

# Trasplante de tejido facial:

Antecedentes de trasplante de tejidos compuestos; antecedentes históricos, inmunología, farmacología, rechazo, y recuperación funcional

Dr. Raymundo Priego Blancas,\* Dr. José Luis Haddad Tame,\* Dr. Bernardo Baltazar Rendón,\* Dr. Emmanuel Carmona Barón,\*\* Dr. Raúl Caracheo\*\*\*

## RESUMEN

En los últimos años los avances en la medicina han hecho posible el trasplante de tejidos compuestos como el trasplante de mano o de tejidos faciales, esto gracias a la combinación de técnicas microquirúrgicas y mejores inmunosupresores, lo que ha resultado en un aumento de la sobrevida a largo plazo de los tejidos trasplantados. Uno de los aspectos que justifican el trasplante de tejidos faciales es la disponibilidad casi ilimitada de tejidos de características similares a los que perdió el paciente. Otro aspecto y tal vez el más importante es la posibilidad de restituir más que reconstruir los tejidos faltantes, con lo que se consigue una reconstrucción completamente funcional, sin las secuelas que dejan en el paciente la toma de colgajos, injertos o ambos. Este trabajo es una revisión que se enfoca a los aspectos a la evolución del trasplante de tejidos compuestos con su aplicación al trasplante de tejidos faciales.

**Palabras clave:** Trasplante, tejidos faciales.

## SUMMARY

*In recent years medical advances have made the transplant of composite tissues, such as the hand transplant or the facial allograft possible, due to a combination of microsurgical techniques and better immunosuppressive drugs, resulting in a longer survival of allografts. One of the main issues that justify the use of facial allograft is that there is virtually an unlimited availability of tissue resembling the one lost by the patient. Another aspect and practically the most important in this kind of reconstruction gives the patient a complete functional reconstruction without the sequel left by skin grafts, flaps or the use of both. This is a review that focuses on the aspects in the evolution of composite tissue transplants and its application to facial allograft.*

**Key words:** Transplant, face allograft.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años se observan avances vertiginosos en el desarrollo tecnológico y científico, ello ha originado modificaciones sustanciales en el modo de

vida, y mejoras en la salud, nunca antes vistas; al mismo tiempo, se ha logrado incrementar, como nunca antes, el promedio general de vida.

Igualmente, el espectro de enfermedades que afectan mayormente a la humanidad, se ha modificado. Mientras los padecimientos infecciosos constituían la principal causa de mortalidad y morbilidad, en el último siglo han tomado preponderancia enfermedades de las llamadas crónico-degenerativas; los procesos traumáticos y las complicaciones que éstas originan, entre ellas, infarto agudo del miocardio, accidentes vasculares cerebrales, o insuficiencia renal y procesos mutilantes. Afortunadamente, al mismo tiempo, ha habido

\* Médico adscrito al Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva del Hospital General de México.

\*\* Residente de 2º año de Cirugía Plástica y Reconstructiva del Hospital General de México.

\*\*\* Médico adscrito al Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva del Hospital General de Querétaro.

grandes aportaciones en el campo del diagnóstico y del tratamiento de estos “nuevos” padecimientos.

La importancia de tales procesos patológicos, trasciende el aspecto puramente personal para afectar a la familia, a la comunidad y al resto de la sociedad. Ello involucra aspectos personales, económicos e inclusive, productividad para el país, considerando además que el tipo de medicina socializada, a la cual pertenecemos, hace que los costos de atención de dichas enfermedades se traduzcan en costos para la familia, pero también para las instituciones de salud, encargadas de proporcionar tales tratamientos.

Para ello, el tratamiento de muchos de estos padecimientos y sus complicaciones, mediante la sustitución de la falla orgánica o tisular, representan hoy por hoy, la terapia más importante y casi definitiva, en términos de resolución.

Esto permite la integración (a menor plazo y menores complicaciones y gastos) de estos individuos a la vida productiva del país y su entorno social y, en muchas ocasiones, resultan ser menos onerosos y de mayor beneficio que la sola paliación de las complicaciones.

A pesar de los avances en la medicina, el gran problema de salud pública se refiere a las enfermedades crónico-degenerativas, resultado de los cambios de estilo de vida y aspectos socioculturales.

Estas enfermedades, en su etapa terminal, significan la disfunción total o parcial del órgano afectado; tal es el caso de la insuficiencia cardíaca, insuficiencia respiratoria, insuficiencia renal, insuficiencia hepática y las enfermedades malignas que atacan grupos celulares específicos de la sangre, como en la leucemia.

Los pacientes que sufren estos padecimientos, hoy en día, son mantenidos gracias a diversos tratamientos sustitutivos, por medio de máquinas, que en forma artificial hacen las veces del órgano afectado (en forma temporal, por supuesto). Sin embargo, se ha observado, sobre todo en los últimos 20 años, que el tratamiento ideal es la sustitución de dicho órgano, por otro de igual naturaleza o por lo menos, semejante a él. Esto abate los gastos en el tratamiento médico y ofrece una mejor calidad de vida al paciente.

Existen numerosos padecimientos, como lesiones por quemaduras, deformidades congénitas, destrucciones traumáticas, entre otros, que ocasionan pérdidas importantes de tejido facial. Ante tales padecimientos, deben idearse formas de reconstrucción para la piel, grasa, nervios y músculos que restituyan, no solamente la integridad anatómica, sino que permitan recuperar la capacidad funcional: la masticación, la expresión facial y la fonación; hasta hoy el único

procedimiento que permite restituir íntegramente todas éstas es el trasplante de tejido facial.

El trasplante de órganos y tejidos consiste en transferir un tejido u órgano de su sitio original a otro diferente permaneciendo vivo, esto puede ser dentro de un mismo organismo o individuo o bien de un individuo a otro, con el propósito de restaurar las funciones perdidas de ese órgano o tejido sustituyéndolo por uno sano.

Dependiendo del origen y naturaleza del órgano a trasplantar, puede tratarse de: *autotrasplante*, cuando el donador y el receptor son la misma persona; como en el caso de injertos o colgajos (el tejido se cambia de sitio en la misma persona); *isotrasplante*, cuando el donador y el receptor son genéticamente idénticos (como en el caso de los gemelos univitelinos). *Homotrasplante* o *alotrasplante*, cuando el donador y el receptor son de la misma especie, pero genéticamente diferentes, y *xenotrasplante*, cuando el donador y el receptor son de diferente especie.

El trasplante de tejidos faciales ha sido analizado y discutido en numerosos estudios como una opción viable para la reconstrucción de la cara.<sup>1</sup> Sin embargo, a lo largo de los últimos cuatro años, se han presentado opiniones diversas y contrapuestas;<sup>2</sup> en algunos casos los autores solicitan una fase experimental a largo plazo.

El trasplante de tejidos faciales es de tejidos compuestos; su antecedente directo es el trasplante de manos, mandíbula, laringe, nervios. Inicialmente se realizó en modelos animales como rata, conejo o monos, y posteriormente en humanos, con resultados dispares. Es importante mencionar entre los aspectos relevantes que han influido en los resultados de estos trabajos a un mejor entendimiento del sistema inmunológico, el entendimiento del fenómeno de rechazo y el desarrollo de nuevos y mejores inmunosupresores.<sup>3-14</sup> Sin embargo y a pesar de la experiencia a nivel experimental, en algunos países se ha recomendado esperar para iniciar la fase clínica; valga especialmente citar un importante comunicado de diciembre de 2003 emitido por la *British Association of Plastic Surgeons*.<sup>15</sup>

En términos de los criterios del comunicado por consenso No. 82, del *Comité Consultatif National d’Ethique pour les sciences de la vie et de la santé* de Francia,<sup>16</sup> acerca de alotrasplante de tejidos compuestos de la cara (trasplante facial parcial o total), desde un punto de vista quirúrgico la disposición de tejidos de un donador con muerte cerebral tiene grandes ventajas y libera al cirujano de los problemas y limitaciones de la reconstrucción tradicional. Asimismo, proporciona condiciones técnicas óptimas.

Sin embargo, lo más importante, el trasplante de tejidos compuestos permite atender el mayor objetivo de cualquier reconstrucción tisular: proporciona una réplica de los tejidos perdidos.

Para una mejor comprensión semántica podemos decir que el trasplante de tejidos faciales proporciona un reemplazo tisular más que una reconstrucción tisular. A mayor abundamiento, otra de las grandes ventajas del trasplante de tejidos compuestos es la ausencia de morbilidad del área donadora; esto libera al cirujano del predicamento de la destrucción de la integridad de ésta, que es la principal desventaja de cualquier reconstrucción mediante tejidos autólogos.

Estos argumentos son en buena medida los justificantes de los trasplantes de tejidos compuestos, principalmente en el caso de las manos, pero no los podemos dar por válidos de manera categórica en el trasplante de tejidos compuestos faciales, por las razones que se exponen a continuación.

Se ha discutido ampliamente en diversos trabajos las ventajas y desventajas de la reconstrucción con tejidos autólogos *versus* tejidos trasplantados para la reconstrucción integral de la cara,<sup>16,17</sup> evaluando diversos elementos que incluyen: regiones anatómo-funcionales de la cara; tipo de tejidos necesarios para la reconstrucción (injertos o colgajos); el área donadora de dichos tejidos; número de cirugías para llegar al mejor resultado; tiempo de hospitalización en cada evento; satisfacción del paciente; nivel de recuperación funcional; secuelas psicológicas del tratamiento, y por supuesto, el costo a mediano plazo.

Ante el nivel de desarrollo en la medicina, el trasplante de tejidos faciales *es técnicamente posible*, existe un buen desarrollo de los procedimientos microquirúrgicos y se ha llegado a la comprensión de las necesidades del receptor y la subsistencia del trasplante.

En la especie son de gran importancia los antecedentes del trasplante de riñón, corazón y páncreas, entre otros. Los protocolos para trasplantar tejidos compuestos como la mano, se han basado en los desarrollados para éstos órganos.<sup>18</sup>

Los trasplantes de mano y los fenómenos de rechazo observados han originado una serie de cuestionamientos acerca de las similitudes de los trasplantes de órganos y los tejidos compuestos, pues a diferencia de los primeros, éstos suponen la transferencia de unidades anatómicas complejas compuestas por más de dos tejidos; la combinación más frecuente es de músculo, hueso y piel, y en algunos casos también se pueden incluir tendones, nervios, vasos sanguíneos, tejido adiposo y articulaciones.

Otro punto de contraste entre ambos tipos de trasplante, es que los tejidos listados anteriormente tie-

nen por objetivo proveer una reconstrucción anatómica, neurológica y funcional, a diferencia de la restitución funcional que se obtiene en los trasplantes de riñón, hígado, el complejo cardiopulmonar y páncreas. En otras palabras, el trasplante de tejidos compuestos difiere esencialmente del trasplante de órganos, en que no representa una opción terapéutica para preservar la vida, pero sí devolver la calidad de ésta.

Además de los trasplantes de manos, se han intentado numerosos trasplantes de tejidos compuestos, e incluyen tejidos faciales, como segmentos vascularizados de mandíbula y laringe, con diversos resultados dependientes, en gran medida, de los avances en inmunosupresión disponibles al momento del estudio.<sup>12,19-23</sup>

En términos generales y para situarnos en el contexto histórico, podemos decir que el trasplante de tejidos compuestos se puede dividir en dos grandes grupos: antes y después de la ciclosporina A.

Los estudios realizados antes del uso de la ciclosporina a título de inmunosupresor, se caracterizan por haber desembocado en fracasos a corto o mediano plazo; sin embargo, en 1936 Schwind,<sup>24</sup> reporta el trasplante exitoso de patas traseras de rata, mediante una unión parabiótica, convirtiéndose este estudio en la base de lo que serían las teorías modernas de trasplante, pues consideraba tomar medidas para impedir el rechazo inmunológico.

El emplear la unión parabiótica para favorecer la neovascularización de la extremidad a trasplantar, produce exposición de las células inmaduras del timo del receptor a los antígenos del donador; además de este aspecto el trabajo propone que el éxito en la viabilidad del tejido trasplantado está en prevenir el rechazo y no en la técnica quirúrgica.<sup>25,26</sup> A estos trabajos siguieron otros que sirvieron para sentar las bases de la comprensión del fenómeno de rechazo, como el de Goldwyn, en 1966,<sup>27</sup> que hace énfasis en los cambios histopatológicos de los tejidos con rechazo y la importancia del tratamiento mediante inmunosupresores para controlarlo.

Como punto muy importante, estos trabajos hacen énfasis en que no existe correlación entre el estado clínico y los cambios histológicos tempranos del rechazo, y hacen diferencias entre los tratamientos de inmunomodulación y los inmunosupresores en términos de supervivencia del tejido trasplantado.<sup>5,7,28-30</sup> La investigación acerca del fenómeno de rechazo en los trasplantes de tejidos compuestos continuó ahondándose en el tema de la tolerancia inmunológica y en la inmunización pasiva, además de darse mayor énfasis a los aspectos de la técnica quirúrgica como determinante en el éxito de la transferencia tisular.<sup>31-34</sup>

Es a partir de 1978, cuando se desarrollan dos conceptos muy importantes: la importancia de la microcirugía para la reparación de los vasos sanguíneos y dotar al tejido trasplantado de una irrigación propia y la caracterización del sistema inmune.<sup>35-37</sup> Es relevante este hecho porque hasta antes de la introducción de los protocolos de microcirugía en los modelos animales de trasplante de tejidos compuestos, un alto porcentaje de fallas se debía a problemas técnicos para restituir una adecuada irrigación a los tejidos trasplantados.

En esta época empieza a reportarse el uso de la ciclosporina A para prolongar la sobrevida de los tejidos compuestos trasplantados, partiendo de la base de los efectos antilinfoproliferativos de ésta,<sup>8,38-41</sup> pero es hasta 1982 cuando se empieza a utilizar como medicamento de elección en el trasplante de órganos como corazón en cerdos, ratas y primates; riñón en conejos, ratas, primates y perros; páncreas en ratas, pulmones en perros, corazón-pulmón en primates, e intestino delgado en perros.<sup>40-55</sup>

El primer reporte del trasplante de tejidos compuestos utilizando ciclosporina A fue en 1982, tratándose de la pata de una rata.<sup>56</sup> Este estudio es importante para nosotros en razón de haber establecido que el éxito a largo plazo es posible mediante el uso de ciclosporina A y adicionales cuestiones técnicas importantes, tales como el empleo de microcirugía vascular en el trasplante.

A partir de la introducción de la ciclosporina A en los protocolos de estudio para trasplante de tejidos compuestos, el panorama general sufre cambios importantes en la sobrevida de los tejidos trasplantados. Como punto esencial se observaron diferencias importantes en el comportamiento de las diferentes especies, esto planteó dudas sobre cuáles de estos modelos podían extrapolarse a las aplicaciones clínicas en humanos.

Uno de los grupos analizados en este rubro es el de los primates, y esto ha permitido realizar procedimientos muy similares a los necesarios en humanos: fijación ósea, anastomosis microvasculares, neurorrafias. Así también ha sido posible una valoración más específica de los cambios y necesidades técnicas para su empleo clínico.

