

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

**Validación del test de aclaramiento del verde de indocianina  
como predictor de descarte del injerto en los donantes  
hepáticos en muerte encefálica : estudio multicéntrico  
nacional**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Sergio Cortese**

DIRIGIDA POR

**José Ángel López Baena**  
**José Manuel Asencio Pascual**

Madrid

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE  
MADRID  
FACULTAD DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

**Validación del test de aclaramiento del verde de indocianina como  
predictor de descarte del injerto en los donantes hepáticos en muerte  
encefálica: estudio multicéntrico nacional**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO  
DE DOCTOR PRESENTADA POR

**Sergio Cortese**

DIRECTORES

**José Ángel López Baena  
José Manuel Asencio Pascual**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE  
MADRID**  
FACULTAD DE MEDICINA



**TESIS DOCTORAL**

**Validación del test de aclaramiento del verde de indocianina como  
predictor de descarte del injerto en los donantes hepáticos en muerte  
encefálica: estudio multicéntrico nacional**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO  
DE DOCTOR PRESENTADA POR

**Sergio Cortese**

PROGRAMA DE DOCTORADO

**Investigación en Ciencias Médico-Quirúrgicas**

DIRECTORES

**José Ángel López Baena**  
**José Manuel Asencio Pascual**

## Agradecimientos

---

En primer lugar, deseo expresar mi agradecimiento a mis directores de Tesis, los Doctores José Manuel Asencio y José Ángel López Baena. A José Manuel, por el entusiasmo y apoyo que ha brindado a este trabajo, por el respeto a mis propuestas e ideas. A José Ángel, por su gran disponibilidad y confianza.

Gracias a mis compañeros de la sección de HBP y de Trasplante Hepático del Servicio de Cirugía General del Hospital Gregorio Marañón: porque no dejo de aprender de ellos en las muchas horas pasadas dentro y fuera del quirófano, y por el lujo de ser parte de un gran equipo.

Quiero dar las gracias a las Doctoras Katherine Plua y María Savoie, y a los Doctores Alejandro Pérez-Alonso y David Pacheco, que han hecho posible realizar este estudio multicéntrico, a partir del cual pude llevar a cabo este proyecto de Tesis.

Gracias a José María Bellón, de la Unidad de Metodología y Bioestadística del Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, por su indispensable ayuda en el análisis estadístico de este estudio de validación.

Gracias a mis padres, Paola y Ferdinando, por haberme enseñado a perseverar.

Gracias a Andrea, por el tiempo que me ha concedido a expensas de la familia, y por apoyarme siempre.

Gracias a Pietro y a Luca, que me recuerdan lo que es importante de verdad.

A todos, gracias.

## Índice general

---

Resumen.....	IV
Summary.....	VII
Abreviaturas y acrónimos.....	X
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Desarrollo histórico del trasplante hepático.....	1
1.2 Insuficiencia hepática y gestión de la lista de trasplante.....	3
1.3 Principales indicaciones de trasplante hepático.....	5
1.3.1 Cirrosis alcohólica.....	5
1.3.2 Cirrosis por virus de la hepatitis C y virus de la hepatitis B.....	6
1.3.3 Enfermedades colestásicas crónicas.....	7
1.3.4 Tumores hepáticos.....	8
Carcinoma hepatocelular.....	8
Otras neoplasias.....	9
1.3.5 Fallo hepático agudo.....	10
1.4 Contraindicaciones absolutas y relativas al trasplante hepático.....	11
1.5 Tipos de donación hepática.....	13
1.6 Selección del donante en muerte encefálica.....	15
1.6.1 Criterios expandidos de donación.....	16
Edad del donante.....	19
Esteatosis hepática.....	21
Donantes virémicos.....	23
1.6.2 Valor de la radiología en la valoración de los donantes hepáticos.....	25
1.6.3 Valor de la biopsia hepática en la determinación de la calidad del injerto	26
1.6.4 Índices de riesgo para la valoración de los donantes hepáticos.....	28
1.6.5 Situación actual de la donación hepática en España.....	30
1.7 El verde de indocianina.....	35
1.7.1 Farmacología del verde de indocianina.....	35
1.7.2 Principales aplicaciones del test de aclaramiento del verde de indocianina en cirugía hepática y trasplante.....	38
1.7.3 Experiencias previas de valoración de los donantes con el test de aclaramiento del verde de indocianina.....	40
<b>2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	<b>43</b>
2.1 Fundamentos conceptuales de las hipótesis	43
2.2 Hipótesis.....	44
2.3 Objetivos.....	44
2.3.1 Objetivos principales.....	44
2.3.2 Objetivos secundarios.....	44
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>46</b>
3.1 Diseño del estudio.....	46
3.2 Centros participantes.....	47
3.3 Sujetos de estudio.....	47
3.3.1 Criterios de inclusión..	48
3.3.2 Criterios de exclusión.....	48

3.4 Metodología utilizada para la determinación del aclaramiento del verde de indocianina.....	49
3.5 Variables del donante.....	51
3.6 Técnica de extracción y valoración del injerto.....	52
3.7 Variables del injerto.....	53
3.7.1 Análisis patológico.....	54
3.8 Variables preoperatorias del receptor.....	54
3.9 Técnica de la cirugía de implante.....	55
3.10 Manejo y seguimiento postoperatorio precoz.....	57
3.11 Seguimiento a largo plazo. ....	58
3.12 Aspectos éticos y organizativos.....	58
3.13 Administración de los datos y análisis estadístico.....	59
3.13.1 Cálculo del tamaño muestral.....	59
3.13.2 Análisis estadístico en la cohorte de desarrollo (Parte 1ª).....	60
3.13.3 Análisis estadístico en la cohorte de validación externa (Parte 2ª).....	61
3.13.4 Análisis estadístico en los receptores de trasplante (Parte 3ª).....	61
3.13.5 Análisis estadístico en el subgrupo de pacientes trasplantados en el HGUGM (Parte 4ª).....	62
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>63</b>
4.1 Características de la cohorte de desarrollo.....	63
4.2 Comparación entre donantes con injertos válidos y donantes con injertos rechazados.....	65
4.3 Análisis univariante y multivariante de los predictores de descarte del injerto.....	68
4.4 Análisis de la curva ROC.....	69
4.5 Validación interna del modelo predictivo.....	71
4.6 Validación externa.....	72
4.7 Resultados histológicos de los injertos rechazados.....	75
4.8 Correlación del aclaramiento del verde de indocianina con las otras variables de los donantes.....	77
4.9 Resultados del trasplante.....	78
4.9.1 Características de los receptores.....	78
4.9.2 Resultados del trasplante en la cohorte global.....	80
4.9.3 Análisis univariante y multivariante de los predictores de disfunción precoz del injerto y pérdida del injerto a las 4 semanas.....	84
4.9.4 Subanálisis de los pacientes trasplantados en el HGUGM.....	85
Flujos y aclaramiento de verde de indocianina intraoperatorio.....	85
Colangiopatía del injerto.....	88
<b>5. DISCUSIÓN.....</b>	<b>91</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>104</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>105</b>
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>114</b>

Anexo A. Lista de tablas.....	114
Anexo B. Lista de figuras.....	115
Anexo C. Hoja de información al paciente.....	117
Anexo D. Consentimiento informado.....	119
Anexo E. Cuaderno de recogida de datos .....	120
Anexo F. Publicación nº1: “Evaluation of Plasma Disappearance Rate Indocyanine Green Clearance as a Predictor of Liver Graft Rejection in Donor Brain Death.” .....	122
Anexo G. Publicación nº2: “Usefulness of Indocyanine Green Plasma Disappearance Rate in Liver Donors and Recipients: A Prospective Observational Study.” .....	126
Anexo H. Publicación nº3: “Internal and external validation of indocyanine green plasma disappearance rate to discard liver grafts before procurement.” .....	130

## Resumen

---

### Introducción

El 30% de los injertos hepáticos de donantes en muerte encefálica (DME) en España se descartan por mala calidad tras la valoración presencial del cirujano extractor. Ningún dato demográfico, clínico, analítico o radiológico del donante, conocido antes de la donación, puede, por si solo y de manera inequívoca, predecir el descarte del injerto hepático.

Un valor bajo de aclaramiento de verde de indocianina (ICG-PDR), medido en los donantes antes de la extracción, se ha asociado, en estudios previos, a disfunción del injerto una vez trasplantado y al descarte del órgano por parte del cirujano trasplantador.

El objetivo principal de este estudio es de validar interna y externamente el ICG-PDR como medida para predecir la no validez de los injertos hepáticos y establecer un nivel de corte adecuado para evitar perder órganos potencialmente válidos.

Los objetivos secundarios son de evaluar la correlación entre el ICG-PDR de los donantes y la presencia de alteraciones histológicas de los injertos rechazados y, en los injertos implantados, de valorar si existe una asociación del aclaramiento de ICG del donantes con las disfunción precoz del injerto, la pérdida del injerto al mes del trasplante o el desarrollo de colangiopatía.

Además, se ha estudiado la variación de aclaramiento del ICG entre el momento de la donación hasta el momento sucesivo al implante.

### Pacientes y Métodos

Estudio observacional prospectivo. Entre marzo de 2017 y agosto de 2023, el test de aclaramiento de ICG se llevó a cabo en 71 DME antes de la laparotomía para la extracción hepática (T0) por el equipo del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM). El

cirujano a cargo de la valoración del injerto desconocía el valor de aclaramiento hasta que tomara la decisión final de aceptación o rechazo del órgano. Esta decisión se basaba, según la práctica habitual, en la evaluación conjunta de los factores de riesgo del donante (edad, antecedentes, eventos pre-donación) y del aspecto macroscópico del injerto (color, bordes, consistencia, calidad de la perfusión fría).

En esta primera cohorte (de desarrollo), se realizaron un análisis univariante y multivariante para identificar los predictores independientes de descarte del injerto. La validación interna del predictor se realizó mediante estudio de discriminación y calibración. Además, se estableció, mediante análisis de la curva ROC, un punto de corte con una especificidad del 100% (evitar falsos positivos).

La cohorte de validación externa se componía de 17 donantes evaluados por otros tres centros de trasplante en España, entre marzo de 2021 y mayo de 2023.

Los pacientes trasplantados con los injertos aceptados por ambas cohortes, se siguieron durante 4 semanas para detectar tanto la disfunción precoz del injerto, como la pérdida del injerto o la muerte del paciente al mes del trasplante. Los pacientes trasplantados en el HGUGM, que contaban también con una medición intraoperatoria de aclaramiento de ICG (T1) y de flujometría de vena porta y arteria hepática, se siguieron, además, durante un tiempo mínimo de 9 meses para diagnosticar el desarrollo de colangiopatía del injerto.

## Resultados

En la cohorte de desarrollo, se descartaron 30 de los 71 injertos valorados. El ICG-PDR y el índice de masa corporal fueron las únicas variables de los donantes, en el estudio multivariante, predictoras del descarte del injerto. El área bajo la curva ROC para el ICG-PDR fue de 0.875 (95% C.I.: 0.768-0.947) y se observó una buena calibración del modelo. Con un ICG-PDR <13.5 %/min, ningún injerto fue considerado válido para el trasplante, según el criterio de los cirujanos. Estos resultados fueron validados en la cohorte externa, siendo el área bajo la curva ROC para el ICG-

PDR de 0.806 (IC 95%: 0.582-1.000). En la cohorte global, utilizando el punto de corte establecido, el 46% de los injertos hepáticos descartados se hubieran podido detectar, con una especificidad del 100%, exclusivamente en base al valor de ICG-PDR.

En la cohorte global de pacientes trasplantados (n=45), 15 (33.3%) pacientes tuvieron una disfunción precoz y 10 (22.2%) perdieron el injerto al mes (muerte o retrasplante). El ICG-PDR de los donantes no tuvo relevancia para discriminar los pacientes con y sin disfunción precoz o pérdida del injerto.

En la cohorte del HGUGM (n=37), siete pacientes (24.1%), de los 29 que sobrevivieron con el mismo injerto al mes del trasplante, sufrieron colangiopatía del injerto. La única variable asociada con esta complicación fue el flujo intraoperatorio de la arteria hepática, significativamente disminuido en los pacientes que desarrollaron colangiopatía.

En mayoría de los casos (78.4%) de la cohorte del Centro promotor se observó una caída del ICG-PDR entre el momento de la donación (T0) y el periodo post-trasplante inmediato (T1). La diferencia de ICG-PDR entre T0 y T1 resultó ser más significativa en los pacientes con disfunción precoz, frente a aquellos sin disfunción.

## Conclusiones

La prueba de aclaramiento de ICG en los DME, ha sido validada interna y externamente para predecir el descarte de los injertos hepáticos. Este test podría utilizarse como herramienta de selección de los donantes hepáticos antes de proceder a la valoración presencial por los equipos de trasplante, así evitando gastos innecesarios en viajes y recursos humanos.

## Summary

---

### Introduction

Thirty percent of liver grafts from donors after brain dead (DBD) in Spain are discarded due to poor quality, detected by direct assessment of the procurement surgeon. None of the demographic, clinical, analytical or radiological data of the donor, known before donation, can, on its own and unequivocally, predict the discarding of the liver graft.

A low indocyanine green clearance value (ICG-PDR), measured in donors before procurement, has been associated, in previous studies, with graft dysfunction after transplantation and with organ discard by the transplant surgeon.

The main objective of this study was to internally and externally validate the ICG-PDR as a tool to predict the unsuitability of liver graft and to establish an appropriate cut-off level to avoid missing potentially valid organs.

Secondary objectives were to evaluate the correlation between the donor's ICG-PDR and the presence of histological alterations in the rejected grafts and, in the implanted grafts, to assess the possible association of the donor's ICG clearance with early allograft dysfunction (EAD), one month graft's loss, and the development of cholangiopathy.

Furthermore, the variation in ICG clearance from donor (T0) to recipient has been studied (T1).

### Patients and Methods

Prospective observational study. Between March 2017 and August 2023, ICG clearance test was performed in 71 DBDs before laparotomy for liver harvesting (T0) by the team of Hospital

General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM). The surgeon in charge of evaluating the graft was unaware of the clearance value until the final decision to accept or reject the organ was made. This decision was based, according to usual practice, on the joint evaluation of the donor's risk factors (age, history, pre-donation events) and the macroscopic appearance of the graft (color, edges, consistency, quality of cold perfusion).

In this first (training) cohort, univariate and multivariate analyses were performed to identify independent predictors of graft discard. Discrimination and calibration of the predictor were assessed to achieve internal validation. In addition, a cut-off with a 100% specificity was established through ROC curve analysis in order to avoid false positive results.

The external validation cohort performed on 17 donors evaluated by three other transplant centers in Spain, between March 2021 and May 2023.

Patients transplanted with accepted grafts from both cohorts were followed for 4 weeks to detect EAD, graft's loss or patient death one month after transplantation. Patients transplanted at HGUGM, who also had an intraoperative measurement of ICG clearance (T1) and portal and hepatic artery flowmetry, were followed for a minimum of 9 months to assess the development of graft cholangiopathy.

## Results

In the training cohort, 30 out of the 71 evaluated grafts were discarded. ICG-PDR and body mass index were the donor's only variables associated with graft discard, at multivariate regression analysis. The area under the ROC curve for the ICG-PDR was 0.875 (95% C.I.: 0.768-0.947) and good model calibration was observed. With an ICG-PDR <13.5%/min, no graft was accepted for transplantation, according to the surgeons' criteria. These results were validated in the external cohort, with an area under the ROC for ICG-PDR curve being 0.806 (95% CI: 0.582-1.000). In the

global cohort, using the established cut-off point, 46% of the discarded liver grafts could have been detected, with a specificity of 100%, exclusively based on the ICG-PDR value.

In the overall cohort of transplanted patients (n=45), 15 (33.3%) suffered EAD and 10 (22.2%) lost the graft after one month (death or retransplantation). The ICG-PDR of the donors was not found relevant to discriminate patients with and without EAD or graft loss.

In the cohort from HGUGM (n=37), seven patients (24.1%), out of the 29 who survived with the same graft one month after transplantation, developed graft cholangiopathy. The only variable associated with this complication was intraoperative hepatic artery flow, which was significantly decreased in patients who developed cholangiopathy.

In the majority of cases (78.4%) from HGUGM, a drop in ICG-PDR was observed between the time of procurement (T0) and the immediate post-transplant period (T1). The difference in ICG-PDR between T0 and T1 turned out to be greater in patients with EAD, compared to those without dysfunction.

## Conclusions

The ICG clearance test in DBDs has been internally and externally validated to predict the discard of liver grafts. This test could be used as a selection tool for liver donors before proceeding to the direct evaluation by the transplant teams, thus avoiding unnecessary expenses on travel and human resources.

## Abreviaturas y acrónimos

---

ACV: Accidente cerebro-vascular

ALT: Alanina aminotransferasa

AST: Aspartato aminotransferasa

AUC: Área bajo la curva

BCLC: Barcelona Clinic Liver Cancer

CBP: Colangitis biliar primaria

CEP: Colangitis esclerosante primaria

CHC: Carcinoma hepatocelular

CPRE: Colangiopancreatografía retrógrada endoscópica

CRD: Cuaderno de recogida de datos

CTPH: Colangiografía transparietal hepática

DAA: Antivirales de acción directa

DBD: Donor after brain death (donante en muerte encefálica)

DM: Diabetes mellitus

DME: Donante en muerte encefálica

DPPI (TIPS): Derivación porto-sistémica percutánea intrahepática

DRI: Índice de riesgo del donante (Donor Risk Index)

EAD: Disfunción precoz del injerto (Early Allograft Dysfunction)

ECMO: Perfusión regional normotérmica oxigenada

EGF: Factor de crecimiento epidérmico

EHNA: Esteatohepatitis no-alcohólica

FA: Fosfatasa alcalina

GGT: Gamma-glutamil transferasa

HGUGM: Hospital General Universitario Gregorio Marañón

HOPE: Perfusión oxigenada hipotérmica

HTA: Hipertensión arterial

ICG: Verde de Indocianina (Indocyanine green)

ICG-PDR: Aclaramiento plasmático del verde de indocianina (Indocyanine Green Plasma Disappearance Rate)

ICG-R15: Tasa de retención de verde de indocianina a los 15 minutos (Indocyanine Green Retention Rate at 15 minutes)

IMC: Índice de masa corporal

INR: International normalized ratio

IP: Investigador principal

IRI: Daño por isquemia-reperfusión (Ischemia-reperfusion Injury)

MELD: Model of end stage liver disease

NMP: Máquina de perfusión normotérmica

ONT: Organización nacional de trasplantes

PDR: Aclaramiento plasmático (Plasma Disappearance Rate)

PNF: No función primaria (Primary non-function)

PO: Post-operatorio

RETH: Registro español de trasplante hepático

ROC: Receiver operating characteristic

RM: Resonancia magnética

SARS-CoV-2: síndrome respiratorio agudo severo por coronavirus 2

SIDA: Síndrome de la inmunodeficiencia adquirida

TC: Tomografía computerizada

TH: Trasplante hepático

UCI: Unidad de cuidados intensivos

VHA: Virus de la hepatitis A

VHB: Virus de la hepatitis B

VHC: Virus de la hepatitis C

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

VMI: Vena mesentérica inferior

VPN: Valor predictivo negativo

VPP: Valor predictivo positivo

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Desarrollo histórico del trasplante hepático

---

El trasplante de órganos representa uno de los éxitos más brillantes de la historia de la medicina moderna. Desde el punto de vista técnico, fue el cirujano francés premio Nobel, Alexis Carrel, que a finales del siglo XIX puso las bases de las modernas técnicas de anastomosis vasculares y abrió el camino para las primeras experiencias. Fue, sin embargo, solo gracias a la comprensión de los mecanismos de la respuesta inmune hacia el tejido u órgano trasplantado, procedente de individuos de la misma especie, pero genéticamente diferentes, que se pudieron desarrollar terapias para manipular el sistema inmune y así prevenir el rechazo.

En la década de los '60, el éxito clínico de los primeros trasplantes de órganos sólidos (riñón, hígado y corazón), llevó a toda la comunidad científica a multiplicar los esfuerzos para mejorar los resultados en diferentes áreas: técnica quirúrgica, manejo anestésico, ciencias básicas (inmunología, farmacología, microbiología) y métodos de preservación de los órganos.

Otro hito fundamental fue la definición por consenso, en el año 1968, de los Criterios de Harvard que definían el concepto de muerte cerebral, permitiendo una más amplia disponibilidad de donantes, principal factor limitante para el trasplante de órganos.

En España, la actividad relacionada con la extracción y el implante de órganos procedentes de cadáver o de donante vivo está regulada por la “Ley de Extracción y Trasplante de Órganos”, conocida como Ley de Trasplantes, promulgada en el 1979. Esta ley, además, explicita el concepto de consentimiento presunto a la donación, estableciendo que todo ciudadano que en vida no manifestase su oposición a la donación de órganos y tejidos será donador a su fallecimiento, si fuese válido para ello.

Una de las consecuencias de la Ley de Trasplantes fue la creación de una sólida infraestructura, la Organización Nacional de Trasplantes (ONT), nacida a finales de los años '80, y cuyos objetivos principales son la coordinación y la promoción de la donación y el trasplante, garantizando una apropiada y correcta distribución en el territorio nacional bajo el principio de equidad. España cuenta con una de las tasas de donación y trasplante más altas del mundo (47 donantes por millón de habitantes en el año 2022, según el informe del Observatorio Global de Donación y Trasplante), gracias no solo a la generosidad de los donantes y sus familias, sino también a la motivación y a la implicación de muchos profesionales. Entre ellos es importante reseñar la figura de *coordinador de trasplantes*. Este profesional funciona como conexión entre los hospitales donantes y los centros trasplantadores, y se dedica a potenciar todos los pasos que lleven a promover las donaciones, tanto con los sanitarios, como con las familias, colaborando en la obtención del consentimiento a la donación, y coordinando los varios equipos quirúrgicos de extracción.

El Dr. Thomas Starzl, de la Universidad de Colorado (EEUU), realizó los primeros trasplantes de hígado en humanos a partir del año 1963(1), pero las dificultades técnicas y una inmunosupresión no óptima, no permitieron supervivencias razonables de los pacientes hasta el año 1979, cuando empezó a emplearse la ciclosporina, gracias al impulso de Sir. Roy Calne(2) de la Universidad de Cambridge (Reino Unido) y, sucesivamente, la asociación a esta de esteroides, propuesta por el mismo Starzl.

Cuarenta años después, el trasplante hepático (de aquí en adelante, TH) se ha convertido en el tratamiento de elección de las complicaciones de la cirrosis, cuando la expectativa de vida sea inferior a 1 año sin el trasplante, y para la insuficiencia hepática aguda, cuando se hayan agotado otras opciones terapéuticas. Otras indicaciones, como veremos, se han ido estableciendo y están en continua actualización, teniendo en cuenta que existe, de forma

general, una escasez de órganos disponibles y una creciente demanda, con la consecuente necesidad de optimizar al máximo un recurso limitado.

La constante evolución y mejoría de todos los aspectos médicos, anestésicos, técnicos y tecnológicos que están implicados en el TH, han dado lugar a un aumento de las tasas de supervivencia tanto del injerto como del paciente. En España, según los datos del Registro Español de Trasplante Hepático (RETH) de 2022, la supervivencia global actuarial desde el 1984 hasta el 2022 a 5 años de paciente e injerto, independientemente de la indicación, era del 75.7 % y 68,1%, respectivamente(3). Por un principio de justicia distributiva, y con el fin de garantizar en todos los casos una supervivencia adecuada, los médicos implicados en el trasplante tienen que conocer cuáles son las principales indicaciones, contraindicaciones y criterios de priorización en lista de espera.

## **1.2 Insuficiencia hepática y gestión de la lista de trasplante**

---

En sus estadios más avanzados, la cirrosis hepática, sea cual sea su origen, da lugar a complicaciones como sangrado por varices, ascitis y encefalopatía, que disminuyen de manera significativa la calidad y la esperanza de vida de los pacientes. Detectar el momento ideal en el cual un paciente se beneficia del trasplante no es tarea fácil: adelantarse demasiado puede aumentar de forma innecesaria el riesgo de mortalidad debido a las complicaciones intrínsecas del trasplante, mientras que un retraso en la indicación puede llevar a trasplantarse a un paciente con poca reserva metabólica (desnutrición, disminuida capacidad ventilatoria, insuficiencia renal, etc.) para tolerar una cirugía de tanta envergadura.

El primer sistema utilizado para priorizar a los pacientes en lista de espera se basaba en la clasificación de Child-Pugh, que toma en cuenta bilirrubina, albumina, tiempo de protrombina, presencia de ascitis y de encefalopatía. Los últimos dos factores (ascitis y encefalopatía), siendo más difíciles de cuantificar de forma objetiva, impulsaron la adopción, a partir del año 2002, del

sistema MELD (Model of End Stage Liver Disease), totalmente basado en datos de laboratorio (INR, creatinina y bilirrubina), e inicialmente utilizado para predecir la mortalidad de los pacientes sometidos a derivación portosistémica percutánea intrahepática (DPPI, o TIPS según las iniciales en inglés)(4). Con este sistema, adoptado por muchos Centros, se da la prioridad para trasplante a los pacientes con MELD más elevados, dando una menor importancia al tiempo transcurrido en lista de espera. Otra ventaja del sistema MELD es que se basa en una puntuación continua, pudiendo así graduar en grandes poblaciones y de manera precisa el estado de gravedad de un individuo.

Se ha visto, además, que la mortalidad tras TH de los pacientes con MELD de 14 o inferior, era mayor que en aquellos que no se trasplantaban, de tal manera que hoy en día se considera el valor MELD de 15 o superior una válida indicación de trasplante(5).

Es fundamental que la inclusión de los pacientes y la gestión de la lista de espera de TH se realice en cada Centro de forma consensuada en un equipo multidisciplinar, desde el momento que existen más factores del paciente que pueden hacer necesaria una priorización independiente de la puntuación MELD, que puede ser inferior a 15 puntos. Estos factores de excepción al MELD se enumeran a continuación:

1. la indicación por hepatocarcinoma u otros tumores primarios o secundarios hepáticos;
2. la ascitis refractaria, cuando existan contraindicaciones para el TIPS, o cuando este sistema no sea eficaz y sean necesarias paracentesis evacuadoras repetidas;
3. la presencia de prurito refractario;
4. la colangitis de repetición;
5. la encefalopatía crónica o de repetición;
6. el síndrome hepato pulmonar;
7. el síndrome de Budd-Chiari;
8. la enfermedad poliquística hepática.

## 1.3 Principales indicaciones de trasplante hepático

En los siguientes apartados, se analizarán con más detalle las principales indicaciones de trasplante, resumidas en la Tabla 1.1.

**Tabla 1.1 Principales indicaciones de trasplante hepático**

<p><b>Cirrosis por hepatopatía crónica no colestásica</b>            Cirrosis etílica            Hepatitis crónica viral por VHC o VHB            Hepatitis autoinmune            Enfermedad de Wilson            Hemocromatosis hereditaria            Deficiencia de alfa-1-antritripsina            Esteatohepatitis no-alcohólica (NAFLD)            Hepatopatía criptogenética            Síndrome de Budd-Chiari</p>	<p><b>Fallo hepático agudo</b>            Intoxicación por paracetamol            Hepatitis aguda por VHA o VHB            Hepatitis alcohólica aguda            Intoxicación por fármacos o alimentos (setas)</p>
<p><b>Cirrosis por hepatopatía crónica colestásica</b>            Colangitis biliar primaria            Colangitis esclerosante primaria</p>	<p><b>Neoplasias</b>            Carcinoma hepatocelular            Colangiocarcinoma            Metástasis de tumores neuroendocrinos            Hemangioendotelioma            Hepatoblastoma            Carcinoma fibrolamelar</p>
<p><b>Enfermedades metabólicas sistémicas de causa hepática</b>            Polineuropatía amiloidótica familiar            Hiperoxaluria tipo I            Defectos del ciclo de la urea</p>	<p><b>Miscelánea</b>            Enfermedad poliquística hepática            Telangiectasia hemorrágica hereditaria</p>

VHA, virus de la hepatitis A; VHB, virus de la hepatitis B. (Modificado de: Busuttill, Klintmalm, Transplantation of the liver, 3era edición).

### 1.3.1 Cirrosis alcohólica

La hepatopatía derivada del abuso de alcohol ha pasado a ser la primera causa de cirrosis y la primera indicación de trasplante en España y en el mundo, anteponiéndose a la cirrosis por el virus de la hepatitis C (VHC) a partir del año 2016, cuando se implantó el uso de antivirales de acción directa (DAA), más eficaces para el tratamiento del VHC.

Los pacientes con enfermedad hepática de origen alcohólico presentan características clínicas específicas importantes de cara al trasplante. En primer lugar, suelen padecer de comorbilidades tales como la desnutrición, problemas neurológicos y/o psiquiátricos (depresión, otras toxicomanías), disfunción renal y enfermedades cardiovasculares. Además, tras el trasplante,

tienen aumentada tendencia a desarrollar tumores. Un tema de especial trascendencia es el riesgo de recaída alcohólica tras recibir el trasplante. A partir del año 1997 se estableció una regla, adoptada casi uniformemente a nivel mundial, de exigir una abstinencia ética de al menos 6 meses antes de la inclusión en lista(6); en este periodo, además de testar el compromiso del paciente con la propuesta terapéutica, se puede asistir en muchos casos a una mejoría de la función hepática, que podría hacer finalmente desestimar el trasplante. Más recientemente, se ha intentado flexibilizar este periodo, existiendo la evidencia que 6 meses no serían de todos modos suficientes para garantizar la abstinencia futura(7). A pesar de los esfuerzos anamnésicos y de seguimiento pre-trasplante, se conoce que aproximadamente una cuarta parte de los pacientes volverán a consumir alcohol de manera abusiva tras el trasplante(8). En este subgrupo de enfermos, los resultados de supervivencia son peores que en los pacientes que mantienen la abstinencia(9).

En la hepatitis alcohólica aguda refractaria a tratamiento médico, una condición asociada con elevada mortalidad a corto-medio plazo, el trasplante hepático en casos seleccionados puede tener buenos resultados, con riesgos de recaída en el consumo étílico no diferentes que en los pacientes con hepatopatía crónica, como se mostró en un importante estudio multicéntrico francés(10). No obstante, en estos casos, en los que no es posible garantizar un periodo mínimo de abstinencia pre-trasplante, los criterios de inclusión suelen seguir protocolos más estrictos.

### 1.3.2 Cirrosis por virus de la hepatitis C y virus de la hepatitis B

Como se ha comentado, los tratamientos con DAA, han reducido en buena medida la indicación de trasplante por cirrosis secundaria a VHC(11), siendo actualmente la segunda más frecuente en España. Los DAA se utilizan, además, con un buen perfil de seguridad y eficacia para prevenir o tratar las recidivas de VHC tras el trasplante, que solían tener un curso más agresivo y determinaban en muchos casos la pérdida del injerto o la muerte del enfermo.

El virus de la hepatitis B (VHB), a pesar de la campaña de vacunación general introducida en España en el año 1992, sigue siendo una frecuente causa de enfermedad hepática. Sin tratamiento, alrededor de un tercio de los pacientes infectados desarrollarán una hepatopatía aguda o crónica con aumentado riesgo, además, de desarrollar hepatocarcinoma. De manera no frecuente, la infección por VHB puede causar una hepatitis fulminante. Tanto en su forma aguda, como en la crónica, la enfermedad hepática causada por el VHB puede llegar a ser una indicación de trasplante hepático. Los avances terapéuticos con antivirales orales (entecavir, tenofovir) y las estrategias inmuno-profilácticas (con inmunoglobulinas), han permitido mejorar en los últimos 30 años los resultados del trasplante en esta categoría de enfermos.

### 1.3.3 Enfermedades colestásicas crónicas

La colangitis biliar primaria (CBP, previamente denominada cirrosis biliar primaria) y la colangitis esclerosante primaria (CEP) son las dos hepatopatías colestásicas más frecuentes que pueden, en sus fases avanzadas, hacer requerir el trasplante, constituyendo alrededor del 10% de las indicaciones. En ambos casos, los resultados de supervivencia son de los mejores entre todas las indicaciones de trasplante.

La CBP suele tener un curso silente y sin disfunción hepática durante muchos años, hasta gradualmente desarrollar cirrosis y enfermedad hepática terminal. El ácido ursodesoxicólico suele mejorar sensiblemente la disfunción hepática y la calidad de vida de estos pacientes, retrasando la necesidad del TH. Adicionalmente a las complicaciones típicas de la cirrosis, la CBP suele asociarse a prurito refractario y a osteopenia, que determinan un neto empeoramiento de la calidad de vida. El modelo pronóstico de la Clínica Mayo(12) es el más utilizado para predecir la evolución de estos enfermos y recomendar el momento idóneo para el TH. La recurrencia de CBP tras trasplante puede llegar al 20-25% a largo plazo, pero raramente lleva a la pérdida del injerto.

