características, analizando las señales de forma simultánea a la realización de las biopsias. El análisis de los potenciales evocados presentó un valor predictivo negativo del 98% para la detección de rechazo significativo en la biopsia, calculándose que con la utilización de dicha técnica podría reducirse en un 55% las biopsias realizadas. Sin embargo el valor predictivo positivo fue muy bajo y la tasa de complicaciones debidas al dispositivo relativamente elevada con un 3% de pacientes que requirieron explantación del dispositivo. Grasser et al ¹²⁹ publican posteriormente los resultados de la utilización de esta técnica en 44 pacientes incluidos en cuatro centros europeos. Se realizó una monitorización mediante electrogramas evocados durante los seis primeros meses tras el trasplante, comparándolos con los resultados obtenidos en la biopsia. Los resultados fueron similares al estudio anterior, demostrando un valor predictivo negativo del 97%, pero un valor predictivo positivo de solamente el 11%, estimándose que podrían evitarse el 48% de las biopsias realizadas. Finalmente Bainbridge et al ¹³⁰ publican los resultados obtenidos en 45 pacientes incluidos en un solo centro británico a los que se implanto dispositivo para la medición de potenciales evocados y se realizó biopsia de forma rutinaria. Se encontró una baja correlación diagnóstica entre los parámetros de monitorización mediante marcapasos y la biopsia, con una sensibilidad del 55% y una especificidad del 62%.

Por tanto pese a que en algunos casos los resultados fueron prometedores, en estudios posteriores han resultado heterogéneos y en todos los casos se ha encontrado una especificidad limitada. Por otro lado supone la implantación de un dispositivo, no exento de complicaciones propias de los marcapasos a largo plazo en pacientes que no requieren en la mayoría de los casos estimulación permanente. Esto ha hecho que salvo grupos muy concretos estas técnicas hayan caído en desuso.

Se han propuesto también métodos basados en la utilización de parámetros analíticas para la detección del rechazo. Así se han analizado marcadores de daño miocárdico como la troponina ^{131,132} o péptido natriurético tipo B (BNP) ¹³³. Ninguno de estos parámetros de forma aislada ha demostrado suficiente sensibilidad y especificidad como para ofrecer una alternativa al problema del diagnóstico del rechazo agudo. Se han utilizado también técnicas de monitorización mediante estudios radioisotópicos con resultados variables, pero generalmente con muy baja sensibilidad ¹³⁴.

Recientemente se han desarrollado métodos basados en la monitorización de la respuesta inmune mediante el estudio de la expresión de determinados marcadores génicos de células mononucleares de sangre periférica. El estudio CARGO (*Cardiac Allograft Rejection Gene Expression Observational*) ¹³⁵, desarrolló un test molecular para la detección de genes relacionados con el rechazo en leucocitos circulantes. En una primera fase se seleccionaron 11 genes para la realización del test, aplicándose posteriormente a una cohorte de validación de 63 pacientes. Se encontró una buena correlación entre los valores del test y los resultados de las biopsias con un valor predictivo negativo del 99,6%, concluyéndose que su aplicación de forma rutinaria podría reducir significativamente el número de biopsias.

Especial mención debe hacerse del estudio IMAGE (*Invasive Monitoring Attenuation through Gene Expression*) ⁷⁶. Este ensayo clínico realizado posteriormente evaluó un test de expresión génica frente a la realización de biopsias rutinarias para diagnosticar rechazo. Los pacientes fueron aleatorizados a ser seguidos mediante la práctica estándar con biopsias rutinarias frente a una monitorización basada en el test de expresión génica, con

realización de biopsia solamente en el caso de que el valor del test estuviese por encima de un umbral pre especificado. En ambos brazos, el seguimiento incluyó además evaluación clínica y ecocardiográfica de la función del injerto.

Se trata por tanto del único estudio multicéntrico, controlado y randomizado en el que se compara la monitorización de los pacientes con una técnica no invasiva frente a una estrategia de seguimiento “convencional” con biopsias.

Los pacientes incluidos debían llevar al menos 6 meses trasplantados, debían estar clínicamente estables y con una fracción de eyección superior al 45%. Se excluyeron pacientes con historia de vasculopatía del injerto severa o con signos o síntomas de insuficiencia cardiaca. El objetivo primario fue el combinado de rechazo con compromiso hemodinámico, disfunción del injerto por otras causas, muerte o retrasplante. Se incluyeron 602 pacientes con un seguimiento medio de 19 meses. A los 2 años, no hubo diferencia entre ambos grupos con respecto al objetivo primario (14,5% vs 15,3%; HR con expresión génica 1,04, IC95% 0,67-1,68). Tampoco hubo diferencias respecto a muerte de cualquier causa (6,3% vs 5,5% $p=0,82$). Los pacientes seguidos con el test de expresión génica tuvieron menos biopsias por año de seguimiento (0,5 vs 3 $p<0,001$). De 34 episodios de rechazo identificados en el grupo de seguimiento mediante el test de expresión génica, tan solo 6 fueron detectados en base al test. El resto fueron asociados a clínica de insuficiencia cardiaca o disfunción del injerto en el ecocardiograma. Por lo tanto en una población de pacientes seleccionada a partir del sexto mes de tras un trasplante cardiaco y sobre una población de bajo riesgo, una estrategia de monitorizar el rechazo con un test de expresión génica, en comparación con las biopsias endomiocárdicas rutinarias, no se asoció con un riesgo aumentado de efectos adversos serios y redujo el número de biopsias.

El estudio presenta sin embargo algunas limitaciones puesto que se incluyeron exclusivamente pacientes con bajo riesgo de rechazo y sólo el 20% de pacientes potencialmente elegibles fueron aleatorizados. Además en el grupo no invasivo, se produjeron rechazos que no fueron identificados hasta que se evidenció disfunción del injerto.

La principal limitación probablemente estribe en que solamente se incluyeron pacientes a partir del sexto mes de trasplante, que es precisamente el periodo de tiempo en el que mayor número de biopsias rutinarias son realizadas por ser este periodo el de máximo riesgo de rechazo.

En este sentido nuestro estudio asumiendo tener una metodología menos potente que este estudio, repercute desde el punto de vista práctico en una reducción de biopsias con un impacto clínico mayor, siendo los resultados de seguridad superponibles a los obtenidos en el estudio IMAGE.

En resumen, ninguna de las alternativas que se han propuesto hasta el momento para sustituir a la realización seriada de biopsias endomiocárdicas seriadas, ha conseguido evidencias suficientes como para tener algún tipo de utilidad en la práctica.

La ecocardiografía pese a sus limitaciones es probablemente la más utilizada como método de apoyo a las decisiones diagnósticas y terapéuticas, pero en ningún caso se han publicado ni con ecocardiografía ni con ninguna otra técnica reducciones en la realización de biopsias durante el primer año de trasplante de la magnitud de las encontradas en nuestro estudio.

4. Efectos de esta estrategia a corto plazo: rechazo agudo, compromiso hemodinámico y mortalidad al primer año

4.1. Efecto de esta estrategia sobre la incidencia de rechazo agudo

Uno de los principales temores a la hora de suprimir las biopsias del calendario de monitorización de los pacientes es que se produzca un retraso en el diagnóstico de los episodios de rechazo que repercuta finalmente en un aumento del número de rechazos de estos pacientes.

La incidencia global de rechazo durante el primer año fue de del 29 %, reduciéndose a medida que evolucionaba el tiempo.

Esta tendencia a la baja en la incidencia de rechazo durante el primer año es un fenómeno universal que ha sido puesto de manifiesto durante los últimos años. En el registro internacional la incidencia de rechazo se ha reducido considerablemente a medida que se analizaban fechas de trasplante más recientes.