En la rata el empleo de microcirugía permitió realizar reparaciones vasculares, sin necesidad de recurrir a parabiosis; gracias a este hallazgo, fue retirado este aspecto de los estudios y fueron posibles la mejor valoración y control del sistema inmunológico con medicamentos.

Además, el poder realizar un trasplante mediante la reparación de todos los elementos trasplantados,

evitó otras variables indeseables, entre ellas la automutilación de los animales, y con ello el sacrificio temprano de los mismos, en razón de carecer de una extremidad sensible. Pero no era todo, ello evitó el consecuente sesgo en la duración del tejido trasplantado.<sup>57-61</sup>

En la mayor parte de los estudios acerca de la preservación de los trasplantes de tejidos compuestos, se hace énfasis en disminuir al máximo el tiempo de isquemia, pero no se reporta una gran diferencia en la conservación de los órganos durante el trasplante.<sup>62</sup>

Otro de los aspectos evaluados en los modelos animales es si el tejido trasplantado en animales jóvenes tiene posibilidades de crecimiento; para esto se utilizó el trasplante de extremidades traseras en rata, así como de segmentos mandibulares con músculos de la masticación con inervación en conejos.<sup>63,64</sup> En este punto, los trabajos de investigación se orientaron a evaluar las diferencias inmunológicas de los diferentes tejidos y estudiar las repercusiones al trasplantar combinaciones de tejidos, en el fenómeno de rechazo, y en sus repercusiones para la recuperación funcional de los tejidos compuestos trasplantados.<sup>64-67</sup>

En un intento por comprender cómo está mediado el fenómeno de rechazo, Butler y cols.<sup>68</sup> desarrollaron un modelo en el cual implantaban dentro del músculo esquelético del receptor células del donador cultivadas, que incluían queratinocitos, miocitos y osteocitos; de esta manera se aislaron estos componentes del endotelio, que define gran parte de la antigenicidad en el trasplante de tejidos compuestos. Sin embargo, los modelos animales clásicos no habían podido recrear las barreras de histocompatibilidad humanas. Por ello, Lee y cols.<sup>69</sup> diseñaron un modelo en cerdo de trasplante heterotópico parcial de pierna, que incluía tibia, peroné, articulación de la rodilla, fémur distal con los músculos y piel asociados. Merced a lo anterior se obtuvo un modelo que permitía monitorizar todos los cambios, tanto clínicos como histológicos del rechazo, así como la respuesta al tratamiento inmunosupresor, sin poner en riesgo la sobrevida del animal de experimentación por la inmovilidad secundaria a las biopsias. Pero lo más importante es que el cerdo es el único animal con las mismas barreras inmunológicas determinadas genéticamente que el ser humano.<sup>70</sup>

Es muy importante analizar la preservación de los tejidos trasplantados. A lo largo de los trabajos descritos previamente, tanto el donador como el receptor, fueron preparados simultáneamente para disminuir el tiempo de isquemia y no es necesario, como se mencionó, un manejo especial en cuanto a la preparación del tejido a trasplantar (éste se reducía a sumer-



gir los tejidos en solución salina o en solución Hartmann heladas, o profundirlos con solución salina heparinizada). En todos los estudios, el tiempo de isquemia fue de 45 a 180 minutos.<sup>71-74</sup>

Se encontró una relación directa entre el tiempo de isquemia y la sobrevida del tejido trasplantado. En una serie de estudios se realizó sección de la extremidad de la pata de la rata dejando intacto el nervio ciático, para que el déficit funcional fuera producto del tiempo de isquemia y no de la lesión nerviosa. En tales estudios se sometió a la extremidad a tiempos variables de isquemia normotérmica (de 3 a 6 horas); se monitorizó durante este tiempo el pH, las concentraciones de adenosinmonofosfato (AMP), adenosindifosfato (ADP) y adenosintrifosfato (ATP), potasio, y contenido de agua en los tejidos. Se observó que después de seis horas de isquemia caliente no había recuperación funcional. Cuando se analizó este fenómeno se demostró que los tejidos sometidos a este periodo de isquemia tenían niveles irrecuperables de adenosintrifosfato (ATP). Más adelante, una serie de estudios establecerían que después de un periodo de isquemia de seis horas, el adenosintrifosfato en el músculo se agota, con el consecuente daño celular. A esto se asoció una relación directa entre preservación tisular y la temperatura ambiental.<sup>75,76</sup>

Cuando se analizan los efectos de la perfusión en la preservación tisular, es necesario medir los niveles de ATP y otros productos celulares con cada solución de irrigación. Algunos estudios analizan las diferencias entre solución Ringer Lactato, Euro-Collins y solución dextran-dextrosa, en estos casos los mejores niveles de ATP y el menor daño tisular se observaron con la solución Euro-Collins; asimismo, se observó que la infusión a baja presión (<150 cm H<sub>2</sub>O) produce menos edema que la infusión intermitente o a alta presión.<sup>77</sup>

Kihira y cols,<sup>78</sup> analizaron los niveles de ATP en patas de rata preservadas en solución Euro-Collins fría, con tiempos de isquemia de 6, 9 y 12 horas, observando que mediante tal preservación había una mínima mionecrosis, aun por arriba de las 9 horas de preservación.

En otros trabajos se encontraron resultados similares, incluso se menciona que es mejor la inmersión en la solución de Euro-Collins, que la perfusión con esta misma solución.<sup>79</sup> Tal estudio es relevante porque plantea que además del daño histológico (que se puede evidenciar inmediatamente antes de la revascularización del tejido trasplantado) se pueden observar diversos grados de progresión de la mionecrosis durante los primeros 28 días del trasplante; además se observó que a mayor lesión en los tejidos trasplantados, el receptor también sufría lesiones histológicas,

probablemente secundarias a la liberación de metabolitos tóxicos secundarios a la reperfusión de una isquemia prolongada.

En lo referente a la preservación de músculo esquelético con solución de Wisconsin con y sin butanediona, se analizaron el tiempo de isquemia, la temperatura a la que se preservaron los tejidos, los niveles de ATP, y los niveles de electrolitos. El agregar butanediona tiene la ventaja de que ayuda a mantener los niveles de ATP por periodos más prolongados. El análisis final reportó que el empleo de solución de Wisconsin con butanediona fría mejora la viabilidad del tejido a trasplantar y en el análisis histológico en el día 1 y 7 no hay diferencias significativas en cuanto a daño celular.<sup>80</sup>

La solución de Wisconsin previene el daño celular irreversible por isquemia prolongada, tiene un pH a temperatura ambiente de 7.4 y contiene una gran concentración de agentes impermeantes, como el ácido lactobiónico 100 mmol/L y la rafinosa 30 mmol/L; contiene hidroxietilo 50 g/L para suprimir el edema celular secundario a hipotermia, adenosina 5.0 mmol/L para estimular la regeneración de ATP, glutatión 3.0 mmol/L para suprimir el daño por radicales libres de oxígeno durante la reperfusión, alopurinol 1.0 mmol/L para la supresión de xantinoxidasa, 30 mEq/L de sodio, y 5 mmol/L de magnesio, para mantener un ambiente externo fisiológico y fosfatos para su utilización como un amortiguador de pH. Sin embargo, tiene la desventaja de tener un alto contenido en potasio de 128 mEq/L que puede ser nocivo para el endotelio vascular. Por esta razón esta solución ha sido reemplazada actualmente en la conservación de órganos de trasplante por otras soluciones menos hipercalémicas, como la de histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) de Bretschneider o Custodiol.

El Custodiol contiene 9 mmol/L de cloruro de potasio, así como un pH de 7.2, con una osmolaridad de 310 mosmol/kg, en 1,000 mL de agua inyectable: 0.8766 g de cloruro de sodio (15 mmol/L), 1,842 g de bi-2-ketoglutarato potásico (1 mmol/L), 0.8132 g de cloruro de magnesio-6 H<sub>2</sub>O (4 mmol/L), 3.7733g de histidina HCL-H<sub>2</sub>O (18 mmol/L), 27.9289 g de histidina (180 mmol/L), 0.4085 g de triptófano (2 mmol/L), 5.4651 g de manitol (30 mmol/L), 0.0022 g de cloruro de calcio (0.015 mmol/L), y Anión CL 50 mEq.<sup>12-14</sup> Esta solución se ha convertido en la primera elección para cardioplejia, así como para protección de órganos a trasplantar como corazón, riñón e hígado, y para la protección de trasplantes de injertos arteriales y venosos.

La solución HTK o custodiol es la que tiene la mayor aceptación clínica en procedimientos de trasplan-

tes y cuyos componentes aseguran un nivel bajo de potasio que evitan el daño endotelial, pero permiten la inactivación transitoria de las funciones celulares, para prevenir su daño y sus componentes aminoácidos la convierten en un excelente buffer que permite una mayor tolerancia a la isquemia al agregarle triptófano, lo que aumenta su efecto en la protección de membrana y el alfa-fetoglutarato sirve como un sustrato para la producción aeróbica de energía y estimula la producción de ATP.

Como contiene manitol, se encuentra balanceada su presión osmótica y es capaz de disminuir el edema celular e inhibir los radicales libres y los derivados de oxígeno como el superóxido. Se perfunde a una temperatura de entre 8° y 15°C, tiene la ventaja adicional de producir un efecto hipotérmico que contribuye a disminuir el gasto metabólico celular y la acidosis intracelular.

No se le han encontrado efectos tóxicos y en comparación con otras soluciones preservadoras de tejidos para trasplante ofrece un mayor efecto protector, esta solución preservadora es más efectiva para prevenir los daños celulares estructurales en el músculo estriado bajo isquemia prolongada.

El custodiol no previene los cambios mitocondriales a nivel de núcleo celular en forma significativa, pero sí previene los cambios sobre el retículo endoplásmico rugoso y preserva la membrana celular. El mayor contenido lipídico en el grupo de custodiol, traduce un menor estrés celular.

Dentro de los resultados arrojados por todos estos estudios, se desprenden varias conclusiones:

Primero, es necesario restaurar de manera adecuada el flujo sanguíneo al tejido trasplantado, para asegurar su viabilidad.

Segundo, es necesario acortar al máximo los periodos de isquemia y durante éstos, la preservación debe considerar barrer los radicales libres y productos celulares tóxicos, así como preservar la cantidad de ATP celular.

Tercero, el manejo con inmunosupresores es determinante en la sobrevida a largo plazo del tejido trasplantado, y

Cuarto, la recuperación nerviosa es imprescindible para obtener un tejido funcional.

Hay dos aspectos de importancia fundamental para la cirugía de trasplantes en general: el conocimiento del sistema inmunológico y el fenómeno de rechazo, de los cuales abordaremos los puntos sobresalientes. A continuación de éstos, analizaremos el manejo mediante inmunosupresores y los avances en este cam-

po, pues representan un impacto directo con el trasplante de tejidos faciales y por último, revisaremos los aspectos técnicos y de manejo médico que pueden influir en una recuperación funcional aceptable.

El aspecto más relevante del sistema inmunológico, de acuerdo a los fines de este trabajo, es el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) es un *locus genético* encontrado en todas las especies de mamíferos, localizado en el cromosoma 6 en el humano. En él se codifican múltiples genes estrechamente relacionados, descritos inicialmente por su participación en la tolerancia de los trasplantes de piel. Las moléculas que codifica el MHC son receptores de superficie celular que contienen péptidos antigénicos para ser presentados a varias células del sistema inmune, siendo las más importantes los linfocitos T ab CD4 y CD8; las células asesinas naturales (NK), y los linfocitos gd. Dos familias del MHC denominadas clase I y II son las participantes en esta función.

Las moléculas de clase I son heterodímeros formados por una cadena pesada de 45 kD y una cadena liviana de 12 kD asociada no covalentemente, denominada b-2 microglobulina.

La cadena pesada es una proteína transmembranal, con una porción citoplasmática de 30 aminoácidos (aa), una transmembranal de 40 aa y una extracelular de 275 aa. Estas moléculas se expresan en todas las células nucleadas y son las encargadas de presentar en la superficie, péptidos originados del procesamiento de virus infectantes, o moléculas propias; ya sea normalmente producidas, u originadas, durante situaciones anormales, como la transformación tumoral.

Las moléculas del MHC clase I, en el humano, están codificadas en los genes denominados HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-A, HLA-H, HLA-G y HLA-F.

Las moléculas HLA-A, HLA-B, HLA-C son las más importantes en el humano, por su participación en la histocompatibilidad; la identificación serológica de las moléculas clase C ha sido difícil e imprecisa; sin embargo, ellas parecen ser muy importantes en la interacción con las NK.

Las funciones precisas de HLA-E, HLA-F, HLA-G no son aún claras, algunas evidencias y la restricción tisular de la expresión de HLA-G, sugieren la participación de estas moléculas en la tolerancia materno-fetal.

La segunda familia del MHC, es la denominada clase II. Las moléculas de esta familia están compuestas por heterodímeros glicoproteicos, con una cadena a y una cadena b de 33 y 27 kD, respectivamente. Estas moléculas se expresan en la superficie de las células presentadoras de antígeno (APC) incluyendo macrófagos, linfocitos B y células dendríticas y bajo

algunas circunstancias, también pueden expresarse en otros tipos celulares.

Las MHC clase II, presentan péptidos derivados de la degradación de gérmenes fagocitados por la célula presentadora de antígeno y los llevan a la superficie celular; donde serán reconocidos por los linfocitos T específicos. El proceso de presentación antigénica por las moléculas clase II involucra varios pasos, así: inicialmente se forma el heterodímero  $\alpha\beta$ , el cual es estabilizado por la cadena invariante (Ii) la cual sirve de presentadora, dirigiendo el complejo hasta el endosoma tardío, donde en un proceso facilitado por el medio ácido libera la cadena Ii y su péptido asociado (CLIP) y se ensambla el péptido exógeno al complejo. En este proceso de liberación, transporte y ensamblaje participan las moléculas denominadas HLA-DM.

En el humano se han definido bioquímicamente tres isotipos de las moléculas clase II (DR, DQ y DP) que son coexpresadas en la superficie de las células presentadoras de antígeno y en el ratón; dos isoformas de estas moléculas denominadas IA e IE, son expresadas en forma codominante.

La expresión de las moléculas clase II es estrictamente regulada, en los linfocitos B por ejemplo, la expresión varía dependiendo del estado de maduración, en estado temprano de diferenciación expresan estas moléculas, maduros tienen la mayor expresión y cuando llegan al estado de plasmocitos pierden esta capacidad.

La expresión puede también ser inducida por una variedad de citoquinas como la IL-4, IL-13, y la más potente el IFN $\gamma$ , otras pueden inhibir la expresión como IFN  $\beta$ , IL-10 y TGF  $\beta$  todas estas acciones circunscritas a ciertos tipos celulares.

La mayor parte de las evidencias obtenidas hasta la fecha, en líneas celulares de linfocitos B, indican que el principal modo de regulación de la expresión de los antígenos MHC clase II es transcripcional. Así pues, las diferencias en la activación transcripcional de las regiones promotoras que regulan la actividad de estos genes determinarían los niveles de su mRNA respectivos y subsecuentemente los niveles de expresión superficial de las proteínas clase II.