La CEP tiene una evolución variable, con un tiempo de supervivencia sin trasplante de 10-20 años. Típicamente, estos pacientes pueden presentar una puntuación MELD baja, pero sufrir de repetidos brotes de colangitis, que se considerarían un criterio de priorización en lista. Los pacientes con CEP tienen un aumentado riesgo de desarrollar colangiocarcinoma (0.5-1%/año) y es fundamental descartar su presencia de forma exhaustiva antes del trasplante. Además del colangiocarcinoma, los pacientes con CEP pueden presentar una enfermedad inflamatoria intestinal concomitante en hasta el 70% de los casos, haciendo obligatorio también el cribado endoscópico del cáncer de colon antes y después del TH.

### 1.3.4 Tumores hepáticos

#### Carcinoma hepatocelular

El trasplante hepático es uno de los posibles tratamientos disponibles para el carcinoma hepatocelular (CHC). La mayoría de los CHC se desarrollan sobre hígados cirróticos y, en este contexto, el trasplante ofrece la ventaja de reducir de forma sustantiva el riesgo de recidiva frente a los otros tratamientos. Existen límites establecidos de extensión tumoral para indicar el TH, denominados criterios de Milán(13), incorporados en el algoritmo diagnóstico-terapéutico del grupo de Barcelona (BCLC)(14): tumor único de hasta 5 cm, o hasta 3 tumores de máximo 3 cm cada uno, en pacientes sin enfermedad a distancia, ni adenopatías o trombosis vascular de origen tumoral. Respetando estos criterios, la supervivencia esperada con el TH es del 75% a 5 años, es decir, parecida a la que se alcanza para indicaciones no oncológicas. Criterios menos estrictos, como los de San Francisco(15) (carcinoma hepatocelular único de 6,5 cm o menor, o tres o menos nódulos, el mayor de ellos de 4,5 cm o menor y cuya suma sea 8 cm o inferior) o “up-to-seven”(16) (suma del tamaño del tumor más grande en cm y el número de nódulos sea 7 o menor) se están aceptando en los últimos años en muchos Centros, con resultados no inferiores a aquellos que se logran siguiendo los criterios de Milán. Otros parámetros, no solo

morfológicos sino también biológicos, están demostrando su utilidad en la selección de los posibles candidatos a trasplante sobre todo en aquellos pacientes “fuera de Milán”: 1) biomarcadores séricos (principalmente alfa-fetoproteína) 2) parámetros histológicos, 3) técnicas de imagen y 4) comportamiento tras los tratamientos neoadyuvantes o de “downstaging”.

Cuando el tiempo en lista de espera se estima superior a 6 meses, se recomienda realizar algún tipo de tratamiento “puente” hasta el trasplante (ablación con radiofrecuencia, quimio- o radio-embolización, etc.), de tal manera que disminuya el riesgo de progresión/exclusión en lista y el de recidiva tras el TH.

Otra indicación aceptada de trasplante se da en los pacientes tras resección quirúrgica, cuando el análisis patológico de la pieza muestra datos de mal pronóstico y recidiva precoz: satelitosis, invasión linfo-vascular o elevado grado histológico.

#### Otras neoplasias

El colangiocarcinoma hiliar no resecable con un diámetro radial inferior a 3 cm, no metastásico, se acepta como indicación de TH bajo protocolos establecidos después de haber demostrado, al menos, estabilidad tras radio-quimioterapia. El colangiocarcinoma intrahepático de pequeño tamaño (<2cm), también se ha aceptado más recientemente como indicación de TH, cuando la resección está contraindicada por la presencia de enfermedad hepática subyacente(17).

Las metástasis hepáticas de tumores neuroendocrinos también son una indicación establecida de trasplante, dentro los criterios NET-Milán/UNOS(18): bajo grado histológico, drenaje portal del tumor primario, resección (previa al trasplante) de todos los depósitos tumorales extrahepáticos, ocupación hepática inferior al 50% del volumen hepático total, enfermedad estable durante al menos 6 meses antes del trasplante con tratamientos sistémicos o loco-regionales.

La experiencia de TH con metástasis no resecables de origen colorrectal todavía es limitada y hoy en día se plantea solo en casos muy seleccionados y en el contexto de ensayos clínicos bien planteados.

El adenoma hepático irresecable y el hemangioendoteloma (un tumor raro y de lento crecimiento) pueden ser indicaciones de trasplante en casos seleccionados.

### 1.3.5 Fallo hepático agudo

El fallo hepático agudo (históricamente denominado “fulminante”) es el desarrollo rápido de encefalopatía, ictericia y coagulopatía en un paciente sin previa enfermedad hepática conocida(19). Típicamente, son más susceptibles pacientes jóvenes y prevalentemente de sexo femenino. Las causas más frecuentes en España son la hepatitis aguda viral por VHB o Virus de la Hepatitis A (VHA), las intoxicaciones medicamentosas o alimentarias (paracetamol, setas, productos de herbolario) y la etiología autoinmune, aunque muchas veces las causas quedan indeterminadas. El pronóstico de estos pacientes es variable, dependiendo de la etiología, de la velocidad de presentación de la encefalopatía, de la edad del enfermo y de la tempestividad en empezar los tratamientos médicos. Por esta razón, estos pacientes tienen que ser trasladados de manera precoz a Centros trasplantadores que valoren de forma dinámica la necesidad del TH urgente. La valoración se tiene que centrar en determinar quién necesita un trasplante y quién mejorará con el tratamiento de soporte. Aunque el TH en estos casos se asocia con una excelente supervivencia, ésta es inferior a la supervivencia de los pacientes que se recuperan espontáneamente.

La insuficiencia hepática aguda se puede dividir en función de la duración entre el inicio de los síntomas y el desarrollo de la encefalopatía. En el fallo *hiperagudo*, ésta ocurre dentro de los 7 días posteriores al inicio de los síntomas; en el *agudo*, de 7 a 21 días; y *subagudo*, entre 21 días y 26 semanas. Cuanto más rápidamente se instaura la encefalopatía, mayor es el riesgo de

edema cerebral. El tratamiento implica la optimización del equilibrio de líquidos y el soporte cardiovascular, incluido el uso de terapia de hemofiltración continua, vasopresores y ventilación pulmonar. El soporte con drogas vasoactivas, la encefalopatía hepática de alto grado y las etiologías desfavorables (subagudas), aumentan la necesidad de inclusión urgente en la lista de TH. Muchos Centros consideran indicación de trasplante la presencia de encefalopatía grado II, mientras otros se guían con los criterios propuestos por el King's College(20) (Tabla 1.2).

**Tabla 1.2** Criterios pronósticos del King's College predictores de mal pronóstico en los pacientes con fallo hepático agudo por paracetamol y por otras causas.

Paracetamol	Otras causas
<p><b>pH&lt;7,3 después de resucitación con fluidos o todos los siguientes criterios:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-INR&gt;6,5</li> <li>-Creatinina&gt;3,4 mg/dl</li> <li>-Encefalopatía grado III/IV</li> </ul>	<p><b>INR&gt;6,5 o al menos 3 de los siguientes:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Edad&lt;10 o &gt;40 años</li> <li>-Toxicidad por fármacos</li> <li>-Coma&gt;7 días tras la ictericia</li> <li>-INR &gt;3,5</li> <li>-Bilirrubina&gt;17,5 mg/dl</li> </ul>

INR, international normalized ratio.(Modificado de O'Grady, Postgrad Med J 2005;81:148–154).

## 1.4 Contraindicaciones absolutas y relativas al trasplante hepático

La identificación de candidatos apropiados a TH es un proceso complejo que requiere un abordaje multidisciplinar. Hay que ponderar cuidadosamente consideraciones médicas y psicosociales, así de poder realmente beneficiar al mayor número de pacientes.

Las contraindicaciones absolutas para el trasplante (de hígado y generalmente también de otros órganos sólidos) son aquellas condiciones que implican una reducida expectativa de vida, con un pronóstico a corto plazo malo con o sin trasplante. Además, es importante seleccionar pacientes que tengan una posibilidad aceptable de superar el estrés de la agresión quirúrgica. Se consideran contraindicaciones absolutas: 1) enfermedad neoplásica diseminada; 2) enfermedad infecciosa no controlada a pesar de tratamiento antimicrobiano adecuado (se pueden aceptar pacientes VIH+, sin criterios de SIDA, con carga viral indetectable y recuento de

CD4>100) y 3) enfermedad cardiopulmonar avanzada que suponga un riesgo excesivo para la cirugía (coronariopatía no revascularizable, condiciones de hipoxemia severa). Una situación psicosocial desfavorable (adicción activa a sustancias, enfermedad psiquiátrica no controlada, falta de apoyo familiar) que haga difícil el seguimiento post-trasplante y/o el cumplimiento del tratamiento de inmunosupresión, también ha de considerarse una contraindicación absoluta al trasplante.

En cuanto a las contraindicaciones relativas, están en un proceso de revisión continua y pueden variar según el Centro; además, pueden al menos en parte corregirse antes del trasplante. En general, entran en este apartado la edad superior a 70 años, (o a 65 en presencia de comorbilidad), la obesidad extrema o la caquexia, la arteriosclerosis avanzada y los problemas anatómicos no corregibles técnicamente antes del o durante el trasplante. La presencia de trombosis o hipoplasia portal son ejemplos de estos problemas. La Tabla 1.3 resume las principales contraindicaciones absolutas y relativas al TH.

**Tabla 1.3 Principales contraindicaciones al trasplante hepático.**

<b>Contraindicaciones absolutas</b>	<b>Contraindicaciones relativas</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enfermedad cardiopulmonar grave</li> <li>• Daño cerebral irreversible</li> <li>• Sepsis o infección activa no controlada</li> <li>• SIDA o VIH+ con CD4&lt;100 o viremia detectable</li> <li>• Neoplasia extrahepática sin criterios de curación</li> <li>• Extensa trombosis portomesentérica sin posibilidades técnicas de reconstrucción portal</li> <li>• Situación psicosocial desfavorable</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Edad &gt;70 años</li> <li>• Fallo de órgano no corregible (en el caso de fallo renal, se puede considerar para doble trasplante hepato-renal)</li> <li>• Escasa compliancia médica</li> <li>• Obesidad extrema (IMC&gt;40 kg/m<sup>2</sup>) o caquexia (IMC&lt;19 kg/m<sup>2</sup>)</li> <li>• Problemas técnicos o anatómicos (considerar tener otro receptor en "paralelo")</li> <li>• Enfermedad psiquiátrica grave o retardo mental severo</li> </ul>

IMC, índice de masa corporal. SIDA, síndrome de la inmunodeficiencia adquirida; VIH, virus de la inmunodeficiencia humana. (Modificado de: Busuttill, Klintmalm, Transplantation of the liver, 3era edición).

## 1.5 Tipos de donación hepática

---

Se considera donación hepática “estándar” aquella de órgano entero procedente de un donante en muerte encefálica (aquellos sin actividad demostrable cerebral o sin riego cerebral demostrable). En los últimos años y en manera creciente, se están utilizando provechosamente también órganos procedentes de donante tras determinación circulatoria de muerte, o sea tras una parada cardio-respiratoria (también definidos donantes en asistolia, o a corazón parado). Estos donantes se dividen según la clasificación de Maastricht en el tipo I, cuando la parada ocurre fuera del hospital, tipo II, cuando una parada hospitalaria no logra una reanimación eficaz, tipo III, cuando la parada está planificada y provocada intencionalmente en pacientes sin muerte cerebral, pero con pronóstico vital infausto, y tipo IV, cuando la parada ocurre de manera inesperada en un donante en muerte encefálica. El tipo V es una modalidad de donación introducida en los últimos años tras la aceptación como donantes de pacientes tras un procedimiento de muerte asistida (eutanasia)(21). Los últimos tres tipos, III, IV y V, se consideran asistolias controladas, en cuanto se puede medir el tiempo efectivo de isquemia caliente de los órganos (desde la hipoperfusión tras la parada hasta el comienzo de la preservación en frío), que no debería superar los 20-30 minutos. Los donantes tipo III constituyen en España aproximadamente un 20-30% de las donaciones efectivas y los resultados, en el caso de utilizar técnicas de perfusión regional normotérmica oxigenada (ECMO) para disminuir el tiempo de isquemia caliente después de la parada y mantener los órganos abdominales perfundidos, no parecen inferiores a aquellos alcanzados con donantes en muerte encefálica(22). Otras herramientas a disposición de algún Centro son las *máquinas de perfusión normotérmica* (MPN) que permiten testar el comportamiento de los injertos durante varias horas en condiciones casi fisiológicas antes de decidir su viabilidad para el implante, o la *perfusión hipotérmica oxigenada* (HOPE), que ha demostrado poder reducir la incidencia de disfunción precoz del injerto (EAD, desde la sigla inglés de Early Allograft Dysfunction) y potencialmente de complicaciones biliares y de rechazo agudo(23)

La bipartición del hígado (*split*) es una técnica que aprovecha la división segmentaria del hígado para recabar dos injertos parciales independientes, que podrán ser implantados en dos receptores (habitualmente uno de edad pediátrica que recibirá el sector lateral del lóbulo hepático izquierdo, y otro adulto, que recibirá el lóbulo hepático derecho). Los donantes utilizados en estos casos tienen que presentar características “óptimas” (edad inferior a 40 años, sin factores de riesgo cardiovasculares y ausencia de esteatosis) y, además, debe comprobarse la factibilidad de la bipartición con una colangiografía que excluya anomalías biliares.

La utilización de *donantes vivos* para trasplante en adultos se basa en la experiencia de partición adquirida con el donante *split* cadavérico, y ofrece la ventaja de poder trasplantar a un paciente hipotéticamente en mejores condiciones (evitando la lista de espera) y con un injerto de un donante “ideal” y que ha sufrido mínimo tiempo de isquemia. Los principales inconvenientes de esta técnica son el riesgo de mortalidad del donante, estimado entre el 0,3 y el 0,5%, y la dificultad añadida de disponer de un injerto parcial (hemihígado derecho o izquierdo), con vasos más pequeños y anastomosis más complejas. La correcta selección y “matching” de donante y receptor son claves para minimizar los riesgos para el donante y garantizar resultados satisfactorios en esta técnica.

La técnica denominada *domino* se puede realizar cuando se trasplantan pacientes afectados por alguna patología metabólica (la más frecuente es la polineuropatía amiloidótica familiar), cuyo hígado se utiliza como injerto para otro paciente, con la expectativa de que este último no desarrolle la enfermedad metabólica, o, que ésta tenga mínimos efectos durante la vida del paciente.

## 1.6 Selección del donante en muerte encefálica

---

La muerte encefálica genera una cascada proinflamatoria debida a una masiva liberación de citoquinas en el torrente circulatorio. Se producen, en el donante potencial, unas alteraciones fisiopatológicas hemodinámicas y metabólicas que pueden poner en riesgo la misma validez de los órganos. A nivel cardiocirculatorio, la pérdida del tono simpático causa una caída de las resistencias periféricas con shock hipovolémico, arritmias, hipoperfusión e inestabilidad hemodinámica, que hace necesario un soporte con drogas vasoactivas en la mayoría de los donantes. Otras alteraciones significativas son la coagulopatía secundaria a la necrosis neuronal y a la liberación de factores fibrinolíticos, la acidosis metabólica, la hiponatremia y la hipotermia. Una vez que se considera la donación, es fundamental, por un lado, un esfuerzo en preservar la viabilidad de todos los órganos con medidas específicas, y por otro, coordinar de manera eficaz y rápida la donación para que ésta se lleve a cabo antes de que se produzcan daños irreversibles en los órganos. Una vez identificado un donante potencial, hay que valorar en conjunto sus características y encontrar un receptor compatible en base, en líneas generales, a la compatibilidad de grupo sanguíneo entre donante y receptor (que puede ser idéntica o compatible), y la diferencia de tamaños (no debiéndose superar el 20% de discrepancia en peso).

Es fundamental obtener una historia completa del donante para conocer sus antecedentes, con especial énfasis en consumo de alcohol o drogas, tumores o patología hepatobiliar, causa de la muerte, acontecimientos hemodinámicos (paradas, hipotensión, dependencia de fármacos vasoactivos), presencia de infección activa y tiempo de hospitalización previo a la donación. La edad del donante no se considera actualmente un factor limitante, aunque es conocido que los hígados añosos tienen peor tolerancia al daño de isquemia-reperfusión, como veremos más adelante, además del aumentado riesgo de arteriosclerosis con la consecuente fragilidad vascular, y de neoplasias desconocidas.

La esteatosis hepática, cada vez más presente en la población donante, es otro factor de riesgo para el fracaso del injerto. En muchas ocasiones se suele detectar con una ecografía previa a la

donación, aunque a veces es necesario cuantificarla mediante una biopsia intraoperatoria realizada durante la cirugía de extracción: se puede aceptar un grado de esteatosis macrovesicular inferior al 40%. La biopsia por congelación puede resultar de utilidad también para filiar lesiones hepáticas o extrahepáticas, o para determinar el grado de fibrosis, por ejemplo, en casos de donantes VHC+.

En cuanto a los tumores de los donantes, se pueden aceptar carcinomas basocelulares de piel y algunos tumores cerebrales sin enfermedad a distancia. En general, también se aceptan donantes que hayan tenido neoplasias malignas (excepto los melanomas) que lleven al menos 5 años desde el tratamiento oncológico y no tengan datos de recidiva. Hay que tener precaución con los tumores de mama y pulmón, que tienen un potencial metastásico más impredecible, recomendándose al menos 10 años de tiempo de curación.

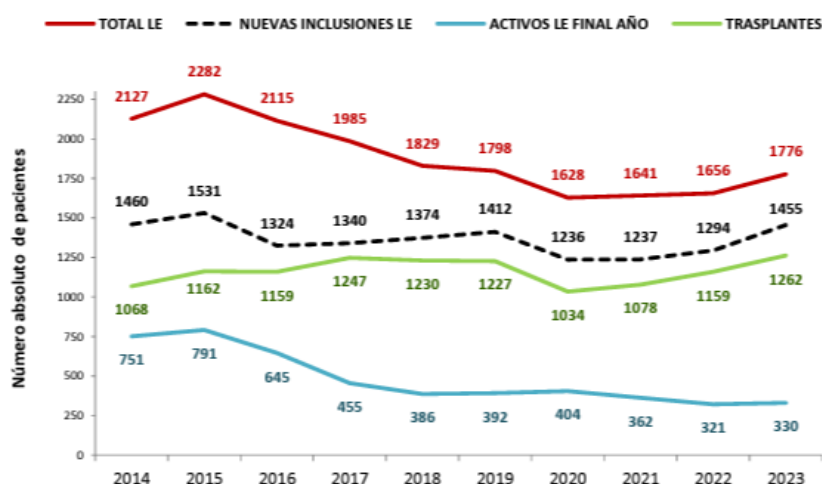
Finalmente, para la valoración de la validez de un injerto hepático, además de todas las variables que se han descrito anteriormente y que han de ser conocidas, es considerada clave la inspección “de visu” y palpación directa de un cirujano experto que juzgará el aspecto, la consistencia, calidad de la perfusión y de los vasos del injerto, y que ponderará los riesgos, en base también al grado de fragilidad y/o gravedad del receptor escogido.

### 1.6.1 Criterios expandidos de donación

Existe una discrepancia entre los pacientes en lista de trasplante y el número de donantes disponibles. Aunque con cierta disparidad en el territorio nacional, España ha visto disminuir prácticamente a la mitad, desde el año 2016, el número de pacientes activos en lista de espera de TH a consecuencia de los efectos de la curación de muchos pacientes de la infección por VHC gracias a los nuevos tratamientos antivirales. Sin embargo, la expansión de las indicaciones (mayores de 65 años, nuevas indicaciones oncológicas, aumento de la cirrosis por causas

metabólicas) ha ido incrementando las nuevas inclusiones en los últimos años. De tal manera, al final de cada año los pacientes en lista de espera superan aproximadamente de un 20% el número de trasplantes realizados (Figura 1.1).

**Figura 1.1** Evolución de la lista de espera de trasplante hepático. España 2014-2023.



Fuente: ONT. Actividad de donación y trasplante hepático en España 2023(24)

Gracias a los notables avances en la técnica quirúrgica y anestésica, en la inmunosupresión y en el manejo de las complicaciones, ha sido posible definir estrategias para ampliar al máximo el pool de donantes existentes, manteniendo buenos resultados de supervivencia(25). Estas políticas de ampliación del pool de donantes, conducen muchos equipos de trasplante a un esfuerzo enorme en términos de tiempo, coste y trabajo, en el intento de valorar presencialmente muchos injertos “límite” o marginales, de los cuales solo una parte será utilizable. En España, según los datos de la ONT del 2023, la tasa de rechazo del injerto debido a calidad subóptima en el contexto de donación en muerte encefálica, ha ido aumentando progresivamente en los últimos 10 años pasando del 25 al 30% (24). La razón de una proporción tan alta de órganos valorados y finalmente rechazados por mala calidad es múltiple: por un lado, las mejoras en el tratamiento médico y quirúrgico de los pacientes neurocríticos y en el manejo

de los pacientes con isquemia cerebral en el entorno extrahospitalario, “seleccionan” como potenciales donantes los pacientes biológicamente más frágiles. Por otro lado, el aumento de la edad de los donantes (con una mediana en España de aproximadamente 60 años), la epidemia de obesidad y la incidencia de síndrome metabólico, el consumo previo o actual de alcohol, estimado en más del 20% en la población donante española(3), repercuten en la calidad de los injertos ofrecidos para valoración.

La utilización de injertos con criterios expandidos (ECD), también denominados subóptimos o marginales, hace referencia a la utilización de órganos que no cumplen las características de órgano ideal pero que sí reúnen las suficientes para garantizar el correcto funcionamiento del injerto. Se consideran ECD, tanto criterios relativos a un aumentado riesgo de transmisión de enfermedades al receptor, como son los injertos procedentes de donantes con serología positiva para VHC y/o anticuerpos contra el antígeno del *core* del VHB, o donantes con neoplasias, como aquellos con características intrínsecas asociadas a mayor riesgo de pérdida del injerto. Estas características se han identificado en la amplia base de datos del grupo “Eurotrasplant”(27). Según su definición, que al día de hoy es la más utilizada en literatura, se considera tener criterios expandidos cualquier donante que cumpla una de estas características:

- edad superior a 65 años;
- estancia en UCI con ventilación mecánica >7 días;
- esteatosis hepática >40%;
- sodio plasmático >165 mmol/L;
- alanina-aminotransferasa (ALT) >105 U/L;
- aspartato-aminotransferasa (AST) >90 U/L;
- bilirrubina plasmática >3 mg/dL.

En los siguientes subcapítulos analizaremos más en el detalle los principales criterios expandidos de donación.

## Edad del donante

Con el envejecimiento, el hígado sufre unos cambios morfológicos y fisiológicos reseñables. En primer lugar, su masa relativa al resto del peso corporal va disminuyendo (efecto más marcado en la mujer que en el hombre), llegando a pesar un 20-40% menos en el anciano respecto al joven adulto. La morfología hepática en el anciano puede modificarse por cierto grado de fibrosis capsular y por las improntas dejadas por la pared torácica. A nivel microscópico, los hepatocitos muestran un aumento de la ploidía, asociado a vacuolización de los núcleos, y una disminución del número de mitocondrias, pero con aumento de su volumen unitario. Paralelamente, aumenta la presencia intracelular de lipofuscina, un pigmento compuesto por polímeros de lípidos y fosfolípidos, derivados de la peroxidación de lípidos poliinsaturados, índice de un mayor exposición a estrés oxidativo y de una reducida capacidad de degradar proteínas dañadas o desnaturalizadas(28). La presencia de lipofuscina parece favorecer la formación de radicales tóxicos del oxígeno, debido a su capacidad de atraer cationes metálicos(29).

A nivel circulatorio, el flujo sanguíneo hepático disminuye de hasta un 50% en la octava década de vida(30), de manera secundaria también a la disminución del volumen del órgano. Además, disminuyen las fenestraciones endoteliales a nivel sinusoidal.

El hígado se considera uno de los órganos que sufren en menor medida la reducción de funcionalidad asociada con la edad, visible en otros órganos, posiblemente por su elevado potencial de regeneración. Aun así, hay que destacar algún cambio que se produce con el envejecimiento. En primer lugar, la reducción del metabolismo de ciertos fármacos en los pacientes ancianos se debe en parte a la mencionada disminución de flujo hepático (efecto de primer paso), y, en parte, a la reducción de la actividad del citocromo P450 (el grupo principal de enzimas implicadas en el metabolismo de los fármacos) de alrededor del 30% en los mayores de 70 años(31). Además, con la edad, se ha demostrado una discreta disminución de la síntesis

de albumina y de gama-glutamil traspeptidasa, conjuntamente con un aumento de la concentración de bilirrubina.

La capacidad de regeneración del hígado empeora con la edad. Los mecanismos a la base de este fenómeno son complejos: por un lado se ha demostrado una disminución del factor de crecimiento epidérmico (EGF), conjuntamente con el empobrecimiento en los hepatocitos de su receptor específico y con déficits de señalización interna(32). Otro mecanismo, demostrado en ratas, implicado en la reducida capacidad de proliferación hepática, podría ser la inhibición de la cinasa ciclina-dependente, tras interacción con un complejo proteico que se expresa en mayor cantidad en los hepatocitos de animales ancianos(33).

En varias series, la edad del donante se ha asociado a pérdida del injerto y a peores resultados post-trasplante sobre todo a expensas de problemas biliares(34,35). El mecanismo patogenético a la base de las complicaciones biliares (sobre todo estenosis) es la extrema susceptibilidad del epitelio biliar al inevitable insulto isquémico que sufre el injerto durante la fase de extracción y preservación. Numerosos estudios experimentales han puesto en asociación el envejecimiento celular con la mayor susceptibilidad al daño hepático por isquemia-reperfusión (I-R)(36–38). El daño endotelial por I-R parece ser la causa principal de la mayor tasa de no función primaria (PNF) o disfunción precoz del injerto (o EAD, desde el acrónimo inglés de Early Allograft Dysfunction) encontrada en los injertos añosos (39).

Históricamente, la edad del donante se ha considerado un factor de riesgo claro en los receptores infectados por VHC(34), asociándose a fibrosis acelerada tras recidiva viral y a menor supervivencia del injerto y del paciente(40). Sin embargo, tras la introducción de los DAA para el tratamiento del VHC, y la posibilidad de curar los pacientes trasplantados antes de que la hepatitis recidive en el injerto, la edad del donante posiblemente haya perdido su relevancia en este contexto.

Es importante reseñar que con los años ha ido cambiando el concepto de “donante mayor”, pasando de mayores de 50-60 años en los años '90 y '2000, a mayores de 70 y 80 años en los últimos 10 años. En los estudios más recientes, los resultados de los trasplantes con donantes más mayores no son paradójicamente diferentes de los realizados con donantes más jóvenes, mientras sí eran peores en las primeras publicaciones, aún con *cut-off* de edad más bajo(41). Estos mejores resultados se deben a varios factores: tiempos de isquemia más reducidos, mejor selección de los donantes (evitando de sumar factores de riesgo añadidos a la edad del donante), mejor selección de los receptores (evitando en estos casos pacientes con MELD elevado o VHC positivos) y nuevas técnicas de preservación dinámica.

#### Esteatosis hepática

Se distinguen dos tipos principales de infiltración grasa del parénquima hepático:

1. esteatosis macrovesicular, en la cual una vesícula, de tamaño superior al del núcleo, desplaza el núcleo celular hacia la periferia de la célula;
2. esteatosis microvesicular, en la que se acumulan pequeñas vesículas lipídicas que no desplazan el núcleo y dan a la célula una apariencia espumosa.

Mientras la esteatosis macrovesicular tiene un peso importante en los resultados del trasplante, estando relacionada con una peor tolerancia a la isquemia, la microvesicular, independientemente de la cuantía, no parece estar asociada a peor función del injerto(42). En el contexto de la donación, la manera más práctica y frecuente de cuantificar la esteatosis, es a través del análisis microscópico de una biopsia congelada en fresco y teñida con hematoxilina y eosina. Se considera normal la presencia de hasta el 5% de grasa en peso neto del hígado. El esquema más utilizado, clasifica la esteatosis (macrovesicular) en leve cuando es por debajo del 30%, en moderada, comprendida entre 30 y 60%, y severa, por encima del 60%.

La infiltración grasa del hígado es un hallazgo frecuente en los donantes hepáticos y generalmente no suele expresarse en alteraciones bioquímicas o clínicas. Un estudio del grupo de la Universidad de Los Ángeles, EEUU, pudo demostrar que la inspección visual durante la extracción y la determinación de determinadas características del injerto por parte de un cirujano experto, se relacionaban con precisión a la presencia de más del 30% de esteatosis macrovesicular, confirmada por patólogos(43). Estas características son la presencia de bordes romos, el tono amarillento y la ausencia de estrías en la superficie hepática tras la perfusión fría. Existen varias posibles explicaciones, no excluyentes, de la mayor susceptibilidad a la isquemia de las células esteatósicas. Los lípidos, principalmente triglicéridos, se acumulan en vacuolas en el espacio citoplasmático, comprimiendo y deformando los espacios sinusoidales y así constituyendo un mecanismo de aumento de la resistencia portal intrahepática y de una incorrecta difusión de las soluciones de preservación y de la sangre del receptor durante la reperfusión(44). Además, la aumentada resistencia podría ser secundaria también al daño endotelial causado por la agregación de neutrófilos y a la segregación de proteasas y radicales libres en los hígados grasos(45). Otro mecanismo posiblemente implicado en el fracaso de los injertos esteatósicos es el “atasco” sinusoidal por glóbulos adiposos (fenómeno llamado lipopeliosis), debido a la disrupción de la membrana celular tras el daño isquémico(46). Durante la isquemia caliente y la preservación fría, el hepatocito sufre una depleción de fosfatos de alta energía (ATP) y genera ácido láctico, siendo este uno de los mecanismos principales de daño por I-R. Fukumori et al. (47), pudieron demostrar, en un modelo de rata obesa, que el mecanismo a la base de la pérdida energética es la brusca caída de la ATPasa mitocondrial durante la preservación fría de los hígados esteatósicos.

En cuanto a los resultados del TH, la esteatosis macrovesicular leve (<30%), no ha demostrado asociación a peor supervivencia del injerto(48). Sin embargo, diferentes estudios han demostrado peores resultados del trasplante cuando se utilizan injertos con esteatosis macrovesicular moderada (30-60%), con mayor riesgo de fracaso primario o disfunción precoz

del injerto(49–52). Algún trabajo también señala un mayor requerimiento de derivados de la sangre y mayor estancia hospitalaria y en UCI, cuando se trasplantan pacientes con injertos esteatósicos(53). Finalmente, injertos con esteatosis severa (>60%) se consideran de elevado riesgo, con tasas inaceptables de fracaso del injerto. Hay que reseñar, sin embargo, que en estudios más recientes se han reportado resultados más alentadores utilizando donantes con esteatosis moderada e incluso severa, pero siempre y cuando se minimicen otros factores de riesgo (edad de donante y receptor, MELD del receptor, tiempo de isquemia fría y el haber tenido un trasplante previo)(48).

En un estudio italiano que incluía 117 pacientes trasplantados(54), una macroesteatosis del injerto superior al 25%, se mostró ser factor independiente de riesgo de complicaciones biliares (fistulas y estenosis). El mecanismo patogenético parece depender del deficiente flujo sanguíneo en el hígado esteatósico.

#### Donantes virémicos

Diferentes estudios han descrito resultados favorables de trasplantes con donantes infectados por VHC, VHB o HTLV-1/2. Los injertos de donantes con RNA positivo para VHC, y que no hayan desarrollado inflamación severa o fibrosis se han utilizado en receptores que ya presentaban hepatitis por VHC, con resultados equiparables a receptores que recibían injertos VHC negativos(55,56). En estos casos, es imprescindible realizar una biopsia preventiva del injerto para descartar la presencia de inflamación severa o fibrosis. En presencia de tales características, la tasa de rechazo es aproximadamente el doble que en donantes VHC negativos(57). La disponibilidad de un tratamiento altamente eficaz, de duración limitada y bien tolerado para el tratamiento del VHC (los AAD), ha permitido aumentar la utilización de donantes VHC+ en los últimos años, a pacto de tener accesibilidad a AAD de manera precoz tras el trasplante(58). En

muchos Países, incluida España, todavía no se acepta el trasplante de injertos VHC+ en receptores HCV-, debido a la existencia de cepas multirresistentes que podrían no ser tratables.