Según el registro de la *ISHLT*¹¹ durante el periodo 2004-2006 la incidencia de rechazo fue del 30%. Cuando se analizó el periodo 2010-2012 esta incidencia se redujo al 25%. Se observa además una tendencia paralela a la reducción del número de rechazos tratados que pasó del 23% en el periodo 2004-2006 al 13% en 2010-2012.

En nuestra serie el porcentaje de pacientes con rechazo tratado podría parecer excesivo si se compara con los datos más recientes del registro (30% en nuestra serie vs 13% del registro). Sin embargo la tendencia en nuestra serie fue también a ir reduciendo el porcentaje de pacientes con rechazo a lo largo de los años. Mientras que en 1992 fue del 34% en el año 2003 fue del 20%. Esto representa tasas muy similares a las reportadas por el Registro durante aquellos años.

La reducción del número de rechazos, históricamente se ha atribuido a las mejoras del régimen de inmunosupresión y a la tendencia a ser más conservador a la hora de tratar rechazos moderados. Nuestros resultados podrían ofrecer una explicación adicional puesto que la reducción en el número de rechazos anatomopatológicos encontrados podría ser debida al menor número de biopsias realizadas.

Por otra parte, se podría pensar que no tratar episodios de forma precoz pudiera tener un efecto negativo, aumentando la incidencia de rechazos graves por no haber sido tratados de forma precoz, aunque en este sentido no se ha observado un aumento de la mortalidad por rechazo ni de rechazos con repercusión hemodinámica.

Además la presencia de rechazos sin repercusión clínico ecocardiográfica, pese a resolverse de forma espontánea, podrían por no ser tratados, acabar dañando de forma inadvertida el injerto, aunque tampoco la mortalidad por rechazo a largo plazo se ha visto afectada.

Por el contrario, podría argumentarse, que evitar el tratamiento de episodios de rechazo anatomopatológico no detectados, y por tanto resueltos espontáneamente, podría tener un efecto beneficioso, por evitar tratamientos antirechazo de choque innecesarios.

Además de los datos proporcionados por el Registro Internacional, no parece que en nuestra serie la incidencia de rechazo sea tampoco superior a la publicada por otros grupos. En el recientemente publicado estudio TICTAC ¹⁰⁸ que comparaba un régimen de inmunosupresión con monoterapia frente a un tratamiento combinado en 150 pacientes durante el primer año de trasplante, El 29.5% de los pacientes del grupo de monoterapia y el 19.4% de terapia combinada presentaron algún episodio de rechazo tratado durante el primer año. En otro reciente estudio multicéntrico europeo en el que se comparaban dos regímenes de inmunosupresión con tacrólimus y ciclosporina, la incidencia de rechazo tratado durante los seis primeros meses de trasplante fue de 43.3% en el grupo de tacrólimus frente y de un 48,4% en el grupo de ciclosporina ¹³⁶.

Aunque la comparación de estos resultados resulta compleja debido a que son metodológicamente heterogéneos, en todos ellos las tasas de rechazo son superiores a los reportados en nuestro estudio y a las del Registro Internacional.

Finalmente cabe destacar que ningún estudio ha demostrado que exista relación directa entre mortalidad y número de rechazos detectados y de hecho en el registro de la ISHLT la mortalidad global fue la misma en pacientes con episodios tratados de rechazo y aquellos que no presentaron rechazo ¹¹.

4.2. Efecto de esta estrategia sobre la incidencia de rechazo con repercusión hemodinámica

Probablemente más interesante resulte la valoración de los rechazos que finalmente provocan alteraciones hemodinámicas severas, y que podrían aumentar en nuestra serie como consecuencia de un retraso en la detección del rechazo derivado de no realizar biopsias seriadas.

Nuestra incidencia de rechazo con repercusión hemodinámica fue del 11.7%, cifra que podría parecer algo elevada. Sin embargo, al intentar comparar nuestros resultados con otras series, nos encontramos con la sorpresa de que este dato prácticamente no es reportado en la literatura, y después de una revisión bibliográfica intensa solo hemos encontrado tres estudios donde se analice de forma consistente. Las características y resultados de las mismas quedan resumidas en la siguiente tabla (tabla 6.1.)

Tabla 6.1.		Estudios que analizan la incidencia de rechazo con repercusión hemodinámica	
Estudio	Tipo de estudio	N	Proporción de rechazo con repercusión hemodinámica
Kobashigawa JA ³² (1995)	Randomizado. Un solo centro (UCLA).	97	17.5%
Eisen HJ ³⁵ (2003)	Randomizado. Multicéntrico internacional.	634	8.5%
Mills RM ⁴⁷ (1997)	Registro nacional (USA).	3367	5%

Como vemos, el rango es muy variable, oscilando entre un 5 y un 17.5%. Nuestros resultados (11.7%) ocupan un aposición intermedia. Dentro de los diferentes contextos clínicos en los que se han realizado estos estudios, el más comparable a nuestra serie es el de Kobashigawa et al ³², con datos homogéneos de un solo centro. Es precisamente este estudio el que refleja una incidencia de rechazo con repercusión hemodinámica más elevada que la de nuestra serie.

Por tanto podemos concluir que la incidencia de rechazo hemodinámico encontrada utilizando nuestra estrategia de monitorización del rechazo no es excesiva, ni superior a los escasos datos disponibles en la literatura.

4.3. Efecto de esta estrategia sobre la mortalidad al primer año

Otro de los posibles efectos de un protocolo de monitorización sin biopsias rutinarias sería que los rechazos anatomopatológicos no tratados precozmente provocaran un aumento de la mortalidad por rechazo durante el primer año.

La supervivencia actuarial al primer año de nuestra serie no puede ser comparada directamente con la del registro de la ISHLT, debido a que en nuestra serie se excluye la mortalidad durante la primera semana (dado que en dicho periodo de tiempo no se realizan en ningún caso biopsias de forma rutinaria).

Sin embargo, sí que disponemos de este dato en el RETC, por lo que podemos realizar una comparación directa y observamos que nuestra supervivencia actuarial al primer año (84,3%) es superponible a la del RETC (82.7%).

Al considerar la etiología de los fallecimientos en nuestra serie, vemos que el 18.6% se debía a rechazo agudo durante el primer año. Estas cifras son comparables a las reportadas en el RETC, en el que esta cifra oscilaba entre el 10-20%.

5. Efecto de esta estrategia a largo plazo: vasculopatía del injerto y mortalidad a largo plazo

5.1. Posibles consecuencias sobre la vasculopatía del injerto

La vasculopatía del injerto es uno de los principales problemas de los pacientes trasplantados a largo plazo. Algunos estudios preliminares sugerían que la presencia de rechazos agudos de repetición podría aumentar la incidencia de vasculopatía a largo plazo^{41,42}. Sin embargo durante los últimos años se han relacionado múltiples factores tanto inmunológicos como no inmunológicos en la fisiopatología de la vasculopatía, de manera que el concepto actual es que la influencia de los rechazos agudos sobre el desarrollo de vasculopatía es marginal y que es muy probable que sean otros los factores que realmente influyen sobre el desarrollo de esta patología.^{137, 138, 139,140}

En cualquier caso, en nuestra serie la incidencia de vasculopatía fue de 8.4%. 34.3% y 52.3% al primer, quinto y décimo año respectivamente, si bien los pacientes con vasculopatía severa diagnosticada por angiografía fue mucho menor.

Tomando como referencia los datos publicados por el registro de la ISHLT en el año 2014 ¹¹, la prevalencia global de vasculopatía del injerto fue del 8% al primer año, 30% a los cinco años y 50% a los diez años.

En ninguno de estos estudios se hace referencia a la severidad de la vasculopatía. Constanzo et al ¹⁴¹ publican un estudio multicéntrico de la *Cardiac Transplant Research Database* analizando 2609 pacientes entre los años 1990 y 1995, en el que mediante una monitorización angiográfica similar a la nuestra y utilizando la misma metodología de clasificación, encontraron la presencia de algún grado de vasculopatía en el 42% de los pacientes a los 5 años de realizado el trasplante, que fue ligera en el 27% de los pacientes moderada en el 8% y severa en un 7%, datos similares a los encontrados en nuestros pacientes.