Las moléculas de clase I del MHC se expresan constitutivamente en todas las células nucleadas. Este patrón de expresión está íntimamente relacionado con las funciones de los linfocitos T CD8+, quienes al reconocer a los péptidos presentados por las moléculas de clase I se activan y lisan a la célula que se encuentre infectada por un microorganismo intracelular. Este es un mecanismo de defensa muy efectivo para las células nucleadas infectadas, ya que no pueden migrar como lo hacen las células presentadoras

de antígenos, y por lo tanto la única manera de hacer saber al sistema inmunológico que se encuentran afectadas es ésta.

Las moléculas de clase II del MHC sólo se expresan a un grupo celular denominado células presentadoras de antígeno. En este grupo celular se encuentran los linfocitos B, macrófagos y principalmente las células dendríticas.

Estas células son capaces de reconocer, fagocitar, procesar y luego presentar en su superficie celular a los péptidos exógenos unidos a las moléculas de clase II. Las células presentadoras de antígenos poseen además la capacidad de poder migrar de un tejido a otro en busca de los linfocitos T CD4+, este es el caso de las células dendríticas, que pueden migrar desde la piel hasta los ganglios linfáticos y así poder activar a los CD4+. Otra forma de establecer el contacto entre las APC y los T CD4+, es que estos últimos migren al sitio afectado en donde los macrófagos presentan el péptido y activan a las CD4+.

El fin último de las moléculas de clase II es poder presentar antígenos exógenos, mientras que las moléculas de clase I presentan a los antígenos endógenos.

La expresión de las moléculas tanto de clase I como de clase II, se ven afectadas por las citoquinas secretadas tanto en la inmunidad innata como en la inmunidad adaptativa.

Los INF  $\alpha$ ,  $\beta$ , y  $\gamma$  son secretados en la respuesta inmunitaria temprana frente a los virus, en tanto el factor de necrosis tumoral (TNF) y las linfoquinas (LT) se liberan en las infecciones microbianas. Todas estas citoquinas aumentan significativamente la expresión de las moléculas de clase I. Este es un mecanismo en que la inmunidad innata estimula a la inmunidad adaptativa. Las moléculas de clase II son reguladas principalmente por el INF  $\gamma$ , esta citoquina es la más importante para activar macrófagos, los cuales una vez activados aumentan la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad.

Los linfocitos B expresan constitutivamente MHC II, pero pueden aumentar la expresión bajo el estímulo de IL-4, mientras que las células dendríticas aumentan la expresión a medida que maduran.

El hecho de que las células presentadoras de antígeno expresen mayor o menor cantidad de moléculas se relaciona con la tasa de transcripción del MHC. Este efecto está mediado por la unión de factores de transcripción, activados por citoquinas, a las secuencias promotoras de los genes del MHC.

Varios factores de transcripción se ensamblan y luego se unen a una proteína denominada *activador de transcripción de clase II (CIITA)*, este complejo se une al promotor y así modula la transcripción. El

CIITA es sintetizado en presencia de  $\text{INF}\gamma$ , de esta manera explicamos el papel fundamental del  $\text{INF}\gamma$  en la expresión del MHC II.

El  $\text{INF}\gamma$  regula además de la expresión de las moléculas de clase II, a las moléculas de clase I, a la  $\beta$  2-microglobulina, a los genes que regulan la expresión de las proteínas TAP y los genes que codifican las subunidades del proteasoma.

Las vías de procesamiento y presentación de antígenos por moléculas de clase I son útiles para la defensa frente a virus, bacterias intracelulares y células tumorales. Estos péptidos asociados a moléculas de clase I son producidos por degradación citosólica, luego transportados al retículo endoplásmico donde se unen a las moléculas de clase I en formación y finalmente se expresan en la membrana.

El mecanismo por el cual se generan la mayor cantidad de péptidos antigénicos citoplasmáticos es a través del proteasoma. Este es un complejo multienzimático, que reconoce a proteínas intracelulares que hayan sido marcadas por un pequeño polipéptido denominado ubiquitina. Luego las proteínas se despliegan e ingresan al proteasoma, quien las degrada a pequeños péptidos capaces de interactuar con las moléculas del MHC I.

Inhibidores específicos de la función del proteasoma, bloquean la presentación de proteínas citoplasmáticas por el MHC I a linfocitos T CD8+ específicos para el epítipo del péptido de una proteína en particular, sin embargo también se ha demostrado, que si el péptido es sintetizado en el citoplasma y no obtenido por proteólisis, la inhibición del proteasoma no obstaculiza y el péptido puede ser presentado igual. Estos estudios resaltan la importancia del proteasoma para la fragmentación de proteínas en pequeños péptidos que luego se incorporan a las moléculas del MHC I, pero, en casos donde el péptido ya existe como tal, el papel del proteasoma no es indispensable para la vía.

Debido a que las moléculas de clase I son sintetizadas en retículo endoplásmico y los péptidos se encuentran en el citoplasma, debe existir un mecanismo que transporte estos péptidos al interior del retículo endoplásmico. Esta función es sustituida por las proteínas TAP (transportador asociado al procesamiento de antígeno).

Estas proteínas son un heterodímero, cuyos genes, TAP 1 y TAP2, se ubican en la región II de los genes del MHC. Las proteínas TAP se ubican en la membrana del retículo endoplásmico donde median un transporte activo-ATP-dependiente de los péptidos, desde el citoplasma a la luz del retículo endoplásmico.

En su extremo luminal, las proteínas TAP se encuentran unidas de modo no covalente a las moléculas

del MHC I recién formadas, por una proteína denominada tapasina, de esta manera se mantienen especialmente cerca, de modo que, cuando las TAP internalizan al péptido, automáticamente éste se encuentre con las moléculas de clase I y puedan unirse.

La síntesis y el ensamble de las moléculas de clase I, es un proceso de múltiples etapas, en donde la unión del péptido juega un papel crucial. En el interior del retículo endoplásmico se sintetizan la cadena  $\alpha$  y la  $\beta$  2-microglobulina. También encontramos en el sector luminal del retículo endoplásmico a proteínas transportadoras como la calnexina y la calreticulina, que se encargan del correcto plegamiento de las cadenas  $\alpha$ .

Una vez que el péptido ha ingresado vía TAP se une a la molécula del MHC I, ahora este complejo péptido-MHC I se encuentra en una conformación estable que se libera de la tapasina y está disponible para expresarse en la membrana.

Como se ha mencionado, la conformación estable del MHC I, se logra cuando éste se encuentra unido al péptido. Este complejo se transporta a través del retículo endoplásmico y el aparato de Golgi hasta llegar a la membrana celular por vesículas exocíticas. Una vez ubicados en la membrana la molécula del MHC I puede ser reconocida por los linfocitos T CD8+.

El origen de los péptidos unidos a las moléculas de clase II incluye la degradación de las proteínas internalizadas en vesículas y la unión de los péptidos a las moléculas de clase II. Este mecanismo difiere en varios aspectos en referencia al procesamiento de los péptidos unidos a las moléculas de clase I, no sólo por su mecanismo mediado por vesículas, sino también en la manera en que el péptido logra unirse a las moléculas de clase II.

Las células dendríticas y los macrófagos poseen una variedad de receptores que les permiten reconocer estructuras compartidas por muchos tipos de microorganismos e inducir la fagocitosis.

Los macrófagos expresan receptores de manosa, quienes reconocen los residuos de manosa y fucosa de las glucoproteínas y glucolípidos bacterianos. Asimismo los receptores de la porción Fc de los anticuerpos, a través de los cuales pueden reconocer y fagocitar a los microorganismos o proteínas recubiertas de anticuerpos, como también los receptores para opsoninas, por ejemplo los receptores para el fragmento C3b del complemento.

Los linfocitos B pueden reconocer y fagocitar antígenos proteicos a través del receptor de las células B (IgM junto con las cadenas  $\text{Ig}\alpha$  e  $\text{Ig}\beta$ ).

Una vez que el antígeno fue reconocido, es internalizado en endosomas. Estos compartimientos intrace-



lulares contienen un pH ácido y son ricos en enzimas proteolíticas. Esta vía continúa con la posterior unión del endosoma a un lisosoma, quien posee un contenido enzimático aún mayor.

Las proteínas son degradadas enzimáticamente generando péptidos, muchos de los cuales poseen las características estructurales para poder interactuar con las moléculas de clase II. La cathepsina, es una proteasa de amplia especificidad de sustrato, y es la enzima endosomal y lisosomal más abundante.

Las cadenas  $\alpha$  y las cadenas  $\beta$ , son sintetizadas por separado y se asocian unas con otras en el retículo endoplásmico; este proceso es facilitado por proteínas transportadoras, tales como la calnexina.

La molécula de clase II ensamblada, aún continúa siendo inestable, por lo que se une al sitio de unión al péptido, una proteína denominada cadena invariable (Ii).

La cadena invariable es una proteína no polimórfica compuesta por tres subunidades. Esta proteína se une a un heterodímero formado por las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ , en su sitio de unión al péptido; de esta manera interfiere en la carga del péptido.

Gracias a la Ii las moléculas de clase II se estabilizan por completo en el retículo endoplásmico y mantiene ocupado el sitio de unión al péptido dentro de esta organela impidiendo que los péptidos propios del retículo endoplásmico se unan a las moléculas recién formadas. La Ii también favorecen el correcto plegamiento y su posterior transporte a las vesículas endosómicas.

Los segmentos de membrana del retículo endoplásmico que contienen a las moléculas de MHC II, se separan del retículo endoplásmico formando vesículas que son transportadas a la membrana celular. Pero durante este camino, las vesículas exocíticas se unen con los endosomas que contiene a los péptidos recién internalizados. El significado de esta vía consiste en que las moléculas de clase II se encuentren con los péptidos generados por proteólisis de las proteínas previamente fagocitadas.

Se han identificado endosomas ricos en moléculas de clase II, a los que se les llamó compartimiento de clase II del MHC o MIIc (MHC class II compartment). Se debe destacar que estas vesículas contienen todos los componentes para la asociación péptido-moléculas de clase II, incluyendo las enzimas que degradan las proteínas, la Ii y una molécula denominada HLA-DM.

Debido que la Ii se encuentra bloqueando el sitio de unión al péptido, debe ser removido para que el péptido se una a las moléculas de clase II. Este evento se realiza en dos pasos: Primero, las mismas cathepsinas que

degradaron las proteínas, separan al Ii, dejando como resultado una molécula de 24 aminoácidos en el sitio de unión al péptido llamada CLIP (péptido de cadena invariable asociado a clase II).

El segundo paso consiste en quitar al CLIP de la hendidura, esto es llevado a cabo por la molécula HLA-DM; que además facilita la entrada del péptido antigénico en su lugar. El gen que codifica la proteína HLA-DM se encuentra ubicado en la región II del MHC.

Una vez que el péptido se ha unido a la molécula de clase II, ésta se estabiliza y puede ser presentada en la membrana celular, donde los complejos péptido-MHC II pueden interactuar con los linfocitos T CD4+.

El papel de las moléculas de clase I es unir los péptidos endógenos durante su maduración biosintética y luego transportarlos a la superficie celular para activar a los linfocitos CD8+. En general los péptidos de origen exógeno se encuentran excluidos de esta vía.

Existen al menos dos vías diferentes en este procesamiento alternativo de las moléculas del MHC I: una *TAP dependiente o procesamiento alternativo citoplasmático del MHC I* y la otra *TAP independiente o procesamiento alternativo mediante vacuolas del MHC I*.

La primera de ellas involucra el acceso de péptidos exógenos a la vía normal del MHC I. Los péptidos exógenos ubicados en los endosomas, pueden salir de éstos e ingresar al citoplasma; donde las proteínas TAP internalizan al péptido exógeno al ER y lo unen al MHC I.

La segunda vía involucra un mecanismo de procesamiento del antígeno exógeno en vacuolas, sin que el péptido ingrese al citoplasma. Este mecanismo necesita la unión del péptido a las moléculas del MHC I luego de que éstas hayan abandonado el aparato de Golgi. En esta vía el péptido exógeno proviene de un endosoma o un lisosoma.

Aún no se conoce el espacio intracelular donde el péptido se une a las moléculas del MHC I. Inicialmente se había pensado que las moléculas de clase I que participaban en esta vía se encontraban sin unir a algún péptido, y por lo tanto un péptido exógeno podía ocupar la hendidura. Actualmente se sabe que esto no es así y que la vía mediada por vacuolas incluye una disociación del péptido endógeno y luego un cambio por el péptido exógeno.

La disociación/cambio del péptido ocurre sólo en medios ácidos tales como las vesículas post-Golgi de procesamiento de antígenos o los fagolisosomas.

Una de las explicaciones de este fenómeno es que en algún momento del tránsito vesicular que contenga moléculas de clase I, un grupo de éstas se desvíe de la ruta normal y se mezcle en la ruta del MHC II. De esta manera, al ingresar en las vesículas de procesamiento de antígenos post-Golgi, que poseen pH áci-

do y además a los antígenos exógenos, los péptidos endógenos unidos a las moléculas del MHC I, se disocian y éste queda con su hendidura vacía en un medio donde abundan péptidos exógenos. Esto trae como consecuencia que algunos de los péptidos exógenos que cumplan con los requisitos previamente mencionados se una al MHC I vacío.

Otra posible explicación habla del reciclaje, donde moléculas de clase I de superficie, son endocitadas, y destinadas a su degradación. Pero existe un pequeño grupo, que intercepta la vía de procesamiento de moléculas de clase II. De esta forma las moléculas de clase I se disocian de los péptidos endógenos debido al pH ácido del endosoma y sigue una ruta similar a la previamente descrita.

La tipificación tisular es la identificación de los antígenos de histocompatibilidad. Para llevarla a cabo, existen distintos métodos, principalmente el método serológico y el método de biología molecular (DNA).

En el transcurso de un operativo de procuración, ablación e implante de órganos, el servicio de inmunología e histocompatibilidad, realiza los siguientes estudios:

- Grupo sanguíneo del potencial donante cadavérico.
- Tipificación HLA del potencial donante cadavérico.
- Tipificación HLA del receptor potencial.
- Pruebas cruzadas pre-trasplante de los receptores potenciales.

Los receptores potenciales han sido estudiados con anterioridad con su grupo sanguíneo, tipificación HLA y pruebas cruzadas contra panel, han sido incluidos en una lista de espera.

El objetivo de la realización de las pruebas cruzadas entre donante y receptor es investigar en el suero del receptor potencial la presencia de anticuerpos dirigidos contra los antígenos HLA del donante. El órgano debe adjudicarse a alguno de los receptores en potencia cuyas pruebas cruzadas pre-trasplante sean negativas. Un resultado de pruebas cruzadas pre-trasplante positivo es contraindicación absoluta del trasplante. Hasta el momento, las pruebas cruzadas pre-trasplante se realizan sólo para trasplante renal; sin embargo, debido a la complejidad de un trasplante de tejidos faciales, es conveniente investigar este punto para evitar fenómenos de rechazo hiperagudo y agudo.

Otro grupo dentro del sistema inmunológico que se debe mencionar, ya que puede tener importancia al momento de un trasplante de tejidos faciales, son los antígenos menores de histocompatibilidad.