La utilización de injertos procedentes de donantes con anticuerpos frente al antígeno *core* del VHB y antígenos de superficie del HBV negativos (infección resuelta), se han utilizado con éxito durante varias décadas(59), a pacto de reservarlos para receptores VHB positivos (especialmente aquellos HBsAg positivos), o VHB negativos, realizándose una adecuada profilaxis antiviral para evitar la reactivación del virus. El riesgo de la utilización de estos injertos es el desarrollo de hepatitis B *de novo* en el receptor, desencadenado por el estado de inmunosupresión post-trasplante.

En una revisión sistemática de 19 estudios en los que se utilizaron donantes anti-HBc positivos, se reportó una tasa de infección *de novo* del 3,4% en los receptores *naive* para el VHB que habían recibido profilaxis antiviral (incluido el uso de lamivudina), mientras se encontró que los receptores que eran anti-HBsAg positivos tenían un riesgo insignificante de infección por el VHB *de novo*, así de poder considerar obviar la profilaxis en este último grupo(60).

El uso de hígados de donantes HBsAg positivos (infección aguda o crónica) está menos establecido en Occidente, y es practicado sobre todo en Asia, donde es alta la prevalencia del VHB. Se requiere, en este caso, la ausencia de coinfección por el virus de la hepatitis Delta (VHD), ya que la infección por el VHD no se puede prevenir eficazmente con los antivirales actuales, y puede progresar rápidamente después del TH(61).

Finalmente, se ha llevado a cabo con éxito el uso de órganos de donantes VIH positivos y del coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2), lo que representa la expansión más reciente de los donantes virémicos.

### 1.6.2 Valor de la radiología en la valoración de los donantes hepáticos

La ecografía abdominal es, en la mayoría de los casos, la única prueba de imagen dirigida al hígado que se realiza antes de la donación. Su amplia aceptación y utilización se debe a que se trata de una prueba no invasiva, de fácil ejecución a pie de cama del potencial donante y generalmente siempre realizable, también en el contexto de relativa inestabilidad hemodinámica asociada a la muerte encefálica. Por un lado, la ecografía puede proporcionar una información valiosa sobre el tamaño, la forma y estructura del hígado: típicamente el hígado esteatósico aparece de mayor tamaño, con bordes más romos y más brillante en las imágenes ecográficas en modo B, en comparación con el parénquima renal, debido a la mayor ecogenicidad de la grasa intracelular. La categorización radiológica de la esteatosis hepática en leve, moderada o severa depende tanto de la calidad de la imagen, como de la experiencia del radiólogo que la lleva a cabo. En el contexto de la donación, el radiólogo suele habitualmente hacer referencia a presencia o ausencia de hiperecogenicidad hepática, sin dar una graduación cuantitativa. Fuera del contexto del TH, en un estudio prospectivo para determinar el papel radiológico en la estimación de la esteatohepatitis no-alcohólica (EHNA), el valor predictivo positivo de la ecografía para determinación de esteatosis superior al 30%, sucesivamente verificado con una biopsia, se valoró solo en un 62%(62). Hay que tener en cuenta que la ecografía es técnicamente más demandante en los pacientes obesos, justamente la población más a riesgo de presentar esteatosis, por la peor penetración de los ultrasonidos a través del pániculo adiposo de la pared abdominal.

La tomografía computerizada (TC) sin contraste ofrece una elevada precisión en la determinación de esteatosis hepática macrovesicular, tanto en donantes vivos como en cadavéricos. Utilizando un cociente entre la atenuación hepática (medida en unidades de Hounsfield) frente a aquella del bazo de 0.9, Rogier et al. (63) pudieron identificar la presencia de esteatosis al menos moderada con una sensibilidad del 79% y una especificidad del 97%. Si

bien la TC presenta una clara superioridad frente a la ecografía en cuanto no solo a la determinación de esteatosis, sino también a la identificación y caracterización de tumores sólidos, quistes o malformaciones vasculares y a la determinación de morfología y contorno hepático, su empleo en el ámbito de la donación, al menos en España, se encuentra limitado por los problemas logísticos de movilizar un paciente en muerte encefálica (con necesidad de ventilación mecánica y con variable grado de inestabilidad hemodinámica).

La resonancia magnética (RM) es capaz de detectar con elevada sensibilidad (72-100%) y especificidad (92-96%) la esteatosis hepática(64) (aunque sin poder distinguir entre esteatosis micro y macrovesicular), basándose en la capacidad de distinguir entre la señal de la grasa frente a la del agua. Sin embargo, hay varios inconvenientes que hacen inviable realizar una RM en el contexto de la donación, tratándose de una técnica no siempre disponible, con compleja logística y que requiere tiempo.

### 1.6.3 Valor de la biopsia hepática en la determinación de la calidad del injerto

La realización de una biopsia por congelación realizada durante el procedimiento de extracción se considera actualmente todavía el “gold standard” para detectar daño estructural del injerto cual fibrosis, necrosis, presencia de infiltrado inflamatorio, y, sobre todo, determinar el tipo de esteatosis (micro- o macrovesicular) y cuantificarla con una estimación visual. En un estudio pionero norteamericano del principio de los años '90(65), la exclusión de 27 injertos de 385, previa al trasplante, gracias a los hallazgos histológicos de una biopsia en cuña sacada durante la extracción y analizada tras congelación, pudo reducir la tasa de fallo primario del injerto hasta un 1,4% (frente al 8,5% registrado en la época precedente a la realización de las biopsias). Sin embargo, la valoración mediante biopsia de los injertos hepáticos en España no ha encontrado una aplicación uniforme ni constante debido a los siguientes inconvenientes:

1. La dificultad logística de disponer de patólogos expertos de alerta de 24 horas para realizar la lectura de las biopsias;
2. El riesgo de tener que aumentar el tiempo de isquemia fría a la espera del resultado histológico;
3. La mayor dificultad en interpretar biopsias por congelación (por ejemplo, distinguir entre vacuolas de grasa y artefactos de corte) en comparación con biopsias normalmente fijadas en formalina y embebidas en parafina, que puede llevar a una importante variabilidad inter e intra-observador y, en definidas cuentas, la no-reproducibilidad de la prueba(66,67);
4. La variabilidad de los hallazgos histológicos según la zona de muestreo;
5. Las complicaciones relacionadas con la toma de la biopsia, que pueden aumentar la morbilidad del trasplante (hemorragia o fístula biliar).

En un trabajo retrospectivo, Fiorentino et al.(68) compararon el resultado de 294 biopsias por congelación realizadas en el momento del TH, con una revisión del mismo material tras fijación y análisis definitivo diferido por patólogos expertos. Además, relacionaron los hallazgos histológicos en fresco con el desarrollo de disfunción primaria del injerto en 122 pacientes seguidos tras el trasplante. Por protocolo, los Autores descartaban para el implante todos los injertos con >30% de esteatosis macrovesicular. Entre los resultados del estudio, destaca que el 12.5% de los casos clasificados de macroesteatosis >30% en el análisis intraoperatorio, se estaba en realidad sobreestimando, según el análisis definitivo. En cuanto a los resultados del TH, se encontró que la esteatosis en la biopsia intraoperatoria (macrovesicular y total) era predictora de disfunción primaria a la semana, mientras todos los otros parámetros analizados en la biopsia (inflamación portal, engrosamiento miointimal, presencia de necrosis lobulillar, intensidad de la colestasis, presencia de polimorfismo hepatocelular, presencia de almacenamiento de lipofuscina y presencia de tabiques fibrosos) no tenían relevancia en los resultados a corto y largo plazo del trasplante.

Otros estudios estadounidenses(69–71) pusieron de manifiesto el interés, también en términos de ahorro económico, de realizar biopsias percutáneas pre-extracción en los donantes de mayor riesgo (mayores, con historia previa de consumo de alcohol u otras adicciones, obesos o con serología positivas para virus hepatotrópos) para detectar presencia de cirrosis, fibrosis, necrosis o esteatosis. Sin embargo, esta práctica no se ha adoptado en España, debido a razones logísticas y, posiblemente, al miedo a posibles complicaciones.

#### 1.6.4 Índices de riesgo para la valoración de los donantes hepáticos

Como se ha argumentado, varias características de los donantes se han asociado a una peor función y supervivencia del injerto. El Donor Risk Index (DRI), puesto a punto por Feng et al.(34) en el año 2006, partiendo de la extensa cohorte de la “American Organ Procurement and Transplantation Network” (OPTN), constituyó un primer intento de dar un peso específico, gracias a un modelo estadístico, de cara al riesgo de fracaso del injerto, a algunas características de los donantes (la edad, la talla y la raza) y a otros factores, como la causa y el tipo de muerte (en asistolia o en muerte encefálica), el tipo de injerto (órgano entero o partido) y otros datos relacionados con la logística del trasplante (si local o regional, horas de isquemia fría).

La ecuación para calcular el DRI es la siguiente:

**Donor Risk Index** =  $\exp[(0.154 \text{ si } 40 \leq \text{edad} < 50) + (0.274 \text{ si } 50 \leq \text{edad} < 60) + (0.424 \text{ si } 60 \leq \text{edad} < 70) + (0.501 \text{ si } 70 \leq \text{edad}) + (0.079 \text{ si causa de muerte} = \text{anoxia}) + (0.145 \text{ si causa de muerte} = \text{ACV}) + (0.184 \text{ si causa de muerte} = \text{otra}) + (0.176 \text{ si raza} = \text{afro-americana}) + (0.126 \text{ si raza} = \text{otra}) + (0.411 \text{ si donante en asistolia}) + (0.422 \text{ si injerto parcial}) + (0.066 ((170 - \text{talla})/10)) + (0.105 \text{ si oferta regional}) + (0.244 \text{ si oferta nacional}) + (0.010 \times \text{tiempo de isquemia})]$ .

El valor de la ecuación da resultados generalmente comprendidos entre 0.0 y 2.0, y permite crear grupos de donantes que muestran un gradual aumento de riesgo de fallo del injerto a partir de los 3 meses, a medida que aumenta el DRI. Además, los Autores observaron que, cuando el valor de DRI superaba 1.5 puntos, los injertos eran descartados más de 2 veces más que cuando el DRI era inferior o igual a 1.1. Este modelo sirvió, por ejemplo, para poder entender el peso de determinados factores de los donantes en específicas categorías de receptores (por ejemplo, con cirrosis por VHC, retrasplante o pacientes con MELD bajos), o para valorar las prácticas de matching donante-receptor según el riesgo percibido por cada donación. Otra interesante aplicación de este índice es la valoración objetiva en el tiempo de cómo ha evolucionado la calidad de los donantes. Sin embargo, su aceptación y utilización en la práctica clínica no ha sido universal, debido a diferentes razones, siendo la principal la inclusión en la ecuación de un factor no conocido antes de llevar a cabo el trasplante, o sea el tiempo de isquemia fría. Además, hay que resaltar que el DRI no incluye variables que sí se han demostrado tener impacto en el riesgo de fallo primario del injerto, como por ejemplo el grado de esteatosis macrovesicular.

En el año 2012, se intentó adaptar el DRI al contexto europeo, extrapolándose los datos del registro "Eurotrasplant" (que incluye Austria, Bélgica, Croacia, Alemania, Luxemburgo, Países Bajos y Eslovenia). El Eurotrasplant-DRI(72) incluye todas las variables de DRI, excepto la raza y la talla del donante. Además, se añadieron otras 2 variables: la gama-glutamyl transpeptidasa y si la oferta es para trasplante urgente, mientras la variable de localización de la oferta se modificó.

Otro índice para predecir la supervivencia del injerto, el UK- Donor Quality Index (73), se ha desarrollado más recientemente a partir del registro de trasplante del Reino Unido, incluyendo exclusivamente variables del donante conocidas cuando se oferta el órgano, es decir, sin incluir el tiempo de isquemia: edad, talla, sexo, historia de tabaquismo, bilirrubina, tipo de donación (en muerte encefálica o en asistolia) y tipo de injerto (completo o parcial).

Independientemente de la utilidad de estas herramientas para estandarizar y medir los riesgos relativos a un determinado donante, hay que también tener en cuenta un factor asociado con diferencias de volumen regionales y de cada centro trasplantador, que pueden influir en los resultados del trasplante: centros con mayor volumen suelen tener mayor presión en lista de espera y mayor capacidad de asumir órganos de riesgo más elevado con resultados aceptables(74).

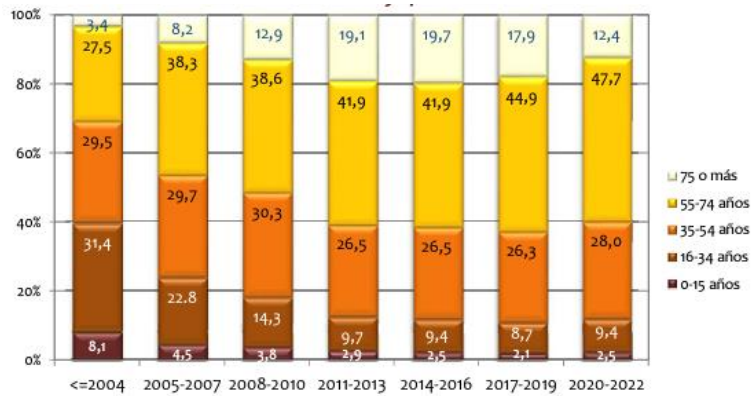
En la actualidad, no existe un gold-standard objetivo para aceptar o descartar un injerto hepático. La decisión es tomada por el cirujano trasplantador, que tiene en cuenta simultáneamente el aspecto macroscópico y la consistencia del hígado (antes y después de la perfusión fría), los antecedentes médicos del donante, los eventos hemodinámicos previos a la extracción, con evolución de las enzimas hepáticas y, si disponible, el resultado de la biopsia. Esta decisión está inevitablemente influenciada por la presión de la lista de espera local y el riesgo percibido de un específico matching donante-receptor. Como factor añadido de complejidad, la creciente disponibilidad de máquinas de perfusión dinámica ex-situ para la preservación de hígados con criterios expandidos está cambiando los criterios actuales de utilización de los injertos y la aceptación final para el trasplante. La suma de todos estos componentes hace que la decisión del cirujano sea, de alguna manera, empírica y difícil de estandarizar entre los diversos Centros de trasplante.

#### 1.6.5 Situación actual de la donación hepática en España

En España la mediana de edad de los donantes hepáticos se sitúa alrededor de los 60 años(26). Como se ve en la gráfica de la Figura 1.2, los donantes mayores de 75 años han pasado de menos del 5% a principio de los años 2000, hasta alrededor de un 20% en la primera mitad de los años '10 del siglo XXI. Sin embargo, a partir del año 2016, se ha asistido a una gradual disminución de la utilización de donantes mayores de 75 años. Por un lado, esta tendencia se puede explicar por los efectos de la introducción de los antivirales de acción directa para el tratamiento de la

hepatitis viral por VHC y de una concomitante disminución de la presión en la lista de espera de TH, y, por otro, por el impacto de la pandemia de COVID-19 en el año 2020. Ambos factores podrían haber determinado una mayor selección de los donantes, descartando primeramente los más añosos.

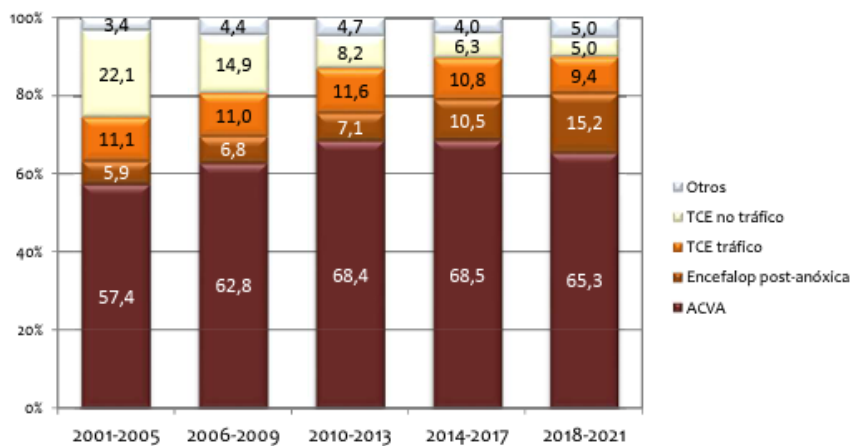
**Figura 1.2** Evolución temporal de la edad de los donantes hepáticos en España



Fuente: Memoria RETH 2022(3)

En cuanto a la causa de muerte de los donantes en España, en casi las dos terceras partes se debe a accidentes cerebro-vasculares, como ictus isquémicos o hemorrágicos, en un 15% a encefalopatía post-anóxica, y en otro 15% a traumatismo craneo-encefálico (Figura 1.3).

**Figura 1.3** Evolución temporal de la causa de muerte de los donantes en España.



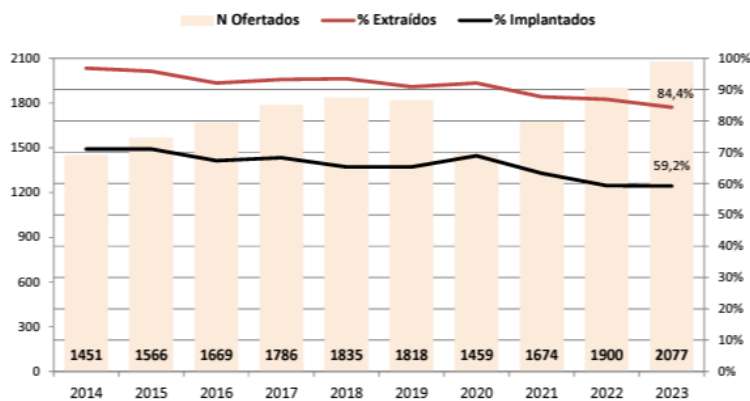
Fuente: Memoria RETH 2022(3)

La proporción de los donantes hepáticos en asistolia ha ido creciendo en España de forma gradual pero constante en los últimos 10 años, pasando de un 4% en el año 2014, hasta un 38% en el año 2023, siendo la parte restante (62%), los donantes en muerte encefálica.

Siempre en el año 2023, según los datos recogidos en la memoria anual de actividad de donación y trasplante de la ONT(24), el 48% de los donantes sufría hipertensión arterial, y el 20% estaba en tratamiento por diabetes mellitus.

De 2077 injertos hepáticos ofertados en el año 2023 en España, los equipos trasplantadores descartaron de entrada (tras información telefónica) el 15.6%, en base a criterios clínicos, analíticos o radiológicos. Por otro lado, de los 1752 donantes hepáticos que los equipos decidieron ir a valorar de manera presencial, se descartaron “in situ” 545 injertos (31.1%) (Figura 1.4).

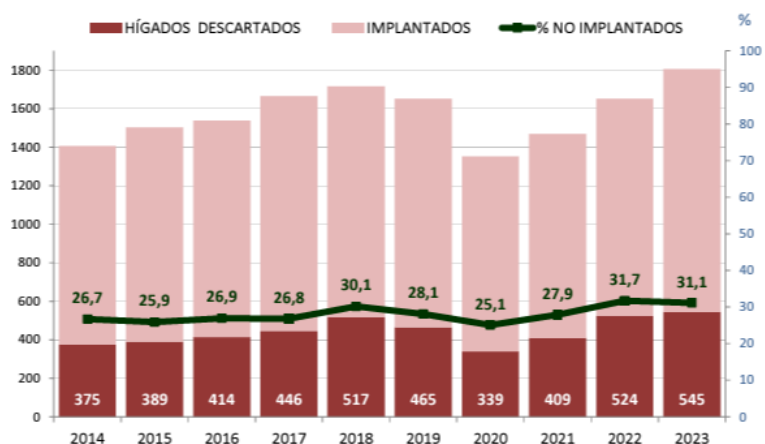
**Figura 1.4** Evolución de donantes ofertados de hígado y porcentaje de donantes eficaces y utilizados del total ofertados en España (2014-2023).



Fuente: Actividad de donación y trasplante hepático. España 2023(24)

Como se ilustra en la Figura 1.5, la tasa de descarte ha ido subiendo (exceptuando el periodo pandémico) gradualmente en los últimos 10 años de aproximadamente 5 puntos porcentuales.

**Figura 1.5** Injertos hepáticos valorados presencialmente y no implantados. España (2014-2023).



Fuente: Actividad de donación y trasplante hepático. España 2023(24)

En la tabla 1.4, se muestran las causas de rechazo referida al año 2023 recogidas por la ONT. Antes de valorar estos datos, hay que remarcar que casi el 40% de las causas (incluidas en categorías como “otras” o “sin especificar”), no se recogen de manera exacta. Las razones principales de rechazo son achacables a la calidad intrínseca del injerto (aspecto macroscópico esteatósico o fibrótico, mala perfusión, resultado de biopsia, presencia de hepatopatía), llegando a sumar casi el 80% del total.

**Tabla 1.4** Causas de rechazo de hígados valorados presencialmente (España 2023).

	N	%
<b>Aspecto Macroscópico</b>	<b>374</b>	<b>68.6</b>
Sin Especificar	132	24.2
Esteatosis	107	19.6
Ateromatosis	35	6.4
Mala perfusión	57	10.5
Fibrosis	31	5.7
Isquémico	12	2.2
<b>Cirrosis / hepatopatía</b>	<b>27</b>	<b>5</b>
<b>Biopsia</b>	<b>17</b>	<b>3.1</b>
<b>Tumor fuera del órgano valorado</b>	<b>17</b>	<b>3.1</b>
<b>Problemas anatómicos</b>	<b>11</b>	<b>2</b>
<b>Problema quirúrgico durante la extracción</b>	<b>9</b>	<b>1.7</b>
<b>Tumor en el órgano valorado</b>	<b>5</b>	<b>0.9</b>
<b>Otras</b>	<b>85</b>	<b>15.6</b>

Fuente: Actividad de donación y trasplante hepático. España 2023(24)

Finalmente, siempre según los datos difundidos por la ONT, considerando el conjunto de donantes de los últimos 9 años en España, se ve que la probabilidad de que un injerto se descarte es significativamente superior en los pacientes más añosos, en los varones, en los donantes con hipertensión arterial, diabetes, con historia actual o pasada de consumo de alcohol y tabaco, cuando la ecografía antes de la donación es patológica y en los donantes en asistolia (Tabla 1.5).

**Tabla 1.5** Porcentaje de trasplantes realizados de los injertos valorados según las características del donante (España 2014-2023).

	Total hígados extraídos	% trasplante	p*
<b>Grupo de edad (años)</b>			<b>&lt;0.001</b>
<18	343	88.6%	
18-29	628	81.8%	
30-44	1553	80.9%	
45-59	4356	74.6%	
60-69	3809	69.1%	
≥70	5000	64.8%	
<b>Sexo</b>			<b>&lt;0.001</b>
Hombre	8817	69.5%	
Mujer	6872	73.8%	
<b>Grupo sanguíneo</b>			0.106
A	6940	70.7%	
O	6899	71.6%	
B	1361	72.4%	
AB	489	75.3%	
<b>Hipertensión</b>			<b>&lt;0.001</b>
No	7295	78.3%	
Sí	7539	65.1%	
<b>Diabetes</b>			<b>&lt;0.001</b>
No	11095	75.4%	
Sí	2748	58.1%	
<b>Alcoholismo</b>			<b>&lt;0.001</b>
No	10507	73.7%	
Ex bebedor	294	63.3%	
Moderado (<50 gr/día)	740	65.1%	
Importante	399	58.9%	
<b>Hábito tabáquico</b>			<b>&lt;0.001</b>
Nunca	8277	73.7%	
Ex fumador	2097	65.6%	
Actual	3939	72.4%	
<b>ECO hepática</b>			<b>&lt;0.001</b>
Normal	10171	73.5%	
Patológica	1661	54.7%	
<b>Tipo de donante</b>			<b>&lt;0.001</b>
Muerte encefálica	12312	72.8%	
Asistolia	3377	66.3%	

\*Chi cuadrado (corrección de Fisher si necesario)

Fuente: Actividad de donación y trasplante hepático. España 2023(24)

## 1.7 El verde de indocianina

---

### 1.7.1 Farmacología del verde de indocianina

El ICG es un colorante hidrosoluble, fluorescente, perteneciente a la familia de las tricarbocianinas. Tras su inyección en el torrente sanguíneo, se une a las proteínas plasmáticas de manera casi completa (principalmente a albúmina, alfa-1 y beta-lipoproteínas) y alcanza un volumen de distribución muy cercano al volumen plasmático. Los efectos adversos son muy raros y las solas contraindicaciones conocidas son el uso en pacientes con tirotoxicosis y con alergia a yodo (por una liberación histamínica no inmunomediada)(75). En los individuos sanos, el ICG muestra una elevada extracción hepática a través de dos polipeptidos co-transportadores asociados a la membrana sinusoidal. El ICG se excreta finalmente a través de los canalículos biliares de forma no-conjugada (sin ser metabolizado) a través de bombas ATP-dependientes, llamadas MDRP2 (multidrug resistance associated protein-2) y MDR3 (multidrug resistance-3). Una vez expulsado en el intestino con la bilis, no se produce recirculación entero-hepática(76). En condiciones de flujo arterial hepático normales, el aclaramiento plasmático (el volumen de plasma que es depurado de una determinada sustancia en la unidad de tiempo) del ICG depende principalmente, entonces, de la absorción activa sinusoidal y de la excreción canalicular biliar. La ausencia de metabolismo y de recirculación enterohepática apoya la correlación entre la cinética de eliminación de ICG y la función hepática. El tercer parámetro que influye mayormente en el aclaramiento de ICG es el flujo hepático, siendo fisiológicamente la extracción hepática muy elevada (aproximadamente del 70%). Por esta razón, la medición del aclaramiento de ICG es una derivada tanto de la función hepática intrínseca, cuanto de su flujo arterial, y solo es fiable como medida de la función en una situación hemodinámica relativamente estable(77). El ICG se empezó a utilizar desde el principio de los años '60 para medir el volumen sanguíneo circulante y el gasto cardiaco(78), explotando su cinética de eliminación, mientras, en años más

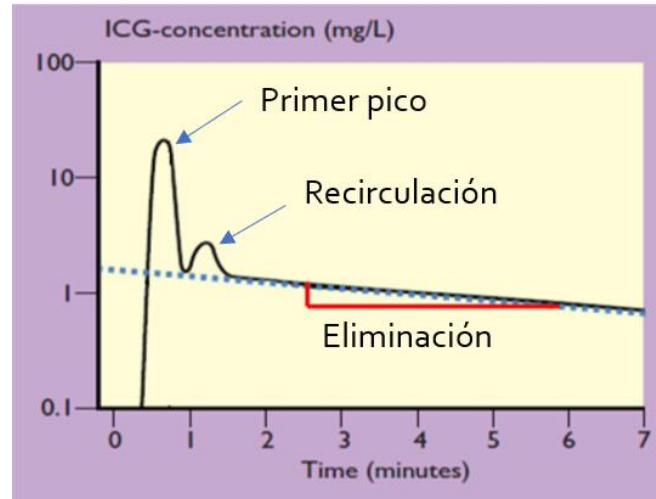
recientes, los parámetros de aclaramiento del ICG se usan principalmente para medir la función hepática tanto en contexto médico como quirúrgico(75).

Clásicamente, la determinación del aclaramiento de ICG se basaba en un análisis fotométrico ex vivo de muestras hemáticas secuenciales obtenidas durante aproximadamente 15 minutos tras la administración intravenosa. Una evolución sucesiva fue el uso de catéteres intravenosos dotados de sensores de fibras ópticas. Actualmente, la concentración de ICG se realiza de manera más barata y menos invasiva, mediante el uso de transductores transcutáneos digitales, conectados a pequeñas consolas, que miden la concentración de ICG plasmática a través de densitometría pulsada del colorante (PDD -pulse dye densitometry- en inglés). Este método aprovecha la distinta absorción de luz infrarroja, con dos diferentes longitudes de onda, 805 nm (pico de absorción del ICG) y 905 nm (nula absorción de ICG), para calcular la medición de las concentraciones relativas de ICG. Los dispositivos comercialmente más utilizados son actualmente el módulo LiMon (Pulsion Medical System, Alemania) y DDG 2001 (Nihon Kohden, Japón). La principal condición que se requiere para una medida correcta es una suficiente perfusión capilar periférica para que se detecte el trazado con suficiente calidad, pudiendo ser inviable en pacientes con elevadas dosis de vasopresores o en shock severo. Otra eventualidad que puede impedir la medición es la presencia de uñas artificiales que impidan la lectura del sensor digital.

La inyección intravenosa de un bolo de ICG de 0.25 o 0.5 mg/kg de peso corporal, produce un pico inicial de concentración, seguido de otro (o varios) picos más pequeños de recirculación (Figura 1.6), y finalmente una fase de decaimiento (que corresponde a la eliminación hepática), que puede durar hasta 20 minutos. Después de transformación logarítmica del eje Y (que representa la concentración plasmática), la fase de eliminación sigue una cinética lineal (por una dosis de hasta 1 mg/kg de peso) representada por una línea recta con una pendiente negativa, que representa el valor  $k$  o el ICG-PDR (plasma disappearance rate), expresado en %/min. A través de extrapolación de esta línea en el punto de tiempo “cero” se obtiene la concentración

inicial de ICG y es posible calcular la estimación de concentración a los 15 minutos (también definida ICG-R15).

**Figura 1.6** Curva de concentración en el tiempo de Verde de Indocianina, con eje Y logarítmico. El triángulo en rojo representa la caída de concentración por unidad de tiempo.



Modificado de: Sakka et al. (79)

Se considera que los valores normales para el aclaramiento de ICG y ICG-PDR son  $> 500$  ml/min/m<sup>2</sup> o  $> 18\%/min$ , respectivamente. El ICG-PDR y ICG-R15 son las variables clínicamente más utilizadas para describir la función hepática.

En caso de disfunción/enfermedad hepática, se registra habitualmente una prolongación de la vida media plasmática del ICG. En el paciente cirrótico, la disminución del tiempo de aclaramiento del ICG, parece ser dependiente tanto de una reducción de la extracción hepática, como de un mayor obstáculo al flujo. Este fenómeno es determinado por la presencia de capilarización sinusoidal, con formación de *shunts* intrahepáticos (que desvían el flujo), y por el engrosamiento de la membrana basal (dificultando el paso de las proteínas de elevado peso molecular, y en consecuencia del ICG)(80). En individuos que sufren un fallo hepático agudo o esteatohepatitis, la liberación de citocinas (principalmente el factor de necrosis tumoral alfa e interleucina 6) por parte de las células reticuloendoteliales (de Kuppfer), es capaz de inhibir

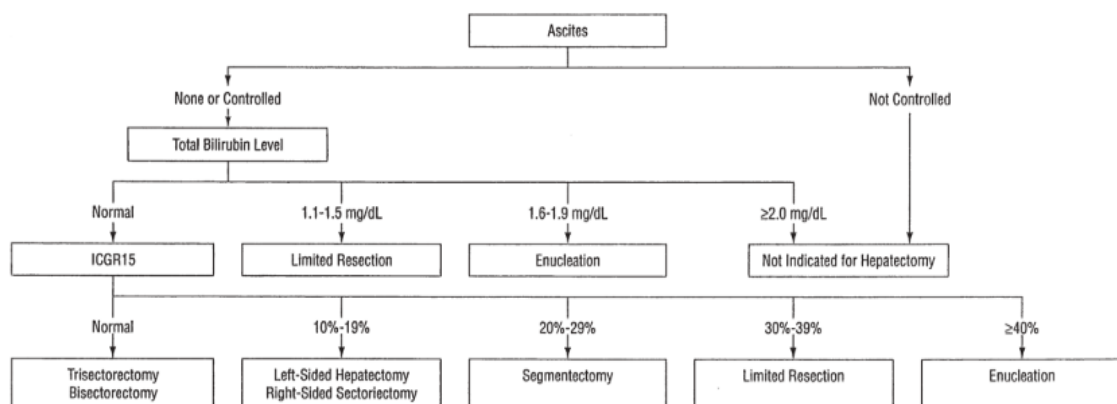
la expresión de los transportadores de aniones orgánicos, reduciendo así la capacidad de absorción hepática de ICG(81).

La capacidad de transporte se inhibe competitivamente en caso de hiperbilirrubinemia, dado que el ICG y la bilirrubina comparten el mismo *carrier* (MDRP2)(82). En sujetos con bilirrubina plasmática superiores a la norma no es por lo tanto fiable la medición de ICG, aunque no haya datos concluyentes en literatura de cuál pueda ser un límite aceptable(83,84).

### 1.7.2 Principales aplicaciones del test de aclaramiento del verde de indocianina en cirugía hepática y trasplante

La valoración de la función hepática preoperatoria mediante un test dinámico como el aclaramiento del ICG, se ha demostrado útil, más que otros parámetros de función hepática, para predecir el riesgo de insuficiencia hepática y de mortalidad tras hepatectomía en los pacientes con hepatopatía crónica(85,86). El test de ICG se incorporó, por el grupo japonés de Makuuchi de la Universidad de Tokyo, en un algoritmo decisional(80) (que incluía, además, la bilirrubina plasmática), para planificar la extensión de las hepatectomías en pacientes con hepatopatía crónica (Figura 1.7).