En definitiva, la incidencia de vasculopatía del injerto en nuestra serie es superponible a la descrita en la literatura, por lo que no parece que nuestra estrategia repercuta negativamente sobre la aparición de vasculopatía.

5.2. Posibles consecuencias sobre la mortalidad a largo plazo

Efecto de esta estrategia sobre la Mortalidad global a largo plazo

Posiblemente el dato que mejor puede reflejar la viabilidad de nuestra estrategia en la práctica clínica, sea demostrar que la supervivencia a largo plazo no se ve afectada negativamente.

Hemos visto como reducir drásticamente el número de biopsias a nuestros pacientes no repercute más allá de lo que cabría esperar ni en la tasa de rechazos severos, ni en la mortalidad por rechazo durante el primer año.

La comparación de la supervivencia actuarial de nuestra serie, en un seguimiento a muy largo plazo, con los datos de los pacientes incluidos en el RETC no encuentra diferencias estadísticamente significativas, siendo ambas curvas prácticamente superponibles.

En cuanto al registro de la ISHLT, la supervivencia actuarial es del 82% al primer año, 69% a los 5 y del 51% a los 10 años, aunque no podemos realizar una comparación directa puesto que en este registro se incluye también la mortalidad durante la primera semana pos trasplante.

Análisis etiológico de la mortalidad

Con las mismas limitaciones, al analizar las diferentes causas de mortalidad a largo plazo, nuestra incidencia de muerte por rechazo, vasculopatía o disfunción tardía del injerto están por debajo de las reportadas en el registro de la ISHLT.

La distribución de la mortalidad, cuando se toma el Registro Español como referencia, también es similar, quizá con una menor tasa de mortalidad por rechazo en este registro a expensas de un aumento en la mortalidad por infección. Esto evidentemente solo muestra tendencias por no tratarse de estudios diseñados para ser comparados. En definitiva, la mortalidad de nuestra serie no muestra diferencias estadísticamente significativas con una población muy amplia y homogénea como es la del Registro Español, una vez suprimido el sesgo de selección debido a la exclusión de la mortalidad durante la primera semana.

Finalmente no debemos olvidar la solidez de los datos del Registro Español, que recoge virtualmente la totalidad de los trasplantes realizados en nuestro país

Del mismo modo, aunque sean datos menos homogéneos, tampoco existen diferencias sustanciales con las cifras de supervivencia detectadas en el análisis de los datos del registro de la ISHLT.



LIMITACIONES

La principal limitación de este estudio radica en su carácter descriptivo y en la ausencia de un grupo control en el que la monitorización con biopsias se compare a la estrategia basada en ecocardiografías seriadas.

Esta limitación metodológica tiene sin embargo una explicación basada en la propia génesis del esquema de monitorización ecocardiográfico, que se fue implantando en nuestro de centro de forma empírica y progresiva, de manera que el resultado final es que desde hace más de 10 años prácticamente no se realizan biopsias de rutina a nuestros pacientes. En este contexto nos ha resultado imposible plantear un estudio randomizado, que supondría modificar radicalmente el manejo de una importante proporción de nuestros pacientes en contra de nuestra práctica habitual.

Aunque la ausencia de randomización podría restar valor a los resultados, también es cierto que existen algunas otras valoraciones que le dan solidez.

En primer lugar se trata de un estudio realizado con un número de muy grande de pacientes y con un periodo de seguimiento muy largo, lo que da consistencia a los resultados.

En segundo lugar, pese a no existir un grupo control en el diseño del estudio, se han comparado directamente nuestros resultados con los datos del RETC, cuya calidad y consistencia están bien contrastadas.

Otra posible limitación metodológica atribuible al estudio es su carácter retrospectivo. En este sentido debe hacerse una matización: la gran mayoría de los datos que se han utilizado fueron incluidos de forma prospectiva, puesto que existía antes del inicio del estudio la intención de analizarlos, y se creó a tal efecto una base de datos. Además la mayoría de los datos del seguimiento de los pacientes fueron recogidos de forma prospectiva. Esto da una mayor solidez a los datos en comparación a un análisis retrospectivo puro, puesto que la mayoría de las variables que iban a ser incluidas fueron decididas a priori y por lo tanto apenas se produjo pérdida de información, que representa una de las principales limitaciones de los análisis retrospectivos.

Aparte de las limitaciones metodológicas, probablemente la principal limitación venga dada por la reproducibilidad de nuestra estrategia en otros contextos. Los resultados obtenidos no se deben a la utilización de un parámetro ecocardiográfico en concreto, ni siquiera de forma exclusiva a los resultados obtenidos en la ecocardiografía. La interpretación de los eventos clínicos está sujeta a factores subjetivos difícilmente controlables, por lo que los resultados obtenidos podrían variar según el contexto en que se utilicen.

Otra limitación del estudio es que no se realiza ningún tipo de valoración directa sobre el efecto positivo de la reducción en el número de biopsias (complicaciones, calidad de vida, coste económico etc.). De todas formas, parece evidente que una reducción tan dramática del número de biopsias debería repercutir tanto en el bienestar del paciente, que se ve libre de una prueba invasiva, no exenta de complicaciones, como en el coste final del seguimiento. Por ello estos efectos deberían ser testados en un futuro.



CONCLUSIONES

Conclusiones

1. Esta estrategia de monitorización clínico-ecocardiográfica del rechazo agudo representa una alternativa a la monitorización clásica basada en biopsias seriadas, que actualmente se considera como la única estrategia establecida para el seguimiento de los rechazos durante el primer año post-trasplante cardiaco.
2. Como consecuencia de la implantación de este protocolo, se ha conseguido reducir de forma muy marcada el número de biopsias realizadas a los pacientes, hasta cifras muy inferiores a las publicadas en la literatura. Una vez conseguida cierta experiencia con esta estrategia, se ha llegado a la práctica anulación de las biopsias rutinarias en la mayor parte de los pacientes.
3. Esta estrategia no ha repercutido de forma negativa sobre la evolución clínica de los pacientes durante el primer año post-trasplante. no se han apreciado incrementos significativos en el número de rechazos tratados, en la incidencia de rechazos con repercusión hemodinámica ni en la mortalidad por rechazo con respecto a los datos de los principales registros y a la información disponible en la literatura.
4. Nuestra estrategia tampoco ha afectado de forma negativa la evolución clínica de los pacientes a largo plazo. No se han apreciado diferencias en la incidencia de vasculopatía del injerto ni en la supervivencia a largo plazo en comparación con los principales registros y la información disponible en la literatura.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carrel A, Guthrie CC: The transplantation of veins and organs, *Am Med* 1905; 10: 1101-2.
2. Mann FC, Priestley JT, Markowitz JJ, Yater WM. Transplantation of the intact mammalian heart. *Arch Surg.* 1933;26(2):219-224.
3. Dèmirov, VP. Experimental transplantation of vital organs. New York Consultant's Bureau, 1962.
4. Meine TJ, Russell SD. A history of orthotopic heart transplantation. *Cardiol Rev.* 2005; 13(4):190-6.
5. Lower RR, Shumway NE. Studies on the orthotopic homotransplantation of the canine heart. *Surg forum* 1960; 11:18.
6. Hardy JD, Chavez CM, Kurrus FD, et al: Heart Transplantation in man: Development studies and report of a case. *JAMA* 1964; 118: 1132.
7. Stinson EB, Dong E, Iben AB, Shumway NE. Cardiac transplantation in man. Surgical aspects. *Am J Surg.* 1969; 118(2):182-7.
8. Barnard CN. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. *S Afr Med J.* 1967; 41(48):1271-4.
9. Stinson EB, Dong E, Schoroeder JS, Harrison DC, Shumway NE. Initial clinical experience with heart transplantation. *Am J Cardiol.* 1968; 22(6):791-803.
10. Griep R B: A decade of the human heart transplantation. *Transplant Proc* 1979; 11(1): 285-92.
11. Yusen RD, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Benden C, Dipchand AI, Goldfarb SB, Levvey BJ, Lund LH, Meiser B, Rossano JW, Stehlik J. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-second Official Adult Lung and Heart-Lung Transplantation Report-2015; Focus Theme: Early Graft Failure. *J Heart Lung Transplant.* 2015; 34(10):1264-77.
12. González-Vílchez F, Segovia Cubero J, Almenar L, Crespo-Leiro MG, Arizón JM, Villa A, Delgado J, Roig E, Lage E, González-Costello J. Spanish Heart Transplantation Registry. 25th official report of the Spanish Society of Cardiology Working Group on Heart Failure and Heart Transplantation (1984-2013). *Rev Esp Cardiol.* 2014; 67(12):1039-51.
13. McAllister HA, Schnee MJ, Radovančević B, Frazier OH. A System for Grading Cardiac Allograft Rejection. *Tex Heart Inst J.* 1986; 13: 1-3.
14. Kemnitz J, Cohnert T, Schafers HJ, Helmke M, Wahlers T, Herrmann G, Schmidt RM, Haverich A. A classification of cardiac allograft rejection. A modification of the classification by Billingham. *Am J Surg Pathol.* 1987; 11:503-515.
15. Billingham ME, Cary NRB, Hammond ME, Kemnitz J, Marboe C, McAllister HA, Snovar DC, Winters GL, Zerbe A. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: Heart Rejection Study Group. The International Society for Heart Transplantation. *J Heart Transplant* 1990; 9:587-93.