Se trata de moléculas alélicas que establecen diferencias entre individuos con un MHC muy parecido.

Se trata fundamentalmente de antígenos expresados en los endotelios y monocitos del donante. La respuesta inmunitaria que producen es muy similar a la surgida frente a antígenos extraños. El papel de estos antígenos es variable según el órgano trasplantado.

Cuando se efectúa un trasplante se están introduciendo en el receptor células de donante con antígenos de histocompatibilidad distintos a los del receptor. Las células presentadoras de antígenos del órgano donado, muy probablemente células dendríticas, presentan sus MHCII junto con los péptidos antigénicos correspondientes y por esto es reconocido como extraño por los linfocitos T CD4+ del receptor que continuamente están circulando por el organismo. Hay también evidencia de que las propias CPA del huésped pueden procesar antígenos del donante y presentarlos con sus propias MHCII e incluso de que las células T pueden reconocer directamente las MHCI y MHCII extrañas.

El trasplante es el proceso de tomar células, tejidos u órganos denominados "injertos", de un individuo y colocarlos en otro distinto. Al individuo que proporciona el tejido se le conoce como "donante" y al que recibe "receptor o huésped".

La mayor limitación respecto a los trasplantes, es la respuesta inmunitaria que desencadena el huésped frente a los tejidos del donante, que lleva al fracaso del injerto por una reacción inflamatoria. A este fenómeno se le conoce como **rechazo**.

En este apartado, el objetivo es describir básicamente las bases moleculares y celulares de los trasplantes y del rechazo, y tan sólo exponer los fenómenos clínicos subsecuentes. Para poder ejemplificar los efectos del rechazo, utilizaremos como modelo a un **aloinjerto** (injerto **alogenico**).

Tal y como se explicó con anterioridad, el MHC es el responsable del reconocimiento de cualquier tejido extraño.

El MHC reconoce al injerto extraño de dos maneras, sin ser mutuamente excluyentes: La primera, llamada **presentación directa**, implica el reconocimiento de una o varias moléculas del MHC intactas presentadas por APC del donante, existentes en el injerto y se debe a la similitud entre la estructura de la molécula del MHC extraño (alomolécula) intacta y las moléculas del MHC propias. Por lo tanto, la presentación directa es exclusiva de las moléculas del MHC extraño.

La segunda vía, denominada **presentación indirecta**, supone el procesamiento de las moléculas del MHC del donante por parte de las APC de receptor, y de la presentación de los péptidos derivados de las alomoléculas del MHC asociadas a moléculas del

MHC propio. En este caso, las moléculas del MHC ajeno reciben el mismo procesamiento que cualquier antígeno proteico extraño.

La mayoría de los órganos contienen células dendríticas residentes. El trasplante de éstos involucra el movimiento de las APC, dentro del receptor. Las APCs del donante migran a los ganglios linfáticos del huésped y entran en contacto con células T (presentación directa) activándolas. A su vez, las células dendríticas del huésped también migran hacia el injerto, donde capturan a los antígenos y los procesan como a cualquier otro, y luego se los presentan a las células T propias (presentación indirecta).

En el ámbito clínico, los rechazos a los trasplantes se clasifican según su tiempo de evolución en hipergudos, agudos y crónicos.

El *rechazo hipergudo* se caracteriza por una oclusión trombótica de la vasculatura del injerto, que comienza a los minutos u horas de la anastomosis entre los vasos del donante y el huésped. Esta reacción está mediada por anticuerpos preexistentes y la activación del complemento, que lleva a severas lesiones en las células endoteliales, con la subsiguiente activación de la cascada de la coagulación.

El *rechazo agudo* es mediado por las células T y B activas, que producen lesión parenquimatosa y vascular del injerto. Usualmente comienza a la semana del trasplante, que es aproximadamente el tiempo que toma la inmunidad adaptativa en dar inicio a sus mecanismos efectores. Ocurre en un 20 – 40% de los trasplantes cadavéricos con terapia inmunosupresora corriente.

En cuanto al *rechazo crónico*, es caracterizado por la fibrosis y alteraciones vasculares, con pérdida de la función del injerto durante un periodo prolongado. La fibrosis del rechazo crónico puede deberse a reacciones inmunológicas y a la síntesis de citoquinas que estimulan a los fibroblastos.

Como se ha evidenciado, el rechazo a los injertos y el fracaso a los trasplantes se debe a una respuesta inmunitaria en su contra; debido a esto las estrategias utilizadas en la práctica clínica para evitar o retrasar el rechazo consisten en la inmunodepresión general, la reducción al mínimo de la intensidad de la aloreacción específica y la tolerancia específica al aloinjerto.

Un aspecto de gran importancia es el fenómeno de rechazo y cómo se presenta; así es necesario señalar que se trata de un proceso inespecífico y en sus etapas iniciales no tiene traducción clínica.

Se hace más difícil de reconocer, porque este tipo de trasplantes habitualmente se evalúan a través de las características de la piel, y si bien todos los estudios a

nivel experimental preconizan que el primer tejido que sufre el fenómeno de rechazo es ésta, los datos que presenta son inespecíficos y tienen el siguiente orden: eritema, edema, pérdida del cabello en caso de estar presente, disminución del edema, exudado seroso, escarificación, y eventualmente momificación.<sup>27,81-83</sup>

Se ha intentado definir el fenómeno de rechazo de manera rigurosa a través de numerosos estudios, y para ello se ha revisado de manera estadística la frecuencia de los datos histológicos de rechazo y su relación con los signos clínicos, para validarlos y de esta manera establecer criterios para identificar de manera fehaciente el rechazo.

Estos criterios usualmente se relacionan con los cambios que presenta la piel y pueden relacionarse con ellos de la siguiente manera: inicio del rechazo con presencia de eritema;<sup>81,82,84-87</sup> primer dato de rechazo después del inicio del eritema o edema;<sup>83,88</sup> datos de rechazo 24 horas después del inicio del eritema;<sup>89,90</sup> pérdida de la habilidad para realizar una prueba de pinzamiento digital suave de la piel;<sup>91,92</sup> escarificación de piel.<sup>91</sup> Cuando se trasplanta hueso el parámetro que se emplea es el último día de crecimiento óseo detectado mediante gammagrafía,<sup>74</sup> edema asociado a epidermólisis,<sup>93</sup> descenso de la temperatura cutánea de 6 grados Celsius,<sup>94</sup> pérdida completa del pelo,<sup>95</sup> y cambios en la coloración de la piel.<sup>96</sup>

Otros signos clínicos asociados al rechazo son la formación de vesículas cutáneas, descamación de la piel y cianosis cutánea.<sup>97</sup>

En otros estudios se observó que existe una relación directa entre el rechazo irreversible, los cambios cutáneos y la disminución de la temperatura muscular. De la misma manera no se encontró correlación entre las mediciones transcutáneas de los niveles de oxígeno y las mediciones seriadas de los niveles plasmáticos de creatinina fosfoquinasa y el fenómeno de rechazo.<sup>98</sup>

Se estudiaron marcadores adicionales de rechazo como glucosa, lactato,  $pO_2$ ,  $pCO_2$ , y pH y la medición de los cambios en el volumen del tejido trasplantado, pero ninguno de éstos tuvo correlación con los cambios histológicos de rechazo.<sup>72,88,99</sup>

Debido a lo anterior, se establecieron parámetros histológicos para determinar el rechazo y la gravedad de éste.<sup>72,88,100-107</sup> El criterio empleado con mayor frecuencia, es la caracterización de la morfología tisular. En la piel los cambios que se presentan son vacuolización de las células de la capa basal, que progresa hasta la necrosis; dilatación quística de los folículos pilosos; espongiosis epidérmica y disqueratosis; dilatación capilar; infiltrado de polimorfonucleares de la dermis papilar y reticular, y necrosis cutánea, resultado de la obliteración progresiva de los

capilares. Los cambios histológicos se presentan 5 ó 6 días antes de los cambios clínicos y la necrosis se presenta 3 ó 4 días después de que éstos aparecen.<sup>71,81,84,88,97,99</sup>

A nivel vascular los datos de rechazo se caracterizan por lesión endotelial e infiltración de la íntima por células mononucleares, con edema y estenosis de la luz de los vasos afectados. Esta lesión continúa hasta que se producen ulceraciones en la íntima, con ruptura de la capa elástica interna y termina con hipertrofia de la adventicia. Estos cambios son más rápidos en las venas que en las arterias.<sup>74,108</sup> En el rechazo muscular se encuentra proliferación nuclear, y los cambios tardíos incluyen atrofia, degeneración de las fibras musculares, infiltración linfocítica, e infiltración grasa. En los casos de rechazo crónico se encuentra degeneración de las fibras musculares, a lo que también es atribuido la denervación prolongada.<sup>81,82,84,86,88,109</sup>

Los cambios en la permeabilidad de la microcirculación han sido investigados en detalle debido al papel tan importante que tiene la lesión endotelial en el fenómeno de rechazo, y se han encontrado datos de que durante la primera semana postoperatoria hay un aumento de la permeabilidad de la microcirculación; durante este periodo hay un aumento de la migración de los leucocitos a través de la íntima y aparentemente esto tiene un efecto vasodilatador.<sup>110</sup>

Los cambios histológicos que se encuentran en el cartílago durante el rechazo incluyen vacuolización de los condrocitos y sinovitis dentro de las primeras 6 semanas de postoperatorio, que progresan a la formación de gránulos de membrana y necrosis. También se observa ruptura de la superficie del cartílago, con infiltrado linfocítico e invasión del cartílago por tejido de granulación, lo cual avanza hasta la necrosis.<sup>88,111</sup>

El rechazo óseo va desde una fibroplasia perióstica hasta la pérdida de la cavidad medular con fibrosis del hueso. Los cambios que se observan durante los tres primeros días del rechazo son: ruptura de las cisternas mitocondriales, vacuolización celular, lisis de las membranas plasmáticas de los osteocitos. También se ha establecido la relación entre la efectividad del tratamiento inmunosupresor y la velocidad del rechazo, y el grado de disparidad inmunológica; el rechazo mediado por el complejo mayor de histocompatibilidad se caracteriza por necrosis de los osteocitos dentro de la primera semana del trasplante, seguido por lesión vascular, como la descrita previamente.<sup>88,112,113</sup>

El rechazo de la médula ósea se caracteriza por extravasación de los eritrocitos y reducción de los basófilos, dentro de los primeros cinco días del trasplante;

a esto sigue la acumulación de fibrina y finalmente el rechazo completo se presenta dos días después.<sup>114</sup> El rechazo de las estructuras nerviosas incluye un infiltrado mononuclear, desmielinización, y pérdida de las células de Schwann, de los vasos y del perineuro.<sup>115</sup>

El objetivo de la inmunosupresión es inhibir la respuesta del sistema inmunológico ante la presencia de un tejido u órgano extraño. En el caso de los trasplantes, el órgano trasplantado es el elemento extraño, y la respuesta inmune debe modularse con una doble finalidad: por una parte, limitar el fenómeno de rechazo; y por otra, garantizar el nivel de defensas naturales suficientes para hacer frente a infecciones. Por esto los diferentes esquemas inmunosupresores han buscado el equilibrio adecuado entre respuesta inmune y profilaxis del rechazo, al tiempo que se investigaba en cómo limitar los efectos tóxicos inevitables de todo medicamento potente y poco selectivo. Mantener la inmunosupresión muy elevada de forma crónica implica, a la larga, la aparición de infecciones oportunistas, trastornos linfoproliferativos o diversas formas de cáncer.

La modulación de la respuesta inmune es el objetivo fundamental del tratamiento inmunosupresor. Éste se basa en dos conceptos:

- Suprimir la respuesta del sistema inmunológico contra órganos extraños sin alterar la respuesta contra microorganismos y tumores.
- Revertir la respuesta inmunológica contra un órgano trasplantado (rechazo) una vez iniciada.

Hay otros aspectos del sistema inmunológico que es pertinente analizar antes de abordar la inmunosupresión; uno de éstos es la tolerancia inmunológica, la cual se define como la ausencia de respuesta frente a un antígeno o grupo de antígenos específicos, sin alteraciones en la capacidad del huésped para reaccionar a otros antígenos. Esto se puede provocar a través de la eliminación clonal de los linfocitos T específicos para un antígeno, o la inducción de anergia, esto es la incapacidad de los linfocitos T para activarse, con un sistema inmune con capacidad para reconocer moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad, este fenómeno puede ser reversible.

Este tipo de tolerancia inmunológica se considera como el último objetivo en alotrasplantes, y puede tener grandes aplicaciones en el trasplante de tejidos compuestos. Es una alternativa a la inmunosupresión inespecífica. La única característica en la que aparece una relación directa del trasplante de tejidos compuestos con la tolerancia inmunológica es el trasplante de hueso con su cavidad y estroma medular intactos.



Esto se refleja en la formación de un estado de quimerismo mixto, definido como la coexistencia de elementos inmunorreactivos del huésped y del donador. Este mecanismo no ha sido completamente dilucidado, pero se supone que existe interacción entre linfocitos T del donador y los precursores de células T del receptor en el timo, lo que provoca que se eliminen las líneas celulares reactivas a los antígenos del donador.<sup>116</sup>

Se ha intentado inducir la tolerancia inmunológica de varias formas para el trasplante de órganos sólidos en primates, como anticuerpos monoclonales anti-CD3 conjugados con toxinas; estimular el bloqueo mediante anticuerpos monoclonales contra CD4, CD28, y CD154; y la inducción de quimerismo a través de la infusión de médula ósea.<sup>117</sup>

En los estudios en los que se describió inicialmente la tolerancia inmunológica, ésta se presentaba en la mayor parte de los casos de manera fortuita, y en el análisis posterior de sus causas los trasplantados incluían médula ósea. La manera en que se identificó este fenómeno fue al suspender la inmunosupresión y no existir evidencia de rechazo. La combinación del tratamiento inmunosupresor y el trasplante de médula ósea son una forma segura de inducir quimerismo y tolerancia.<sup>84,118-122</sup>

En varios estudios se identificó una relación entre el quimerismo y la tolerancia inmunológica, sin embargo no se habían definido los factores que determinaban este fenómeno; se había observado que algunos inmunosupresores como la ciclosporina tenían un efecto que favorecía la presencia de quimerismo, en cambio otros como el tacrolimus no tenían esa propiedad, lo siguiente fue determinar el tiempo en el cual se llegaba a una tolerancia inmunológica con quimerismo. De la misma manera se observó que el quimerismo se presentaba después del día 100 del trasplante. Sin embargo, en algunos de los grupos en que se presentó un quimerismo mixto la suspensión de los inmunosupresores determinó la aparición de una enfermedad injerto contra huésped.<sup>82,119,123,124</sup>

A pesar de lo anterior, ninguno de los estudios que han tratado de inducir quimerismo y tolerancia a través de la inyección de macrófagos o médula ósea previos al trasplante ha tenido éxito, y se ha visto en estos trabajos que cuando no se asoció el uso de inmunosupresores se producía una sensibilización hacia el donador; o bien, en el mejor de los casos, no había un aumento en la sobrevida del tejido trasplantado. Otras formas que se han intentado para inducir tolerancia inmunológica son la radiación total del receptor, el uso de inhibidores de las moléculas de adhesión intracelulares, inhibidores de linfocitos, y anticuerpos monoclonales con resultados modestos.<sup>125-128</sup>

Si bien el trasplante de médula ósea induce tolerancia, también puede producir una enfermedad injerto contra huésped por la gran cantidad de células inmunocompetentes que incluye. En los modelos experimentales se caracteriza por caquexia, alopecia y alteraciones cutáneas, que incluyen eritema y descamación. Los cambios histológicos incluyen destrucción de la capa basal, disqueratosis y pérdida de los anexos cutáneos. A nivel hepático se observa infiltrado linfocitario portal, colestasis y destrucción de los conductos biliares. En el intestino hay atrofia de la mucosa. En el músculo se encuentra aumento de los núcleos en las células del donador, sin embargo, esto se puede magnificar por el tiempo de isquemia prolongado y por la denervación; en la médula ósea se encuentra infiltración grasa y aumento de las formas celulares jóvenes. Según algunos autores esto se debe a la lesión de los mecanismos reguladores inmunológicos tanto del huésped como del tejido trasplantado, lo que conduce a un estado de inestabilidad que progresa hasta lo que clínicamente se conoce como enfermedad injerto contra huésped.<sup>19,91,129-131</sup>

Uno de los aspectos más relevantes del inicio de la enfermedad injerto contra huésped es que una vez iniciada no se puede controlar con el uso de inmunosupresores, como la ciclosporina y el tacrolimus, y puede evidenciarse entre 8 y 10 meses después del trasplante.<sup>91,92,133-137</sup>

Muchos de los estudios iniciales en el manejo de la inmunosupresión para trasplante de tejidos compuestos, no llegan a la comprensión adecuada del mecanismo de acción de estos medicamentos para impedir el rechazo. La mayoría de los que utilizan ciclosporina A,<sup>84,138</sup> coinciden en que se obtiene un incremento de la sobrevida a dosis de 8 mg/kg/día; sin embargo, limitaban su uso a los primeros 20 días de postoperatorio, presentándose posteriormente la pérdida de los tejidos trasplantados.