**Figura 1.7** Algoritmo decisional para resecciones hepáticas en pacientes con reserva hepática alterada.



Fuente: Imamura et al. (80)

Siguiendo este algoritmo, por ejemplo, una hepatectomía derecha podría ser tolerada, siempre que la bilirrubina sea normal, cuando el ICG-R15 preoperatorio es inferior a 10%. Para pacientes con ICG-R15 de 10 a 19%, solo un tercio del parénquima hepático podría ser resecado (correspondiente a una hepatectomía izquierda o resección sectorial derecha (equivalente a 2 segmentos hepáticos). Cuando el ICG-R15 está comprendido entre el 20 y el 29%, solo se podría realizar una segmentectomía (un sexto del parénquima), mientras si supera el 30%, se recomiendan solo resecciones limitadas. El cumplimiento de este protocolo en el Hospital donde se concibió, permitió prácticamente anular la mortalidad tras resección hepática en pacientes con función hepática muy deteriorada(87). Sin embargo, en años más recientes y con el perfeccionamiento de técnicas para lograr hipertrofia del remanente hepático previas a la resección quirúrgica como embolización portal, portal y suprahepática (dual) o la radioembolización hepática con Ytrio90, los criterios de Makuuchi podrían ser considerados hoy demasiado restrictivos.

La relación estrecha entre volumen hepático y función a través de la eliminación de ICG, se pudo demostrar de forma brillante con un interesante estudio de Ogochi et al.(88), en el que se encontró una relación directa entre el volumen del remanente hepático (calculado previamente a la cirugía con una volumetría basada en el TC preoperatorio) y la constante de eliminación ICG  $k$ , calculada en el paciente el primer día postoperatorio.

En el campo del TH, el ICG se ha demostrado útil en las varias fases, desde el proceso de donación (que veremos en detalle en el siguiente subcapítulo), hasta la valoración precoz de la función del injerto.

En el ámbito de las nuevas tecnologías de perfusión dinámica de los injertos hepáticos, se ha estudiado el aclaramiento de ICG en el líquido de perfusado y en la bilis de hígado de ratas tras 10 horas de perfusión hipotérmica y de preservación estática en frío, demostrando una función superior en la primera situación(89). Solo dos trabajos experimentales, hasta la fecha, han investigado la aplicación del ICG en hígados humanos perfundidos con máquinas en condiciones

sub-normotérmicas(90) y normotérmicas(91), pero sin llegar a validar esta técnica para establecer la viabilidad de cara a la implantabilidad.

Una experiencia clínica más sólida se ha acumulado en lo que concierne la determinación de aclaramiento de ICG en el contexto post-TH. Se ha demostrado en varios estudios que un valor peor de aclaramiento de ICG se asocia a EAD, no función primaria, trombosis arterial y mortalidad post-TH (92–94). Sin embargo, su utilización es muy dependiente de la institución y no están estandarizados ni los valores de *cut-off*, ni el momento exacto de medición tras el TH.

### 1.7.3 Experiencias previas de valoración de los donantes con el test de aclaramiento del verde de indocianina

Las primeras experiencias de determinación de ICG en los donantes hepáticos en muerte encefálica se publicaron a principio de los años '90. En un estudio prospectivo, Koneru et al. (95) ponían en relación el ICG-PDR calculado en 58 donantes con el método de seriación plasmática, utilizando una dosis elevada (5mg/kg) de ICG, con varios parámetros histológicos de daño hepático y con datos indirectos de disfunción post-trasplante y no función primaria. Los investigadores encontraron que el valor de ICG-PDR se asociaba de manera inversa al score histológico y a la edad del donante, pero no a otros parámetros analíticos del donante. En los 44 injertos que se implantaron, se observó que un PDR < 10 %/min en el donante, se asociaba con un tiempo de protrombina del receptor significativamente superior y con una tendencia a mayor incidencia de no-función primaria. A estos resultados prometedores, se sumó un estudio conducido por el grupo alemán Wesslau et al.(96), también promovido por la necesidad de encontrar un criterio objetivo para valorar la viabilidad de un injerto de cara al trasplante. En su estudio se midió el ICG-PDR en 41 donantes con un método de termodilución, a través de un catéter endovascular dotado de una sonda capaz de captar variaciones térmicas, de oximetría y de temperatura (Pulsion Z-021), tras inyección de 10 ml de ICG a cero grados. Los Autores observaron de manera retrospectiva que, de los 21 injertos que aceptaron para implantar, solo

2 tenían un PDR<15 %/min y justamente esos dos dieron lugar a un fallo del injerto. De manera complementaria, 17 de los 20 injertos descartados resultaron tener un PDR<15 %/min. Otro estudio alemán de Zots et al.(97), del mismo periodo, valoró en 51 trasplantes la posible relación de tres test dinámicos de función hepática realizados en los donantes (eliminación de ICG, lidocaína y galactosa) en el desarrollo de disfunción del injerto (definida como tiempo de protrombina alargado al 4º día o fibrinógeno disminuido hasta el 7º día post-trasplante). Ninguno de los 3 test en los donantes pudo predecir, de manera clara y con la suficiente precisión, el desarrollo de mala función del injerto.

En los veinte años sucesivos a estas primeras experiencias no se publicaron más trabajos que estudiaran las posibles aplicaciones del ICG en los donantes hepáticos, posiblemente debido a las dificultades técnicas y logísticas de medición. En el año 2015, Zarrinpar et al.(98) de la Universidad de Los Angeles (UCLA), en EEUU, ya contando con los modernos equipos de medición transcutánea digital, estudió la asociación del ICR-PDR en 53 donantes con la supervivencia del injerto a 7 días. Los Autores incluyeron en los injertos “no supervivientes” tanto los 11 hígados descartados para implante por mala calidad, como los 2 que se implantaron, pero que acabaron en muerte del receptor a la semana del trasplante. El ICG-PDR del donante resultó ser la única variable del donante asociada a la no supervivencia del injerto. Otro estudio publicado en China más recientemente (Tang et al.(99)) es, hasta la fecha, el que reúne al mayor número de donantes. Los Autores utilizaron una dosis de 0,5 mg/kg de ICG en 94 donantes 6 horas antes de la donación y estudiaron la incidencia de muerte del receptor o necesidad de retrasplante a los 3 meses tras el trasplante. Solo 4 injertos en esta serie fueron descartados debido a mala calidad (hay que tener en cuenta que la edad media de los donantes en este estudio fue de solo 31 años) y todos aquellos descartados tenían valores de R15 patológicos (superior al 19 %). De los 90 hígados implantados, 13 dieron lugar a fracasos del injerto y muerte del receptor a los tres meses. Las variables asociadas a mayor riesgo de fracaso del injerto fueron el ICG-R15 del donante, el tiempo de isquemia fría y el MELD del receptor.

Como resumido en la Tabla 1.6, hay mucha heterogeneidad en cuanto a objetivos, metodología y población de los estudios citados, que hacen difícil interpretar los resultados. Además, ninguno de estos estudios ha sido validado externamente para su posible aplicación en la práctica clínica.

**Tabla 1.6** Resumen de las experiencias previas de medición del aclaramiento de ICG en donantes hepáticos en muerte encefálica.

Estudio	País	Periodo de estudio	Nº de donantes	Edad de los donantes	Dosis de ICG	Método de medición aclaramiento ICG	Objetivos	Principales resultados del estudio	Limitaciones
Koneru et al (95) (1993)	EE.UU.	N/D	58	Media: 30.8 años	5 mg/kg (dosis de estrés)	Muestras plasmáticas (7) en los primeros 14 minutos. Medición de [ICG] con densitometría óptica.	Valorar relación de ICG con histología y función post-trasplante	TP más elevado en pacientes con injertos con PDR<10 %/min PDR significativamente relacionado con score histológico y edad del donante	14 donantes de injertos descartados con PDR no descrito
Wesslau et al. (96) (1994)	Alemania	N/D	41	Rango: 8.5-60.3 años Mediana: 35.5 años	10 ml de ICG a 0°C	Cateter intravascular (Pulsion Z-021)	Valorar si el test de ICG puede servir para decidir si trasplantar o no un injerto	No diferencia en parámetros de laboratorio ni hemodinámicos entre donantes con PDR<15 y >15%/min ICG-PDR <15%/min en el 85.7% de los injertos descartados. No función primaria en los 2 injertos trasplantados con PDR<15%/min	Incluye donantes pediátricos.
Zots et al. (97) (1997)	Alemania	1991-1993	51	Rango: 32-36 años	0.5 mg/kg	Muestras plasmáticas secuenciales (12 en los primeros 60 minutos)	Valorar precisión de test de ICG, Lidocaína (MEGX) y galactosa en los donantes para predecir función post-trasplante (TP día 4 y fibrinógeno el día 7).	No diferencia de vida media de ICG entre injertos con "buena" versus "mala" función. El metabolismo de la lidocaína (MEGX) se asocia con la función hepática, pero la precisión es baja para justificar el uso clínico.	Método de medición difícil de reproducir. Definición arbitraria de mala función post-TH.
Zarrinpar et al. (98) (2015)	EE.UU.	N/D	53	Mediana: 47.5 años	0.25 mg/Kg	Spectrofotometría de pulso digital (LIMON (PULSION Medical Systems, Munich, Germany).	Valorar asociación entre PDR del donante con "no-supervivencia" del injerto (descarte o pérdida del injerto a los 7 días)	ICG-PDR<19.3%/min asociado a no supervivencia del injerto Seis donantes con PDR<19.3 %/min →post-operatorio normal.	No clara aplicación clínica.
Tang et al. (99) (2017)	China	2015-2016	94	Media: 31.1 años	0.5 mg/kg	Spectrofotometría de pulso digital (DDG-3300K, Japan)	Valorar asociación entre ICG-R15 y el fracaso del injerto a los 3 meses.	Donantes con ICG-R15> 11.0% tenían una supervivencia del injerto más baja a 3 meses. 4 donantes de 94 se descartaron por mala calidad (todos con un ICGR15>19.7%)	Aclaramiento de ICG solo expresado en R15

ICG-PDR, "indocyanine green plasma disappearance rate"; ICG-R15, indocyanine green retention rate a 15 minutos  
MEGX, test de aclaramiento de la lidocaína (Monoetilglicinaxilidide); N/D, no descrito; TH, trasplante hepático; TP, Tiempo de protrombina.

## 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### 2.1 Fundamentos conceptuales de las hipótesis

---

La función hepática es múltiple: incluye principalmente absorción, síntesis, biotransformación y eliminación. El test de aclaramiento de ICG es una prueba dinámica funcional que da una medida tanto de la perfusión, así como de la absorción y eliminación hepática, de manera rápida, reproducible, objetiva y relativamente económica(81).

Como hemos argumentado en la introducción, la selección de los donantes hepáticos es un proceso complejo, en el cual el cirujano valora simultáneamente varios factores de riesgo del donante (edad, antecedentes, eventos pre-donación) además del aspecto macroscópico del injerto (color, bordes, consistencia, calidad de la perfusión fría). La decisión de aceptación o rechazo de un injerto es crítica para el éxito final del trasplante.

En este estudio se ha querido explorar la utilidad del test de aclaramiento de ICG, determinado por medio de espectrofotometría digital en los donantes hepáticos en muerte encefálica, tanto como predictor de la decisión de descarte de los injertos por los cirujanos extractores, así como de riesgo de disfunción y de pérdida del injerto a corto plazo.

La colangiopatía del injerto representa unas de las complicaciones más frecuentes a medio y largo plazo tras el TH, causa tanto de morbilidad como de pérdida del injerto. La etiología más frecuente de la colangiopatía deriva del daño isquémico que sufre el injerto y su árbol biliar desde la extracción hasta la reperusión(100). Existe alguna evidencia de que el aclaramiento de ICG pueda dar una medida de la susceptibilidad del injerto al daño por isquemia y reperusión(101), y pueda, por lo tanto, predecir el desarrollo de la colangiopatía.

## 2.2 Hipótesis

---

- El test de aclaramiento de ICG, realizado mediante espectrofotometría digital en los donantes hepáticos en muerte encefálica, predice el descarte de los injertos por parte de los cirujanos extractores. En los donantes válidos para trasplante, predice la disfunción precoz del injerto, la pérdida del injerto al mes del trasplante y el desarrollo de colangiopatía.

## 2.3 Objetivos

---

### 2.3.1 Objetivo principal

- Demostrar la utilidad del test de aclaramiento de ICG como herramienta para descartar los injertos hepáticos, buscando un punto de corte con la suficiente especificidad que evite rechazar a priori órganos potencialmente viables.

### 2.3.2 Objetivos secundarios

1. Evaluar la correlación entre la tasa de aclaramiento del ICG del donante y la presencia de alteraciones histológicas de los injertos descartados, valoradas por especialistas anatómopatólogos.
2. Determinar la utilidad del aclaramiento del ICG de los donantes como predictor de disfunción precoz del injerto o pérdida del injerto al mes del trasplante.

- 3.** Estudiar la correlación entre el valor de ICG-PDR del donante y el desarrollo de colangiopatía del injerto.
  
- 4.** Valorar si la variación de aclaramiento del ICG entre el donante y el receptor se relaciona con el desarrollo de disfunción precoz del injerto.

## 3. MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.1 Diseño del estudio

---

Estudio prospectivo observacional multicéntrico. El estudio se divide en cuatro partes o bloques, que consideran diferentes cohortes poblacionales:

- **Parte 1ª:** se ha realizado con los donantes en muerte encefálica evaluados por el equipo quirúrgico de trasplante hepático del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM), desde marzo de 2017 hasta agosto de 2023. Esta primera cohorte de donantes ha servido como grupo de desarrollo y validación interna del modelo predictivo.
- **Parte 2ª:** a partir de marzo de 2021 y hasta mayo de 2023 otras tres Unidades de trasplante hepático de España, se adhirieron al protocolo y reclutaron una segunda cohorte de donantes utilizados para validación externa del modelo predictivo.
- **Parte 3ª:** en la tercera parte del estudio se ha considerado una única cohorte de donantes, compuesta por las dos cohortes descritas anteriormente, valorando:  
a) los resultados anatómo-patológicos de los injertos y su relación con el valor de aclaramiento de ICG; b) la posible influencia del valor de aclaramiento de ICG de los donantes en los resultados a corto plazo del trasplante, incluyendo el desarrollo de disfunción precoz del injerto (a la semana post-operatoria) y de pérdida precoz del injerto (en el primer mes tras el trasplante).
- **Parte 4ª:** exclusivamente en los pacientes trasplantados en el centro promotor del estudio (HGUGM), se ha realizado un subanálisis para determinar:

1. Como varía el valor de aclaramiento de ICG entre el momento de la extracción en el donante hasta el momento sucesivo al implante en el receptor.
2. Evaluar si el aclaramiento de ICG del donante interviene como factor de riesgo para el desarrollo de colangiopatía del injerto.

### 3.2 Centros participantes

---

- Centro promotor: Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid.  
  
Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo,  
  
Unidad de Trasplante Hepático
- Centros externos colaboradores:
  - Hospital Universitario "Río Hortega", Valladolid;
  - Hospital Universitario "Virgen de las Nieves", Granada;
  - Hospital Universitario "Nuestra Señora de Candelaria", Santa Cruz de Tenerife.

### 3.3 Sujetos de estudio

---

- Donantes hepáticos de órgano entero, en muerte encefálica, valorados de manera presencial por el equipo de trasplante. La cohorte de desarrollo no incluye todos los donantes consecutivos valorados en el periodo de estudio, habiéndose incluido solo aquellos valorados por los dos cirujanos del equipo quirúrgico responsables del estudio (los Dres. José Manuel Asencio y Sergio Cortese).
- Todos los receptores de trasplante hepático, de cuyos donantes se hubiera realizado la medición de aclaramiento de ICG en el periodo de estudio, y que hubieran firmado el consentimiento informado para participar en el estudio.

### 3.3.1 Criterios de inclusión

- Donantes hepáticos de órgano entero, en muerte encefálica, de edad superior a 18 años, ofertados en todo el territorio nacional.
- Disponibilidad de personal y del equipo de medición del verde de indocianina.
- Receptores de edad superior a 18 años, en lista electiva o urgente (“código cero”) de trasplante hepático, con independencia de la indicación.

### 3.3.2 Criterios de exclusión

#### Para los donantes

- Edad del donante inferior a 18 años.
- Alergia al yodo.
- Donantes en asistolia (Maastricht tipo III o V).
- Donante cuyos injertos se utilizaron para técnica “split” (partición del injerto).
- Injertos seleccionados para tratamiento con máquinas de perfusión dinámica ex situ (HOPE o NMP) tras la extracción.

#### Para los receptores

- Alergia al yodo.
- Retrasplante urgente (por fallo del injerto) o electivo.
- Trasplante combinado (hepático y renal, hepático y cardiaco, multivisceral).

### 3.4 Metodología utilizada para la determinación del aclaramiento del verde de indocianina

---

El valor de aclaramiento plasmático de ICG se ha obtenido en el quirófano del hospital donde se realizaba la extracción, por parte del equipo quirúrgico. La dinámica era la siguiente: el donante procedente de la unidad de cuidados intensivos correspondiente, con intubación orotraqueal y ventilación mecánica, era transferido a la mesa de quirófano y conectado al respirador del quirófano. El test de aclaramiento de ICG se realizaba de manera no invasiva, en los minutos anteriores a la ejecución de la laparotomía para el procedimiento de extracción.

Para una correcta medición, tienen que cumplirse las siguientes condiciones:

- 1) la relativa estabilidad hemodinámica del donante: se acepta el empleo de una o más drogas vasoactivas, siempre y cuando no se requieran modificaciones rápidas de su ritmo de infusión. Es preciso comprobar, además, la ausencia de infusión rápida de fluidoterapia, o la transfusión concomitante de concentrados de hematíes;
- 2) una saturación de O<sub>2</sub> adecuada (normalmente superior al 90%) y una correcta perfusión y temperatura de las extremidades del donante. Cuando alguna de estas condiciones no se cumple, el aparato da señal de error y no se puede proceder a la medición.

Se ajusta al dedo índice del donante un sensor con espectrofotómetro digital Módulo LiMON®, Pulsion/Getinge, conectado o bien al monitor Pulsioflex® Pulsion/Getinge (portátil) (Figura 3.1A) o bien al monitor PiCCO2®, Pulsion/Getinge (a disposición en los quirófanos del HGUGM) (Figura 3.1B).

**Figura 3.1** Aparatos de medición del aclaramiento del verde de indocianina utilizados en la cohorte de desarrollo. A, equipo portátil Pulsioflex® conectado al sensor LIMON®; B, equipo PiCCO2®, presente en los quirófanos del Centro promotor.



Cuando el aparato detecta una correcta señal, la pantalla del monitor da un mensaje de que es posible iniciar la medición de aclaramiento de ICG. Se procede así a la inyección en bolo por vía intravenosa de 0.25 mg/kg de peso del donante, del colorante inerte ICG (ICG-Pulsion® Medical Systems, Alemania), tras su reconstitución con 10 ml de agua destilada. Tras un tiempo de 5-10 minutos, el aparato lleva a cabo, de manera automática, la medición del aclaramiento del colorante, indicando en la pantalla el valor de ICG-PDR (velocidad de aclaramiento plasmática, expresado en %/min) y el ICG-R15 (estimación del porcentaje todavía no aclarado a los 15 minutos, expresado en %). Ambos valores se registraban en el cuaderno de recogida de datos (CRD, Anexo E) por parte de los médicos residentes que participan habitualmente a la extracción, y quedaban desconocidos para el cirujano responsable de la extracción, hasta determinar la validez o el rechazo final del órgano. Finalizada la medición, se procedía a la laparotomía y a la valoración del injerto según la práctica habitual (descrita más adelante).

La técnica de medición requiere una mínima experiencia (2 o 3 casos supervisados por un tutor) para conocer el funcionamiento del aparato y los requerimientos especificados anteriormente. Puede realizarlo tanto personal médico como de enfermería.

### 3.5 Variables del donante

---

Toda la información del donante (excepto los parámetros del test de ICG) es proporcionada por el coordinador local de trasplante, que entrega al equipo extractor un informe médico. Las variables requeridas se recopilan en el CRD, e incluyen:

- Datos demográficos y biométricos: edad, género, talla, peso, índice de masa corporal, perímetro abdominal, grupo sanguíneo.
- Historia de eventos previos a donación: parada cardíaca, uso de drogas vasoactivas en las 24 horas previas a la donación, días de ingreso en unidad de cuidados intensivos/reanimación, causa de muerte (accidente cerebrovascular/trauma/anoxia u otra), fecha de extracción.
- Antecedentes médicos del donante: incluyendo factores de riesgo cardiovascular (hipertensión arterial, diabetes, dislipemia, consumo actual o previo de tabaco) serología viral y otros antecedentes relevantes.
- Últimos datos de laboratorio disponibles: incluyendo bilirrubina total, aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), gama-glutamil transpeptidasa (GGT), fosfatasa alcalina (FA), sodio, creatinina, recuento de plaquetas, glóbulos blancos y hematíes.
- Resultado de la ecografía: clasificándose como “patológica” cuando se describe al menos uno de los siguientes hallazgos: alteración de la ecogenicidad por infiltración grasa, bordes o contornos irregulares, atrofias/hipertrofias lobares o segmentarias.

Un donante se definió tener criterios extendidos (ECD) cuando, según los criterios del grupo Eurotrasplant(27), presentaba con al menos una de las siguientes características: edad > 65 años, ventilación mecánica > 7 días, IMC > 30, esteatosis hepática > 40%, Na > 165 mmol/L, ALT > 105 U/L, AST > 90 U/L, bilirrubina plasmática > 3 mg/dL.

### 3.6 Técnica de extracción y valoración del injerto

---

La técnica de extracción hepática utilizada, originalmente descrita por Thomas Starzl en 1984, con alguna modificación sucesiva(102), se compone de tres fases que se describirán brevemente. La incisión utilizada es en forma de cruz, para garantizar una amplia exposición de los órganos abdominales. En la primera fase, el cirujano valora las características macroscópicas del injerto en base a cinco parámetros:

1. Aspecto general del hígado con especial énfasis en la presencia de esteatosis (color amarillento, hepatomegalia) o fibrosis (consistencia dura al tacto).
2. Superficie: normal o nodular.
3. Bordes hepáticos: romos o finos.
4. Presencia de lesiones ocupantes de espacio visibles o palpables
5. Presencia de posibles anomalías vasculares y calidad de las arterias (ateromatosis, calcificaciones, aneurismas).

A continuación, se inspeccionan y palpan también los otros órganos abdominales accesibles (colon, intestino delgado, genitales internos femeninos) para descartar neoplasias no conocidas. En caso de dudas, se podrán tomar biopsias para examen histopatológico tras congelación. Ya en esta fase, en la eventualidad de considerar el injerto hepático no apto para trasplantarse, el procedimiento termina con la toma de una biopsia hepática (normalmente una cuña de un par de centímetros en el borde del segmento 5 del lóbulo hepático derecho) para examen histopatológico diferido.

Sucesivamente, se procede a exponer el retroperitoneo inframesocólico (maniobra de Cattell-Braasch) para disecar la aorta infrarrenal y la vena mesentérica inferior (VMI), que, tras heparinización del donante (3mg/kg de heparina sódica), estarán listas para la canulación.

La segunda fase consiste en el clampaje de la aorta supra-celíaca y en el comienzo de la perfusión fría con una solución de preservación a menos de 4°C a través de las vías arterial y portal. La exanguinación se realiza a través de una apertura a nivel de la vena cava infrarrenal o por la vena cava intrapericárdica. En este momento, se procede además al enfriamiento por contacto de los órganos abdominales con hielo estéril picado para alcanzar la hipotermia. La vía biliar se abre distalmente cerca del páncreas y se lava con suero frío para disminuir el efecto lesivo de la bilis sobre la mucosa biliar. Habitualmente, la instilación de 3 o 4 litros de solución de preservación por aorta, y 2 o 3 litros por la VMI serán suficientes.

En esta fase se valora la calidad de la perfusión (si homogénea o parcheada) y, conjuntamente con el aspecto final del hígado, que puede aparecer más amarillo o congestivo, se decide si el órgano finalmente es válido. En caso de desestimar el órgano, como descrito anteriormente, el procedimiento termina con la toma de una biopsia hepática.

La tercera fase consiste en la extracción del injerto. La disección se realiza ya en un ambiente exangüe, haciendo especial atención a no lesionar los pedículos vasculares hepáticos y preservando eventuales arterias hepáticas anómalas. El injerto se coloca en una bolsa de órganos estéril sumergido en líquido de preservación, y protegido en otras 2 bolsas con hielo para el transporte hasta el hospital de origen.

### **3.7 Variables del injerto**

---

El cirujano responsable de la extracción valora las características macroscópicas del injerto y las recopila en el CRD en base a tres parámetros:

1. Aspecto general: esteatosis (sí/no), fibrosis (sí/no), normal (sí/no)
2. Superficie: normal o nodular
3. Bordes hepáticos: romos o finos

Se registra la validez final del órgano y, en el caso no validez, se especifican las causas en el CRD: mal aspecto, mala perfusión, resultado de la biopsia en fresco u otra razón (que se especifica). Posteriormente, cuando esté disponible, se resume el resultado del informe anatómico-patológico de las biopsias analizadas de forma diferida de los hígados rechazados. En el caso de validez, se anota el tiempo de isquemia fría y de isquemia total (datos conocidos solo tras el implante) y, para los trasplantes realizados en el centro promotor, el peso del injerto.

### 3.7.1 Análisis patológico

Las biopsias tomadas de los injertos descartados “in situ” consisten en una cuña hepática de 1 o 2 cm de anchura, normalmente tomada del borde libre lóbulo hepático derecho, fijada en formalina y teñidos de manera rutinaria con hematoxilina y eosina, tricrómico de Masson, reticulina, y tinción de Perls (esta última para detectar depósitos de hierro). El porcentaje de esteatosis se ha estimado de manera visual. Para resumir los informes patológicos se ha seleccionado la característica más relevante descrita por el patólogo. Por ejemplo, si en un informe se menciona la presencia de fibrosis portal y periportal, inflamación portal y lobular leve asociada a esteatosis macrovacuolar leve, se considera la fibrosis como la característica patológica dominante y más relevante.

## 3.8 Variables preoperatorias del receptor

---

Las variables de los receptores se han recopilado de forma prospectiva y se pueden reagrupar en las siguientes categorías:

- Datos demográficos y biométricos: edad, genero, talla, peso, índice de masa corporal y grupo sanguíneo.

- Indicación de trasplante y causa de hepatopatía: VHC+, VHB+, por consumo de alcohol o por esteatohepatitis de origen metabólico, colangitis biliar primaria, colangitis esclerosante, fallo hepático agudo, u otras causas.
- Factores de riesgo cardiovascular: hipertensión arterial, diabetes, dislipemia, consumo de tabaco previo o actual.
- Situación médica en el momento del trasplante: puntuación MELD al ingreso, ventilación mecánica preoperatoria, diálisis preoperatoria, presencia de síndrome hepato-renal o síndrome hepato-pulmonar. Se especifica, además, si es un trasplante electivo o urgente (“código 0”).

### 3.9 Técnica de la cirugía de implante

---

La cirugía de implante se compone de tres fases: la fase pre-anhepática, que consiste en la disección perihepática para exponer la vena cava y los elementos del hilio hepático, la fase anhepática que empieza con el clampaje de la vena cava hasta la reperusión del injerto y la fase neo-hepática, que empieza con la reperusión y hasta el final de la cirugía. La incisión generalmente utilizada es una subcostal bilateral con ampliación al xifoides. A menudo la hipertensión portal es severa y la combinación con la coagulopatía hace necesaria una disección cautelosa para evitar hemorragias profundas. Las adherencias secundarias a cirugías hepáticas previas o el engrosamiento del peritoneo visceral debido a eventuales episodios repetidos de peritonitis espontaneas pueden dificultar la cirugía desde su comienzo.

Se ligan las arterias hepáticas y la vía biliar en la parte alta del pedículo hepático. La vena porta, liberada de los linfáticos, se deja intacta, si es posible, hasta la fase final de la hepatectomía. Se seccionan los ligamentos triangulares y coronarios para movilizar completamente el hígado. En la técnica *clásica*, se disecciona la vena cava infrahepática por encima de las venas renales y la cava suprahepática por encima de las venas hepáticas, para preparación a la resección de toda la cava

retrohepática en bloque con el hígado. La vena cava del injerto se sustituye de manera ortotópica a la cava nativa así resecada. En la técnica tipo *piggyback*, realizada normalmente en el centro promotor del estudio, el lóbulo caudado se separa de la cava retrohepática dejando así intacta la cava nativa y realizando la anastomosis de la cava suprahepática del injerto a una boca común que se recaba tras la sección de las venas suprahepáticas del receptor. Antes de terminar la anastomosis de la cava en el caso de la técnica clásica, el injerto se perfunde con sangre portal, para eliminar la solución de preservación, rica en potasio. En el caso de la técnica *piggyback*, antes de la reapertura del clan de la vena cava, se elimina la solución de preservación a través de una cánula insertada en la cava infrahepática del injerto. Tras la realización de la anastomosis portal, el hígado se reperfundido tras el desclampaje portal. La reconstrucción arterial se puede realizar a varios niveles de los vasos nativos y del injerto, intentando garantizar un buen calibre, la menor longitud posible y evitando torsiones y lesiones de la íntima.

La cirugía termina con la colecistectomía del injerto y la reconstrucción biliar, que puede ser una colédoco-coledocostomía termino-terminal, o con una hepático-yeyunostomía con asa en Y de Roux, en el caso de patología de la vía biliar del receptor.

En el hospital del equipo promotor del estudio (HGUGM), se realiza por rutina la medición de los flujos de arteria hepática y de la vena porta antes de la confección de la anastomosis biliar. Esta medición se realiza mediante flujómetros acoplados a sondas de calibre variable. En una pantalla se refleja el valor del flujo (expresado en ml/min) con la respectiva forma de onda espectral. Se registra el valor más alto alcanzado, tanto para el flujo portal, como para el flujo arterial. Tras la realización de la anastomosis biliar, generalmente durante el cierre de la herida quirúrgica, el equipo de anestesia realiza una medición en el paciente del aclaramiento de ICG. En caso de no ser posible en ese momento a causa de hipotermia, shock o perfusión de dosis altas de drogas vasoactivas, se suele repetir la medición en las sucesivas 24 horas, cuando se logre la estabilidad hemodinámica y/o el recalentamiento del paciente.

La medición de flujos y de aclaramiento de ICG no son procedimientos realizados de forma rutinarias por todos los centros trasplantadores, y por esta razón no se han incluido en el protocolo de estudio multicéntrico. Estos datos se han utilizado exclusivamente para un subanálisis en los pacientes trasplantados en el HGUGM.

### **3.10 Manejo y seguimiento postoperatorio precoz**

---

Después de la cirugía, los pacientes ingresaban en la Unidad de Reanimación, normalmente ya extubados desde el quirófano, salvo contraindicación. El régimen de inmunosupresión habitual incluía doble o triple terapia con corticosteroides (empezando por un bolo intraoperatorio) y un inhibidor de la calcineurina, con o sin mofetil micofenolato. En caso de insuficiencia renal pre-trasplante, se iniciaba un tratamiento de inducción con basiliximab, retrasando la administración de los inhibidores calcineurínicos.

El desarrollo de complicaciones vasculares, especialmente la trombosis arterial, se monitorizaron de forma rutinaria mediante ecografía doppler en el primer día postoperatorio, seguida de TC-angiografía en los casos indicados. Un equipo multidisciplinar compuesto por hepatólogos, cirujanos y anestesiólogos establecían la indicación de retrasplante según datos clínicos, radiológicos o de laboratorio.

Ninguna variación con respecto a la práctica clínica habitual se llevó a cabo por lo que concierne el manejo y el seguimiento postoperatorio, de cara al presente estudio. Las variables recogidas durante el seguimiento posoperatorio precoz tenían como finalidad poder diagnosticar la disfunción precoz del injerto (EAD), según los criterios de Olthoff (103) (bilirrubina  $\geq 10$  mg/dl en el día 7 PO, INR  $\geq 1.6$  en el día 7 PO y ALT o AST  $> 2000$  IU/L en los primeros 7 días PO) y determinar la supervivencia del injerto a las 4 semanas.