16. Stewart S, Winters GL, Fishbein MC, Tazelaar HD, Kobashigawa J, Abrams J, Andersen CB, Angelini A, Berry GJ, Burke MM, Demetris AJ, Hammond E, Itescu S, Marboe CC, McManus B, Reed EF, Reinsmoen NL, Rodriguez ER, Rose AG, Rose M, Suciú-Focia N, Zeevi A, Billingham ME. Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection. *J Heart Lung Transplant*. 2005; 24:1710-20.
17. Hammond EH, Yowell RL, Nunoda S, Menlove RL, Renlund DG, Bristow MR, Gay WA Jr, Jones KW, O'Connell JB. Vascular (humoral) rejection in heart transplantation: pathologic observations and clinical implications. *J Heart Transplant* 1989; 8(6):430-43.
18. Reed EF, Demetris AJ, Hammond E, Itescu S, Kobashigawa JA, Reinsmoen NL, Rodriguez ER, Rose M, Stewart S, Suciú-Foca N, Zeevi A, Fishbein MC; International Society for Heart and Lung Transplantation. Acute antibody-mediated rejection of cardiac transplants. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25(2):153-9.
19. Kobashigawa J, Crespo-Leiro MG, Ensminger SM, Reichenspurner H, Angelini A, Berry G, Burke M, Czer L, Hiemann N, Kfoury AG, Mancini D, Mohacsi P, Patel J, Pereira N, Platt JL, Reed EF, Reinsmoen N, Rodriguez ER, Rose ML, Russell SD, Starling R, Suciú-Foca N, Tallaj J, Taylor DO, Van Bakel A, West L, Zeevi A, Zuckermann A; Consensus Conference Participants. Report from a consensus conference on antibody-mediated rejection in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2011; 30(3):252-69.
20. Berry GJ1, Angelini A, Burke MM, Bruneval P, Fishbein MC, Hammond E, Miller D, Neil D, Revelo MP, Rodriguez ER, Stewart S, Tan CD, Winters GL, Kobashigawa J, Mehra MR. The ISHLT working formulation for pathologic diagnosis of antibody-mediated rejection in heart transplantation: evolution and current status (2005-2011). *J Heart Lung Transplant*. 2011; 30(6):601-11.
21. Berry GJ, Burke MM, Andersen C, Bruneval P, Fedrigo M, Fishbein MC, Goddard M, Hammond EH, Leone O, Marboe C, Miller D, Neil D, Rassl D, Revelo MP, Rice A, Rene Rodriguez E, Stewart S, Tan CD, Winters GL, West L, Mehra MR, Angelini A. The 2013 International Society for Heart and Lung Transplantation Working Formulation for the standardization of nomenclature in the pathologic diagnosis of antibody-mediated rejection in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2013; 32(12):1147-62.
22. Michaels PJ, Espejo ML, Kobashigawa J, Alejos JC, Burch C, Takemoto S, Reed EF, Fishbein MC. Humoral rejection in cardiac transplantation: risk factors, hemodynamic consequences and relationship to transplant coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant* 2003; 22: 58-69.
23. Fishbein M, Kobashigawa J. Biopsy-negative cardiac transplant rejection: etiology, diagnosis and therapy. *Curr Opin Cardiol* 2004; 19: 166-169.
24. Grauhan O, Knosalla C, Ewert R, Hummel M, Loebe M, Weng YG, Hetzer R. Plasmapheresis and cyclophosphamide in the treatment of humoral rejection after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20(3):316-21.
25. Young J. Allograft vasculopathy: Diagnosing the Nemesis of Heart Transplantation. *Circulation*. 1999; 100: 458-460.
26. Julius BK, Attenhofer JCH, Sütsch G, Brunner HP, Kuenzli A, Vogt P, Turina M, Hess O, Kiowski W. Incidence, progression and functional significance of cardiac allograft vasculopathy after heart transplantation. *Transplantation*. 2000; 69: 847-854.
27. Tuzcu EM, De Franco AC, Goormastic M, Hobbs RE, Rincon G, Bott-Silverman C, McCarthy P, Stewart R, Mayer E, Nissen SE. Dichotomous pattern of coronary atherosclerosis 1 to 9 years after transplantation: insights from systematic intravascular ultrasound imaging. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 839-846.
28. Tuzcu EM, Hobbs RE, Rincon G, Bott-Silverman C, De Franco AC, Robinson K et McCarthy PM, Stewart RW, Guyer S, Nissen SE. Occult and frequent transmission of atherosclerotic coronary