Al demostrarse que el uso de los inmunosupresores por periodos postoperatorios limitados no prevenía el rechazo,<sup>84</sup> se cambió el esquema de tratamiento aumentando inicialmente la duración del mismo y posteriormente se analizó la relación dosis-respuesta a la ciclosporina A, con rangos de 3.7 mg/kg/día hasta 25 mg/kg/día, sin encontrarse ningún beneficio a dosis altas.<sup>19</sup>

Con estos resultados, se demostró que las dosis necesarias para evitar el rechazo de los tejidos compuestos trasplantados no difieren de las necesarias para el mantenimiento de un trasplante renal.

Estos hallazgos llevaron a pensar que la barrera del complejo mayor de histocompatibilidad es más débil de lo que se esperaba. Para poner a prueba esta

hipótesis, se utilizó un modelo en rata, el cual se preparó para desarrollar una reacción trasplante contra huésped, y se comparó contra un grupo control. Los resultados demostraron que el grupo control sólo requería dosis de 8 mg/kg tres veces por semana, para mantener la viabilidad del tejido trasplantado. En cambio, el grupo de experimentación requería de la misma dosis diariamente para prevenir el rechazo.<sup>81,85</sup>

Con estos esquemas de tratamiento, se obtuvo una buena sobrevida de los tejidos trasplantados, sin que hubiera datos de rechazo. Estos estudios se repitieron con tejidos sencillos, como el hueso, observándose que la dosis de ciclosporina necesaria es de 10 mg/kg/día, y en todos estos estudios se observa que la interrupción de los inmunosupresores tiene por consecuencia la pérdida del tejido trasplantado.<sup>59</sup>

Cuando se empezó a combinar la ciclosporina con prednisona, se presentó un aumento en la mortalidad secundario a sepsis, con una sobrevida máxima de 29 días; sin embargo, en el análisis histológico del tejido trasplantado no se encontraron datos de rechazo; uno de los datos más importantes es que la sobrevida y la dosis de prednisona son inversamente proporcionales y la mayoría de las complicaciones son secundarias a infecciones.<sup>71</sup>

En estudios posteriores se mantuvo la dosis de prednisona en 1.25 mg/kg/día, en combinación de dosis variables de ciclosporina; pero en estos esquemas se encontraron complicaciones, como infección y rechazo, y con base en esto los autores proponen que los efectos inmunosupresores deben ser suficientes para prevenir el rechazo, pero sin provocar mayor susceptibilidad a infecciones.<sup>8</sup>

En otros trabajos se puede observar que la dosis ideal de ciclosporina se calcula atendiendo a dos factores: la presencia o no de rechazo y la titulación de niveles plasmáticos, pudiendo obtenerse de esta manera una sobrevida a 113 días con dosis de 10 mg/kg/día.<sup>60</sup>

En otros estudios se evaluaron los efectos de la ciclosporina, azatioprina y prednisona como agentes terapéuticos únicos, comparando los esquemas cortos y largos. En todos los casos se observó que mientras se mantuviera el tratamiento inmunosupresor a dosis adecuadas, no había fenómeno de rechazo; sin embargo, una vez suspendido éste, el fenómeno de rechazo se producía al descender los niveles plasmáticos de los inmunosupresores (Kim 1984).

De esta manera se empezaron a variar tanto los medicamentos inmunosupresores, las dosis, los modelos animales, comprobándose que ciertos tejidos como el cartílago con su matriz intacta tienen privilegio inmunológico, y en el análisis histológico a 1 año de su colocación no había cambios por rechazo;<sup>139</sup> además,

se pudo comprobar que sin importar el grado de discrepancia inmunológica, el manejo adecuado con medicamentos en el postoperatorio a largo plazo, prevenía los efectos del fenómeno de rechazo.

Asimismo, al comparar la eficacia de la ciclosporina-prednisona contra la azatioprina-metilprednisolona, se observó que la primera combinación es mucho más eficiente para alargar la sobrevida de los tejidos compuestos trasplantados, incluyendo la piel.

Estos estudios demostraron igualmente, que las dosis de ciclosporina pueden disminuirse en el curso del tiempo, a medida que disminuye la disparidad inmunológica entre el receptor y el donador y mediante este esquema se obtuvo un 100 por ciento de sobrevida para los trasplantes de tejidos compuestos a mediano y largo plazo.<sup>74,106,140-142</sup>

Esta serie de estudios plantea las bases para el manejo de los pacientes con trasplante de tejidos compuestos, como en el caso del trasplante de mano y en el trasplante de cara realizado en Francia, donde se observó la presencia de rechazo agudo, el cual fue manejado mediante el aumento de las dosis de inmunosupresores, con remisión del rechazo agudo en un periodo de dos a tres semanas.<sup>17,143</sup>

También se pudo observar con el tratamiento mediante ciclosporina en animales jóvenes, que los miembros trasplantados podían crecer de un 75 a un 80% del total del crecimiento esperado frente al contralateral.<sup>63,69</sup>

Es importante mencionar que los estudios experimentales del manejo de tejidos compuestos trasplantados con ciclosporina, dejan en evidencia varios aspectos importantes:

- a) Con este medicamento se obtuvo la sobrevida a largo plazo de los tejidos compuestos trasplantados;
- b) La ciclosporina permitió que aun en disparidades inmunológicas importantes, pudiera conservarse el tejido, y
- c) Esto permitió entender el fenómeno de rechazo mediado por leucocitos y anticuerpos; sin embargo, debido a la toxicidad y los diferentes efectos secundarios que presenta, se continuó la búsqueda de mejores y menos tóxicos inmunosupresores, a los cuales tenemos acceso actualmente con una experiencia experimental y clínica importante, tanto en trasplante de órganos, como de tejidos compuestos.

Uno de estos inmunosupresores es el tacrolimus o FK506, el cual ha venido a ocupar un lugar preponderante en el manejo de la inmunosupresión en el trasplante de órganos sólidos, como riñón, corazón e

hígado. Después de su empleo en el trasplante de órganos sólidos, se empezó a utilizar en el manejo del trasplante de tejidos compuestos, en especial de extremidades, y en algunos estudios donde se combinaba un trasplante de corazón y piel en cerdo, permitiendo evaluar sus efectos en el rechazo hiperagudo, agudo y el tratamiento de mantenimiento.<sup>144-159</sup>

Con esta información se pudo establecer, al comparar la sobrevida del tejido trasplantado con ciclosporina y tacrolimus, que prácticamente hay un incremento del 50% mediante el empleo de este último, a dosis de 15 mg/kg/día;<sup>61</sup> asimismo, esta serie de estudios permitió evaluar los efectos del tacrolimus con otros métodos para disminuir la respuesta inmunológica del paciente (como en la transfusión de sangre completa del donador al receptor), encontrando que si bien en el trasplante de piel había un efecto sinérgico, éste no estaba presente en los trasplantes de tejidos compuestos y en estos grupos no había una ganancia real en el tiempo de sobrevida del tejido trasplantado.<sup>95,96</sup>

A diferencia de la ciclosporina, con el tacrolimus no se ha observado una dependencia directa del tejido trasplantado a la dosis del medicamento; de la misma manera, se pudo comprobar que en los trasplantes manejados con ciclosporina, al presentar rechazo agudo, éste revertía de manera más rápida y eficiente con la adición de tacrolimus al esquema inmunosupresor.<sup>91,132</sup> En los casos en los cuales se buscó generar una enfermedad injerto *versus* huésped, el tacrolimus era efectivo en el control de ésta a dosis bajas, e incluso, al suspender el medicamento no se presentaba nuevamente y con el paso del tiempo se tenía un rechazo crónico.<sup>133</sup>

En resumen, el tacrolimus ha demostrado ser un excelente inmunosupresor para el manejo de los tejidos compuestos trasplantados, pues aumenta la sobrevida de los mismos, además de que por su capacidad para aumentar la regeneración axonal, puede aumentar el éxito en la restauración funcional de estos tejidos.

Se han propuesto varios esquemas inmunosupresores para un mejor control del fenómeno de rechazo y alargar la sobrevida del tejido trasplantado. Esto dio origen a diferentes líneas de investigación con fármacos antineoplásicos,<sup>94,160,161</sup> y otros que tenían acciones inmunosupresoras importantes, pero de la misma manera producían efectos secundarios devastadores como pancitopenia.

Con arreglo a las investigaciones anteriormente enunciadas se llegó al desarrollo de fármacos con utilidad clínica real; uno de ellos es el mofetil micofenolato (RS-61443), que ahora tiene un lugar preponderante en el manejo de los órganos sólidos trasplantados.<sup>162-166</sup>

Dentro de sus acciones se ha postulado que puede inducir tolerancia,<sup>167</sup> y se ha convertido en la opción terapéutica del rechazo agudo, tanto en aplicaciones clínicas, como de laboratorio.<sup>168,169</sup>

El micofenolato se usa a nivel experimental para trasplante de tejidos compuestos desde 1993,<sup>170</sup> en este estudio se obtuvo una sobrevida de 32 semanas sin datos de rechazo, con una dosis de 30 mg/kg/día de mofetil micofenolato; además, se comparó con un grupo control tratado mediante ciclosporina que presentó datos de rechazo moderado en el mismo periodo de tiempo.

También se demostró su eficacia en el tratamiento del rechazo ya instalado, con una efectividad de 80% a dos meses de iniciado el tratamiento. Para esto se realizó el análisis histológico de epidermis, dermis y músculo, reportándose normales después del tratamiento con mofetil micofenolato a dosis de 30 mg/kg/día.<sup>101</sup>

Otro de los fármacos inmunosupresores empleado desde 1975, es la rapamicina o sirolimus, que se utilizó inicialmente como macrólido y antimicótico, identificándose después sus efectos inmunosupresores, observándose una mayor potencia respecto del tacrolimus; todo esto en trasplantes de órganos sólidos.<sup>171-173</sup> En 1994 inicia su empleo a nivel experimental en trasplante de tejidos compuestos.<sup>174</sup> Se comparó con la eficacia y efectos adversos de ciclosporina y tacrolimus, sin encontrar mayor potencia contra ellos, pero se observó una mortalidad del 100% secundaria a sepsis a altas dosis de rapamicina. Se han investigado otros inmunosupresores como el FTY720, que tiene resultados alentadores en trasplante de tejidos compuestos; aparentemente su único mecanismo de acción es que induce apoptosis en linfocitos, y en los estudios de órganos sólidos se observó un efecto sinérgico con la ciclosporina.<sup>104,175,176,178</sup>

Muchos de los esquemas usados actualmente en el manejo clínico del trasplante de órganos sólidos emplean combinaciones de inmunosupresores y esteroides. Gracias a la disponibilidad de estos fármacos se pueden combinar entre ellos para obtener un mejor control del fenómeno de rechazo, y empleando sus efectos sinérgicos es posible disminuir las dosis individuales y de esta forma reducir la toxicidad y los efectos adversos.

Se han investigado varias de estas combinaciones, como la ciclosporina con rapamicina; se demostró que existe sinergia entre ambas, con reducción de las dosis individuales y mejora de sobrevida a largo plazo.<sup>179-181</sup>

Otra combinación es la ciclosporina (4 mg/kg/día) con corticosteroides tópicos (fluocinolona 0.8 mg/kg/día), obteniéndose una sobrevida adecuada a dosis bajas de ambos medicamentos. También se demostró un efecto sinérgico entre dosis bajas de ciclosporina

(5 mg/kg/día) y leflunomida (10 mg/kg/día), aplicando este modelo a transferencia de colgajos neurovasculares, miocutáneos y a extremidades completas.

La leflunomida se ha empleado como inhibidor del fenómeno de rechazo en el trasplante de órganos sólidos.<sup>72,182-185</sup> Al combinar la ciclosporina y el mofetil micofenolato hay una baja incidencia de rechazo, y en la misma forma que la anterior, permite mantener a los pacientes a dosis por debajo del tratamiento tradicional.<sup>97,170</sup>

La combinación de tacrolimus y mofetil micofenolato se ha estado investigando desde 1998, en el modelo de trasplante de pata de rata; sin embargo, no se ha podido demostrar su utilidad para alargar la supervivencia del tejido trasplantado. No obstante, al agregar prednisona se puede observar que al trasplantar músculo, tendones y hueso se reduce el rechazo de estos tejidos.<sup>89,93,186</sup>

Los anticuerpos monoclonales (AcMo), contra antígenos de membrana permitió superar el inconveniente que poseían los sueros antilinfocitarios de reaccionar contra todos los linfocitos y, a menudo, también contra otros elementos hemáticos debido a reactividad cruzada. Estos anticuerpos se producen inmunizando en primer lugar al ratón con linfocitos humanos y a continuación se aíslan los linfocitos B del ratón, clonándolos y seleccionando el clon productor de los anticuerpos que se desean, el cual se hibrida con una línea celular inmortal, como la del mieloma humano. El híbrido obtenido se clona para producir grandes cantidades de anticuerpos monoclonales antilinfocitos.