Se han registrado, con esta finalidad:

- El valor de AST y ALT en el primero, tercero y quinto día a PO

- El valor de bilirrubina total y el INR en el séptimo día PO
- Si el valor de ALT o AST superaba las 2000 IU/L en los primeros 7 días PO
- La muerte del paciente o el trasplante urgente en el día 7 y en el día 28 PO
- El diagnóstico de trombosis arterial en el día 28 PO

### **3.11 Seguimiento a largo plazo**

---

Los pacientes intervenidos en el Centro Promotor (HGUGM) y que no requirieron un trasplante en el primer mes PO, se siguieron durante un periodo mínimo de 9 meses para determinar el desarrollo de colangiopatía del injerto, hasta la última fecha de seguimiento o hasta la muerte o el trasplante, en el caso de que ocurrieran estos eventos. Se ha definido colangiopatía del injerto:

- 1) la estenosis biliar, tanto anastomótica como no anastomótica, diagnosticada por pruebas de imagen en presencia de arteria hepática permeable;
- 2) la necesidad de implantación de prótesis o catéter biliar, colocados por colangio pancreatografía retrograda endoscópica (CPRE) o colangiografía trans-parieto hepática (CTPH);
- 3) la presencia en pruebas de imagen de bilomas o moldes biliares intrahepáticos.

### **3.12 Aspectos éticos y organizativos**

---

En cada Centro externo que ha participado en el estudio se ha designado un equipo local compuesto por un Investigador Principal (IP) y el número de colaboradores que se haya estimado oportuno.

El IP en cada sitio ha sido el responsable de obtener las aprobaciones locales necesarias (por ejemplo, evaluación de servicios, visto bueno del Comité de Ética de Investigación). La recogida

de datos ha empezado en cada Centro exclusivamente tras la obtención de la autorización de los correspondientes Comités Éticos.

Todos los pacientes (receptores) que voluntariamente desearon participar, firmaron un consentimiento informado (Anexo D) tras entrega de una Hoja de Información al Paciente (Anexo C) pudiéndose retirar del estudio en cualquier momento sin ningún perjuicio. De ninguna manera se ha cambiado el manejo diagnóstico o terapéutico de los enfermos, recogándose los datos, anonimizados, en un CRD proporcionado por el Centro promotor (Anexo E).

### **3.13 Administración de los datos y análisis estadístico**

---

Los datos de todos los Centros implicados se han reunido en una única base de datos. El análisis estadístico se ha realizado utilizando los programas *Stata Statistical Software, Release 17* (College Station, TX: StataCorp LLC), SPSS versión 25 (IBM, Armonk, NY, USA) y Prisma GraphPad Software (Inc. versión 10.0 para IOS).

En ningún caso se han comparado resultados del trasplante (complicaciones, fallo del injerto) entre Centros individuales. Las variables cuantitativas se han expresado como mediana y rango intercuartílico. La significación estadística se ha fijado por una  $p < 0.05$ . El desarrollo del modelo predictivo ha seguido las recomendaciones establecidas en la guía “Transparent Reporting of a Prediction Model for Individual Prognosis or Diagnosis” (TRIPOD) (104).

#### **3.13.1 Cálculo del tamaño muestral**

Se ha considerado una ratio entre grupo de negativos (injertos válidos) sobre grupo de positivos (injertos rechazados) de 3.4 (según el registro de la ONT con datos del año 2019(105)). Para obtener un valor de área bajo la curva Receiver Operating Characteristics (AUROC) de 0.8 (predicción buena), con un error de tipo  $\alpha$  del 0.05 y de tipo  $\beta$  del 0.20, se ha calculado un

número de casos necesario para la cohorte de desarrollo de al menos 40 donantes. Para este cálculo se ha utilizado el programa estadístico MEDCALC®. El cálculo del tamaño muestral se ha realizado para obtener una suficiente potencia exclusivamente para alcanzar el objetivo primario del estudio.

### 3.13.2 Análisis estadístico en la cohorte de desarrollo (Parte 1ª)

Se ha realizado una comparación de las variables entre los donantes con hígados aceptados frente a donantes con hígados rechazados. Para las variables cuantitativas, si los datos seguían una distribución normal según la prueba de Kolmogorov-Smirnov, las comparaciones se han realizado mediante la prueba t de Student; en caso contrario, se han utilizado pruebas no paramétricas (prueba U de Mann-Whitney). Las variables cualitativas se han comparado mediante chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) o pruebas exactas de Fisher, según indicado.

A través de un análisis univariante, se han identificado los factores predictores de la decisión de descarte del injerto. Las variables de los donantes con  $p < 0.1$  en el estudio univariante, se han introducido en un modelo de regresión logística multivariante, para así determinar los predictores independientes de descarte de los injertos.

El análisis predictivo se ha realizado mediante curvas ROC.

La validación del predictor en la cohorte de desarrollo se llevó a cabo mediante las pruebas de calibración y discriminación. La calibración compara el número de eventos (no-validez de los injertos, en nuestro caso) predicho por el modelo, con el número observado en la realidad, mientras que la discriminación evalúa el grado en que el modelo distingue entre individuos en los que ocurre el evento y los que no.

La calibración se calculó mediante la prueba de Hosmer-Lemeshow, dividiendo la población de estudio en cinco grupos en función de la probabilidad predicha de idoneidad del injerto, obtenida del modelo de predicción de riesgo.

Como medida de discriminación se ha utilizado el área bajo la curva ROC que representa, para todos los pares posibles de individuos formados por un individuo en el que ocurrió el evento y otro en el que no, la proporción de los que el modelo predice una mayor probabilidad para el que tuvo el evento. A partir de un área de 0.7 la discriminación del modelo se considera aceptable, y, por encima de 0.8, buena.

El rendimiento general del modelo se evaluó mediante la puntuación de Brier, que es una medida de la precisión de la predicción, y es tanto mayor, cuanto su valor se acerque a cero(104).

### 3.13.3 Análisis estadístico en la cohorte de validación externa (Parte 2ª)

Los datos del conjunto de donantes procedentes de los centros externos se han comparado con aquellos de la cohorte de desarrollo con las pruebas estadísticas correspondientes (descritas en el párrafo anterior).

En la cohorte externa de validación se ha calculado el área bajo la curva ROC del predictor, como medida de discriminación.

La capacidad predictiva del modelo en la cohorte de validación externa se valoró, además, determinando sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

### 3.13.4 Análisis estadístico en los receptores de trasplante (Parte 3ª)

Los resultados de los receptores de trasplante procedentes de ambas cohortes (desarrollo y validación externa), se han analizado de manera global, considerándolos una cohorte única.

Se han comparado las características entre los pacientes que desarrollaron disfunción precoz del injerto frente a aquellos que no tuvieron esta complicación.

A través del análisis univariante y multivariante, se han investigado los factores predictores de disfunción precoz y pérdida del injerto a las 4 semanas.

### 3.13.5 Análisis estadístico en el subgrupo de pacientes trasplantados en el HGUGM (Parte 4ª)

La mediana de ICG-PDR en los donantes (T0) se ha comparado con la mediana de ICG-PDR en los receptores (T1), tanto en los pacientes que desarrollaron EAD, como en aquellos sin EAD, mediante prueba de U de Mann-Whitney.

Mediante las pruebas estadísticas indicadas en cada caso, se compararon las características de los pacientes, de sus donantes y de los trasplantes entre los pacientes que desarrollaron colangiopatía del injerto frente a aquellos que no tuvieron esta complicación.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Características de la cohorte de desarrollo

Entre marzo de 2017 y agosto de 2023, setenta y tres donantes no consecutivos, evaluados por el equipo del HGUGM, fueron inicialmente incluidos en el estudio. La prueba de ICG se pudo realizar en todos los donantes a excepción de dos, que presentaban vasoconstricción periférica marcada y no podían transmitir una señal de calidad al sensor de medición dactilar. Los 71 donantes restantes constituyeron la cohorte de desarrollo.

La mediana de edad de los donantes fue de 68 (55-79) años y hubo una leve preponderancia de varones (53.5%). La distribución por grupos sanguíneos O, A, B y AB fue de 50.8, 40.0, 7.7 y 1.5%, respectivamente. La causa de muerte fue mayoritariamente debida a ACV (80.3%), seguida por traumatismo cráneo-encefálico (11.3%) y anoxia (8.5%).

Nueve (14.3%) donantes presentaron una parada cardíaca recuperada antes de la donación y 43 (69.0%) habían necesitado al menos un fármaco inotrópico en las 24 horas previas a la donación para mantener una presión arteriosa aceptable. La mediana del tiempo de estancia en UCI tras el ingreso fue de 2 (1-4) días.

La mediana de índice de masa corporal (IMC) de los 71 donantes fue de 27.7 (24.5-31.1) Kg/m<sup>2</sup>. Veinte y cuatro (33.8%) donantes tenían obesidad (definida como IMC  $\geq$ 30 Kg/m<sup>2</sup>). En cuanto a los factores de riesgo cardio-vasculares, la tasa de hipertensión entre los donantes fue del 62.0%, de diabetes fue del 25.7% y de dislipemia del 31.4%. Los donantes con historia actual o pasada de consumo de tabaco fueron 31 (44.1%). Ningún donante de esta serie presentaba marcadores serológicos de infección por VHC o tenía anticuerpos frente al antígeno *core* del VHB.

Los últimos parámetros de laboratorios disponibles antes del procedimiento de donación están detallados en la Tabla 4.1.

Los valores medidos de aclaramiento de ICG tenían una mediana, para el ICG-PDR de 19.5 (14.7–25.5) %/min, y, para el ICG-R15, de 5.4 (2.2–10.9) %.

Según los criterios de Eurotransplant (27), 56 (78.9%) donantes cumplían las características de donantes con criterios expandidos.

**Tabla 4.1** Características de los donantes de la cohorte de desarrollo (n=71).

Característica	(n=71)
Edad (años)	68 (55 – 79)
Género masculino (n, %)	38 (53.5)
Peso (Kg)	80 (70 -89)
Talla (m)	1.68 (1.60 – 1.74)
Perímetro abdominal (cm)	104 (85 -111)
IMC (kg/m2)	27.7 (24.5 – 31.1)
Grupo sanguíneo (n, %)	
O	33 (50.8)
A	26 (40.0)
B	5 (7.7)
AB	1 (1.5)
Causa de muerte (n, %)	
Accidente cerebrovascular	57 (80.3)
Trauma	8 (11.3)
Anoxia	6 (8.5)
Parada cardíaca (n, %)	9 (14.3)
Estancia en UCI (días)	2 (1 – 4)
Uso de inotrópicos en las 24 horas previas (n, %)	43 (69.4)
Hipertensión (n, %)	44 (62)
Diabetes Mellitus (n, %)	18 (25.7)
Dislipemia (n, %)	22 (31.4)
Consumo de tabaco (n, %)	30 (44.1)
VHC+ (n, %)	0 (0)
Donante con Criterios Expandidos (n, %)	56 (78,9)
ICG-PDR (%/min)	19.5 (14.7 – 25.5)
ICG-R15 (%)	5.4 (2.2 – 10.9)
GGT(U/L)	31 (18 – 66)
AST (U/L)	26 (19 – 52)
ALT (U/L)	19 (12 – 43)
Bilirrubina (mg/dl)	0.6 (0.3 -0.8)
Creatinina (mg/dl)	0.8 (0.6 – 1.0)
Plaquetas (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	210 (151 -265)
Leucocitos (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	13.0 (11.0-16.0)
Glóbulos rojos (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	3.8 (3.4-4.3)
Sodio (mEq/L)	144 (140 -148)
Ecografía patológica (n, %)	10 (14.1)
Injertos descartados (n, %)	30 (42.3)

Las variables cuantitativas están expresadas como mediana (rango intercuartílico). Las variables categóricas están expresadas como recuento total (%). ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGT, gamma-glutamyl transferasa; IMC, índice de masa corporal; ICG-PDR, “indocyanine green plasma disappearance rate”; ICG-R15, “indocyanine green retention rate” a 15 minutos; UCI, unidad de cuidados intensivos VHC, virus de la hepatitis C.

## 4.2 Comparación entre donantes con injertos válidos y donantes con injertos rechazados

---

Se descartaron para trasplante 30 (42.3%) injertos, tras la valoración de los cirujanos responsables de la extracción. Las razones de descarte fueron: consistencia dura/fibrótica en 16 casos, aspecto esteatósico en 11 casos, presencia de arteriopatía severa en 2 casos y aspecto parcheado tras la perfusión en el caso restante.

Los donantes de injertos juzgados como válidos tenían una tendencia a ser más jóvenes, con una mediana de 65 (50-78) años, respecto a aquellos cuyos injertos se rechazaron, que tenían una mediana de 68 (59-77) años, pero sin ser la diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.150$ ) (Tabla 4.2). La proporción entre varones y mujeres fue parecida en los dos grupos, así como las causas de muerte y el tiempo de estancia en UCI. Seis (16.7%) de los 41 donantes válidos tuvieron una parada cardíaca como evento previo a la donación, frente a 3 (11.1%) de los 30 no válidos, con diferencia estadísticamente no significativa ( $p=0.403$ ).

Por lo que concierne los factores de riesgo cardiovascular, los donantes no válidos tenían una incidencia de obesidad mórbida ( $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) significativamente mayor frente a los donantes válidos (50% frente a 22%,  $p=0.014$ ), y una tasa mayor de hipertensión arterial, aunque sin alcanzar una diferencia estadísticamente significativa (73.3% frente a 53.7%,  $p=0.092$ ). No se encontraron diferencias en los dos grupos en cuanto a presencia de DM y dislipemia. Se encontró una mayor prevalencia de fumadores o exfumadores (56.1%) entre los donantes de injertos válidos, respecto a los de injertos no válidos (26.7%), con  $p=0.014$ .

El 14.6% de los donantes con hígados aceptados presentaban una ecografía con hallazgos patológicos, frente al 18.5% en los donantes con hígados rechazados, con  $p=0.670$ .

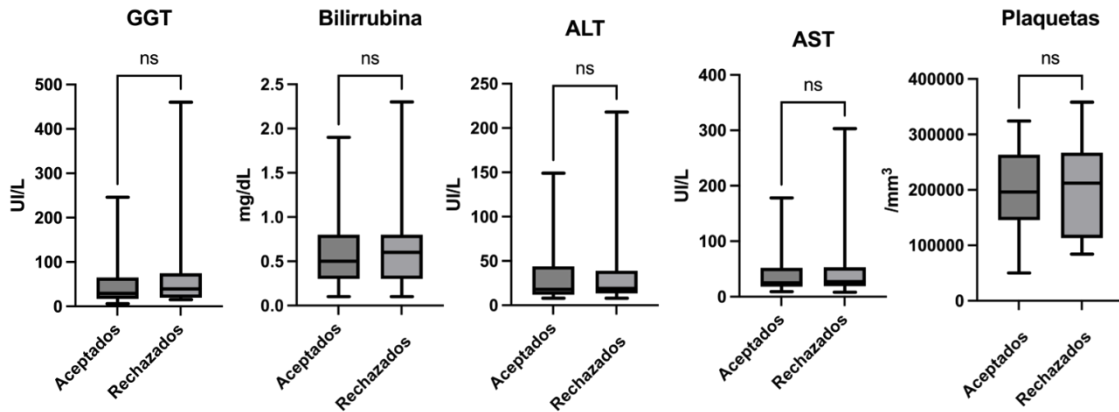
**Tabla 4.2** Comparación de las características entre los donantes con injertos aceptados frente a aquellos con injertos rechazados en la cohorte de desarrollo.

Características	Donantes aceptados (n=41)	Donantes rechazados (n=30)	p
Edad (años)	65 (50-78)	68 (59-77)	0.150
Género (masculino, %)	21 (51.2)	13 (43.3)	0.649
Causa de muerte			0,807
ACV	34 (82.9)	23 (76.7)	
Trauma	4 (9.8)	4 (13.3)	
Anoxia	3 (7.3)	3 (10.0)	
Parada cardiaca	6 (16.7)	3 (11.1)	0.403
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	26.0 (23.3 – 29.3)	29.9 (26.1 – 32.9)	0.002*
Estancia en UCI (días)	2 (1-4)	2 (1-4)	0.685
Uso de inotrópicos en las 24 horas previas	23 (62.2)	20 (80.0)	0.135
Obesidad (IMC ≥30 kg/m <sup>2</sup> )	9 (22.0)	15 (50.0)	0.014
Hipertensión	22 (53.7)	22 (73.3)	0.092
Diabetes Mellitus	10 (25.0)	8 (26.7)	0.875
Dislipemia	11 (27.5)	11 (36.7)	0.414
Consumo de tabaco	23 (56.1)	8 (26.7)	0.014*
Ecografía patológica (n, %)	6 (14.6)	5 (18.5)	0.670
Donante con Criterios Expandidos (n, %)	27 (65.9)	29 (96.7)	0.002*
ICG-PDR (%/min)	24.0 (19.1-27.3)	14.3 (11.0-18.5)	<0.001*
ICG-R15 (%)	2.7 (1.5-5.7)	11.7 (6.2-18.0)	<0.001*
GGT(IU/L)	30 (18-65)	40 (20-71)	0.348
AST (UI/L)	25 (19-52)	27 (20 - 52)	0,880
ALT (UI/L)	18 (12-44)	19 (15-33)	0.948
Bilirrubina (mg/dL)	0.5 (0.3-0.8)	0.6 (0.3-0.8)	0.653
Creatinina (mg/dl)	0.7 (0.6-0.9)	0.8 (0.6-1.2)	0.215
Plaquetas (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	196 (158-264)	212 (113-267)	0.961
Leucocitos (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	13.6 (11.6-16.0)	12.1 (8.3-22.2)	0.777
Glóbulos rojos (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	3.7 (3.4-4.2)	4.2 (3.4-5.0)	0.202
Sodio (mEq/L)	144 (140 – 150)	144 (141-148)	0.955

Las variables cuantitativas están expresadas como mediana (rango intercuartílico). Las variables categóricas están expresadas como recuento total (%). ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGT, gamma-glutamil transferasa; IMC, índice de masa corporal; ICG-PDR, “indocyanine green plasma disappearance rate”; ICG-R15, “indocyanine green retention rate” a 15 minutos; UCI, unidad de cuidados intensivos VHC, virus de la hepatitis C.

Ningún parámetro de laboratorio, de hematimetría o bioquímico, disponible antes de la cirugía de extracción mostró diferencias significativas entre los donantes de los dos grupos, como mostrado en la Figura 4.1.

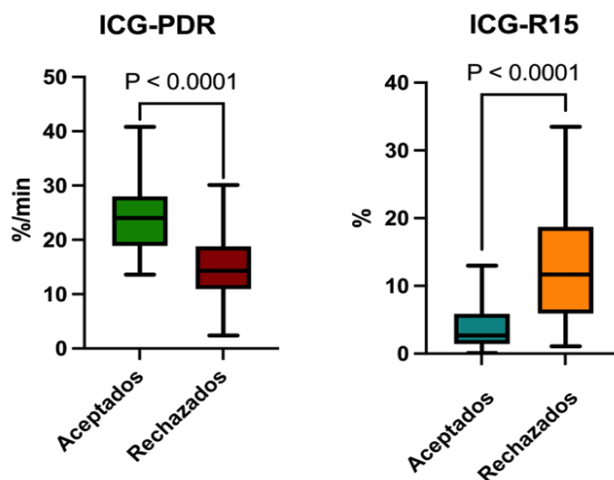
**Figura 4.1** Diagramas de cajas que ilustran la comparación de los principales parámetros analíticos de función hepática entre los donantes con injertos aceptados y rechazados.



ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGT, gamma-glutamyl transferasa.

Los valores de aclaramiento de ICG fueron significativamente peores en los donantes cuyos injertos se rechazaron. Las medianas de ICG-PDR e ICG-R15 fueron de 14.3 (11.0-18.5) %/min y 2.7 (1.5-5.7) %, respectivamente en este grupo, y de 24.0 (19.1-27.3) %/min y 11.7 (6.2-18.0) % en el grupo de donantes cuyos injertos se aceptaron, con  $p < 0.0001$  en ambos casos (Figura 4.2).

**Figura 4.2** Diagramas de cajas que muestran las diferencias de los valores de aclaramiento de verde de indocianina entre los donantes con injertos aceptados frente a los donantes con injertos rechazados.



ICG-PDR, "indocyanine green plasma disappearance rate"; ICG-R15, "indocyanine green retention rate" a 15 minutos.

El 65.9% de los donantes cuyos injertos se aceptaron, entraban en la categoría de donantes con criterios expandidos, frente al 96.7% de los donantes cuyos injertos fueron rechazados (p=0.002). Todas las comparaciones entre los dos grupos están recogidas en la Tabla 4.2.

### 4.3 Análisis univariante y multivariante de los predictores de descarte del injerto

Para desarrollar el modelo predictivo se ha realizado un análisis multivariante utilizando todas aquellas variables con  $p < 0.1$  en el análisis univariante (en nuestro caso, ICG-PDR, IMC, tabaquismo, HTA) y aquellas que, aún sin ser estadísticamente significativas, consideramos relevantes como factores predictores del rechazo del órgano (la edad del donante). El ICG-R15 no se incluyó en el análisis (aun siendo un factor predictor con significación estadística) porque representa otra medida del aclaramiento de ICG y, por lo tanto, ya considerada con el ICG-PDR. Tampoco la variable “donante con criterios expandidos” se analizó en el modelo multivariante, ya que incluye tanto la edad como el IMC en su definición.

Como se ve en la Tabla 4.3, en el análisis multivariante, las variables predictoras del descarte del injerto fueron el ICG-PDR (OR= 0.775, I.C. 95%: 0.685 - 0.877,  $p < 0.001$ ) y el IMC (OR=1.139, I.C. 95%: 1.016-1.278,  $p=0.026$ ).

**Tabla 4.3** Análisis univariante y multivariante del rechazo del injerto (n=71).

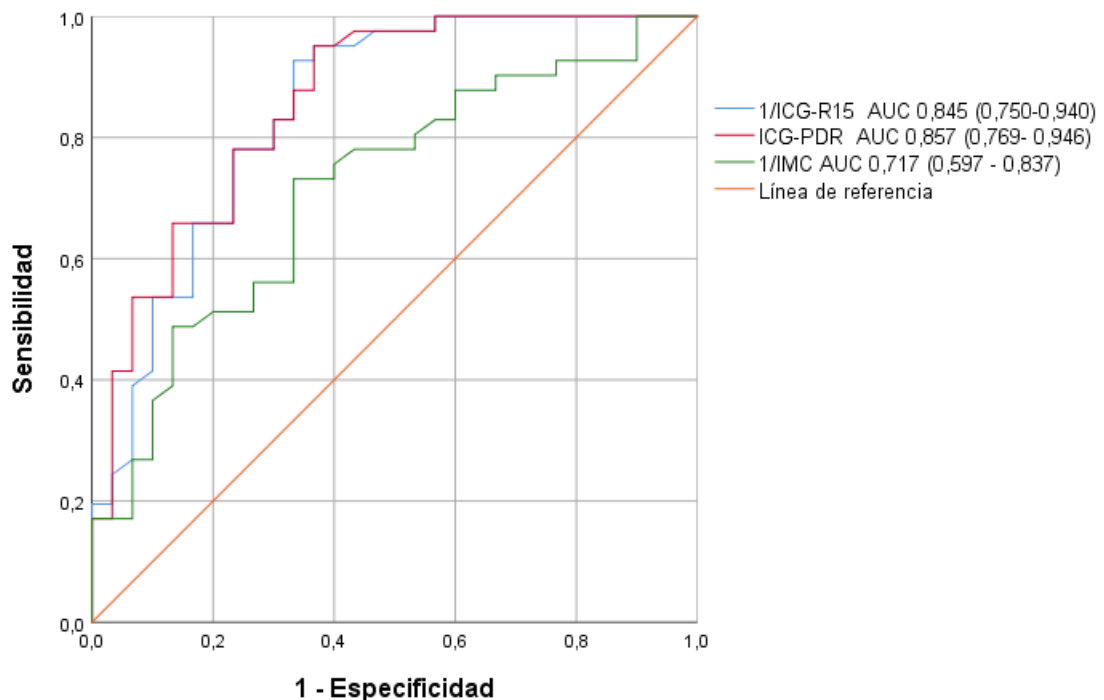
Variable del donante	Análisis univariante (p)	Análisis multivariante		
		Odds Ratio	IC 95%	p
Edad	0.113	0.974	0.928 – 1.022	n.s
ICG-PDR	<0.001	0.775	0.685 - 0.877	<0.001
HTA	0.095	1.685	0.397 – 7.151	n.s
IMC	0.005	1.139	1.016 - 1.278	0.026
Consumo de tabaco	0.015	0.123	0.090-1.335	n.s.

IC 95%, interval de confianza al 95%; ICG-PDR, “indocyanine green plasma disappearance rate”; HTA, hipertensión arterial; IMC, índice de masa corporal

#### 4.4 Análisis de la curva ROC

El área bajo la curva ROC se calculó para el ICG-PDR, el ICG-R15 y el IMC, para determinar la precisión pronóstica de cada variable, a la hora de predecir la no-validez del injerto, establecida por el cirujano extractor (“gold standard”). En la Figura 4.3, los valores de ICG-R15 y de IMC se han considerado como sus respectivos inversos ( $1/x$ ), para que sus incrementos tuvieran el mismo sentido que el ICG-PDR, y así ocupasen la misma mitad del gráfico. La mayor precisión se obtuvo con el ICG-PDR, resultando el área bajo la curva 0.857 (I.C. 95%: 0.768-0.947). Para el ICG-R15 fue de 0.845 (I.C. 95% 0.750 -0.946) y para el IMC el AUC fue 0.717 (0.597 – 0.837).

**Figura 4.3** Curvas ROC para predecir el descarte de los injertos hepáticos, basadas en el ICG-PDR (en rojo), el ICG-R15 (en azul) y en el índice de masa corporal (en verde).



Estableciendo una especificidad del 100% para evitar tener falsos positivos, el cut-off correspondiente de ICG-PDR fue de 13.5 %/min. Por debajo de este valor, ninguno de los

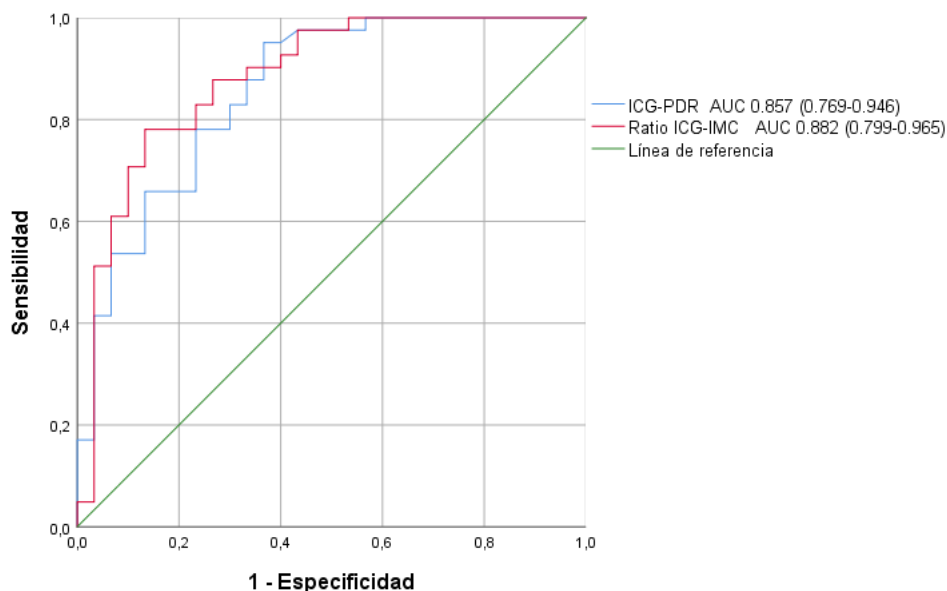
donantes tenía hígados aptos para el trasplante. Con tal punto de corte, la sensibilidad, el VPP y el VPN fueron del 43%, 100% y 71%, respectivamente. Trece de los 30 injertos descartados (43%) podrían haber sido identificados correctamente simplemente midiendo el aclaramiento del ICG en esta cohorte de donantes.

Se ha intentado amplificar el valor de ICG-PDR y del IMC, combinando ambas variables en un nuevo índice, definido “ratio ICG-IMC”, con la siguiente fórmula:

$$\text{Ratio ICG - IMC} = \frac{\text{ICG-PDR Donante } (\%/min)}{\text{IMC Donante } (kg/m^2)} \times 100$$

El análisis de la curva ROC de la ratio ICG-IMC para predecir la no validez de los injertos mostró un AUC de 0.882 (I.C.95% 0.799-0.965), superior a aquella del simple ICG-PDR, como mostrado en la Figura 4.4.

**Figura 4.4** Curvas ROC para predecir el descarte de los injertos hepáticos, basadas en el ICG-PDR (en azul) y en el ratio ICG-IMC (en rojo).



Estableciendo, como realizado anteriormente, una especificidad del predictor del 100%, se encontró un punto de corte para el ratio ICG-IMC de 43.0. La sensibilidad, el valor predictivo

positivo y el valor predictivo negativo correspondientes a este cut-off fueron del 47%, 100% y 72%. En la cohorte de desarrollo, 14 donantes con hígados no válidos (es decir, uno más que en el caso de considerar solo el valor de ICG-PDR) hubieran podido ser detectados utilizando este índice, aumentando ligeramente la sensibilidad del test.

Un hipotético donante con un ICG-PDR de 15 %/min y con un IMC de 35 kg/m<sup>2</sup>, tendría una ratio ICG-IMC según la fórmula siguiente:

$$\text{Ratio ICG} - \text{IMC} = \frac{\text{ICG-PDR Donante (\%/min)}}{\text{IMC Donante (kg/m}^2)} \times 100 = \frac{15}{35} \times 100 = 42.9$$

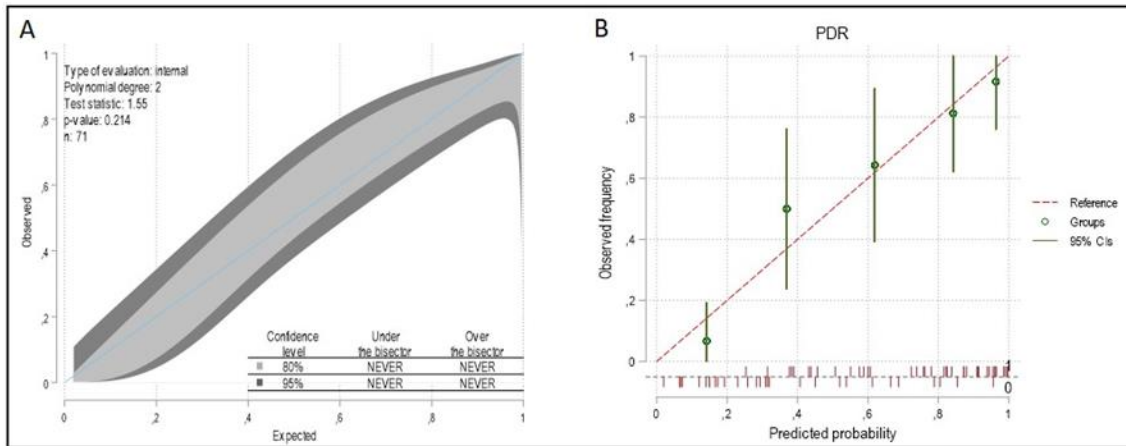
Este valor de ratio, siendo inferior a 43.0, permitiría descartar el donante con una especificidad del 100%, es decir, sin riesgo de que tenga un injerto válido.

#### 4.5 Validación interna del modelo predictivo

---

Para la validación interna del ICG-PDR, se calculó la prueba de Hosmer-Lemeshow dividiendo la población de estudio en cinco grupos en función de la probabilidad predicha de idoneidad del injerto obtenida del modelo de predicción de riesgo. El estadístico chi-cuadrado, utilizado para comparar los eventos observados y esperados tuvo una p=0.455, mostrando así una buena calibración. El “cinturón” de calibración (Figura 4.5A) mostró un valor del estadístico de 1.55, con un valor de p=0.214, lo que indica que la hipótesis de buena calibración no pudo ser rechazada. El gráfico de calibración para la validación interna se muestra en la Figura 4.5B. La precisión global de la prueba fue buena, con una puntuación de Brier igual a 0.150 (IC 95%: 0.107 – 0.194).

**Figura 4.5 “Cinturón” de calibración (A)** que muestra las desviaciones de la bisectriz (45% de línea de ajuste perfecto) en los niveles de confianza del 80% (cinturón interior: área gris claro) y 95% (cinturón exterior: área gris oscuro), y **gráfico de calibración (B)**, que indica que las probabilidades predichas y empíricas son similares y que el modelo de predicción construido se ajusta bien a los datos.