- disease with cardiac transplantation. Insights from intravascular ultrasound. *Circulation* 1995; 91: 1706-1713.
29. Tuzcu EM, De Franco AC, Goormastic M, Hobbs RE, Rincon G, Bott-Silverman C, McCarthy P, Stewart R, Mayer E, Nissen SE. Intravascular ultrasound evidence of angiographically silent progression in coronary atherosclerosis predicts long-term morbidity and mortality after cardiac transplantation. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1538-1542.
30. Kobashigawa JA, Tobis JM, Starling RC, Tuzcu EM, Smith AL, Valantine HA, Yeung AC, Mehra MR, Anzai H, Oeser BT, Abeywickrama KH, Murphy J, Cretin N. Multicenter intravascular ultrasound validation study among heart transplant recipients: outcomes after five years. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1532-1537.
31. Wenke K, Meiser B, Thiery J, Nagel D, von Scheidt W, Steinbeck G, Seidel D, Reichart B. Simvastatin reduces graft vessel disease and mortality after heart transplantation: a four-year randomized trial. *Circulation* 1997; 96: 1398-1402.
32. Kobashigawa JA, Katznelson S, Laks H, Johnson JA, Yeatman L, Wang XM, Chia D, Terasaki PI, Sabad A, Cogert GA. Effect of pravastatin on outcomes after cardiac transplantation. *N Engl J Med* 1995; 333: 621-627.
33. Schroeder JS, Gao SZ. Calcium blockers and atherosclerosis: lessons from the Stanford Transplant Coronary Artery Disease/Diltiazem Trial. *Can J Cardiol* 1995; 11: 710-715.
34. Keogh A, Richardson M, Ruygrok P, Spratt P, Galbraith A, O'Driscoll G, Macdonald P, Esmore D, Muller D, Faddy S. Sirolimus in de novo heart transplant recipients reduces acute rejection and prevents coronary artery disease at 2 years: a randomized clinical trial. *Circulation* 2004; 110: 2694-2700.
35. Eisen HJ, Tuzcu EM, Dorent R, Kobashigawa J, Mancini D, Valantine-von aeppler A, Starling RC, Sorensen K, Hummel M, Lind JM, Abeywickrama KH, Bernhardt P; RAD B253 Study Group. Everolimus for the prevention of allograft rejection and vasculopathy in cardiac-transplant recipients. *N Engl J Med* 2003; 349: 847-858.
36. Lamich R, Ballester M, Marti V, Brossa V, Aymat R, Carrio I, Berna L, Puig M, Estorch M, Flotats A, Bordes R, Garcia J, Auge, Padro JM, Caralps JM, Narula J.. Efficacy of augmented immunosuppressive therapy for early vasculopathy in heart transplantation. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 413-419.
37. Mancini D, Pinney S, Burkhoff D, LaManca J, Itescu S, Burke E, Edwards N, Oz M, Marks AR. Use of rapamycin slows progression of cardiac transplantation vasculopathy. *Circulation* 2003; 108: 48-53.
38. Raichlin E, Bae JH, Khalpey Z, et al. Conversion to sirolimus as primary immunosuppression attenuates the progression of allograft vasculopathy after cardiac transplantation. *Circulation* 2007; 116:2726.
39. Benza RL, Zoghbi GJ, Tallaj J, Brown R, Kirklin JK, Hubbard M. Palliation of allograft vasculopathy with transluminal angioplasty: a decade of experience. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1973-1981.
40. Halle AA, DiSciascio G, Massin EK, Wilson RF, Johnson MR, Sullivan HJ, Bourge RC, Kleiman NS, Miller LW, Aversano TR. Coronary angioplasty, atherectomy and bypass surgery in cardiac transplant recipients. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 120-128.
41. Jimenez J, Kapadia SR, Yamani MH, Platt L, Hobbs RE, Rincon G, Botts-Silverman C, Starling RC, Young JB, Nissen SE, Tuzcu M, Ratliff NB. Cellular rejection and rate of progression of transplant vasculopathy: a 3-year serial intravascular ultrasound study. *J Heart Lung Transplant*. 2001; 20(4):393-8.

42. Hornick P, Smith J, Pomerance A, Mitchell A, Banner N, Yacoub M. Influence of acute rejection episodes, HLA matching, and donor/recipient phenotype on the development of 'early' transplant-associated coronary artery disease. *Circulation*. 1997; 96(9 Suppl):II-148-53.
43. Costello JP1, Mohanakumar T, Nath DS. Mechanisms of chronic cardiac allograft rejection. *Tex Heart Inst J*. 2013; 40(4):395-9.
44. Kubo SH, Naftel DC, Mills RM Jr, O'Donnell J, Rodeheffer RJ, Cintron GB, Kenzora JL, Bourge RC, Kirklin JK. Risk factors for late recurrent rejection after heart transplantation: a multiinstitutional, multivariable analysis. Cardiac Transplant Research Database Group. *J Heart Lung Transplant*. 1995; 14(3):409-18.
45. Crespo M, Almenar L, Alonso-Pulpón L, Campreciós M, Cuenca JJ, de la Fuente L, Delgado J, García L, Manito N, Maroto C, Palomo J, Pascual D, Lage E, Rodríguez-Lambert JL, Roig E, Sanz ML, Vázquez de Prada JA. Conferencia de consenso de los grupos españoles de trasplante cardiaco. *Rev Esp Cardiol* 2007; 7: 4 - 54.
46. Knosalla C, Hummel M, Müller J, Grauhan O, Ewert R, Hetzer R. Diagnosis of heart graft rejection. *Curr Opin in Organ transpl*. 2000; 5:118-125.
47. Mills RM, Naftel DC, Kirklin JK, Van Bakel AB, Jaski BE, Massin EK, Eisen HJ, Lee FA, Fishbein DP, Bourge RC. Heart transplant rejection with hemodynamic compromise: a multiinstitutional study of the role of endomyocardial cellular infiltrate. Cardiac Transplant Research Database. *J Heart Lung Transplant*. 1997;16(8):813-21.
48. Vazquez de Prada JA. A critical review of the role of endomyocardial biopsy in heart transplantation. *Rev Esp Cardiol*. 1995; 48 Suppl 7:86-91.
49. Caves PK, Stinson EB, Billingham ME, Shumway NE. Serial transvenous biopsy of the transplanted human heart. Improved management of acute rejection episodes. *Lancet* 1974; 1(7862):821-6.
50. Billingham ME. The diagnosis of acute cardiac rejection by endomyocardial biopsy. *Bibl Cardiol*. 1988; (43):83-102.
51. White JA, Guiraudon C, Pflugfelder PW, Kostuk WJ. Routine surveillance myocardial biopsies are unnecessary beyond one year after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 1995; 14(6 Pt 1):1052-6.
52. Sethi GK, Rosado LJ, McCarthy M, Butman SS, Copeland JG. Futility of yearly heart biopsies in patients undergoing heart transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1992; 104(1):90-3.
53. Spiegelhalter DJ, Stovin PG. An analysis of repeated biopsies following cardiac transplantation. *Stat Med*. 1983; 2(1):33-40.
54. Zerbe TR, Arena V. Diagnostic reliability of endomyocardial biopsy for assessment of cardiac allograft rejection. *Hum Pathol*. 1988; 19(11):1307-14.
55. Nakhleh RE, Jones J, Goswitz JJ, Anderson EA, Titus J. Correlation of endomyocardial biopsy findings with autopsy findings in human cardiac allografts. *J Heart Lung Transplant*. 1992; 11(3):479-85.
56. Subherwal S, Kobashigawa JA, Cogert G, Patel J, Espejo M, Oeser B. Incidence of acute cellular rejection and non-cellular rejection in cardiac transplantation. *Transplant Proc*. 2004; 36(10):3171-2.
57. Nakhleh RE, Kubo SH, Olivari MT, McDonald K. Persistent histologic evidence of rejection in a heart transplant recipient without evidence of graft dysfunction. *J Heart Lung Transplant*. 1992; 11(1):37-41.