Con esta tecnología se han desarrollado anticuerpos monoclonales frente a moléculas clave de la superficie de los linfocitos T; el más usado es el anticuerpo anti-CD3 u OKT3, el cual se une al CD3 modulándolo de manera que no se puede transmitir la señal de reconocimiento del antígeno. Otras moléculas utilizadas como blancos son el receptor de la IL-2 (IL-2R) expresado en las células T activadas; los anticuerpos anti-IL-2R al inactivar estos receptores, impiden la proliferación y diferenciación linfocitaria.

Las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  del TCR son los blancos de los nuevos anticuerpos monoclonales BMA031 y T10B9, que han mostrado tanta eficacia como OKT3 y con menos complicaciones infecciosas. También han sido usados como objetivos algunas moléculas de adhesión como la ICAM-1; los anticuerpos anti-ICAM-1 desfuncionalizan estas moléculas e impiden una buena coaptación entre células presentadoras de antígeno y linfocitos T que se traduce en un no reconocimiento del antígeno. Se han empleado también anticuerpos anti-CD4, los OKT4, con buenos resultados.

La terapia inmunosupresora se basa en la utilización combinada (doble, triple o cuádruple) de ciclosporina A

o tacrolimus (FK506), azatioprina, mofetil micofenolato y prednisona con o sin anticuerpos policlonales (ALG, ATG) o monoclonales (OKT3), para la inducción.

A pesar de los avances en este campo la inmunosupresión ideal no se ha alcanzado aún. De ahí que las pautas de inmunosupresión utilizadas varíen entre los diferentes grupos de trasplante, especialmente en cuanto al tiempo de administración, dosis de corticoides y fármacos inmunosupresores utilizados.

El último aspecto que es importante revisar dentro de los antecedentes y que tiene implicaciones de tipo pronóstico y ha sido determinante para la justificación de este tipo de trasplantes es la recuperación funcional de los tejidos trasplantados. Es el punto crítico de esta opción terapéutica, ya que si los tejidos transferidos no tienen la posibilidad de una recuperación funcional óptima el riesgo y costos del procedimiento no justifican su aplicación.

La recuperación funcional después de un trasplante de tejidos compuestos constituye el punto más importante de este procedimiento, ya que la preservación de la viabilidad neural es de particular importancia para preservar la integridad muscular y los componentes terminales de los órganos sensoriales; por esto la velocidad de crecimiento nervioso es de particular importancia, y cualquier medida que se emplee para reducir el tiempo de reinervación y preservar la integridad de la unión neuromuscular es importante, además se debe tomar en cuenta que puede ser necesario cierto grado de reeducación cortical.

Dentro de los trabajos de investigación en trasplante de tejidos compuestos que se analizaron para este proyecto, encontramos grandes diferencias en la recuperación de la función de los tejidos trasplantados. Algunos de los aspectos que influyen en esto se analizaron previamente; sin embargo, para recapitular, podemos mencionar que al no contar con un modelo animal adecuado para la realización de estos trasplantes, no era posible realizar una transferencia de tejidos compuestos que permitiera con base en la velocidad de crecimiento nervioso y la supervivencia del modelo experimental después del trasplante evaluar el grado de recuperación funcional. Otro factor importante que tiene un impacto sobre lo anterior es la terapia inmunosupresora que, o estaba ausente o no era la adecuada, acortando la vida de los tejidos trasplantados.

Por estas razones se diseñaron diferentes formas para clasificar el grado de recuperación funcional a nivel experimental, y al mismo tiempo se desarrollaron métodos para documentar de manera objetiva la velocidad de regeneración nerviosa. De esta manera, en varios estudios,<sup>187</sup> se provocaban estímulos por medio de punciones en las patas de rata trasplantadas para deter-



minar la reinervación sensorial. Ellos reportan que había recuperación sensitiva a los 29 días del grupo tratado con ciclosporina A, comparado con el grupo de reimplante que la tenía a los 26 días. Algunos de los elementos que tomaron en consideración para evaluar la recuperación motora, fueron tono muscular, extensión del primer dedo, flexión y extensión de la extremidad. Un punto importante es que los autores encontraron que la recuperación motora en los animales tratados con ciclosporina contra los que recibieron reimplante se produjo en el mismo tiempo. En la correlación histológica se encontró que la regeneración nerviosa era normal en los tejidos tratados con ciclosporina.

Existe una serie de estudios que apoyan estas conclusiones, si bien en algunos hay discrepancias en los tiempos de recuperación, la mayor parte de ellos menciona que el 70% de los animales trasplantados y tratados con inmunosupresores presentaban recuperación motora a los 40 días de postoperados. Los métodos para evaluar esto son velocidad de conducción nerviosa, electromiografía y estudios histomorfométricos, y los hallazgos a través de estos estudios confirman que no existe diferencia entre la velocidad de crecimiento nervioso entre tejidos autólogos y tejidos trasplantados. Es importante mencionar que cuando no existe un tratamiento inmunosupresor adecuado la antigenicidad intrínseca del nervio es suficiente para que la respuesta inmune lo destruya, y más importante aun después de esto no hay regeneración nerviosa del segmento receptor, porque existe destrucción de todos los elementos del nervio por el fenómeno de rechazo.<sup>85,188-190</sup>

Con estas bases los estudios para evaluar la recuperación funcional de los tejidos compuestos trasplantados cada vez se hicieron más específicos y además incluyeron estudios para analizar la integridad anatómica y estructural, como radiografías, tomografía computada y densitometría ósea, angiografía y estudios histológicos.<sup>141</sup>

En el resto de los estudios realizados en modelos que no son primates, los estudios no contemplan el análisis de la recuperación funcional de manera objetiva. En muchos de los casos los únicos reportes con los que contamos son mediciones aisladas de la función nerviosa o muscular o bien análisis histológicos de la integridad estructural. Ejemplos de éstos son las observaciones del volumen muscular, la contracción muscular obtenida por pinzamiento, la respuesta a estímulos dolorosos, la presencia o ausencia potenciales de acción electromiográficos y rangos de movimiento.<sup>8,63,65-67,81-84,89,90,92,100,141,170,191,192</sup>

Los estudios que abordan la recuperación sensitiva y motora a través de observaciones cualitativas in-

cluyen evidencia de reinervación temprana en el día 45 postoperatorio; esto se puede corroborar a través de electromiografía incluso desde el día 40. En los casos en los que se contó con un adecuado tratamiento inmunosupresor se observó que la velocidad en la que se obtenía la recuperación sensitiva y motora era similar a la de los tejidos autólogos reimplantados. Cuando se tenía un retraso en la recuperación se infirió que era debido al fenómeno de rechazo y la lesión nerviosa que produce. En los casos en los que no se pudo documentar fenómeno de rechazo la limitación funcional era secundaria a contractura o atrofia de los tejidos blandos.<sup>66,67,81,82,100,170,193</sup>

Es de particular importancia para este trabajo la evidencia que se dispone de que con el tacrolimus (FK-506) se observa un aumento en la velocidad de regeneración axonal, esto se ha podido comprobar a través de estudios funcionales e histológicos, que muestran aumento en la velocidad de crecimiento nervioso después de lesiones del tipo de axonotmesis y neurotmesis. Este fenómeno se presenta independientemente de si la neurorrafia es inmediata o tardía.<sup>194-198</sup>

## CONCLUSIONES

De acuerdo con la literatura disponible al momento, podemos concluir que el trasplante de tejidos faciales es una posibilidad técnicamente realizable en la actualidad, con los avances que tiene la cirugía de trasplantes y la cirugía plástica. Es importante destacar que para poder llevar a cabo un trasplante de tejidos faciales de manera exitosa es necesario contar con un equipo multidisciplinario que se encargue de vigilar desde el preoperatorio todos los aspectos tanto inherentes al acto quirúrgico como los que serán parte del seguimiento a largo plazo de estos pacientes. Ya se cuenta con experiencia importante en el trasplante de tejidos compuestos como son lengua, mandíbula y unidades más complejas que involucran hueso, músculo, mucosas, piel, nervios, etc., con buenos resultados a largo plazo en los modelos animales y en el humano las series de trasplante de mano con mejores índices de sobrevida.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Hettiarachi S, Butler PE. Face transplantation: Fantasy or the future? *Lancet* 2002; 360: 5.
2. Kmietowicz 2003
3. Hettiarachi S, Butler PE. Extending the boundaries of transplantation. *BMJ* 2003; 326: 1226.
4. Mackinnon SE, Doolabh VB, Novak CB, Trulock EP. Clinical outcome following nerve allograft transplantation. *Plast Reconstr Surg* 2001; 107: 1419.

5. Lance EM, Inglis AE, Figarola F, Veith FJ, Veith FJ. Transplantation of the canine hind limb. *J Bone Joint Surg* 1971; 53A: 1137.
6. Goldberg V, Porter BB, Lance EM. Transplantation of the canine knee joint on vascular pedicles. *J Bone Joint Surg* 1973; 55A: 1314
7. Goldberg V, Porter BB, Lance EM. Transplantation of the canine knee joint on vascular pedicles. *J Bone Joint Surg* 1980; 62A: 414.
8. Press B, Sibley RK, Shons AR. Limb allotransplantation in the rat: Extended survival and return of nerve function with continuous cyclosporin/prednisone immunosuppression. *Ann Plast Surg* 1986; 16: 313.
9. Siliski JM, Simpkin S, Green CJ. Vascularized whole knee joint allografts in rabbit's immunosuppressed with cyclosporin A. *Arch Orthop Trauma Surg* 1984; 103: 26.
10. Daniel RK, Egerszegi EP, Samulack DD, Skanes SE, Dykes RW, Rennie WR. Tissue transplants in primates for upper extremity reconstruction: a preliminary report. *J Hand Surg (Am)* 1986; 11: 1.
11. Steinmuller D. The enigma of skin allograft rejection. *Transplant Rev* 1998; 12: 42.
12. Gold ME, Randzio J, Kniha H et al. Transplantation of vascularized composite mandibular allografts in young cynomolgous monkeys. *Ann Plast Surg* 1991; 26: 125.
13. Dubernard J-M, Owen E, Herzberg G et al. Human hand allograft. Report on first 6 months. *Lancet* 1999; 353: 1286.
14. Dubernard JM, Owen ER, Lanzetta JM, Hakim N. What is happening with hand transplants? *Lancet* 2001; 357: 1711.
15. Morris PJ, Bradley JA, Doyal L et al. Facial transplantation. Working Party Report. London. Royal College of Surgeons; 2003. <http://www.rcseng.ac.uk>.
16. Canto-Sperber M, Deschamps C, Dien JM, Pellerin D, Lantieri L, Favre JD, Matzneff A, Bellavoir A. *Composite tissue allotransplantation (CTA) of the face (full or partial facial transplant)*.
17. Morris P, Bradley A, Doyal L, Earley M, Milling M, Rumsey N. Facial Transplantation. Working Party Report. 2 nd Edition, 2006. Disponible en: <http://www.rcseng.ac.uk/rcseng/content/publications/docs/facial-transplantation.html>
18. Jensen JJ, Mackinnon S. Composite Tissue allotransplantation: a comprehensive review of the literature-part I. *J Reconstr Microsurgery* 2000; 16(1): 57-68.
19. Hewitt CW, Puglisi RN, Black KS. Current state of composite tissue and limb allotransplantation: Do present data justify clinical application? *Transplant Proc* 1995; 27: 1414.
20. Llull R, Beko KR, Black KS, Hewitt CW. Composite tissue allotransplantation: Perspectives concerning eventual clinical exploitation. *Transplant Rev* 1992; 6: 175.
21. Randolph MA, Yaremchuk MJ, Moore JR, et al. Experimental vascularized bone allografting. *Microsurgery* 1987; 8: 210.
22. Porter BB, Lance EM. Limb and joint transplantation, a review of research and clinical experience. *Clin Orthop* 1974; 104: 249.
23. Anthony JP, Allen DB, Trabulsy PP et al. Canine laryngeal transplantation: Preliminary studies and a new heterotopic allotransplantation model. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1995; 252: 197.
24. Schwind JV. Successful transplantation of a leg in albino rats with reestablishment of muscular control. *Science* 1936; 84: 355.
25. Schwind JV. Leg transplantation in rats. *J Exp Zool* 1938; 77: 337.
26. Schwind JV. Homotransplantation by parabiosis. *J Surg Res* 1962; 2: 332.
27. Goldwyn RM, Beach PM, Feldman D, Wilson RE. Canine limb homotransplantations. *Plast Reconstr Surg* 1966; 37:184.
28. Reeves B. Studies of vascularized homotransplants of the knee joint. *J Bone Joint Surg* 1968; 50B: 232.
29. Reeves B. Orthotopic transplantation of vascularized whole knee-joints in dogs. *Lancet* 1969; 1(7593): 500.
30. Lance EM, Leavey RH, Medawar PB, Ruszkiewicz M. Tolerance of rat skin grafts in adult mice. *Proc Nat Acad Sci* 1979; 64: 1356.
31. Lapchinsky AG, Eingorn AG, Uratkov EF. Homotransplantation of extremities in tolerant dogs observed up to seven years. *Transplant Proc* 1973; V: 773.
32. Lapchinsky AG, Medvedeva GV, Gadalina ID et al. Homotransplantation of skin and mammary glands in rats by parabiosis of the donor and host in rats. *Ann NY Acad Sci* 1964; 120: 435.
33. Poole M, Bowen JE, Batchelor JR. Prolonged survival of rat leg allografts due to immunological enhancement. *Transplantation* 1976; 22: 108.
34. Black KS, Hewitt CW, Fraser LA et al. Cosmas and Damian in the laboratory. *N Engl J Med* 1982; 306: 368.
35. Shapiro RI, Cerra FB. A model for reimplantation and transplantation of a complex organ: The rat limb. *J Surg Res* 1978; 24: 501.
36. Palm J, Black G. Interrelationships of inbred rats strains with respect to Ag-B antigens. *Transplantation* 1971; 11: 184.
37. Gill TJ. Report of the first international workshop on alloantigenic systems in the rat. *Transplant Proc* 1978; X: 271.
38. Borel JF, Feurer C, Gubler HU, Stahelin H. Biological effects of cyclosporin A: A new antilymphocytic agent. *Agents Actions* 1976; 6: 613.
39. Borel JF, Feurer C, Magnee C, Stahelin H. Effects of the new anti-lymphocytic peptide cyclosporin A in animals. *Immunology* 1977; 32: 1017.
40. Calne R, White DJ, Rolles K et al. Prolonged survival of pig orthotopic heart grafts treated with cyclosporin A. *Lancet* 1978; 1(8115): 545.
41. Jamieson SW, Burton NA, Bieber CP et al. Survival of cardiac allografts in rats treated with cyclosporin A. *Aur Forum* 1979; 30: 289.
42. Green CJ, Allison AC. Extensive prolongation of rabbit kidney allograft survival after short-term cyclosporin-A treatment. *Lancet* 1979; 1(8075): 1182.
43. Cosimi AB, Shield CF, Peters C et al. Prolongation of allograft survival by cyclosporin A. *Sur Forum* 1979; 30: 287.
44. Homan WP, Fabre JW, Williams KA et al. Studies on the immunosuppressive properties of cyclosporin A in rats receiving renal allografts. *Transplantation* 1980; 29: 361.
45. Homan WP, French ME, Millard P et al. Studies on the effects of cyclosporin A upon renal allograft rejection in the dog. *Surgery* 1980; 88: 168.
46. Calne RY, White DJ, Pentlow BD et al. Cyclosporin A: Preliminary observations in dogs with pancreatic duodenal allografts and patients with cadaveric renal transplants. *Transplant Proc* 1979; 11: 860.
47. Garvey JF, McShane P, Poole MD et al. The effect of cyclosporin A on experimental pancreas allografts in the rat. *Transplant Proc* 1980; 12: 266.