## 4.6 Validación externa

A partir de marzo de 2021 y hasta mayo de 2023, otros tres grupos de trasplante en España (Hospital Universitario "Río Hortega", Valladolid; Hospital Universitario "Virgen de las Nieves", Granada; y Hospital Universitario "Nuestra Señora de Candelaria", Santa Cruz de Tenerife) se sumaron al estudio y reclutaron una serie de donantes, utilizados para validación externa del modelo predictivo.

Esta cohorte se compone de 17 donantes. Las comparaciones de las características de los donantes entre la cohorte de desarrollo y la cohorte de validación externa se detallan en la Tabla 4.4. Las dos poblaciones no mostraron diferencias significativas en las características demográficas, en los antecedentes médicos, en la causa de muerte, ni en los eventos previos a la donación. Los parámetros de laboratorio recabados antes de la donación eran similares entre las dos cohortes, aunque la bilirrubina plasmática tenía una tendencia a presentar valores más elevados en la corte de validación externa, con mediana de 1.0 (0.4 – 1.3) mg/dl, frente a mediana de 0.6 (0.3 -0.8) mg/dl en la corte de desarrollo,  $p=0.081$ . Ninguna ecografía pre-donación resultó ser patológica en la corte externa, frente a 11 (16.2%) en la cohorte de

desarrollo (p=0.083). La tasa de descarte fue del 52,9% en el grupo de validación y del 42,3% en el grupo de desarrollo con p=0.426.

**Tabla 4.4** Comparación de las características entre los donantes entre la cohorte de desarrollo (n=71), frente a la cohorte de validación externa (n=17).

Característica	Cohorte de desarrollo (n=71)	Cohorte de validación (n=17)	p
Edad (años)	68 (55 – 79)	66 (47 – 74)	0.234
Genero masculino (n, %)	38 (53.5)	11 (64.7)	0.404
Causa de muerte (n, %)			0.755
Accidente cerebrovascular	57 (80.3)	14 (82.4)	
Trauma	8 (11.3)	1 (5.9)	
Anoxia	6 (8.5)	2 (11.8)	
Parada cardiaca (n,%)	9 (14.3)	4 (23.5)	0.359
IMC(kg/m <sup>2</sup> )	27.7 (24.5 – 31.1)	25.2 (22.7 – 30.0)	0.252
Estancia en UCI (días)	2 (1-4)	3 (1-4)	0.865
Uso de drogas vasoactivas en las 24 horas previas	49 (72.1)	13 (76.5)	0.487
Hipertensión Arterial (n,%)	44 (62)	11 (64.7)	0.834
Diabetes Mellitus (n,%)	18 (25.7)	2 (11.8)	0.338
Dislipemia (n,%)	22 (31.4)	2 (11.8)	0.136
Criterios Expandidos de Donación (n, %)	56 (78,9)	11 (64.7)	0.218
ICG-PDR (%/min)	19.5 (14.7 – 25.5)	19.0 (12.5– 22.9)	0.495
ICG-R15 (%)	5.4 (2.2 – 10.9)	5.7 (3.0 – 10.5)	0.669
GGT(U/L)	31 (18 – 66)	40 (30 – 65)	0.264
AST (U/L)	26 (19 – 52)	31 (22 – 54)	0.369
ALT (U/L)	19 (12 – 43)	25 (20 – 45)	0.145
Bilirrubina (mg/dl)	0.6 (0.3 -0.8)	1.0 (0.4 – 1.3)	0.081
Creatinina (mg/dl)	0.8 (0.6 – 1.0)	0.9 (0.7 – 1.1)	0.229
Plaquetas (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	210 (151 -265)	220 (164 -265)	0.670
Sodio (mEq/L)	144 (140 -148)	143 (140 -148)	0.965
Ecografía patológica (n, %)	11 (16.2)	0 (0)	0.083
Tasa de descarte (%)	42.3	52.9	0.426

Las variables cuantitativas están expresadas como mediana (rango intercuartílico). Las variables categóricas están expresadas como recuento total (%). ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGT, gamma-glutamyl transferasa; IMC, índice de masa corporal; ICG-PDR, “indocyanine green plasma disappearance rate”; ICG-R15, “indocyanine green retention rate” a 15 minutos; UCI, unidad de cuidados intensivos.

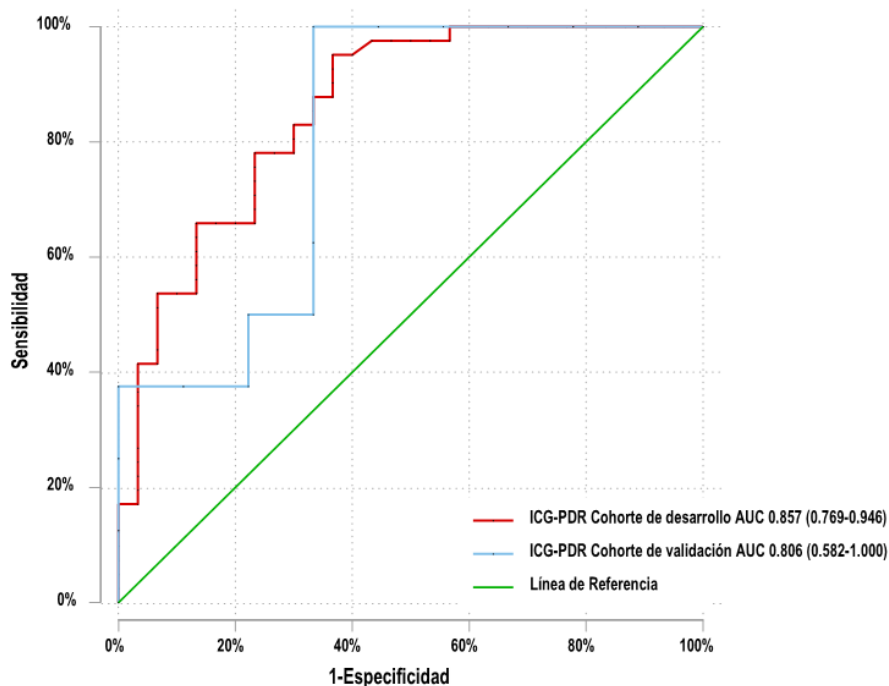
Las medianas de los valores de aclaramiento de ICG fueron parecidas en las dos cohortes: en el caso del ICG-PDR, fue de 19.5 (14.7 – 25.5) %/min en el grupo de desarrollo frente a 19.0 (12.5– 22.9) %/min en el grupo de validación externa (p=0.495).

El ICG-PDR en la cohorte de validación externa mostró todavía un buen poder de discriminación para detectar órganos no válidos para trasplante, con un AUROC de 0,806 (IC 95%: 0.582-1.000), estadísticamente no diferente respecto a aquella encontrada en la cohorte de desarrollo (p=0.673) (Figura 4.6).

Con el cut-off establecido en la fase de desarrollo de 13.5 %/min, los valores de especificidad, sensibilidad, VPP y VPN en la cohorte externa fueron de: 100%, 55.6%, 100% y 66.7%.

Cinco donantes, de los nueve cuyos hígados fueron descartados en la cohorte externa (55.6%), tenían una ICG-PDR inferior al 13.5 %/min y podrían haber sido detectados como no adecuados para el trasplante. Ningún donante con PDR inferior a 13.5 %/min resultó ser válido según el criterio de los cirujanos.

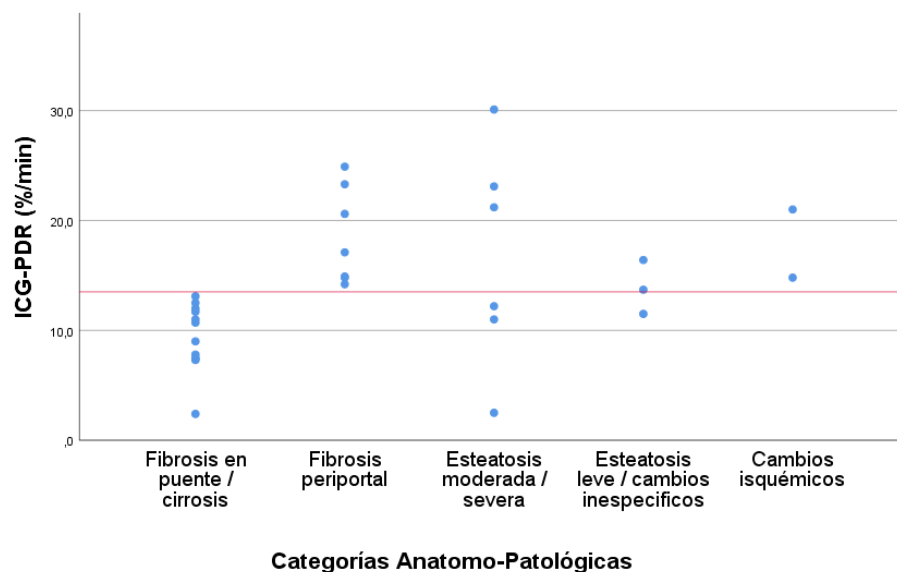
**Figura 4.6** Curvas ROC para predecir el descarte de los injertos hepáticos basadas en el ICG-PDR en la cohorte de desarrollo (en rojo) y en la cohorte de validación externa (en azul).



## 4.7 Resultados histológicos de los injertos rechazados

Considerando las dos cohortes en su conjunto, se analizaron 39 injertos descartados. Nueve biopsias se perdieron o no se pudieron extraer según indicado en el protocolo de estudio; de tal manera, solo se dispuso de 30 muestras para el análisis anatómo-patológico. En 12 muestras se describía fibrosis en puentes o cirrosis, en 7 fibrosis portal o periportal, en 6 esteatosis moderada o severa (incluyendo una biopsia con hallazgo de esteatohepatitis), en 3 esteatosis leve o cambios no-patológicos, mientras en las 2 muestras restantes se identificaron alteraciones isquémicas. La mediana de ICG-PDR de los donantes cuyas biopsias presentaba fibrosis en puente o cirrosis fue de 9.9 (7.4-11.9) %/min, mostrando diferencia significativa en comparación con las mediana de ICG-PDR de todas las otras categorías ( $p=0.001$ ) (Figura 4.7).

**Figura 4.7** Gráfico de distribución de los valores de ICG-PDR de los donantes de injertos descartados, según los hallazgos dominantes en las biopsias ( $n=30$ ). En rojo se ha marcado el cut-off establecido para el descarte (13.5 %/min).

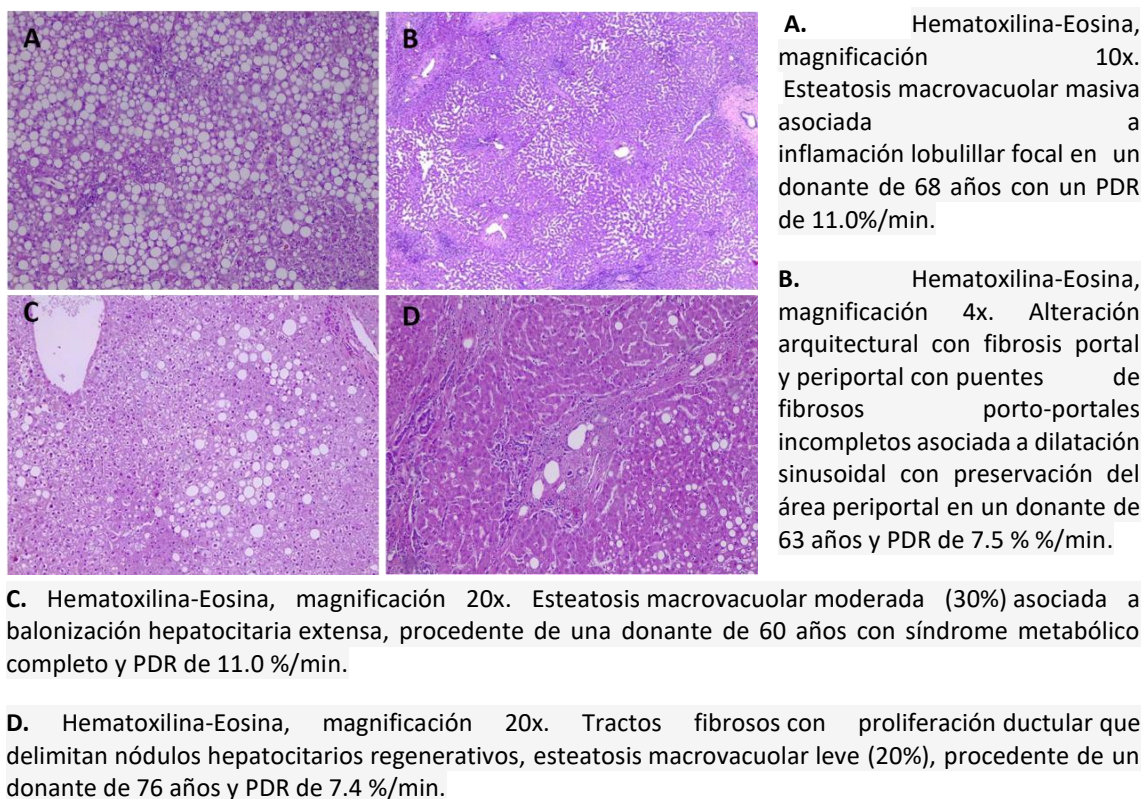


De las 16 biopsias procedentes de donantes con un ICG-PDR  $\leq 13.5$  %/min, 12 mostraron fibrosis en puentes o cirrosis, 2 esteatosis macrovesicular severa (más del 60%), 1 esteatosis macrovesicular moderada (entre 30 y 60%) y 1 características inespecíficas. De las 14 muestras de donantes rechazados con ICG-PDR  $> 13.5$  %/min, 7 presentaron fibrosis periportal, 3 esteatosis o esteatohepatitis severa, 2 cambios isquémicos y otras 2 esteatosis macrovesicular leve ( $< 30\%$ ) o se consideraron no patológicas (Figura 4.8 y 4.9).

**Figura 4.7** Hallazgos histológicos en los injertos rechazados según el cut-off de aclaramiento de verde de indocianina (ICG-PDR) seleccionado para el descarte.

ICG-PDR $\leq 13,5\%/min$	ICG-PDR $> 13,5\%/min$
<p style="text-align: center;"><b>16 Biopsias</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 75% Fibrosis en puentes o cirrosis</li> <li>• 12.5% Esteatosis severa</li> <li>• 6.3% Esteatosis moderada</li> <li>• 6.3% Cambios inespecíficos</li> </ul>	<p style="text-align: center;"><b>14 Biopsias</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 50% Fibrosis periportal</li> <li>• 21.4% Esteatosis severa o esteatohepatitis</li> <li>• 14.3% Daño isquémico</li> <li>• 14.3% Esteatosis leve o cambios no-patológicos</li> </ul>

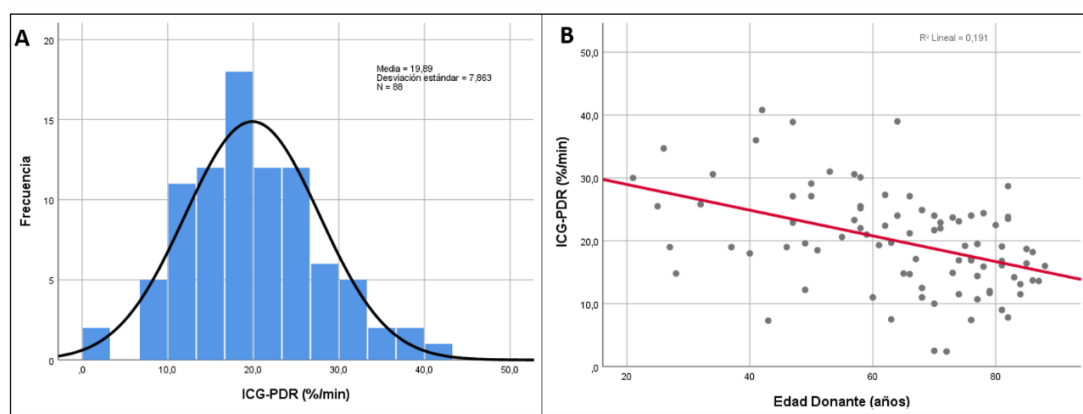
**Figura 4.9** Microfotografías de cuatro biopsias hepáticas procedentes de injertos descartados, cuyos donantes tenían aclaramiento de verde de indocianina (ICG-PDR) inferior a 13.5 %/min



## 4.8 Correlación del aclaramiento del verde de indocianina con las otras variables de los donantes

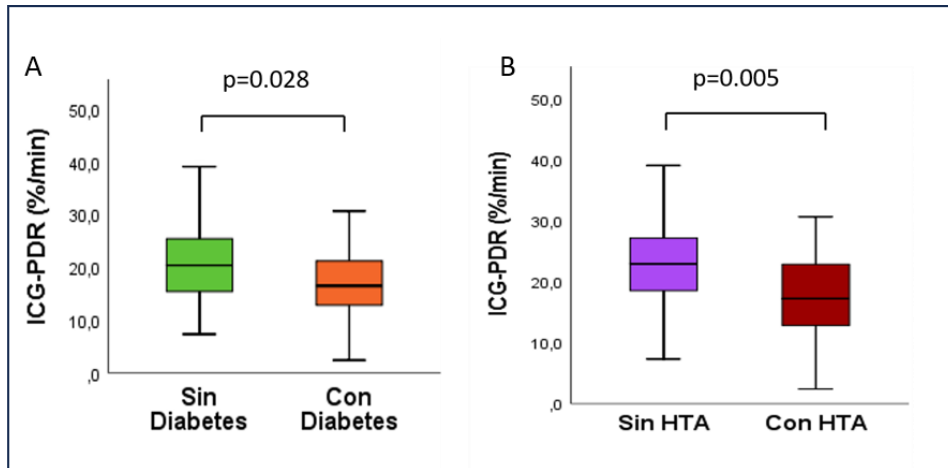
Los valores encontrados de aclaramiento de ICG-PDR de en toda la población de donantes en estudio (cohorte de desarrollo y cohorte externa, n=88) tuvieron una mediana de 19.3 (14.5-24.3), con una distribución normal (Figura 4.10A).

**Figura 4.10 A.** Histograma de distribución de los valores de ICG-PDR en la cohorte total de donantes (n=88). **B.** Diagrama de dispersión de valores de ICG-PDR según la edad del donante con recta de ajuste (en rojo) que muestra una correlación lineal negativa moderada.



El valor de ICG-PDR mostró una correlación lineal moderada negativa con la edad del donante (Rho de Spearman -0.477,  $p < 0.001$ , Figura 4.10B). También se encontraron correlaciones débiles negativas del ICG-PDR con el IMC (Rho de -0.269,  $p = 0.011$ ) y con la GGT (Rho de -0.243,  $p = 0.039$ ). En cuanto a las variables cuantitativas, las medianas de ICG-PDR fueron significativamente inferiores en los donantes con DM (Figura 4.11A), hipertensión (Figura 4.11B), en no fumadores y aquellos clasificados como donantes con criterios expandidos. No se encontraron diferencias de ICG-PDR en función del género, del requerimiento de drogas vasoactivas, de parada cardíaca previa, ni de los hallazgos patológicos en la ecografía hepática.

**Figura 4.11** Gráficos de cajas del aclaramiento de verde de indocianina (ICG-PDR) según presencia o ausencia de **(A)** diabetes mellitus y **(B)** hipertensión arterial (HTA).

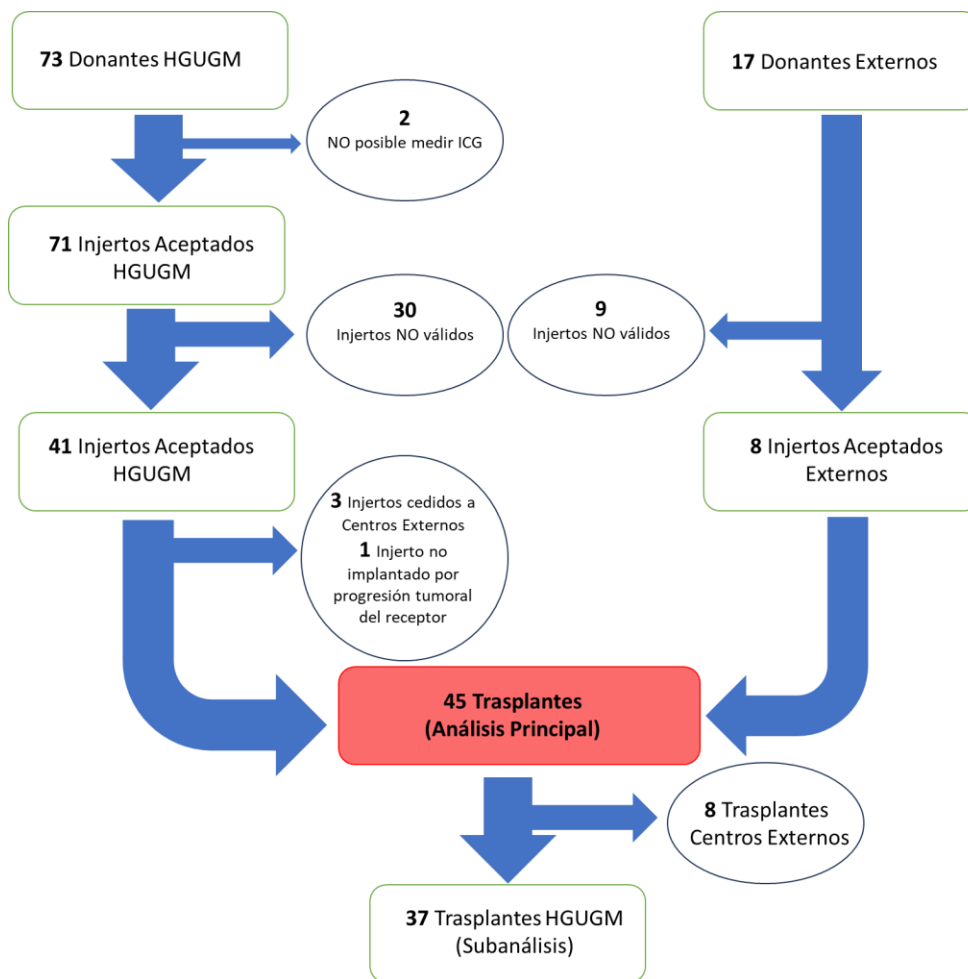


## 4.9 Resultados del trasplante

### 4.9.1 Características de los receptores

De los 49 injertos aceptados en las dos cohortes agrupadas, tres se cedieron a otros centros y se perdieron para el seguimiento, mientras uno no se trasplantó tras encontrar progresión peritoneal de carcinoma hepatocelular en el receptor. Los 45 injertos restantes fueron trasplantados en otros tantos receptores. De estos, 37 pertenecían al HGUGM y 8 a los Centros externos, como ilustrado en la Figura 4.12.

**Figura 4.12** Diagrama de flujo de los donantes y de los trasplantes incluidos en el estudio.



HGUGM, Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

La mediana de edad de los 45 receptores fue de 59 (53-65) años y el 80% eran varones. En la mayoría de los pacientes, la etiología de la enfermedad hepática era alcohólica o metabólica (71.1%), mientras se asociaba a virus hepatotrópos (VHC/VHB) en el 26.7%. En tres casos, las dos etiologías coexistían. En 8 pacientes (17.8%) la causa reconocida de la hepatopatía era autoinmune y en un paciente el fallo hepático se debía a intoxicación por paracetamol. En 5 casos (11.1%) el trasplante hepático se realizó en régimen de urgencias (“código cero”): en un caso por fallo hepático agudo debido a intoxicación por paracetamol, en otro por fallo agudo de origen autoinmune, y en los otros tres casos por descompensación aguda de cirrosis establecidas. La puntuación MELD mediana de los 45 pacientes fue de 15 (10-20) puntos. Tres pacientes (6.7%) estaban ingresados en una unidad de cuidados intensivos antes del trasplante, uno con necesidad de ventilación mecánica y hemodiálisis, otro con necesidad de ventilación mecánica y el tercero con necesidad de hemodiálisis.

La indicación que llevó al trasplante fue en el 48.9% de los casos por tumor (carcinoma hepatocelular en todos los casos, excepto por un caso de hemangioendotelioma hepático) asociado o no a descompensación hepática. Se indicó el trasplante exclusivamente por la descompensación hepática en el 40% de los pacientes. En dos casos (4.4%) la indicación se debió a fallo hepático agudo y en tres casos (6.7%) a colangitis de repetición. Las características de los receptores están detalladas en la Tabla 4.5.

**Tabla 4.5** Características de los receptores de trasplante hepático incluidos en el estudio (n=45).

Características de los receptores (n=45)	
Edad (años)	59 (53-65)
Genero n (%)	
Varón	36 (80)
Mujer	9 (20)
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	25.2 (21.3-31.0)
Puntuación MELD	15 (10-20)
Hemodiálisis preoperatoria, n (%)	2 (4.4)
Ventilación mecánica preoperatoria, n (%)	2 (4.4)
Trasplante de emergencia (alerta 0), n (%)	5 (11.1)
Etiología de la enfermedad hepática, n (%)	
Cirrosis por VHC/VHB	12 (26.7)
Cirrosis por alcohol/EHNA	32 (71.1)
Enfermedad autoinmune	8 (17.8)
Otra	2 (4.4)
Indicación para trasplante n (%)	
Cirrosis descompensada	18 (40.0)
Tumor	14 (31.1)
Tumor + cirrosis descompensada	8 (17.8)
Colangitis recurrente	3 (6.7)
Fallo hepático agudo	2 (4.4)
Factores de riesgo cardiovascular n (%)	
Hipertensión arterial	10 (24.4)
Diabetes Mellitus	15 (33.3)
Dislipidemia	10 (22.2)
Consumo de tabaco	17 (37.8)
Síndrome hepatopulmonar n (%)	5 (11.1)
Síndrome hepatorenal n (%)	2 (4.4)

MELD, Model of end stage liver disease; VHC, virus de la hepatitis C; VHB, virus de la hepatitis B; EHNA, esteato-hepatitis no-alcoholica.

#### 4.9.2 Resultados del trasplante en la cohorte global

En los 45 pacientes trasplantados, la mediana del tiempo de isquemia fría fue de 314 (260-390) minutos y de isquemia caliente fue de 35 (30-44) minutos. Se observaron quince pacientes

(33,3%) con disfunción precoz del injerto (EAD) según los criterios de Olthoff(103), verificados a la semana tras el trasplante.

Cinco (11.1%) pacientes se diagnosticaron de trombosis de la arteria hepática y ocho (17.8%) requirieron un retrasplante en las 4 primeras semanas tras el trasplante. Tres pacientes (6.7%) fallecieron entro las 4 semanas de seguimiento. Estas tres complicaciones (trombosis arterial, retrasplante y muerte) ocurrieron exclusivamente en los pacientes que cumplían los criterios de EAD. Un total de 10 pacientes (22.2%) perdieron el injerto a las 4 semanas (por muerte o retrasplante).

La estancia hospitalaria de los pacientes que sobrevivieron a las 4 semanas fue medianamente de 17 (13-24) días. Los resultados de los 45 trasplantes están resumidos en la Tabla 4.6.

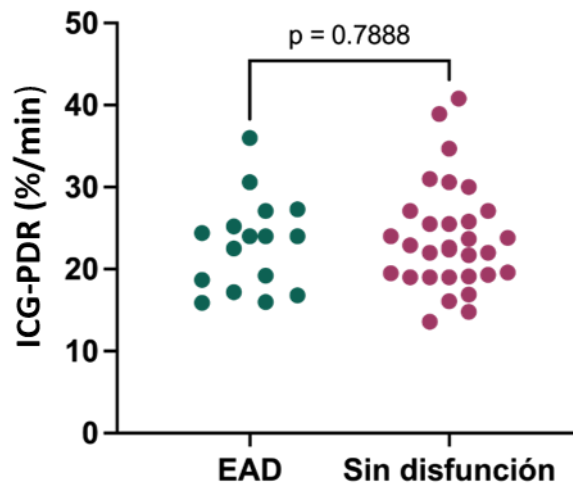
**Tabla 4.6 Resultados principales hasta las 4 semanas de los pacientes trasplantados (n=45).**

<b>Resultados de los trasplantes (n=45)</b>	
<b>Tiempo de isquemia fría (min)</b>	314 (260-390)
<b>Tiempo de isquemia caliente (min)</b>	35 (30-44)
<b>Pico de ALT (UI/L)</b>	1205 (696-2709)
<b>Pico de AST (UI/L)</b>	1133 (590-4343)
<b>Pico de INR</b>	1.96 (1.56-2.62)
<b>Pico de Bilirrubina (mg/dL)</b>	3.8 (1.6-5.6)
<b>Disfunción precoz del injerto (1 semana), n (%)</b>	15 (33.3)
<b>Trombosis arteria hepática (4 semanas), n (%)</b>	5 (11.1)
<b>Mortalidad (4 semanas), n (%)</b>	3 (6.7)
<b>Retrasplante (4 semanas), n (%)</b>	8 (17.8)
<b>Pérdida del injerto (4 semanas), n (%)</b>	10 (22.2)
<b>Estancia hospitalaria (días)</b>	17 (13-24)

ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGT, gamma-glutamyl transferasa; INR, international normalized ratio.

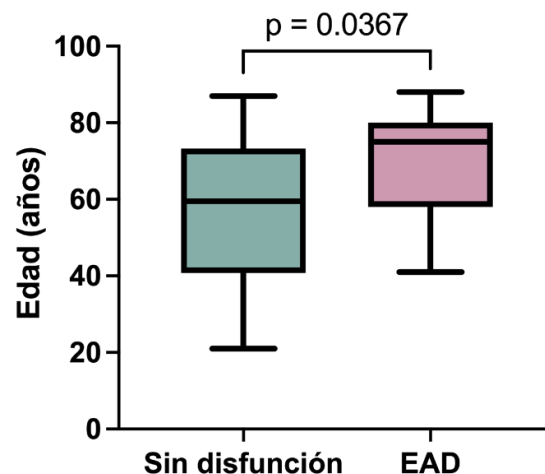
La mediana de ICG-PDR de los donantes de los pacientes con EAD fue de 24.0 (17.2-27.1) %/min frente a 22.7 (19.1-27.1) %/min en pacientes sin EAD, sin ser estadísticamente significativa la diferencia p=0.789 (Figura 4.13).

**Figura 4.13** Gráfico de dispersión de los valores de aclaramiento de verde de indocianina en los donantes de los pacientes que presentaron disfunción precoz (EAD) frente a aquellos sin disfunción.



Las únicas variables de los donantes que presentaron diferencia significativa entre pacientes con y sin disfunción, fueron la edad, con mediana de 75 (58-80) años, en pacientes con EAD, frente a 60 (41-73) años en pacientes sin disfunción,  $p=0.037$  (Figura 4.14) y el requerimiento de drogas inotrópicas en las 24 horas previas a la extracción del injerto, que fue del 86.7% entre los donantes con injertos con disfunción precoz, frente al 56.7% en los donantes cuyos injertos no sufrieron disfunción ( $p=0.044$ ).

**Figura 4.14** Gráfico de cajas de la edad de los donantes de los pacientes con y sin disfunción precoz del injerto (EAD).



Se halló, además, una tendencia, entre los donantes de injertos con EAD, a presentar mayor tasa de hipertensión arterial (73.3%), frente a los de injertos sin EAD (43.3%),  $p=0.055$ .

Como mostrado en la Tabla 4.7, el tiempo de isquemia fría, una variable no dependiente del donante, sino principalmente de la logística de la donación y de la dificultad técnica del trasplante, tuvo una tendencia no significativa a ser mayor en los pacientes que desarrollaron EAD frente a los que no, con una mediana de 335 (293-420) minutos y de 303 (238-363) minutos respectivamente,  $p=0.112$ .

**Tabla 4.7** Comparación de las variables de los donantes y de los tiempos de isquemia entre los pacientes que desarrollaron disfunción precoz ( $n=15$ ) y los que no ( $n=30$ ).