58. Nielsen H, Sorensen FB, Nielsen B, Bagger JP, Thayssen P, Baandrup U. Reproducibility of the acute rejection diagnosis in human cardiac allografts. The Stanford Classification. *J Heart Lung Transplant* 1993; 12(2):239-4.
59. Fishbein MC, Bell G, Lones MA. Grade 2 cellular heart rejection: Does it exist? *J Heart Lung Transplant* 1994; 13: 1051.
60. Winters GL, Loh E, Schoen FJ, et al. Natural history of focal moderate cardiac allograft rejection. Is treatment warranted? *Circulation* 1995; 91: 1975.
61. Hutter JA, Wailwork J, English TAH. Management of rejection in heart transplant recipients: Does moderate rejection always require treatment? *J Heart Transplant* 1990; 9: 87-91.
62. Cooper LT; Baughman KL; Feldman AM; Frustaci A; Jessup M; Kuhl U; Levine GN; Narula J; Starling RC; Towbin J; Virmani R. The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology. *Circulation*. 2007; 116(19):2216-33.
63. Sekiguchi, M, Take, M. World survey of catheter biopsy of the heart. In: *Cardiomyopathy: Clinical, Pathological and Theoretical Aspects*, Sekiguchi, M, Olsen, EG (Eds), University Park Press, Baltimore 1980. p.217.
64. Alharethi R; Bader F; Kfoury AG; Hammond ME; Karwande SV; Gilbert EM; Doty DB; Hagan ME; Thomas H; Renlund DG. Tricuspid valve replacement after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2006; 25(1):48-52.
65. Chan MC; Giannetti N; Kato T; Kornbluth M; Oyer P; Valantine HA; Robbins RC; Hunt SA. Severe tricuspid regurgitation after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2001; 20(7):709-17.
66. St Goar FG, Gibbons R, Schnittger I. Left ventricular diastolic function. Doppler echocardiographic changes soon after cardiac transplantation. *Circulation*. 1990; 82(3): 872-8.
67. Valantine HA, Appleton CP, Hatle LK, Hunt SA, Billingham ME, Shumway NE, Stinson EB, Popp RL. A hemodynamic and Doppler echocardiographic study of ventricular function in long-term cardiac allograft recipients. Etiology and prognosis of restrictive- constrictive physiology. *Circulation* 1989; 79:66 - 75.
68. Mena C, Wencker D, Krumholz HM, McNamara RL. Detection of heart transplant rejection in adults by echocardiographic diastolic indices: a systematic review of the literature. *J Am Soc Echocardiogr* 2006;19:1295- 300.
69. Miller CA, Fildes JE, Ray SG, Doran H, Yonan N, Williams SG, Schmitt M. Non-invasive approaches for the diagnosis of acute cardiac allograft rejection. *Heart* 2013; 99:445–453.
70. Stengel SM, Allemann Y, Zimmerli M, Lipp E, Kucher N, Mohacsi P, Seiler C. Doppler tissue imaging for assessing left ventricular diastolic dysfunction in heart transplant rejection. *Heart* 2001; 86:432—7
71. Marciniak A, Eroglu E, Marciniak M, Sirbu C, Herbots L, Droogne W, Claus P, D'hooge J, Bijneens B, Vanhaecke J, Sutherland GR. The potential clinical role of ultrasonic strain and strain rate imaging in diagnosing acute rejection after heart transplantation. *Eur J Echocardiogr* 2007; 8:213-21.
72. Ambardekar AV, Alluri N, Patel AC, Lindendorf J, Dorosz JL. Myocardial Strain and Strain Rate from Speckle-Tracking Echocardiography are Unable to Differentiate Asymptomatic Biopsy-Proven Cellular Rejection in the First Year after Cardiac Transplantation. *J Am Soc Echocardiogr* 2015; 28:478-85.

73. Clemmensen TS, Løgstrup BB, Eiskjær H, Poulsen SH. Changes in Longitudinal Myocardial Deformation during Acute Cardiac Rejection: The Clinical Role of Two-Dimensional Speckle-Tracking Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2015; 28:330-9.
- 74 Mingo-Santos S, Moñivas-Palomero V, Garcia-Lunar I, Mitroi CD, Goirigolzarri-Artaza J, Rivero B, Oteo JF, Castedo E, González-Mirelis J, Cavero MA, Gómez-Bueno M, Segovia J, Alonso-Pulpón L. Usefulness of Two-Dimensional Strain Parameters to Diagnose Acute Rejection after Heart Transplantation. *J Am Soc Echocardiogr*. 2015; 28(10):1149-56.
75. Butler CR, Thompson R, Haykowsky M, Toma M, Paterson I. Cardiovascular magnetic resonance in the diagnosis of acute heart transplant rejection: a review. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2009; 12: 11:7.
76. Pham MX, Teuteberg JJ, Kfoury AG, Starling RC, Deng MC, Cappola TP, Kao A, Anderson AS, Cotts WG, Ewald GA, Baran DA, Bogaev RC, Elashoff B, Baron H, Yee J, Valentine HA; IMAGE Study Group. Gene-expression profiling for rejection surveillance after cardiac transplantation. *N Engl J Med*. 2010; 362(20):18.
77. Chan GLC, Gruber SA, Skjei KL. Principles of immunosuppression. *Crit Care Clin* 1990; 6:841.
78. Olivari MT, Jessen ME, Baldwin BJ, Horn VP, Yancy CW, Ring WS, Rosenblatt RL. Triple-drug immunosuppression with steroid discontinuation by six months after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1995; 14: 127–135.
79. Kobashigawa JA, Stevenson LW, Brownfield ED, Gleeson MP, Moriguchi JD, Kawata N, Minkley R, Drinkwater DC, Laks H. Corticosteroid weaning late after heart transplantation: relation to HLA-DR mismatching and long-term metabolic benefits. *J Heart Lung Transplant* 1995; 14: 963–967.
81. Borel JF, Feurer C, Gubler HU, Stähelin H. Biological effects of cyclosporin A: A new antilymphocytic agent. *Agents Actions* 1976; 6:468.
82. Morris R . Modes of action of FK506, cyclosporin A, and rapamycin. *Transplant Proc*.1994; 26(6):3272-5.
83. Hausen B, Demertzis S, Rohde R, Albes JM, Schäfers HJ, Borst HG. Low-dose cyclosporine therapy in triple-drug immunosuppression for heart transplant recipients. *Ann Thorac Surg* 1994; 58:999-1004.
84. Ochiai T, Nakajima K, Nagata M, Hori S, Asano T, Isono K. Studies of the induction and maintenance of long-term graft acceptance by treatment with FK506 in heterotopic cardiac allotransplantation in rats. *Transplantation*. 1987; 44(6):734-8.
85. Taylor DO, Barr ML, Radovancevic B, Renlund DG, Mentzer RM Jr, Smart FW, Tolman DE, Frazier OH, Young JB, VanVeldhuisen P. A randomized, multicenter comparison of tacrolimus and cyclosporine immunosuppressive regimens in cardiac transplantation: Decreased hyperlipidemia and hypertension with tacrolimus. *J Heart Lung Transplant* 1999; 18(4):336-45.
86. Rinaldi M, Grimm M, Yonan NA. The European Tacrolimus Heart Study Group: Risk/benefit evaluation of tacrolimus (TAC) vs cyclosporine microemulsion (CsA) after cardiac transplantation: 18-month results. *J Heart Lung Transplant* 2004; 23:S45.
87. Kobashigawa JA, Meiser BM: Review of major clinical trials with mycophenolate mofetil in cardiac transplantation. *Transplantation* 2005; 80(2 Suppl):S235-43.
88. Pethig K, Heublein B, Wahlers T, Dannenberg O, Oppelt P, Haverich A. Mycophenolate mofetil for secondary prevention of cardiac allograft vasculopathy: Influence on inflammation and progression of intimal hyperplasia. *J Heart Lung Transplant*. 2004; 23(1):61-6.
89. Keogh A, Richardson M, Ruygrok P, Spratt P, Galbraith A, O'Driscoll G, Macdonald P, Esmore D, Muller D, Faddy S. Sirolimus in de novo heart transplant recipients reduces acute rejection and