48. Rynasiewicz JJ, Sutherland DE, Kawahara K et al. Cyclosporin A prolongation of segmental pancreatic and islet allograft function in rats. *Transplant Proc* 1980; 12: 270.
49. Norin AJ, Veith FJ, Emeson EE et al. Improved survival of transplanted lungs in mongrel dogs treated with cyclosporin A. *Transplantation* 1981; 32: 259.
50. Reitz BA, Burton NA, Jamieson SW et al. Heart and lung transplantation: Autotransplantation and allotransplantation in primates with extended survival. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1980; 80: 360.
51. Reznick RK, Craddock GN, Langer B et al. Structure and function of small bowel allografts in the dog: Immunosuppression with cyclosporin A. *Can J Surg* 1982; 25: 51.
52. Shepherd WF, Coster DJ, Fook TC et al. Effect of cyclosporin A on the survival of corneal grafts in rabbits. *Br J Ophthalmol* 1980; 64: 148.
53. Borel JF, Meszaros J. Skin transplantation in mice and dogs. Effect of cyclosporin A and dihydrocyclosporin C. *Transplantation* 1980; 29: 161.
54. Zalaweski AA, Gulati AK. Survival of nerve and Schwann cells in allografts after cyclosporin A treatment. *Exp Neurol* 1980; 70: 219.
55. Watt DJ, Patridge TA, Sloper JC. Cyclosporin A as a means of preventing rejection of skeletal muscle allografts in mice. *Transplantation* 1981; 31: 266.
56. Black KS, Hewitt CW, Woodard TL et al. Efforts to enhance survival of limb allografts by prior administration of whole blood in rats using a new survival end-point. *J Microsurg* 1982; 3: 162.
57. Lipson RA, Kawano H, Halloran PF et al. Vascularized limb transplantation in the rat I: Results with synergic grafts. *Transplantation* 1983; 35: 293.
58. Lipson RA, Kawano H, Halloran PF et al. Vascularized limb transplantation in the rat II: Results with allogeneic grafts. *Transplantation* 1983; 35: 300.
59. Halloran PF, Bushuk M, Stewart JA. Effects of cyclosporin on the healing of vascularized and non vascularized bone allografts in rodents. *Transplant Proc* 1983; XV (Suppl 1): 3053.
60. Fritz WD, Swartz WM, Rose S et al. Limb allografts in rats immunosuppressed with cyclosporin A. *Ann Surg* 1984; 199: 211.
61. Kuroki H, Ikuta Y, Akiyama M. Experimental studies of vascularized allogeneic limb transplantation in the rat using a new immunosuppressive agent, FK 506: Morphological and immunological analysis. *Transplant Proc* 1989; 21: 3187.
62. Harashina T, Bunke HJ. Study of washout solutions for microvascular replantation and transplantation. *Plast Reconstr Surg* 1975; 56: 542.
63. Kniha H, Randzio J, Gold ME et al. Growth of forelimb allografts in young rabbits immunosuppressed with cyclosporine. *Ann Plast Surg* 1989; 22: 135.
64. Randzio J, Khina H, Gold ME et al. Growth of vascularized composite mandibular allografts in young rabbits. *Ann Plast Surg* 1991; 26: 140.
65. Black KS, Hewitt CW, Grisham GR et al. Two new composite tissue allograft models in rats to study neuromuscular functional return. *Transplant Proc* 1987; XIX: 1118.
66. Yeh LS, Hou SM, Lin AC, Lin J. A modified free gracilis flap in the rat. *Microsurgery* 1994; 15: 322.
67. Yeh LS, Gregory CR, Griffey SM et al. Effects of leflunomide and cyclosporin on myocutaneous allograft survival in the rat. *Transplantation* 1996; 62: 861.
68. Butler PEM, Lee WPA, Sims CD et al. Cell transplantation from limb allografts. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102: 161.
69. Lee WPA, Rubin JP, Cober S et al. Use of swine model in transplantation of vascularized skeletal tissue allografts. *Transplant Proc* 1998; 30: 2743.
70. Üstüner ER, Zdichavsky M, Ren X et al. Long-term composite tissue allograft survival in porcine model with cyclosporin/mycophenolate mofetil therapy. *Transplantation* 1998; 66: 1581.
71. Press BHJ, Sibley RK, Shons AR. Modification of experimental limb allograft rejection with cyclosporin and prednisone: A preliminary report. *Transplant Proc* 1983; XV (Suppl 1): 3057.
72. Inceoglu S, Siemionow M, Chick L et al. The effect of combined immunosuppression with systemic low-dose cyclosporin and topical fluocinolone acetonide on the survival of rat hind-limb allografts. *Ann Plast Surg* 1994; 33: 57.
73. Rosso R, Schaefer D, Fricker R et al. Functional and morphological outcome of knee joint transplantation in dogs depends on control of rejection. *Transplantation* 1997; 63: 1723.
74. Yaremchuk MJ, Sedacca T, Schiller AL, May JW. Vascular knee allograft transplantation in a rabbit model. *Plast Reconstr Surg* 1983; 71: 461.
75. Swartz WM, Cha CM, Clowes GHA, Randall HT. The effect of prolonged ischemia on high energy phosphate metabolism in skeletal muscle. *Surg Gynecol Obstet* 1978; 147: 872.
76. Eckert P, Schnackerz K. Ischemic tolerance of human skeletal muscle. *Ann Plast Surg* 1991; 26: 77.
77. Hicks TE, Boswick JA, Solomons CC. The effects of perfusion on an amputated extremity. *J Trauma* 1980; 20: 632.
78. Kihira M, Miura T, Ishiguro N. Preservation of skeletal muscle in tissue transfers using rat hindlimbs. *Plast Reconstr Surg* 1991; 88: 275.
79. Arai K, Hotokebuchi T, Miyahara H et al. Successful long-term storage of rats limbs: The use of simple immersion in Euro-Collins solution. *Int Orthoped* 1993; 17: 389.
80. Norden MA, Rao VK, Southard JH. Improved preservation of rats hindlimbs with the University of Wisconsin solution and butanedione monoxime. *Plast Reconstr Surg* 1997; 100: 957.
81. Black KS, Hewitt CW, Fraser LA et al. Composite tissue (limb) allografts in rats II: Indefinite survival using low-dose cyclosporin. *Transplantation* 1985; 39: 365.
82. Hewitt CW, Black KS, Fraser LA et al. Composite tissue (limb) allografts in rats I: Dose-dependent increase in survival with cyclosporin. *Transplantation* 1985; 39: 360.
83. Min Z, Jones NF. Limb transplantation in rats: Immunosuppression with FK-506. *J Hand Surg* 1995; 20A: 77.
84. Furnas DW, Black KS, Hewitt CW et al. Cyclosporine and long-term survival of composite tissue allografts (limb transplants) in rats (with historical notes on the role of plastic surgeons in allotransplantation). *Transplant Proc* 1983; XV (Suppl 1): 3063.
85. Black KS, Hewitt CW, Hwang JS et al. Dose response of cyclosporin-treated composite tissue allografts in a strong histocompatible rat model. *Transplant Proc* 1988; XX: 266.
86. Kim SK, Aziz S, Oyer P, Hentz VR. Use of cyclosporin A in allotransplantation of rat limbs. *Ann Plast Surg* 1984; 12: 249.
87. Fealy MJ, Umansky WS, Bickel KD et al. Efficacy of rapamycin and FK506 in prolonging rat hind limb allograft survival. *Ann Surg* 1994; 219: 88.



88. Buttemeyer R, Jones NF, Min Z, Rao U. Rejection of the component tissues of limb allografts in rats immunosuppressed with FK-506 and cyclosporin. *Plast Reconstr Surg* 1995; 97: 139.
89. Muramatsu K, Doi K, Akino T et al. Longer survival of rat limb allograft: Combined immunosuppression of FK-506 and 15-deoxyspergualin. *Acta Orthop Scan* 1997; 68: 581.
90. Muramatsu K, Doi K, Shigetomi M et al. A new immunosuppressant, FTY720, prolongs limb allograft survival in rats. *Ann Plast Surg* 1998; 40: 160.
91. Arai K, Hotokebuchi T, Miyahara H et al. Limb allografts in rats immunosuppressed with FK506 I: Reversal of rejection and indefinite survival. *Transplantation* 1989; 48: 782.
92. Hotokebuchi T, Arai K, Arita C et al. Limb allografts in skeletally immature rats with cyclosporin: Behavior of the growth plate. *Transplant Proc* 1989; 21: 3183.
93. Hebebrand D, Jones NF, Zohman G et al. Limb xenotransplantation using FK506 and RS61443 immunosuppression. *J Reconstr Microsurg* 1998; 14: 191.
94. Walter P, Menger MD, Thies J et al. Prolongation of grafts survival in allogeneic limb transplantation by 15-deoxyspergualin. *Trans Proc* 1989; 21: 3186.
95. Kuroki H, Bean MA, Ikuta Y et al. Effect of FK-506 and donor-specific blood transfusion on the rat composite tissue limb allograft and the mechanism of long-term graft survival. *Transplant Proc* 1993; 25: 658.
96. Kuroki H, Bean MA, Ikuta Y, Burgess EM. Synergistic effect of FK-506 and donor-specific blood transfusion on rat skin but not on composite tissue (limb) allograft survival. *Transplant Proc* 1991; 23: 3282.
97. Uesteuner ET, Zdichavsky M, Ren X et al. Long-term composite tissue allograft survival in porcine model with cyclosporin/micophenolate mofetil therapy. *Transplantation* 1998; 66: 1581.
98. Black KS, Hewitt CW, Howard EB et al. Diagnosis of rejection and functional analysis of composite tissue (CT) and skin allografts prolonged with cyclosporin. *Transplant Proc* 1983; XV (4 Suppl 1): 3069.
99. Hovius SER, van Adrichem LNA, van der Hiejden PMA et al. Postoperative monitoring of allogeneic limb transplantation in rats. *Ann Plast Surg* 1988; 21: 559.
100. Benhaim P, Anthony JP, Lin T et al. A long-term study of allogeneic rat hindlimb transplants immunosuppressed with RS-61443. *Transplantation* 1993; 56: 911.
101. van den Helder TBM, Benhaim P, Anthony JP et al. Efficacy of RS-61443 in reversing acute rejection in a rat model of hindlimb allotransplantation. *Transplantation* 1994; 57: 427.
102. Fritz WD, Swartz WM, Rose S et al. Limb allografts in rats immunosuppressed with cyclosporin A. *Ann Surg* 1984; 199: 211.
103. Hotokebuchi T, Arai K, Arita C et al. Limb allografts in skeletally immature rats with cyclosporin: Behavior of the growth plate. *Transplant Proc* 1989; 21: 3183.
104. Muramatsu K, Doi K, Shigetomi M et al. A new immunosuppressant, FTY720, prolongs limb allograft survival in rats. *Ann Plast Surg* 1998; 40: 160.
105. Hebebrand D, Jones NF, Zohman G et al. Limb xenotransplantation using FK506 and RS61443 immunosuppression. *J Reconstr Microsurg* 1998; 14: 191.
106. Paskert JP, Yaremchuk MJ, Randolph MA, Weiland AJ. The role of cyclosporin in prolonging survival in vascularized bone allografts. *Plast Reconstr Surg* 1987; 80: 240.
107. Lee WPA, Pan Y-C, Kesmarsky S et al. Experimental orthotopic transplantation of vascularized skeletal allografts: Functional assessment and long-term survival. *Plast Reconstr Surg* 1995; 95: 336.
108. Kuroki H, Ikuta Y, Akiyama M. Experimental studies of vascularized allogeneic limb transplantation in the rat using a new immunosuppressive agent, FK 506: Morphological and immunological analysis. *Transplant Proc* 1989; 21: 3187.
109. Press B, Sibley RK, Shons AR. Limb allotransplantation in the rat: Extended survival and return of nerve function with continuous cyclosporine/prednisone immunosuppression. *Ann Plast Surg* 1986; 16: 313.
110. Gudemez E, Turegun M, Zins J, Siemionow M. Microvascular permeability following composite tissue transplantation. *Ann Plast Surg* 1998; 41: 519.
111. Hotokebuchi T, Arai K, Takagishi K et al. Limb allografts in rats immunosuppressed with cyclosporine: As a whole-joint allograft. *Plast Reconstr Surg* 1989; 83: 1027.
112. Gottfried Y, Yaremchuk MJ, Randolph MA, Weiland AJ. Immunologic and ultrastructural changes during early rejection of vascularized bone allografts. *Plast Reconstr Surg* 1991; 88: 860.
113. Gornet MF, Randolph MA, Schofield BH, et al. Immunologic and ultrastructural changes during early rejection of vascularized bone allografts. *Plast Reconstr Surg* 1991; 88: 860.
114. Innis PC, Randolph MA, Paskert JP, et al. Vascularized bone allografts: *In vitro* assessment of cell-mediated and humoral responses. *Plast Reconstr Surg* 1991; 87: 315.
115. Kuroki H, Ikuta Y. Nerve regeneration of vascularized rat limb allograft and functional recovery of long-term graft survival treated by short course of FK-506 or cyclosporine. *Transplant Proc* 1995; 27: 348.
116. Stepkowski SM, Kahan BD. Rapamycin and cyclosporin synergistically prolong heart and kidney allograft survival. *Transplant Proc* 1991; 23: 3262.
117. Stepkowski MS, Chen H, Daloze P, Kahan BD. Rapamycin a potent immunosuppressive drug for vascularized heart, kidney, and small bowel transplantation in the rat. *Transplantation* 1991; 51: 22.
118. Hewitt CW, Black KS, Fraser LA et al. Cyclosporine-A (CyA) is superior to prior donor-specific blood (DSB) transfusion for the extensive prolongation of rat limb allograft survival. *Transplant Proc* 1983; XV: 514.
119. Hewitt CW, Black KS, Gonzalez GA et al. Long-term residual cyclosporine levels following short-term administration in various allograft models demonstrating extensive survival prolongation. *Transplant Proc* 1987; XIX: 1244.
120. Platz KP, Eckhoff DE, Hullet DA, Sollinger HW. Prolongation of dog renal allograft survival by RS-61443, a new potent immunosuppressive agent. *Transplant Proc* 1991; 23 (1 Pt 1): 497.
121. Platz KP, Sollinger HW, Hullett DA et al. RS-61443- a new potent immunosuppressive agent. *Transplantation* 1991; 51: 27.
122. Norden MA, Rao VK, Southard JH. Improved preservation of rats hindlimbs with the University of Wisconsin solution and butanedione monoxime. *Plast Reconstr Surg* 1997; 100: 957.
123. Norin AJ, Veith FJ, Emeson EE et al. Improved survival of transplanted lungs in mongrel dogs treated with cyclosporin A. *Transplantation* 1981; 32: 259.
124. Hewitt CW, Black KS, Fraser LA et al. Composite tissue (limb) allografts in rats I: Dose-dependent increase in survival with cyclosporin. *Transplantation* 1985; 39: 360.