VARIABLES	EAD (n=15)	Sin EAD (n=30)	p
Edad (años)	75 (58-80)	60 (41-73)	0.037*
Genero (varón), n (%)	7 (46.7)	17 (56.7)	0.526
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27.5 (24.5-29.6)	24.8 (22.3-27.8)	0.170
Causa de muerte (ACV vs otras), n (%)	12 (80.0)	25 (83.3)	0.542
Uso de drogas vasoactivas en las 24 horas previas, n (%)	13 (86.7)	17 (56.7)	0.044*
Parada cardiaca, n (%)	4 (26.7)	3 (10.3)	0.166
Hipertensión arterial, n (%)	11 (73.3)	13 (43.3)	0.055
Diabetes Mellitus, n (%)	4 (26.7)	4 (13.3)	0.241
Dislipemia, n (%)	5 (33.3)	6 (20.0)	0.266
Consumo de tabaco, n (%)	8 (53.3)	14 (46.7)	0.673
Ecografía patológica, n (%)	3 (20.0)	3 (10.0)	0.311
Estancia en UCI (días)	2.5 (1.0-3.3)	2.0 (1.0-4.0)	0.900
GGT(IU/L)	36.0 (24.0-65.3)	26.5 (14.8-46.8)	0.359
AST (IU/L)	37 (23-56)	28 (18-49)	0.408
ALT (IU/L)	25 (15-51)	19 (12-41)	0.352
Bilirrubina (mg/dl)	0.8 (0.5-1.1)	0.5 (0.3-0.8)	0.135
Plaquetas (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	204 (137-258)	214 (153-264)	0.731
ICG-R15 (%)	2.7 (2.3-2.6)	3.1 (1.6-5.7)	0.588
ICG-PDR (%/min)	24.0 (17.2-27.1)	22.7 (19.1-27.1)	0.789
Donante con criterios expandidos, n (%)	11 (73.3)	16 (53.3)	0.167
Tiempo de isquemia fría (min)	335 (293-420)	303 (238-363)	0.112
Tiempo de isquemia caliente (min)	35 (32-38)	37 (30-46)	0.802

ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGT, gamma-glutamyl transferasa; ICG-PDR, “indocyanine green plasma disappearance rate”; ICG-R15, “indocyanine green retention rate” a 15 minutos; IMC, índice de masa corporal.

#### 4.9.3 Análisis univariante y multivariante de los predictores de disfunción precoz del injerto y pérdida del injerto a las 4 semanas

En el modelo multivariante para predecir el desarrollo de EAD se han introducido todas las variables con  $p < 0.1$  encontradas en el análisis univariante: edad del donante e HTA, uso de drogas vasoactivas en las 24h previas a la donación y tiempo de isquemia fría. Ninguna de estas variables resultó ser significativa en el análisis multivariante (Tabla 4.8).

**Tabla 4.8** Análisis univariante y multivariante para predicción del riesgo de disfunción precoz del injerto.

Variable del donante	Análisis univariante (p)	Análisis multivariante		
		Odds Ratio	IC 95%	p
Edad	0.037	0.969	0.912-1.030	n.s.
Hipertensión arterial	0.064	2.591	0.392-17.149	n.s.
Drogas vasoactivas	0.058	4.669	0.667-32.698	n.s.
Tiempo de isquemia fría	0.098	0.999	0.988-1.010	n.s.

De forma parecida, se ha realizado el análisis univariante y multivariante para detectar los factores de riesgo para predecir la pérdida del injerto a las 4 semanas del trasplante. En este caso, las dos únicas variables con  $p < 0.1$  en el análisis univariante fueron la edad y la presencia de HTA en el donante. Ninguna resultó significativa en el modelo multivariante (Tabla 4.9).

**Tabla 4.9** Análisis univariante y multivariante para predicción del riesgo de pérdida del injerto a las 4 semanas.

Variable del donante	Análisis univariante (p)	Análisis multivariante		
		Odds Ratio	IC 95%	p
Edad	0.048	1.047	0.987-1.110	n.s.
Hipertensión arterial	0.070	2.669	0.442-16.105	n.s.

#### 4.9.4 Subanálisis de los pacientes trasplantados en el HGUGM

##### Flujos y aclaramiento de verde de indocianina intraoperatorio

Los pacientes trasplantados en el HGUGM contaban con la medición intraoperatoria de flujos de arteria hepática y vena porta, y de una determinación intraoperatoria de aclaramiento de ICG, como se ha expuesto en el Capítulo 3.9. Las características de los 37 pacientes trasplantados en el HGUGM se incluyen en la Tabla 4.10.

**Tabla 4.10** Característica de la cohorte de receptores trasplantados en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón (n=37).

<b>Características de los receptores HGUGM (n=37)</b>	
<b>Edad (años)</b>	59 (53-65)
<b>Genero, n (%)</b> <b>Varón</b> <b>Mujer</b>	29 (78.4) 8 (21.6)
<b>Índice de masa corporal (kg/m<sup>2</sup>)</b>	25.7 (21.1-31.4)
<b>Factores de riesgo cardiovascular</b> <b>Hipertensión arterial</b> <b>Diabetes Mellitus</b> <b>Dislipidemia</b> <b>Consumo de tabaco</b>	9 (24.3) 12 (32.4) 9 (24.3) 14 (37.8)
<b>Puntuación MELD</b>	15 (10-19)
<b>Hemodiálisis preoperatoria, n (%)</b>	1 (2.7)
<b>Ventilación mecánica preoperatoria, n (%)</b>	1 (2.7)
<b>Trasplante urgente (alerta 0)</b>	4 (10.8)
<b>Etiología de la enfermedad hepática, n (%)</b> <b>Cirrosis por VHC/VHB</b> <b>Cirrosis por alcohol/EHNA</b> <b>Enfermedad autoinmune</b> <b>Otra</b>	7 (18.9) 23 (62.2) 5 (13.5) 2 (5.4)
<b>Indicación de trasplante, n (%)</b> <b>Cirrosis descompensada</b> <b>Tumor</b> <b>Tumor + cirrosis descompensada</b> <b>Fallo hepático agudo</b> <b>Colangitis recurrente</b>	16 (43.2) 10 (27.0) 8 (21.6) 1 (2.7) 2 (5.4)
<b>Síndrome hepatopulmonar</b>	2 (5.4)
<b>Síndrome hepatorenal</b>	4 (10.8)

MELD, Model of end stage liver disease; VHC, virus de la hepatitis C; VHB, virus de la hepatitis B; EHNA, esteato-hepatitis no-alcohólica.

En este subgrupo de pacientes, la incidencia de disfunción precoz del injerto fue del 32.4% (12 casos), de trombosis arterial del 8.1% (3 casos) y de mortalidad precoz a las 4 semanas del 5.4% (2 casos). Seis (16.2%) pacientes necesitaron un retrasplante a las 4 semanas. La mediana de los flujos de la vena porta fue de 1200 (900-1575) ml/min y de los flujos en arteria hepática fue de 160 (125-300) ml/min. La mediana de ICG-PDR intraoperatorio fue de 14.0 (7.5-18.4) %/min (Tabla 4.11).

**Tabla 4.11** Resultados del trasplante en la cohorte de pacientes del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (n=37).

<b>Resultados de los trasplantes (n=37)</b>	
Tiempo de isquemia fría (min)	305 (250-390)
Tiempo de isquemia caliente (min)	35 (30-41)
Pico de ALT (UI/L)	1205 (576-2246)
Pico de AST (UI/L)	1133 (569-3866)
Pico de INR	2.0 (1.5-2.6)
Pico de Bilirrubina (mg/dL)	3.8 (1.8-6.1)
Disfunción precoz del injerto, n (%)	12 (32.4)
Trombosis arteria hepática (4 semanas), n (%)	3 (8.1)
Mortalidad (4 semanas), n (%)	2 (5.4)
Retrasplante (4 semanas), n (%)	6 (16.2)
Flujo portal (ml/min)	1200 (900-1575)
Flujo portal ajustado por peso (ml/min/100g)	90 (60-118)
Flujo arterial (ml/min)	160 (125-300)
Flujo arterial ajustado por peso del injerto (ml/min/100g)	13 (10-21)
ICG-PDR post-trasplante (%/min)	14.0 (7.5-18.4)
Estancia hospitalaria (días)	17.5 (13.3-25.8)
Colangiopatía del injerto (n=29), n (%)	7 (24.1)

ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; GGT, gamma-glutamyl transferasa; ICG-PDR, "indocyanine green plasma disappearance rate"; INR, international normalized ratio.

No hubo diferencias significativas en los flujos (arteriales y portales), entre los pacientes que tuvieron disfunción precoz frente a los que no tuvieron esta complicación. En cuanto al aclaramiento de ICG tras el trasplante, se halló una diferencia significativa entre los dos grupos,

siendo la mediana de ICG-PDR de 7.5 (4.1-13.5) %/min en los pacientes que desarrollaron disfunción precoz, frente a 16.0 (12.2-19.3) %/min en los pacientes sin disfunción (p=0.019) (Tabla 4.12).

**Tabla 4.12** Comparación de datos de flujo y aclaramiento de verde de indocianina entre los pacientes que desarrollaron disfunción precoz (n=12) frente a aquellos sin disfunción (n=25).

Variable	EAD (n=12)	Non-EAD (n=25)	p
Flujo portal (ml/min)	900 (600-1500)	1200 (975-2000)	0.815
Flujo portal ajustado por peso del injerto (ml/min/100gr)	83.9 (43.2-113.5)	92.3 (68.6-138.9)	0.172
Flujo arterial (ml/min)	150 (100-250)	170 (143-315)	0.625
Flujo arterial ajustado por peso del injerto (ml/min/100gr)	10.5 (7.4-19.4)	13.3 (10.0-21.1)	0.172
ICG-PDR Receptor (T1) (%/min)	7.5 (4.1-13.5)	16.0 (12.2-19.3)	0.019*

ICG-PDR, "indocyanine green plasma disappearance rate".

No se encontró ninguna correlación de los valores de ICG-PDR en los receptores (T1) con los niveles de flujo arterial (Rho de 0.47, p=0.798) o portal (Rho de 0.64, p=0.726).

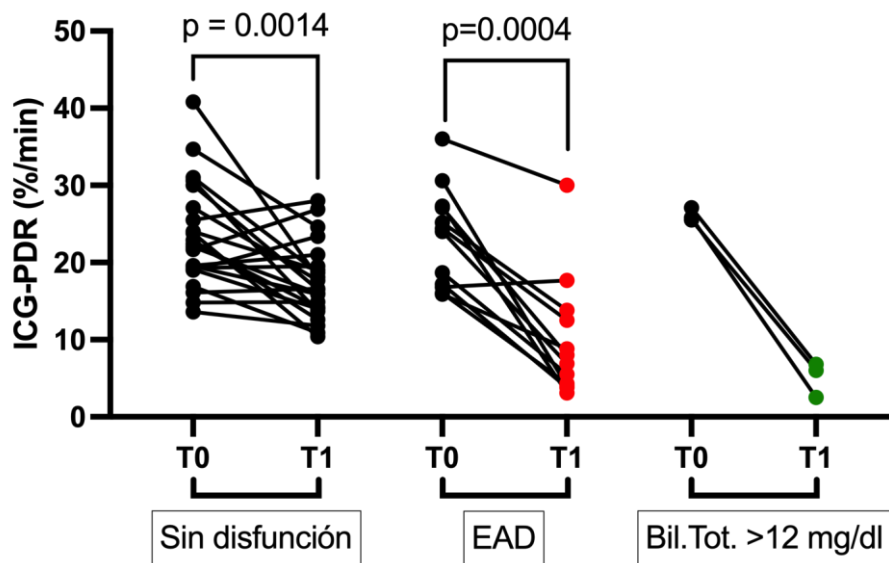
Los valores de ICG-PDR empeoraron en la mayoría de los casos entre el momento de la extracción en el donante (T0) y el momento sucesivo al implante del injerto en el receptor (T1).

Sin embargo, en 8 (21.6%) casos, se observó un aumento del valor del ICG-PDR.

Tres pacientes, que presentaban en el momento del trasplante niveles elevados de bilirrubina total (superior a 12 mg/dl), se han excluido del análisis sucesivo. La bilirrubina plasmática compite con el ICG para el transporte activo a través de los sinusoides hepáticos y el aclaramiento del colorante no es representativo, en estas circunstancias, de la función hepática real. En estos tres casos se observó una caída muy llamativa del valor de aclaramiento de ICG entre T0 y T1.

En los 34 casos restantes, la diferencia de las medias de ICG-PDR entre T0 y T1 resultó ser más significativa en los pacientes con disfunción precoz, frente a aquellos sin disfunción ( $p=0.0014$  vs.  $p=0.0004$ ) (Figura 4.15).

**Figura 4.15** Gráfico de dispersión de la variación (T0-T1) de aclaramiento de verde de indocianina (ICG-PDR) en los pacientes sin disfunción y bilirrubina <12mg/dl pre-trasplante (puntos negros en T1), pacientes que desarrollaron disfunción precoz (puntos rojos en T1) y pacientes sin disfunción, pero con bilirrubina >12 mg/dl pre-trasplante (puntos verdes en T1).



EAD, disfunción precoz del injerto; ICG-PDR, "indocyanine green plasma disappearance rate"; Bil.Tot., bilirrubina total.

### Colangiopatía del injerto

Restando a los 37 pacientes iniciales trasplantados en el HGUGM los 8 que fallecieron o se retrasplantaron en las 4 semanas sucesivas al TH, quedaron 29 pacientes, que se siguieron durante una mediana de 2.6 (1.5-5.9) años. Siete (24.1%) pacientes desarrollaron colangiopatía del injerto, registrándose 4 estenosis no anastomóticas y 3 estenosis anastomóticas.

En la Tabla 4.13 se muestran las diferencias entre las características de los pacientes con colangiopatía frente a aquellos sin este tipo de complicación en el seguimiento. Las únicas variables con diferencia estadísticamente significativa entre los grupos fueron el flujo arterial, y

el flujo arterial ajustado por peso del injerto (flujo /100 g de parénquima), con una mediana de 220 (152-300) ml/min y 16 (12-25) ml/min/100g en los pacientes sin colangiopatía, frente a 130 (93-208) ml/min y 9 (7-13) ml/min/100g en aquellos que desarrollaron colangiopatía, con  $p=0.043$  y  $0.024$ , respectivamente. Se encontró, además, una mayor tendencia a desarrollar colangiopatía del injerto cuando los donantes presentaban DM, y cuando tenían una ecografía patológica (42.9% frente a 9.1%,  $p=0.075$ , en ambos casos).

La mediana de aclaramiento de ICG no fue diferente entre los dos grupos ni en los donantes (T0), ni en los receptores (T1) (Tabla 4.13).

**Tabla 4.13** Comparación entre las variables de los donantes, del trasplante y de los receptores entre los pacientes que desarrollaron colangiopatía del injerto y los sin colangiopatía (n=29).

VARIABLES	Sin colangiopatía (n=22)	Colangiopatía del injerto (n=7)	p
<b>CARACTERISTICAS DEL DONANTE</b>			
Edad (años)	62 (45-76)	62 (25-70)	0.438
Genero (varón), n (%)	14 (63.6)	2 (28.6)	0.118
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24.8 (22.3-28.4)	26.0 (24.1-31.1)	0.354
Uso de drogas vasoactivas en las 24 horas previas, n (%)	13 (59.1)	4 (57.1)	0.927
Parada cardiaca, n (%)	3 (13.6)	2 (28.6)	0.347
Hipertensión arterial, n (%)	9 (40.9)	4 (57.1)	0.347
Diabetes Mellitus, n (%)	2 (9.1)	3 (42.9)	0.075
Dislipemia, n (%)	4 (18.2)	3 (42.9)	0.202
Consumo de tabaco, n (%)	10 (47.6)	4 (54.1)	0.500
Ecografía patológica, n (%)	2 (9.1)	3 (42.9)	0.075
Estancia en UCI (días)	2 (1-4)	2 (1-5)	0.598
GGT(IU/L)	21 (13-42)	49 (26-152)	0.104
AST (IU/L)	26 (17-49)	46 (17-174)	0.329
ALT (IU/L)	18 (12-41)	25 (10-109)	0.798
Bilirrubina (mg/dl)	0.5 (0.3-0.8)	0.7 (0.3-1.0)	0.573
Plaquetas (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	213 (162-274)	183 (91-228)	0.227
ICG-R15 (T0) (%)	3.0 (1.0-5.6)	2.4 (1.6-8.0)	0.901
ICG-PDR (T0) (%/min)	23.4 (19.3-28.0)	25.5 (16.8-27.3)	0.862
Donante con criterios expandidos, n (%)	14 (63.6)	3 (42.9)	0.295
<b>VARIABLES DEL TRASPLANTE</b>			
Trasplante urgente (alerta 0), n (%)	2 (9.1)	1 (14.3)	0.579
Tiempo de isquemia fría (min)	322 (261-392)	290 (189-382)	0.383
Tiempo de isquemia caliente (min)	36 (30-43)	34 (31-45)	0.646

Flujo portal (ml/min)	1200 (900-2000)	1550 (845-1938)	0.598
Flujo arterial (ml/min)	220 (152-300)	130 (93-208)	0.043*
Flujo portal por 100 g (ml/min/100g)	87 (59-123)	117 (57-141)	0.609
Flujo arterial por 100 g (ml/min/100g)	16 (12-25)	9 (7-13)	0.024*
ICG-PDR Receptor (T1) (%/min)	16.0 (12.4-19.9)	14.9 (6.0-17.7)	0.217
Pico INR	1.8 (1.4-2.1)	1.9 (1.5-2.5)	0.784
Pico AST (UI/L)	807 (524-1357)	1307 (484-2288)	0.354
Pico ALT (UI/L)	919 (483-1279)	1553 (731-1773)	0.217
Pico bilirrubina (mg/dl)	3.5 (1.6-5.5)	3.6 (1.3-7.4)	0.823
<b>CARACTERÍSTICAS DEL RECEPTOR</b>			
Edad (años)	60 (46-64)	55 (48-66)	0.600
Genero (varón), n (%)	18 (81.8)	5 (71.4)	0.455
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25.9 (20.3-32.1)	24.8 (19.7-29.3)	0.466
Hipertensión arterial, n (%)	7 (31.8)	1 (14.3)	0.353
Diabetes Mellitus, n (%)	9 (40.9)	2 (28.6)	0.453
Dislipemia, n (%)	6 (27.3)	1 (14.3)	0.444
Consumo de tabaco, n (%)	10 (45.5)	1 (14.3)	0.151
Etiología por CBP o CEP, n (%)	4 (14.2)	2 (28.6)	0.455
Puntuación MELD	15 (10-18)	18 (12-20)	0.389

ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; CBP, colangitis biliar primaria; CSP, Colangitis esclerosante primaria, GGT, gamma-glutamyl transferasa; ICG-PDR, "indocyanine green plasma disappearance rate"; ICG-R15, "indocyanine green retention rate" a 15 minutos; IMC, índice de masa corporal; MELD, model of end stage liver disease

## 5. DISCUSIÓN

Con este trabajo, se ha validado internamente el ICG-PDR como test útil para descartar los injertos hepáticos en los donantes en muerte encefálica, a partir de una cohorte prospectiva de 71 donantes. Se ha encontrado un punto de corte de ICG-PDR de 13.5 %/min, por debajo del cual todos los injertos deberían considerarse inadecuados para trasplantarse.

Este resultado se ha validado externamente en una cohorte de 17 donantes, valorados por un grupo multicéntrico español, mostrando resultados análogos.

Una confirmación microscópica de daño estructural avanzado (fibrosis en puentes, cirrosis, o esteatosis moderada-grave) se ha comprobado en la gran mayoría (93.7%) de los injertos procedentes de donantes con ICG-PDR inferior a 13.5 %/min.

Al principio de los años '90, algún estudio mostró una posible aplicación del test de aclaramiento de ICG en los donantes hepáticos. Wesslau et al. (96), de la Universidad de Berlín, Alemania, midieron la eliminación de ICG con el método de la termodilución en 41 donantes hepáticos. Encontraron que, de los 21 injertos aceptados para el trasplante, solo 2 presentaban un PDR < 15 %/min. De manera interesante, en los dos pacientes trasplantados con estos dos órganos, se observó un fallo precoz del injerto.

En años más recientes, y ya contando con aparatos de medición digital no-invasivos, Zarrinpar et al. (98) de la Universidad de Los Ángeles, EE.UU., encontraron, en 53 donantes, que la única variable del donante asociada a la no-supervivencia del injerto era el ICG-PDR, con un punto de corte ideal de 19.3 %/min. En su estudio, los Autores definían “no-supervivencia” tanto el descarte del injerto antes del trasplante, como la pérdida del injerto a los 7 días post-trasplante.

En el presente estudio, no se ha encontrado ninguna relación entre el ICG-PDR del donante y la disfunción precoz del injerto en el receptor. Este hallazgo se puede explicar, en parte, por el propio diseño del estudio, cuyo objetivo era primariamente el de validar un método para descartar injertos antes de la extracción, y no para predecir el riesgo de disfunción una vez realizado el trasplante. En nuestra opinión, hubiera sido cuestionable combinar en el “end-point” la decisión de descarte del cirujano con la función del injerto una vez trasplantado. En este último contexto influyen, además de la calidad del injerto, también el estado del receptor, los tiempos de isquemia y los condicionantes técnicos del propio trasplante. Sería difícil, en este supuesto, interpretar y aplicar en la práctica clínica un punto de corte de ICG-PDR.

Es conocido que el aclaramiento de ICG es influenciado tanto por el flujo arterial hepático, como por la tasa de extracción hepatoespecífica(77). Un aspecto que podría suscitar dudas de cara a interpretar los resultados de este estudio, es la fiabilidad del valor de ICG-PDR en el contexto de la donación en muerte encefálica, en el que la estabilidad hemodinámica del donante es a menudo dependiente de agentes inotrópicos. Sin embargo, en este estudio, no se encontraron diferencias significativas de valores de aclaramiento de ICG entre los donantes con y sin soporte vasoactivo. En cualquier caso, la medición del aclaramiento de ICG no debería efectuarse durante la infusión de elevados volumen de fluidos (por interferencia con la distribución intravascular del colorante), ni en presencia de shock hemodinámico grave (por la relevancia que tomaría el factor perfusión)(79).

A este respecto, Tang et al. (99) de la Universidad de Cantón, en China, analizaron la supervivencia a tres meses de los injertos hepáticos en 90 pacientes. En los respectivos donantes, se habían realizado una o varias mediciones de aclaramiento de ICG hasta las 6 horas previas a la donación. Un valor elevado de ICG-R15 (recordando que cuanto más alto el R15, más bajo es el PDR y peor la función hepática) se interpretó como una indicación para tener que mejorar las medidas de mantenimiento en el donante. En concreto, lograr un valor de ICG-R15

por debajo de 11% se consideró como el objetivo durante la fase de mantenimiento del donante antes de la extracción. Es interesante notar que la edad media de esa cohorte china de donantes era de 31 años, un valor muy alejado de la realidad occidental, que cuenta con donantes mucho más añosos. En ese escenario, el aclaramiento de ICG podría reflejar un estado de inestabilidad fisiológica relacionada con la muerte encefálica o la sepsis, más que constituir un marcador fiable de la calidad intrínseca del injerto.

En la Unidad de Trasplante del HGUGM se empezó a medir el aclaramiento de ICG en los donantes a partir del año 2017, poniéndolo en relación con su capacidad de detectar el rechazo de los injertos por parte de los cirujanos encargados de la extracción. En el año 2020, se publicaron los resultados obtenidos en un primer estudio “piloto”(106)(Anexo F), en el que se incluían 29 donantes. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el valor de ICG-PDR entre los donantes cuyo injerto se consideraba válido y aquellos cuyos injertos se descartaban según el criterio del cirujano. Éste valoraba el injerto según los parámetros habituales (aspecto macroscópico, calidad de la perfusión fría, valoración comprensiva de los factores de riesgo del donante), desconociendo el valor de ICG-PDR (método ciego). A partir de esos resultados alentadores, se decidió ampliar la experiencia a nivel interno, con el objetivo de desarrollar y validar un modelo de predicción dotado de suficiente potencia estadística, y encontrar un punto de corte adecuado para evitar descartar a priori injertos potencialmente válidos. Además, se decidió, a partir del año 2020, invitar otros Centros de trasplante en España a adherirse al mismo protocolo para poder otorgar validez externa al modelo.

Al validarse internamente y externamente, se podría proponer la adopción del test de ICG, que al día de hoy requiere de un equipamiento ya disponible en muchas unidades de cuidados intensivos en el territorio nacional, como una forma de cribado antes de que la donación hepática sea llevada adelante por parte de los coordinadores locales de trasplante.

La tasa de rechazo del injerto, es decir el evento principal estudiado, fue del 42.3% en la cohorte de desarrollo y del 52.9% en la cohorte de validación externa. De forma global, considerando

conjuntamente las dos cohortes, fue del 44%. Este porcentaje es más elevado que lo esperable según las estadísticas nacionales(26), que lo sitúan en un 30%, posiblemente porque no se incluyeron en este estudio todos los donantes consecutivos valorados, debido a razones logísticas (disponibilidad de personal y de material).

Aplicando el punto de corte de ICG-PDR establecido en la fase de desarrollo (13.5%/min), un total de 18 (46%) donantes en las dos cohortes con injertos considerados no aptos para el trasplante, se hubieran podido identificar de manera correcta a priori gracias al test de ICG, evitando viajes innecesarios y un gasto fútil de recursos humanos y económicos. Este valor de 46% representa en efecto la sensibilidad del test predictivo, es decir, la probabilidad de que un individuo “enfermo” (con injerto no válido), presente un test “positivo” (ICG-PDR inferior a 13.5%/min). Este valor de sensibilidad podría considerarse excesivamente bajo, dando lugar a una elevada tasa de “falsos negativos”, es decir donantes con hígados no válidos cuyo test resultó ser negativo (superior a 13.5%/min). La decisión de establecer este punto de corte deriva de la necesidad de garantizar una especificidad del 100%, prefiriendo no aceptar ningún resultado falso positivo, que conduciría a perder órganos potencialmente válidos.

Con el objetivo de aumentar la sensibilidad de la prueba, se ha combinado el valor de ICG-PDR con el IMC (para intentar amplificar el valor de ambas variables) en un nuevo índice, definido “ratio ICG-IMC”, teniendo tanto el ICG-PDR, como el IMC del donante significación en el estudio multivariante como predictores de descarte de los injertos. El ratio entre ICG-PDR e IMC llegó a tener, en la cohorte de desarrollo, un área bajo la curva ROC superior a aquella del simple ICG-PDR. Este índice sería capaz, a nivel teórico, de “ajustar” el valor de aclaramiento de ICG, expresión principalmente del grado de fibrosis hepática, en los casos de pacientes con IMC muy elevados, considerándose la obesidad un marcador indirecto del grado de esteatosis y/o esteatohepatitis.

Si bien el ratio ICG-IMC pueda resultar interesante para añadir precisión al modelo predictivo, hay un inconveniente que es preciso tener en cuenta. Se trata de la posible imprecisión del dato

de índice de masa corporal. En la práctica habitual, el peso y la talla de los donantes registrados y comunicados a los equipos trasplantadores por los coordinadores locales de trasplante, derivan de una estimación aproximada. Además, los potenciales donantes de órganos pueden estar sometidos a importantes sobrecargas de volumen que llevan a sobreestimar el peso real de forma no despreciable. Por esta razón, y también con el objetivo de mantener el modelo predictivo lo más sencillo posible, se ha validado únicamente el ICG-PDR como predictor del descarte de los injertos.

De manera llamativa, ningún parámetro de laboratorio ni los hallazgos ecográficos hepáticos, disponibles antes de la donación, se asociaron al rechazo de los injertos, a pesar de que los órganos rechazados resultaron presentar finalmente daño hepático avanzado a nivel histopatológico. Una explicación de este hallazgo podría basarse en la observación de que en estas cohortes no se incluyen todos los donantes ofertados en ese periodo por la ONT: aquellos con estudios ecográficos claramente patológicos o con alteraciones marcadas en el perfil analítico, se descartaron previamente por los responsables de los Centros trasplantadores y no se valoraron de forma presencial.

Los valores medidos de aclaramiento de ICG en las dos cohortes de donantes de este estudio tuvieron una mediana de 19.3 %/min, valor en línea con los datos descritos en literatura para los sujetos sanos (>18 %/min)(79), y se confirmó también su correlación linear inversa con la edad, una característica ampliamente conocida(95,98) y posiblemente debida a la disminución del flujo y del volumen hepático asociados al envejecimiento(30). Se pudo demostrar, además, una débil correlación inversa del ICG-PDR con el IMC del donante y con los niveles plasmáticos de GGT, sugiriendo una posible disminución del transporte transmembrana del colorante en presencia de esteatosis/esteatohepatitis y de daño hepatocitario.

Asimismo, se encontraron unos valores significativamente peores de aclaramiento de ICG en los donantes hipertensos, diabéticos y no fumadores. Estas asociaciones pueden en parte ser debidas al hecho que, en esta serie, tanto los donantes con hipertensión como los no fumadores

eran más ancianos que, respectivamente, los no hipertensos y los fumadores (efecto de colinealidad). En cuanto a los pacientes con diabetes (especialmente si asociado a hipertensión), es conocido un fenómeno histopatológico definido como arteriolosclerosis hepática hialina(107), una forma de microangiopatía hepática a menudo asociada a fibrosis pericentral y sinusoidal, que se podría traducir a nivel funcional con una reducida eliminación de ICG.

Como se ha comentado anteriormente, el aclaramiento de ICG de los donantes no se ha demostrado en este estudio estar relacionado con en el desarrollo de disfunción precoz del injerto, ni de pérdida del injerto a las 4 semanas del trasplante, contrariamente a cuanto publicado por otros A.A. (95,98,99). En el presente estudio, las únicas variables de los donantes, en la cohorte global de los pacientes trasplantados (n=45), con diferencias significativas entre los pacientes que desarrollaron disfunción precoz del injerto y aquellos sin disfunción, fueron la edad y el uso de agentes inotrópicos en las 24 horas previas a la donación. En el análisis univariante realizado, la única variable encontrada con asociación significativa con el desarrollo de EAD y pérdida del injerto, fue la edad de los donantes. El factor edad, incluido en los principales índices de riesgos conocidos (27,34,73), se ha corroborado como factor clave en la valoración comprensiva de las características de los donantes de cara al éxito del trasplante.

En un estudio retrospectivo de Hoyer et al.(108), de la Universidad de Essen, Alemania, que incluía 475 trasplantes, los parámetros que aumentaban el riesgo de EAD fueron el IMC de los donantes, la última GGT disponible del donante, la macroesteatosis del injerto y el tiempo de isquemia frío. Bastos-Nieves et al.(109) encontraron, en un análisis de 602 pacientes trasplantados, el sexo masculino, un sodio>157 mmol/L, el IMC y la edad de los donantes entre 50 y 59 años como efectos adversos asociados al EAD, además de un tiempo de isquemia fría >10 h y de isquemia caliente >40 min.

La disfunción precoz del injerto y su forma más severa, la no función primaria, representan la manifestación clínica del daño por isquemia-reperfusión (IRI), como demostraron Ali et al.(110), de la Universidad de Cambridge, Reino Unido. En su trabajo, analizaron la presencia de daño

isquémico a nivel patológico en 476 biopsias de injertos hepáticos tomadas tras la reperfusión, y vieron que el IRI severo se asoció de manera significativa a la disfunción precoz, a la no función primaria y a la pérdida del injerto a los 3 meses. Existe cierta evidencia de que el aclaramiento de ICG en el injerto tras el implante, pueda representar una medida del IRI y, posiblemente, de una disminuida actividad de excreción biliar debido a la depleción general de transportadores adenosina-trifosfato dependientes, tras el periodo isquémico. En un estudio prospectivo con 22 pacientes, Plevris et al.(101), de la Universidad de Edimburgo, Reino Unido, demostraron que los valores de aclaramiento de ICG se correlacionaban de forma lineal inversa a las 24 h tras el trasplante con el nivel plasmático de especies reactivas intermedias del oxígeno y de la elastasa neutrofílica (expresiones del estrés oxidativo intracelular de la fase de reperfusión).

A este propósito, en el subanálisis que hemos realizado en los pacientes trasplantados en el HGUGM (n=37), se ha observado, en la mayoría de los casos (78.4%), una caída del ICG-PDR entre el momento de la donación (T0-PDR) y el periodo post-trasplante inmediato (T1-PDR)(111)(Anexo G). El T1-PDR se asoció de manera significativa al desarrollo de disfunción precoz del injerto, un hallazgo ya descrito por el grupo del Paul Brousse(112), en Francia, y desde el propio HGUGM, por Olmedilla et al.(92). En general, la caída de ICG-PDR entre T0 y T1 resultó ser más significativa en los pacientes con disfunción precoz, frente a aquellos sin disfunción, como también han recientemente reportado Cherchi et al.(113) en su estudio con 18 donantes y receptores aparejados.

Otro hallazgo del presente estudio ha sido confirmar el rol que juega la bilirrubina plasmática pre-trasplante en el receptor, que puede encontrarse especialmente elevada en patologías colestásicas o en los fallos hepáticos agudos, con respecto al aclaramiento de ICG. Se ha descrito que la bilirrubina actúa como un bloqueador competitivo, como otros compuestos aniónicos, con la molécula de ICG(83). En estos casos, el ICG-PDR del receptor puede infravalorar la función hepática real, y no debería considerarse fiable. En los casos de pacientes con bilirrubina superior a 12 mg/dl, se observó una caída muy llamativa del valor de aclaramiento de ICG entre T0 y T1

y, sin embargo, su evolución fue favorable, sin disfunción. Reconocemos, obviamente, que este estudio no tiene el poder estadístico suficiente para detectar el cut-off de bilirrubina para desestimar la medición de ICG durante el periodo intraoperatorio, habiéndose registrado solo tres casos con bilirrubina tan elevada pre-trasplante.