- prevents coronary artery disease at 2 years: A randomized clinical trial. *Circulation* 2004; 110:2694-700.
90. Frist WH, Gerhardt EB, Merrill WH, Atkinson JB, Eastburn TE, Stewart JR, Hammon JW Jr, Bender HW Jr. Therapy of refractory, recurrent heart rejection with multiple courses of OKT3. *J Heart Transplant* 1990; 9:724-6.
91. Hershberger RE, Starling RC, Eisen HJ, Bergh CH, Kormos RL, Love RB, Van Bakel A, Gordon RD, Popat R, Cockey L, Mamelok RD. Daclizumab to prevent rejection after cardiac transplantation. *New Engl J Med* 2005; 352:2705-13.
92. Mehra MR, Zucker MJ, Wagoner L, Michler R, Boehmer J, Kovarik J, Vasquez A. A multicenter, prospective, randomized, double-blind trial of basiliximab in heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24:1297-304.
93. Costanzo MR, Dipchand A, Starling R, Anderson A, Chan M, Desai S, Fedson S, Fisher P, Gonzales-Stawinski G, Martinelli L, McGiffin D, Smith J, Taylor D, Meiser B, Webber S, Baran D, Carboni M, Dengler T, Feldman D, Frigerio M, Kfoury A, Kim D, Kobashigawa J, Shullo M, Stehlik J, Teuteberg J, Uber P, Zuckermann A, Hunt S, Burch M, Bhat G, Canter C, Chinnock R, Crespo-Leiro M, Delgado R, Dobbels F, Grady K, Kao W, Lamour J, Parry G, Patel J, Pini D, Towbin J, Wolfel G, Delgado D, Eisen H, Goldberg L, Hosenpud J, Johnson M, Keogh A, Lewis C, O'Connell J, Rogers J, Ross H, Russell S, Vanhaecke J; International Society of Heart and Lung Transplantation Guidelines. The International Society of Heart and Lung Transplantation Guidelines for the care of heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2010; 29(8):914-56.
94. Baraldo M, Gregoraci G, Livi U. Steroid-free and steroid withdrawal protocols in heart transplantation: the review of literature. *Transpl Int*. 2014; 27(6):515-29.
95. Patel JK, Kittleson M, Kobashigawa JA. Cardiac allograft rejection. *Surgeon*. 2011; 9(3):160-7.
96. Quiñones MA, Waggoner AD, Reduto LA, Nelson JG, Young JB, Winters WL Jr, Ribeiro LG, Miller RR. A new, simplified and accurate method for determining ejection fraction with two-dimensional echocardiography. *Circulation*. 1981; 64(4):744-53.
97. Amico AF, Lichtenberg GS, Reisner SA, Stone CK, Schwartz RG, Meltzer RS. Superiority of visual versus computerized echocardiographic estimation of radionuclide left ventricular ejection fraction. *Am Heart J*. 1989; 118(6):1259-65.
98. Costanzo MR, Naftel DC, Pritzker MR, Heilman JK 3rd, Boehmer JP, Brozena SC, Dec GW, Ventura HO, Kirklin JK, Bourge RC, Miller LW. Heart transplant coronary artery disease detected by coronary angiography: a multiinstitutional study of preoperative donor and recipient risk factors. *Cardiac Transplant Research Database. J Heart Lung Transplant*. 1998; 17(8):744-53.
99. Deuse T, Sista R, Weill D, Tyan D, Haddad F, Dhillon G, Robbins RC, Reitz BA. Review of heart-lung transplantation at Stanford. *Ann Thorac Surg*. 2010; 90(1):329-37.
100. Orrego CM, Cordero-Reyes AM, Estep JD, Loebe M, Torre-Amione G. Usefulness of routine surveillance endomyocardial biopsy 6 months after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2012; 31(8):845-9.
101. Hamour IM, Burke MM, Bell AD, Panicker MG, Banerjee R, Banner NR. Limited utility of endomyocardial biopsy in the first year after heart transplantation. *Transplantation*. 2008; 85(7):969-74.
102. Strecker T, Rösch J, Weyand M, Agaimy A. Endomyocardial biopsy for monitoring heart transplant patients: 11-years-experience at a german heart center *Int J Clin Exp Pathol*. 2013; 6(1):55-65.

103. Godown J, Harris MT, Burger J, Dodd DA. Variation in the use of surveillance Transplant. 2015; 19(6):612-7.
104. Stehlik J, Starling RC, Movsesian MA, Fang JC, Brown RN, Hess ML, Lewis NP, Kirklin JK Utility of long-term surveillance endomyocardial biopsy: a multi-institutional analysis J Heart Lung Transplant. 2006; 25(12):1402-9.
105. Sethi GK, Kosaraju S, Arabia FA, Roasdo LJ, McCarthy MS, Copeland JG. Is it necessary to perform surveillance endomyocardial biopsies in heart transplant recipients? J Heart Lung Transplant. 1995; 14(6):1047-51.
106. Chi NH, Chou NK, Tsao CI, Huang SC, Wu IH, Yu HY, Chen YS, Wang. Endomyocardial biopsy in heart transplantation: schedule or event? Transplant Proc. 2012; 44(4):894-6.
107. Sisson S, Jazzar A, Mischke L, Cooper DK, Zuhdi N How many endomyocardial biopsies are necessary in the first year after heart transplantation? Transpl Int. 1996; 9(3):243-7.
108. Baran DA, Zucker MJ, Arroyo LH, Camacho M, Goldschmidt ME, Nicholls SJ, Prevost-Fernandez J, Carr C, Adams L, Pardi S, Hou V, Binetti M, McCahill J, Chichetti J, Vilorio V, Sanagustin MG, Ebuenga-Smith J, Mele L, Martin A, Blicharz D, Wolski K, Olesnicki L, Qian F, Gass AL, Cohen M. A prospective, randomized trial of single-drug versus dual-drug immunosuppression in heart transplantation: the tacrolimus in combination, tacrolimus alone compared (TICTAC) trial. Circ Heart Fail. 2011; 4(2):129-37.
109. Mehra MR, Uber PA, Uber WE, Park MH, Scott RL. Anything but a biopsy: noninvasive monitoring for cardiac allograft rejection. Curr Opin Cardiol 2002; 17:131-136.
110. Schroeder JS, Popp RL, Stinson EB, Dong E Jr, Shumway NE, Harrison DC. Acute rejection following cardiac transplantation. Phonocardiographic and ultrasound observations. Circulation. 1969; 40(2):155-64.
111. Sagar KB, Hastillo A, Wolfgang TC, Lower RR, Hess ML. Left ventricular mass by M-mode echocardiography in cardiac transplant patients with acute rejection. Circulation. 1981; 64(2):217-20.
112. Valentine H, Fowler M, Hatle L, Hunt S, Billingham M, Stinson E, Popp R. Doppler echocardiographic indices of diastolic function as markers of acute cardiac rejection. Transplant Proc. 1987; 19(1):2556-9.
113. Mannaerts HF, Simoons ML, Balk AH, Tijssen J, van der Borden SG, Zondervan PE, Mochtar B, Weimar W, Rodelelandt JR. Pulsed-wave transmitral Doppler do not diagnose moderate acute rejection after heart transplantation. J Heart Lung Transplant 1993; 12: 411-421.
114. Dandel M, Hummel M, Müller J, Wellnhofer E, Meyer R, Solowjowa N, Ewert R, Hetzer R. Reliability of tissue Doppler wall motion monitoring after heart transplantation for replacement of invasive routine screenings by optimally timed cardiac biopsies and catheterizations. Circulation. 2001; 104(12 Suppl 1):I184-91.
115. Palka P, Lange A, Galbraith A, Duhig E, Clarke BE, Parsonage W, Donnelly JE, Stafford WJ, Burstow DJ. The role of left and right ventricular early diastolic Doppler tissue echocardiographic indices in the evaluation of acute rejection in orthotopic heart transplant. J Am Soc Echoardiogr 2005; 18:107-15.
116. Sato T, Kato TS, Komamura K, Hashimoto S, Shishido T, Mano A, Oda N, Takahashi A, Ishibashi-Ueda H, Nakatani T, Asakura M, Kanzaki H, Hashimura K, Kitakaze M Utility of left ventricular systolic torsion derived from 2-dimensional speckle-tracking echocardiography in monitoring acute cellular rejection in heart transplant recipients. J Heart Lung Transplant. 2011; 30(5):536-43.