125. Llull R, Beko KR, Black KS, Hewitt CW. Composite tissue allotransplantation: Perspectives concerning eventual clinical exploitation. *Transplant Rev* 1992; 6: 175.
126. Llull R, Marase N, Ye Q et al. Chimerism, graft-vs-host disease, rejection, and their association with reciprocal donor-host immune reactions after cell, organ, and composite tissue transplantation. *Transplant Proc* 1997; 29: 1203.
127. Paskert JP, Yaremchuk MJ, Randolph MA, Weiland AJ. The role of cyclosporin in prolonging survival in vascularized bone allografts. *Plast Reconstr Surg* 1987; 80: 240.
128. Gottfried Y, Yaremchuk MJ, Randolph MA, Weiland AJ. Immunologic and ultrastructural changes during early rejection of vascularized bone allografts. *Plast Reconstr Surg* 1991; 88: 860.
129. Gudemez E, Turegun M, Zins J, Siemionow M. Microvascular permeability following composite tissue transplantation. *Ann Plast Surg* 1998; 41: 519.
130. Halloran PF, Bushuk M, Stewart JA. Effects of cyclosporin on the healing of vascularized and non vascularized bone allografts in rodents. *Transplant Proc* 1983; XV (Suppl 1): 3053.
131. Walter P, Menger MD, Thies J et al. Prolongation of grafts survival in allogeneic limb transplantation by 15-deoxyspergualin. *Trans Proc* 1989; 21: 3186.
132. Arai K, Hotokebuchi T, Miyahara H, et al. Prolonged limb allograft survival with short-term treatment with FK-506 in rats. *Transplant Proc* 1989; 21: 3191.
133. Llull R, Marase N, Ye Q et al. Chimerism, graft-vs-host disease, rejection, and their association with reciprocal donor-host immune reactions after cell, organ, and composite tissue transplantation. *Transplant Proc* 1997; 29: 1203.
134. Morris RE, Hoyt EG, Murphy MP et al. Mycophenolic acid morpholinoethylester (RS-61443) is a new immunosuppressant that prevents and halts allografts rejection by selective inhibition of T- and B-cell purine synthesis. *Transplant Proc* 1990; 22: 1659.
135. Morris RE, Wang J. Comparison of the immunosuppressive effects of mycophenolic acid (RS-61443) in recipients of heart allografts. *Transplant Proc* 1991; 23 (1 Pt 1): 493.
136. Hewitt CW, Puglish RN, Black KS. Current state of composite tissue and limb allotransplantation: Do present data justify clinical application? *Transplant Proc* 1992; 27: 1414.
137. Hicks TE, Boswick JA, Solomons CC. The effects of perfusion on an amputated extremity. *J Trauma* 1980; 20: 632.
138. Hewitt CW, Black KS, Fraser LA et al. Cyclosporin-A (CyA) is superior to prior donor-specific blood (DSB) transfusion for the extensive prolongation of rat limb allograft survival. *Transplant Proc* 1983; XV: 514.
139. Hotokebuchi T, Arai K, Takagishi K et al. Limb allografts in rats immunosuppressed with cyclosporin: As a whole-joint allograft. *Plast Reconstr Surg* 1989; 83: 1027.
140. Siliski JM, Simpkin S, Green CJ. Vascularized whole knee joint allografts in rabbits immunosuppressed with cyclosporin A. *Arch Orthop Trauma Surg* 1984; 103:26.
141. Rosso R, Schaefer D, Fricker R et al. Functional and morphological outcome of knee joint transplantation in dogs depends on control of rejection. *Transplantation* 1997; 63: 1723.
142. Doi K, DeSantis G, Singer DI et al. The effect of immunosuppression on vascularized allografts. *J Bone Joint Surg* 1989; 71B: 576.
143. Morris PJ, Bradley JA, Doyal L, Earley M et al. Facial transplantation: A working party report from the royal college of surgeons of England. *Transplantation* 2004; 77(3): 330.
144. Ochiai T, Nagata M, Nakajima K et al. Prolongation of canine renal allograft survival by treatment with FK-506. *Transplant Proc* 1987; 19 (5 Suppl 6): 53.
145. Ochiai T, Nakajima K, Nagata M et al. Effect of a new immunosuppressive agent, FK-506, on heterotopic cardiac allotransplantation in the rat. *Transplant Proc* 1987; 19: 1284.
146. Kino T, Inamura N, Sakai F et al. Effect of FK-506 on human mixed lymphocyte reaction *in vitro*. *Transplant Proc* 1987; 19 (Suppl 6): 36.
147. Ochiai T, Nakajima K, Nagata M et al. Effects of FK-506 on xenotransplantation of the heart and skin in a mouse-rat combination. *Transplant Proc* 1987; 19 (5 Suppl 6): 79.
148. Kino T, Hatanaka H, Miyata S et al. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from streptomycetes. II. Immunosuppressive effect of FK-506 *in vitro*. *J Antibiot* 1987; 40: 1256.
149. Goto T, Kino T, Hatanaka H et al. Discovery of FK-506, a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces tsukubaensis*. *Transplant Proc* 1987; 19 (5 Suppl 6): 4.
150. Ochiai T, Nakajima K, Nagata M et al. Studies of induction and maintenance of long-term graft acceptance by treatment with FK-506 in heterotopic cardiac allotransplantation in rats. *Transplantation* 1987; 44: 734.
151. Collier DS, Calne R, Thiru S et al. FK-506 in experimental renal allografts. *Transplant Proc* 1987; 19: 3975.
152. Calne R, Collier DS, Thiru S. Observation about FK-506 in primates. *Transplant Proc* 1987; 19 (5 Suppl 6): 63.
153. Lim AM, Thiru S, White DJ. Heterotopic heart transplantation in the rat receiving FK-506. *Transplant Proc* 1987; 19 (5 Suppl 6): 68.
154. Collier DS, Thiru S, Calne R. Kidney transplantation in the dog receiving FK-506. *Transplant Proc* 1987; 19 (5 Suppl 6): 53.
155. Makowka L, Chapman F, Quian S et al. The effect of FK-506 on hyperacute rejection in presensitized rats. *Transplant Proc* 1987; 19 (5 Suppl 6): 79.
156. Murase N, Todo S, Lee PH et al. Heterotopic heart transplantation in the rat receiving FK-506 alone or with cyclosporin. *Transplant Proc* 1987; 19 (5 Suppl 6): 71.
157. Sawada S, Susuki G, Kawase Y, Takatu F. Novel immunosuppressive agent, FK-506: *In vitro* effects on cloned T cell activation. *J Immunol* 1987; 139: 1797.
158. Tanaka H, Kuroda A, Marusawa H, et al. Physicochemical properties of FK-506, a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces tsukubaensis*. *Transplant Proc* 1987; 19 (5 Suppl 6): 11.
159. Todo S, Podesta L, Chap P et al. Orthotopic liver transplantation in dogs receiving FK-506. *Transplant Proc* 1987; 19 (5 Suppl 6): 64.
160. Umeda Y, Moriguchi M, Kuroda H et al. Synthesis and antitumor activity of spergualin analogues. I. Chemical modification of 7-guanidino- 3- hydroxyacyl moiety. *J Antibiot* 1985; 38: 886.
161. Iwasawa H, Kondo S, Ikeda D et al. Synthesis of (-)-15-de-oxy-spergualin and (-)-spergualin-15 - phosphate. *J Antibiot* 1982; 35: 1665.
162. Hao L, Lafferty KJ, Allison AC, Eugui EM. RS-61443 allows islet allografting and specific tolerance induction in adult mice. *Transplant Proc* 1990; 22: 876.

163. Morris RE, Hoyt EG, Murphy MP, et al. Mycophenolic acid morpholinoethyl ester (RS-61443) is a new immunosuppressant that prevents and halts allograft rejection by selective inhibition of T- and B-cell purine synthesis. *Transplant Proc* 1990; 22: 1659.
164. Platz KP, Bechstein WO, Eckhoff DE et al. RS-61443 reverses acute allograft rejection in dogs. *Surgery* 1991; 110: 736.
165. Platz KP, Eckhoff DE, Hullet DA, Sollinger HW. Prolongation of dog renal allograft survival by RS-61443, a new potent immunosuppressive agent. *Transplant Proc* 1991; 23 (1 Pt 1): 497.
166. Shaffer D, Blakely ML, Gottschalk R, Monaco AP. Small bowel transplantation in rats using RS-61443: Effect on GVHD and rejection. *Transplant Proc* 1992; 24: 1159.
167. Coulombe M, Hao L, Calcinaro F et al. Tolerance induction in adult animals: Comparison of RS-61443 and anti-CD4 treatment. *Transplant Proc* 1991; 23 (2 Suppl 2): 31.
168. Platz KP, Bechstein WO, Eckhoff DE, et al. RS-61443 reverses acute allograft rejection in dogs. *Surgery* 1991; 110: 736.
169. Sollinger HW, Deierhoi MH, Belzer FO et al. RS-61443-A phase clinical trial and pilot rescue study. *Transplantation* 1992; 53: 428.
170. Benhaim P, Anthony JP, Ferreira L et al. Use of combination of low-dose cyclosporin and RS-61443 in a rat model of composite tissue allotransplantation. *Transplantation* 1996; 61: 527.
171. Vezina C, Kudelski A, Sehgal SN. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *J Antibiot* 1975; 28: 721.
172. Calne R, Collier DS, Lim S et al. Rapamycin for immunosuppression in organ allografting (letter). *Lancet* 1989; 8656: 227.
173. Stepkowski SM, Kahan BD. Rapamycin and cyclosporin synergistically prolong heart and kidney allograft survival. *Transplant Proc* 1991; 23: 3262.
174. Fealy MJ, Most D, Huie P et al. Association of downregulation of cytokine activity with rat hind limb allograft survival. *Transplantation* 1995; 59: 1475.
175. Fujita T, Inoue K, Yamamoto S et al. Fungal metabolites. Part II. A potent immunosuppressive activity found in *Isaria sinclairii* metabolite. *J Antibiot* 1994; 47: 208.
176. Suzuki S, Enosawa S, Kakefuda T et al. A novel immunosuppressant, FTY720, with a unique mechanism of action, induces long-term graft acceptance in rat and dog allotransplantation. *Transplantation* 1996; 61: 200.
177. Suzuki S, Li XK, Enosawa S, Shinomiya T et al. Induction of lymphocyte apoptosis and prolongation of graft survival by FTY720. *Transplant Proc* 1996; 28: 2049.
178. Suzuki S, Li XK, Enosawa S, Shinomiya T. A new immunosuppressant, FTY720, induces bel-2-associated apoptotic cell death in human lymphocytes. *Immunology* 1996; 89: 518.
179. Aboujaude M, Chen H, Wu J et al. Efficacy of rapamycin in limb transplantation in the rat. *Clin Invest Med* 1991; 14: A 146.
180. Kahan BD, Gibbons S, Tejpal N et al. Synergistic interactions of cyclosporine and rapamycin to inhibit immune performances of normal human peripheral blood lymphocytes *in vitro*. *Transplantation* 1991; 51: 232.
181. Stepkowski MS, Chen H, Daloze P, Kahan BD. Rapamycin a potent immunosuppressive drug for vascularized heart, kidney, and small bowel transplantation in the rat. *Transplantation* 1991; 51: 22.
182. Yeh LS, Gregory CR, Griffey SM et al. Effects of leflunomide and cyclosporin on myocutaneous allograft survival in the rat. *Transplantation* 1996; 62: 861.
183. Yeh L-S, Gregory CR, Griffey SM et al. Combination leflunomide and cyclosporin prevents rejection of functional whole limb allografts in the rat. *Transplantation* 1997; 64: 919.
184. Kuchle CCA, Thoenes GH, Langer KH et al. Prevention of kidney and skin graft rejection in rats by leflunomide, a new immunomodulating agent. *Transplant Proc* 1991; 23 (1 pt 2): 1083.
185. Lirtzman RA, Gregory CR, Levitski RE, et al. Combined immunosuppression with leflunomide and cyclosporin prevents MLR-mismatched renal allograft rejection in a mongrel canine model. *Transplant Proc* 1996; 28: 945.
186. Edelstein J, Tecimer T, Uestuener T et al. Effect of FK506 versus cyclosporin A-based combination therapy on muscle/tendon and bone rejection in a preclinical composite tissue allograft. *Plastic Surgery Research Council* 1999.
187. MacKinnon SE, Doolabh VB, Novak CB, Trulock EP. Clinical outcome following nerve allograft transplantation. *Plast Reconstr Surg* 2001; 107: 1419.
188. Kuroki H, Ikuta Y. Nerve regeneration of vascularized rat limb allograft and functional recovery of long-term graft survival treated by short course of FK-506 or cyclosporin. *Transplant Proc* 1995; 27: 348.
189. Lee WPA, Pan Y-C, Kesmarsky S et al. Experimental orthotopic transplantation of vascularized skeletal allografts: Functional assessment and long-term survival. *Plast Reconstr Surg* 1995; 95: 336.
190. Thiru S, Collier DS, Calne R. Pathological studies in canine and baboon renal allograft recipients immunosuppressed with FK-506. *Transplant Proc* 1997; 19 (5 Suppl 6): 98.
191. Jensen JJ, MacKinnon S. Composite Tissue allotransplantation: a comprehensive review of the literature-part II. *J Reconstr Microsurgery* 2000; 16(2): 141-157.
192. Jensen JJ, MacKinnon S. Composite Tissue allotransplantation: a comprehensive review of the literature-part III. *J Reconstr Microsurgery* 2000; 16(3): 235-251.
193. Doerrler J, Goering H, Gossmann R et al. Limb allograft survival under cyclosporin treatment. *Transplant Proc* 1986; XVIII: 1431.
194. Yeh L-S, Gregory CR, Griffey SM et al. Combination leflunomide and cyclosporin prevents rejection of functional whole limb allografts in the rat. *Transplantation* 1997; 64: 919.
195. Tanaka H, Kuroda A, Marusawa H et al. Physicochemical properties of FK-506, a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces tsukubaensis*. *Transplant Proc* 1987; 19 (5 Suppl 6): 11.
196. Todo S, Podesta L, Chap P et al. Orthotopic liver transplantation in dogs receiving FK-506. *Transplant Proc* 1987; 19 (5 Suppl 6): 64.
197. Platz KP, Bechstein WO, Eckhoff DE et al. RS-61443 reverses acute allograft rejection in dogs. *Surgery* 1991; 110: 736.
198. Watt DJ, Patridge TA, Sloper JC. Cyclosporin A as a means of preventing rejection of skeletal muscle allografts in mice. *Transplantation* 1981; 31: 266.

Dirección para correspondencia:  
 Dr. Raymundo Priego Blanas  
 Hospital Angeles del Pedregal,  
 Periférico Sur Núm 3697-737  
 Col. Heroes de Padierna  
 C.P. 10700, México, D.F.