117. Angermann CE, Nassau K, Stempfle HU, Krüger TM, Drewello R, Junge R, Uberfuhr P, Weiss M, Theisen K. Recognition of acute cardiac allograft rejection from serial integrated backscatter analyses in human orthotopic heart transplant recipients. Comparison with conventional echocardiography. *Circulation*. 1997; 95(1):140-50.
118. Butler CR, Thompson R, Haykowsky M, Toma M, Paterson I. Cardiovascular magnetic resonance in the diagnosis of acute heart transplant rejection: a review. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2009; 12:11:7.
119. Marie PY, Angioi M, Carreaux JP, Escanye JM, Mattei S, Tzvetanov K, Claudon O, Hassan N, Danchin N, Karcher G, Bertrand A, Walker PM, Villemot JP. Detection and prediction of acute heart transplant rejection with the myocardial T2 determination provided by a black-blood magnetic resonance imaging sequence. *J Am Coll Cardiol*. 2001; 37(3):825.
120. Wisenberg G, Pflugfelder PW, Kostuk WJ, McKenzie FN, Prato FS. Diagnostic applicability of magnetic resonance imaging in assessing human cardiac allograft rejection. *Am J Cardiol*. 1987; 60(1):130-6.
121. Usman AA, Taimen K, Wasielewski M, McDonald J, Shah S, Giri S, Cotts W, McGee E, Gordon R, Collins JD, Markl M, Carr JC. Cardiac magnetic resonance T2 mapping in the monitoring and follow-up of acute cardiac transplant rejection: a pilot study. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2012; 5(6):782-90.
122. Taylor AJ, Vaddadi G, Pfluger H, Butler M, Bergin P, Leet A, Richardson M, Cherayath J, Iles L, Kaye DM. Diagnostic performance of multisequential cardiac magnetic resonance imaging in acute cardiac allograft rejection. *Eur J Heart Fail*. 2010; 12(1):45-51.
123. Steen H, Merten C, Refle S, Klingenberg R, Dengler T, Giannitsis E, Katus HA. Prevalence of different gadolinium enhancement patterns in patients after heart transplantation. *J Am Coll Cardiol*. 2008; 52(14):1160-7.
124. Krieghoff C, Barten MJ, Hildebrand L, Grothoff M, Lehmkuhl L, Lücke C, Andres C, Nitzsche S, Riese F, Strüber M, Mohr FW, Gutberlet M. Assessment of sub-clinical acute cellular rejection after heart transplantation: comparison of cardiac magnetic resonance imaging and endomyocardial biopsy. *Eur Radiol*. 2014; (10):2360-71.
125. Miller CA, Naish JH, Shaw SM, Yonan N, Williams SG, Clark D, Bishop PW, Ainslie MP, Borg A, Coutts G, Parker GJ, Ray SG, Schmitt M. Multiparametric cardiovascular magnetic resonance surveillance of acute cardiac allograft rejection and characterisation of transplantation-associated myocardial injury: a pilot study. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2014; 20:16:52.
126. Warnecke H, Muller J, Cohnert T, Hummel M, Spiegelsberger S, Siniawski HK, Lieback E, Hetzer R. Clinical heart transplantation without routine endomyocardial biopsy. *J Heart Lung Transplant* 1992; 11(6):1093-102.
127. Auer T1, Schreier G, Hutten H, Kleinert R, Wasler A, Petutschnigg B, Iberer F, Tscheliessnigg K, Schaldach M. Paced epimyocardial electrograms for noninvasive rejection monitoring after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 1996; 15(10):993-8.
128. Bourge R, Eisen H, Hershberger R, Keller A, Radovancevic B, Schreier G, Kastner P, Hutten H, Wery S, Mehta N. Noninvasive rejection monitoring of cardiac transplants using high resolution intramyocardial electrograms: initial US multicenter experience. *Pacing Clin Electrophysiol* 1998; 21(11):2338-44.
129. Grasser B, Iberer F, Schreier G, Kastner P, Schaffellner S, Kniepeiss D, Kleinert R, Mahaux V, Demoulin JC, Nägele H, Rödiger W, Laufer G, Grimm M, Zuckermann A, Wasler A, Prenner G, Tscheliessnigg KH; CHARM Multicenter Investigators Group. Computerized heart allograft-recipient monitoring: a multicenter study. *Transpl Int*. 2003; 16(4):225-30.

130. Bainbridge AD, Cave M, Newell S, Delaney M, Parameshwar J, Large SR, Wallwork J, Grace AA, Carey NR, Schofield PM. The utility of pacemaker evoked T wave amplitude for the noninvasive diagnosis of cardiac allograft rejection. *Pacing Clin Electrophysiol.* 1999; 22(6):942-6.
131. Alexis JD, Lao CD, Selter JG, Courtney MC, Correa DK, Lansman SL, Kushwaha SS, Gass AL Cardiac troponin T: a noninvasive marker for heart transplant rejection?. *J Heart Lung Transplant* 1998; 17(4):395-8.
132. Gleissner CA, Klingenberg R, Nottmeyer W, Zipfel S, Sack FU, Schnabel PA, Haass M, Dengler TJ. Diagnostic efficiency of rejection monitoring after heart transplantation with cardiac troponin T is improved in specific patient subgroups. *Clin Transplant.* 2003; 17(3):284-91.
133. Hammerer-Lercher A, Mair J, Antretter H, Ruttman E, Poelzl G, Laufer G, Puschendorf B, Hangler H. B-type natriuretic peptide as a marker of allograft rejection after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2005; 24(9):1444-51.
134. Iturralde MP: Radionuclide imaging procedures in the evaluation of heart transplants recipients. In *cardiomyopathies and Heart-lung transplantation*. Edited by Kapoor AS, Lacks H, Schroeder JS, Yacoub MH. New York : McGraw-Hill; 1991:305-326.
135. Deng MC, Eisen HJ, Mehra MR, Billingham M, Marboe CC, Berry G, Kobashigawa J, Johnson FL, Starling RC, Murali S, Pauly DF, Baron H, Wohlgemuth JG, Woodward RN, Klingler TM, Walther D, Lal PG, Rosenberg S, Hunt S; CARGO Investigators Noninvasive discrimination of rejection in cardiac allograft recipients using gene expression profiling. *Am J Transplant.* 2006; 6(1):150-60.
136. Grimm M, Rinaldi M, Yonan NA, Arpesella G, Arizón Del Prado JM, Pulpón LA, Villemot JP, Frigerio M, Rodriguez Lambert JL, Crespo-Leiro MG, Almenar L, Duveau D, Ordonez-Fernandez A, Gandjbakhch J, Maccherini M, Laufer G. Superior prevention of acute rejection by tacrolimus vs. cyclosporine in heart transplant recipients--a large European trial. *Am J Transplant.* 2006; 6(6):1387-97.
137. Hammond EH1, Yowell RL, Price GD, Menlove RL, Olsen SL, O'Connell JB, Bristow MR, Doty DB, Millar RC, Karwande SV, Vascular rejection and its relationship to allograft coronary artery disease *J Heart Lung Transplant.* 1992; 11(3):S111-9.
138. 124. Taylor DO, Yowell RL, Kfoury AG, Hammond EH, Renlund DG Allograft coronary artery disease: clinical correlations with circulating anti-HLA antibodies and the immunohistopathologic pattern of vascular rejection. *J Heart Lung Transplant.* 2000; 19(6):518-21.
139. Costello JP1, Mohanakumar T, Nath DS. Mechanisms of chronic cardiac allograft rejection. *Tex Heart Inst J.* 2013; 40(4):395-9.
140. Seki A, Fishbein MC. Predicting the development of cardiac allograft vasculopathy. *Cardiovasc Pathol.* 2014; 23(5):253-60.
141. Costanzo MR, Naftel DC, Pritzker MR, Heilman JK 3rd, Boehmer JP, Brozena SC, Dec GW, Ventura HO, Kirklin JK, Bourge RC, Miller LW Heart transplant coronary artery disease detected by coronary angiography: a multiinstitutional study of preoperative donor and recipient risk factors. *Cardiac Transplant Research Database. J Heart Lung Transplant.* 1998; 17(8):744-79.

ANEXOS