De los 37 pacientes trasplantados en el HGUGM, 8 se retrasplantaron o fallecieron en las primeras 4 semanas y, de los 29 restantes, 7 (24.1%) desarrollaron colangiopatía del injerto tras un tiempo mediano de seguimiento de 2.6 años. Ni el ICG-PDR en los donantes (T0), ni aquel de los receptores (T1) mostraron tener capacidad de predicción de colangiopatía. La única variable que mostró diferencia entre los pacientes con y sin colangiopatía, fue el flujo arterial y el flujo arterial ajustado por 100 g de peso del injerto, significativamente más reducidos en los pacientes con colangiopatía. La colangiopatía del injerto es una de las causas más frecuentes de morbilidad, retrasplante y hasta de mortalidad a medio-largo plazo tras el TH. Su etiología es multifactorial, aunque se reconocen tres mecanismos principales: 1) el daño en los colangiocitos por isquemia-reperfusión; 2) el efecto lesivo de los sales biliares y 3) un daño inmuno-mediato(100).

La asociación de reducido flujo arterial del injerto y colangiopatía no había sido descrita anteriormente en literatura. En un estudio con 566 pacientes trasplantados, Kelly et al.(114) de la Universidad de Cleveland, Estados Unidos, demostraron por primera vez que flujos hepáticos intraoperatorios disminuidos (tanto arteriales como portales) estaban relacionados con el desarrollo de daño por isquemia-reperfusión (diagnosticado midiendo el nivel de AST en el segundo día postoperatorio). Tras el TH, el aporte de sangre arterial al conducto biliar extrahepático y a las ramas intrahepáticas de mayor tamaño del árbol biliar es proporcionado exclusivamente por la arteria hepática. Esto podría explicar por qué un disminuido flujo arterial después del trasplante resulta en una mayor tasa de complicaciones biliares, aunque es necesario tener prudencia en recabar conclusiones en este sentido, dado el pequeño tamaño muestral de este subanálisis.

Este estudio presenta varias limitaciones que es necesario reseñar. En primer lugar, se ha escogido como “gold standard” para valorar la prestación del test de ICG, la decisión de un cirujano, fundamentada básicamente en su experiencia previa. Hemos mencionado en la introducción que la decisión de aceptación o rechazo del injerto hepático se basa en el sumatorio de muchos factores, que el cirujano extractor valora y barema de manera simultánea: apariencia macroscópica del hígado y de su vascularización, antecedentes médicos del donante, historia de consumo de alcohol o drogas, eventos hemodinámicos previos a la donación, presión en lista de espera de trasplante, etc. Como toda decisión humana, esta variable no puede definirse como del todo reproducible ni objetiva.

Una alternativa más objetiva como “gold standard” podría considerarse el resultado de una biopsia intraoperatoria por congelación. A pesar de realizarse ocasionalmente para descartar malignidad en el donante o valorar el grado de esteatosis, la biopsia congelada no se utiliza de forma rutinaria en España en la valoración de la calidad del injerto por las siguientes razones:

- La mayoría de las extracciones se realizan fuera del horario de trabajo, no contando siempre con las instalaciones y el personal para procesar e interpretar las muestras hepáticas;
- La cuantificación histológica del grado de esteatosis se puede hacer complicada por la distinción entre vacuolas de grasa y los espacios artefactuales de las secciones congeladas (efecto de “persiana veneciana”)(115);
- No existen criterios establecidos y unívocos de daño histológico que se puedan considerar taxativos para descartar un injerto hepático. Por ejemplo, una esteatosis macrovacuolar del 30% aislada se podría considerar aceptable en un donante joven, pero no adecuada en un donante mayor o que haya tenido una parada prolongada antes de la donación.

Para limitar el sesgo debido a la variabilidad de criterios de evaluación de los donantes, se incluyeron, en la cohorte de desarrollo, los injertos valorados únicamente por 2 cirujanos del equipo de trasplante, ambos con más de 5 años de experiencia en la cirugía de donación. Además, se ha intentado paliar el sesgo del observador gracias al empleo del método ciego: el resultado del aclaramiento de ICG quedaba desconocido por el cirujano extractor hasta que éste tomara la decisión de validez o menos del injerto.

Como último método para atenuar este sesgo, se ha intentado validar externamente el modelo pronóstico. Otros cirujanos, de otros hospitales en el territorio español, con criterios parecidos, pero no idénticos a aquellos del grupo promotor, han seguido el mismo protocolo de medición de aclaramiento del ICG en donantes de características parecidas a aquellas de la cohorte de desarrollo.

El pequeño tamaño muestral de la cohorte de validación externa es sin duda otro punto débil de este estudio. El tamaño de muestra en un estudio de validación externa debería ser lo suficientemente grande para estimar con precisión la performance de un modelo predictivo. Un tamaño muestral pequeño resulta en intervalos de confianza amplios que pueden llevar a conclusiones incorrectas sobre la fiabilidad del modelo(116).

En nuestro caso, solo 17 donantes fueron reclutados por los centros externos. A pesar de que, inicialmente, 9 Hospitales hubieran accedido a participar en el estudio, al finalizar el periodo (prorrogado) de inclusión (mayo de 2023), solo 3 habían finalmente reclutado donantes. Debido a una  $n$  tan baja, no se pudo realizar un estudio de calibración (que suponía una segmentación añadida de esta cohorte) de la misma manera que se hizo en la cohorte de desarrollo. Sin embargo, ninguna de las variables de las dos poblaciones de donantes (desarrollo y validación externa) presentaba diferencias significativas, con especial énfasis en la variable “end-point” principal: la tasa de descarte. La única diferencia entre las dos cohortes era la posible discrepancia en el criterio de aceptación de los cirujanos, que es justamente lo que se pretendía

poner a prueba con el estudio de validación externa. Se pudo demostrar un buen poder de discriminación del ICG-PDR como predictor del descarte de los injertos también en la cohorte externa, con un AUROC superior a 0.8 (0.806), si bien con un amplio intervalo de confianza (0.582 -1.000). En la cohorte externa, ningún órgano cuyo donante presentaba un ICG-PDR < 13.5%/min, fue aceptado por los cirujanos extractores, de tal forma que la especificidad del test se mantuvo del 100%.

La tercera limitación del estudio concierne el análisis anatómico-patológico. Aproximadamente el 20% de las biopsias de injertos rechazados no estuvieron disponibles para el análisis microscópico. A pesar de ser un estudio de diseño prospectivo, que incluía en su protocolo la realización de una biopsia tras la declaración de no-validez, ésta no se realiza de forma rutinaria por los equipos de trasplante, explicándose así en parte el extravío de muestras.

Asimismo, el espectro de la variabilidad y las posibles combinaciones de hallazgos histológicos en una misma muestra, hicieron difícil establecer una correlación sencilla entre la eliminación de ICG y la anatomía hepática microscópica. Mientras un PDR por debajo de 13.5%/min se asoció casi invariablemente con daño histológico avanzado (fibrosis en puente, cirrosis, esteatosis moderada-grave), los hallazgos en los injertos descartados de donantes con PDR superior a 13.5%/min resultaron ser muy variables. En este último grupo se contaron biopsias con fibrosis periportal, otras con diferentes grados de esteatosis, y algunas con parénquima hepático aparentemente sano. Estos injertos (descartados según los criterios clásicos del cirujano, pero todavía con una capacidad de eliminación razonable del ICG) podrían constituir el objeto de investigación futura para ser testados con máquinas de preservación dinámicas, como la perfusión oxigenada hipotérmica (HOPE) o la perfusión normotérmica (NMP). Es significativo que, en la gran mayoría de los ensayos clínicos realizados hasta la fecha que comparan las técnicas de perfusión dinámicas de los injertos con la preservación estática en frío(117), se hayan incluido donantes con ECD. La definición más aceptada actualmente de ECD, del grupo

Eurotrasplant(27), considera donantes con criterios extendidos cualquier donante con al menos una de las siguientes características: edad > 65 años, ventilación mecánica > 7 días, IMC > 30, esteatosis hepática > 40%, Na > 165 mmol/L, ALT > 105 U/L, AST > 90 U/L, bilirrubina plasmática > 3 mg/dL. Injertos con características muy diferente resultarían, por lo tanto, incluidos en la misma categoría. Por ejemplo, en nuestra cohorte de desarrollo, casi el 80% de los donantes satisfacían los criterios de ECD. Una estratificación más objetiva en este grupo de donantes a través de la determinación del aclaramiento de ICG, podría ayudar a seleccionar cuales injertos se beneficiarían en mayor medida de estas técnicas de perfusión. Sin embargo, en el presente estudio no se han incluido, intencionalmente, los injertos destinados tanto a NMP como a HOPE, dado que los criterios de aceptación podrían haber sido diferentes en esos casos. Además, las citadas máquinas de perfusión dinámica no estaban disponible en el centro promotor durante los primeros años del periodo de estudio.

Otro posible aspecto criticable del presente trabajo es la exclusión del protocolo de los donantes en asistolia. En los últimos años, en España, los donantes tras parada cardiaca están representando más de un 30% de todos los donantes eficientes. La decisión de no incluir este grupo se debe a las siguientes razones:

- 1) Los criterios de aceptación en los donantes en asistolia se basan, además de los parámetros morfológicos, también de la evolución analítica durante la perfusión regional con ECMO(22), que dependen principalmente del daño causado al hígado durante el periodo de hipoperfusión e isquemia caliente tras la limitación.
- 2) En la logística de la donación en asistolia, el equipo extractor es convocado, en muchas ocasiones, en el momento de la limitación del soporte médico, siendo poco práctica la realización del test de aclaramiento en esos instantes.

A pesar de esta limitación, las conclusiones de este estudio referentes al objetivo primario (el valor pronóstico del ICG y su punto de corte para descartar los injertos hepático) serían

extrapolables también a los donantes en asistolia, siempre y cuando se cumplan los criterios hemodinámicos especificados en los métodos. En efecto, un donante con ICG-PDR inferior a 13.5 %/min tendría, como hemos argumentado, un órgano a priori no válido debido a daño estructural severo, al cual se sumaría el riesgo añadido del periodo de isquemia caliente controlada.

Aun con las limitaciones expuestas, este constituye el primer estudio que ha validado el test de aclaramiento de ICG en los donantes hepáticos en muerte encefálica como herramienta para predecir el rechazo de los injertos en la población española(118)(Anexo H). Si realizado antes de la oferta de un injerto hepático por parte de los coordinadores de trasplante locales, este test podría utilizarse como medida de exclusión a priori, y permitir decidir en consecuencia no desplazarse innecesariamente para su valoración presencial. Prácticas de este tipo podrían hacer ahorrar al sistema sanitarios miles de euros (desplazamientos por carretera o avión, utilización de quirófanos, coste del trabajo de los equipos quirúrgicos, coste en tiempo y dinero para los potenciales receptores y sus allegados) por cada cirugía de extracción fútil evitada debido a un resultado patológico de aclaramiento de ICG.

Una validación externa en una cohorte internacional más amplia sería necesaria para explorar la aplicabilidad de esta estrategia a otros Países.

## 6. CONCLUSIONES

1. El test de aclaramiento del verde de indocianina (ICG-PDR), realizado en los donantes en muerte encefálica, predice el descarte de los injertos antes de la extracción hepática.
2. Un valor de ICG-PDR  $<13.5$  %/min en los donantes tiene una especificidad del 100% para predecir el descarte de los injertos.
3. Un valor de ICG-PDR  $<13.5$  %/min en los donantes se asocia a daños significativos a nivel histológico.
4. No se ha demostrado una relación entre el ICG-PDR de los donantes y la disfunción precoz del injerto.
5. El ICG-PDR de los donantes no está asociado al desarrollo de colangiopatía del injerto.
6. Los pacientes con disfunción precoz del injerto presentan una caída de ICG-PDR entre donante y receptor, más significativa que en aquellos sin disfunción.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Starzl TE, Iwatsuki S, Van Thiel DH, Carlton Gartner J, Zitelli BJ, Jeffrey Malatack J, et al. Evolution of liver transplantation. *Hepatology* [Internet]. 1982 [cited 2024 Apr 10];2(5):614S-636S.
2. Calne RY, Rolles K, Thiru S, McMaster P, Craddock GN, Aziz S, et al. Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases, and 2 livers. *Lancet (London, England)* [Internet]. 1979 Nov 17 [cited 2024 Apr 10];2(8151):1033–6.
3. Sociedad Española de Trasplante Hepático (SETH). Registro Español de Trasplante Hepático. Memoria 2022 [Internet]. Available from: [https://www.sethepatico.org/docs/2022/MEMORIA\\_RETH2022\\_GENERALv.pdf](https://www.sethepatico.org/docs/2022/MEMORIA_RETH2022_GENERALv.pdf)
4. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology* [Internet]. 2001 [cited 2024 Apr 10];33(2):464–70.
5. Schaubel DE, Sima CS, Goodrich NP, Feng S, Merion RM. The survival benefit of deceased donor liver transplantation as a function of candidate disease severity and donor quality. *Am J Transplant* [Internet]. 2008 Feb [cited 2024 Apr 10];8(2):419–25.
6. RW O, NL A, M A, P B, JP R, JR L. Predicting recidivism after orthotopic liver transplantation for alcoholic liver disease. *Hepatology* [Internet]. 1994 Jul [cited 2024 Apr 10];20(1 Pt 1):105–10.
7. Shawcross DL, O’Grady JG. The 6-month abstinence rule in liver transplantation. *Lancet (London, England)* [Internet]. 2010 [cited 2024 Apr 10];376(9737):216–7.
8. Foster PF, Fabrega F, Karademir S, Sankary HN, Mital D, Williams JW. Prediction of abstinence from ethanol in alcoholic recipients following liver transplantation. *Hepatology* [Internet]. 1997 [cited 2024 Apr 10];25(6):1469–77.
9. Rice JP, Eickhoff J, Agni R, Ghufuran A, Brahmabhatt R, Lucey MR. Abusive drinking after liver transplantation is associated with allograft loss and advanced allograft fibrosis. *Liver Transpl* [Internet]. 2013 Dec;19(12):1377–86.
10. Mathurin P, Moreno C, Samuel D, Dumortier J, Salleron J, Durand F, et al. Early liver transplantation for severe alcoholic hepatitis. *N Engl J Med* [Internet]. 2011 Nov 10 [cited 2024 Feb 20];365(19):1790–800.
11. Terrault NA, Pageaux GP. A changing landscape of liver transplantation: King HCV is dethroned, ALD and NAFLD take over! *J Hepatol* [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2024 Apr 10];69(4):767–8.
12. Dickson ER, Grambsch PM, Fleming TR, Fisher LD, Langworthy A. Prognosis in primary biliary cirrhosis: model for decision making. *Hepatology* [Internet]. 1989 [cited 2024 Apr 10];10(1):1–7.
13. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with

- cirrhosis. *N Engl J Med*. 1996;334(11):693–9.
14. Llovet JM, Ducreux M, Lencioni R, Di Bisceglie AM, Galle PR, Dufour JF, et al. EASL-EORTC Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* [Internet]. 2018;56(4):908–43.
  15. Yao FY, Ferrell L, Bass NM, Watson JJ, Bacchetti P, Venook A, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: Expansion of the tumor size limits does not adversely impact survival. *Hepatology* [Internet]. 2001 [cited 2024 Apr 10];33(6):1394–403.
  16. Mazzaferro V, Llovet JM, Miceli R, Bhoori S, Schiavo M, Mariani L, et al. Predicting survival after liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma beyond the Milan criteria: a retrospective, exploratory analysis. *Lancet Oncol* [Internet]. 2009 Jan [cited 2024 Apr 10];10(1):35–43.
  17. Sapisochin G, Facciuto M, Rubbia-Brandt L, Marti J, Mehta N, Yao FY, et al. Liver transplantation for “very early” intrahepatic cholangiocarcinoma: International retrospective study supporting a prospective assessment. *Hepatology* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2024 Apr 10];64(4):1178–88.
  18. Mazzaferro V, Pulvirenti A, Coppa J. Neuroendocrine tumors metastatic to the liver: how to select patients for liver transplantation? *J Hepatol* [Internet]. 2007 Oct [cited 2024 Apr 10];47(4):460–6.
  19. Hussey HH. Fulminant hepatic failure. *J Am Med Assoc*. 1973;226(10):1227.
  20. Dhiman RK, Jain S, Maheshwari U, Bhalla A, Sharma N, Ahluwalia J, et al. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure: An assessment of the Model for End-Stage Liver Disease (MELD) and King’s College Hospital Criteria. *Liver Transplant*. 2007 Jun;13(6):814–21.
  21. Evrard P. Belgian modified classification of Maastricht for donors after circulatory death. *Transplant Proc* [Internet]. 2014 [cited 2024 Apr 12];46(9):3138–42.
  22. Hessheimer AJ, de la Rosa G, Gastaca M, Ruíz P, Otero A, Gómez M, et al. Abdominal normothermic regional perfusion in controlled donation after circulatory determination of death liver transplantation: Outcomes and risk factors for graft loss. *Am J Transplant* [Internet]. 2022 Apr 1 [cited 2023 Dec 13];22(4):1169–81.
  23. Feng GY, Feng X, Tao J, Ao YP, Wu XH, Qi SG, et al. Benefits of Hypothermic Oxygenated Perfusion Versus Static Cold Storage in Liver Transplant: A Comprehensive Systematic Review and Meta-analysis. *J Clin Exp Hepatol* [Internet]. 2024 May 1 [cited 2024 Apr 12];14(3).
  24. Organizacion Nacional de Trasplantes. Actividad-De-Donacion-Y-Trasplante-Espana-2023. 2024; Available from: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.ont.es/wp-content/uploads/2024/03/DONACION-Y-TRASPLANTE-HEPATICO-2023.pdf
  25. Deeb AA, Settmacher U, Fritsch J, Dondorf F, Rohland O, Rauchfuß F. Postoperative Outcomes in 415 Patients Following Liver Transplantation Using Extended Donor Criteria: A Study from a Single Center in Germany. *Ann Transplant* [Internet]. Apr 7;28
  26. Organización Nacional De Trasplantes. ACTIVIDAD DE DONACIÓN Y TRASPLANTE HEPÁTICO ESPAÑA 2022. 2022; Available from: <http://www.ont.es/infesp/Memorias/ACTIVIDAD DE DONACIÓN Y TRASPLANTE HEPÁTICO ESPAÑA 2022.pdf>

27. Braat AE, Blok JJ, Putter H, Adam R, Burroughs AK, Rahmel AO, et al. The Eurotransplant donor risk index in liver transplantation: ET-DRI. *Am J Transplant* [Internet]. 2012 Oct [cited 2023 Oct 18];12(10):2789–96.
28. Jung T, Bader N, Grune T. Lipofuscin: formation, distribution, and metabolic consequences. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2007 [cited 2024 Jan 28];1119(1):97–111.
29. Jolly RD, Douglas B V., Davey PM, Roiri JE. Lipofuscin in bovine muscle and brain: a model for studying age pigment. *Gerontology* [Internet]. 1995 [cited 2024 Jan 28];41 Suppl 2:283–95.
30. McLean AJ, Le Couteur DG. Aging biology and geriatric clinical pharmacology. *Pharmacol Rev* [Internet]. 2004 Jun [cited 2024 Jan 27];56(2):163–84.
31. Sotaniemi EA, Arranto AJ, Pelkonen O, Pasanen M. Age and cytochrome P450-linked drug metabolism in humans: an analysis of 226 subjects with equal histopathologic conditions. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 1997 Mar [cited 2024 Jan 29];61(3):331–9.
32. Sawada N. Hepatocytes from old rats retain responsiveness of c-myc expression to EGF in primary culture but do not enter S phase. *Exp Cell Res* [Internet]. 1989 [cited 2024 Feb 5];181(2):584–8.
33. Iakova P, Awad SS, Timchenko NA. Aging reduces proliferative capacities of liver by switching pathways of C/EBP $\alpha$  growth arrest. *Cell* [Internet]. 2003 May 16 [cited 2024 Feb 5];113(4):495–506.
34. Feng S, Goodrich NP, Bragg-Gresham JL, Dykstra DM, Punch JD, DeRoy MA, et al. Characteristics associated with liver graft failure: the concept of a donor risk index. *Am J Transplant* [Internet]. 2006 Apr [cited 2023 Mar 18];6(4):783–90.
35. Hoofnagle JH, Lombardero M, Zetterman RK, Lake J, Porayko M, Everhart J, et al. Donor age and outcome of liver transplantation. *Hepatology* [Internet]. 1996 Jul [cited 2024 Feb 7];24(1):89–96.
36. Li Y, Ruan DY, Jia CC, Zheng J, Wang GY, Zhao H, et al. Aging aggravates hepatic ischemia-reperfusion injury in mice by impairing mitophagy with the involvement of the EIF2 $\alpha$ -parkin pathway. *Aging (Albany NY)*. 2018 Aug 1;10(8):1902–20.
37. Zhang HJ, Xu L, Drake VJ, Xie L, Oberley LW, Kregel KC. Heat-induced liver injury in old rats is associated with exaggerated oxidative stress and altered transcription factor activation. *FASEB J*. 2003 Dec;17(15):2293–5.
38. Okaya T, Blanchard J, Schuster R, Kuboki S, Husted T, Caldwell CC, et al. Age-dependent responses to hepatic ischemia/reperfusion injury. *Shock*. 2005 Nov;24(5):421–7.
39. Johnson SR, Alexopoulos S, Curry M, Hanto DW. Primary nonfunction (PNF) in the MELD era: An SRTR database analysis. *Am J Transplant*. 2007 Apr;7(4):1003–9.
40. Weissenbacher A, Vrakas G, Nasralla D, Ceresa CDL. The future of organ perfusion and re-conditioning. *Transpl Int*. 2019 Jun 1;32(6):586–97.
41. Neri I, Pascale MM, Bianco G, Frongillo F, Agnes S, Giovinazzo F. Age and liver graft: a systematic review with meta-regression. *Updates Surg* [Internet]. 2023 Dec 1 [cited 2024 Feb 8];75(8):2075–83.
42. Andert A, Ulmer TF, Schöning W, Kroy D, Hein M, Alizai PH, et al. Grade of donor liver microvesicular steatosis does not affect the postoperative outcome after liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* [Internet]. 2017 Dec 15 [cited 2024 Feb

- 10];16(6):617–23.
43. Yersiz H, Lee C, Kaldas FM, Hong JC, Rana A, Schnickel GT, et al. Assessment of hepatic steatosis by transplant surgeon and expert pathologist: a prospective, double-blind evaluation of 201 donor livers. *Liver Transpl* [Internet]. 2013 Apr [cited 2024 Feb 16];19(4):437–49.
  44. Seifalian AM, Piasecki C, Agarwal A, Davidson BR. The effect of graded steatosis on flow in the hepatic parenchymal microcirculation. *Transplantation* [Internet]. 1999 Sep 27 [cited 2023 Mar 13];68(6):780–4.
  45. Serafín A, Roselló-Catafau J, Prats N, Xaus C, Gelpí E, Peralta C. Ischemic preconditioning increases the tolerance of Fatty liver to hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Am J Pathol* [Internet]. 2002 [cited 2024 Feb 10];161(2):587–601.
  46. Cha I, Bass N, Ferrell LD. Lipopeliosis. An immunohistochemical and clinicopathologic study of five cases. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 1994 [cited 2023 Mar 13];18(8):789–95.
  47. Fukumori T, Ohkohchi N, Tsukamoto S, Satomi S. Why is fatty liver unsuitable for transplantation? Deterioration of mitochondrial ATP synthesis and sinusoidal structure during cold preservation of a liver with steatosis. *Transplant Proc* [Internet]. 1997 [cited 2023 Mar 15];29(1–2):412–5.
  48. Dutkowski P, Schlegel A, Slankamenac K, Oberkofler CE, Adam R, Burroughs AK, et al. The use of fatty liver grafts in modern allocation systems: risk assessment by the balance of risk (BAR) score. *Ann Surg* [Internet]. 2012 Nov [cited 2024 Feb 13];256(5):861–9.
  49. Spitzer AL, Lao OB, Dick AAS, Bakthavatsalam R, Halldorson JB, Yeh MM, et al. The biopsied donor liver: incorporating macrosteatosis into high-risk donor assessment. *Liver Transpl* [Internet]. 2010 Jul [cited 2024 Feb 13];16(7):874–84.
  50. Briceno J, Padillo J, Rufián S, Solórzano G, Pera C. Assignment of steatotic livers by the Mayo model for end-stage liver disease. *Transpl Int* [Internet]. 2005 May [cited 2024 Feb 13];18(5):577–83.
  51. Deroose JP, Kazemier G, Zondervan P, IJzermans JNM, Metselaar HJ, Alwayn IPJ. Hepatic steatosis is not always a contraindication for cadaveric liver transplantation. *HPB (Oxford)* [Internet]. 2011 [cited 2024 Feb 13];13(6):417–25.
  52. Angele MK, Rentsch M, Hartl WH, Wittmann B, Graeb C, Jauch KW, et al. Effect of graft steatosis on liver function and organ survival after liver transplantation. *Am J Surg* [Internet]. 2008 Feb [cited 2024 Feb 14];195(2):214–20.
  53. Li J, Liu B, Yan LN, Zuo YX, Li B, Zeng Y, et al. Reversal of graft steatosis after liver transplantation: prospective study. *Transplant Proc* [Internet]. 2009 Nov [cited 2024 Feb 14];41(9):3560–3.
  54. Baccarani U, Isola M, Adani GL, Avellini C, Lorenzin D, Rossetto A, et al. Steatosis of the hepatic graft as a risk factor for post-transplant biliary complications. *Clin Transplant* [Internet]. 2010 Sep [cited 2024 Feb 9];24(5):631–5.
  55. Ghobrial RM, Steadman R, Gornbein J, Lassman C, Holt CD, Chen P, et al. A 10-year experience of liver transplantation for hepatitis C: analysis of factors determining outcome in over 500 patients. *Ann Surg* [Internet]. 2001 [cited 2024 Feb 18];234(3):384–94.

56. Marroquin CE, Marino G, Kuo PC, Plotkin JS, Rustgi VK, Lu AD, et al. Transplantation of hepatitis C-positive livers in hepatitis C-positive patients is equivalent to transplanting hepatitis C-negative livers. *Liver Transplant* [Internet]. 2001 [cited 2024 Feb 18];7(9):762–8.
57. Bowring MG, Kucirka LM, Massie AB, Luo X, Cameron A, Sulkowski M, et al. Changes in Utilization and Discard of Hepatitis C-Infected Donor Livers in the Recent Era. *Am J Transplant* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2024 Feb 18];17(2):519–27.
58. Bethea E, Arvind A, Gustafson J, Andersson K, Pratt D, Bhan I, et al. Immediate administration of antiviral therapy after transplantation of hepatitis C-infected livers into uninfected recipients: Implications for therapeutic planning. *Am J Transplant* [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2024 Apr 19];20(6):1619–28.
59. Prieto M, Gómez MD, Berenguer M, Córdoba J, Rayón JM, Pastor M, et al. De novo hepatitis B after liver transplantation from hepatitis B core antibody—positive donors in an area with high prevalence of anti-HBc positivity in the donor population. *Liver Transplant* [Internet]. 2001 [cited 2024 Apr 19];7(1):51–8.
60. Cholongitas E, Papatheodoridis G V., Burroughs AK. Liver grafts from anti-hepatitis B core positive donors: A systematic review. *J Hepatol* [Internet]. 2010 Feb 1 [cited 2024 Apr 19];52(2):272–9.
61. Bahde R, Hölzen JP, Wolters HH, Schmidt HHJ, Thomas Bock C, Lügering A, et al. Course of a HBsAg positive liver transplantation in a hepatitis B and D virus coinfecting recipient. *Ann Hepatol*. 2011 Jul 1;10(3):355–60.
62. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002 Sep 1;123(3):745–50.
63. Rogier J, Roullet S, Cornélis F, Biais M, Quinart A, Revel P, et al. Noninvasive assessment of macrovesicular liver steatosis in cadaveric donors based on computed tomography liver-to-spleen attenuation ratio. *Liver Transpl* [Internet]. 2015 May 1 [cited 2023 Apr 28];21(5):690–5.
64. Yoon JH, Lee JM, Suh KS, Lee KW, Yi NJ, Lee KB, et al. Combined Use of MR Fat Quantification and MR Elastography in Living Liver Donors: Can It Reduce the Need for Preoperative Liver Biopsy? *Radiology* [Internet]. 2015 Aug 1 [cited 2024 Feb 15];276(2):453–64.
65. Markin RS, Wisecarver JL, Radio SJ, Stratta RJ, Langnas AN, Hirst K, et al. Frozen section evaluation of donor livers before transplantation. *Transplantation* [Internet]. 1993 [cited 2023 Apr 28];56(6):1403–9.
66. Brunt EM. Surgical assessment of significant steatosis in donor livers: the beginning of the end for frozen-section analysis? *Liver Transpl* [Internet]. 2013 Apr [cited 2024 Apr 17];19(4):360–1.
67. El-Badry AM, Breitenstein S, Jochum W, Washington K, Paradis V, Rubbia-Brandt L, et al. Assessment of hepatic steatosis by expert pathologists: the end of a gold standard. *Ann Surg* [Internet]. 2009 Nov [cited 2024 Apr 20];250(5):691–6.
68. Fiorentino M, Vasuri F, Ravaioli M, Ridolfi L, Grigioni WF, Pinna AD, et al. Predictive value of frozen-section analysis in the histological assessment of steatosis before liver transplantation. *Liver Transplant*. 2009 Dec;15(12):1821–5.

69. Oliver JB, Machineni P, Bongu A, Patel T, Nespral J, Kadric C, et al. Liver biopsy in assessment of extended criteria donors. *Liver Transplant*. 2018 Feb 1;24(2):182–91.
70. Ganz S, Abdullah K, Gedaly R, Henry S, Cravero L, Olson L, et al. Use of percutaneous liver biopsies in marginal liver donors. *Transplant Proc*. 2001 Feb 1;33(1–2):1509–11.
71. Mangus RS, Borup TC, Popa S, Saxena R, Cummings O, Tector AJ. Utility of pre-procurement bedside liver biopsy in the deceased extended-criteria liver donor. *Clin Transplant* [Internet]. 2014 Dec 1 [cited 2023 May 2];28(12):1358–64.
72. Blok JJ, Braat AE, Adam R, Burroughs AK, Putter H, Kooreman NG, et al. Validation of the donor risk index in orthotopic liver transplantation within the Eurotransplant region. *Liver Transpl* [Internet]. 2012 [cited 2024 Feb 19];18(1):112–9.
73. Collett D, Friend PJ, Watson CJ. Factors Associated With Short- and Long-term Liver Graft Survival in the United Kingdom: Development of a UK Donor Liver Index. *Transplantation* [Internet]. 2017 Apr 1 [cited 2023 Oct 26];101(4):786–92.
74. Flores A, Asrani SK. The donor risk index: A decade of experience. *Liver Transpl* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2023 Apr 19];23(9):1216–25.
75. Vos JJ, Wietasch JKG, Absalom AR, Hendriks HGD, Scheeren TWL. Green light for liver function monitoring using indocyanine green? An overview of current clinical applications. *Anaesthesia* [Internet]. 2014 Dec 1 [cited 2023 Jul 20];69(12):1364–76.
76. Sakka SG. Assessing liver function. *Curr Opin Crit Care* [Internet]. 2007 Apr [cited 2023 Jul 20];13(2):207–14.
77. Janssen MWW, Druckrey-Fiskaaen KT, Omid L, Sliwinski G, Thiele C, Donaubaueer B, et al. Indocyanine green R15 ratio depends directly on liver perfusion flow rate. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* [Internet]. 2010 Mar [cited 2023 Jul 20];17(2):180–5.
78. LEEVY CM, MENDENHALL CL, LESKO W, HOWARD MM. Estimation of hepatic blood flow with indocyanine green. *J Clin Invest*. 1962;41:1169–79.
79. Sakka SG. Assessment of liver perfusion and function by indocyanine green in the perioperative setting and in critically ill patients. *J Clin Monit Comput* [Internet]. 2018;32(5):787–96.
80. Imamura H, Sano K, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Assessment of hepatic reserve for indication of hepatic resection: Decision tree incorporating indocyanine green test. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2005;12(1):16–22.
81. Hoekstra LT, De Graaf W, Nibourg GAA, Heger M, Bennink RJ, Stieger B, et al. Physiological and biochemical basis of clinical liver function tests: A review. *Annals of Surgery*. 2013.
82. Cui Y, König J, Leier I, Buchholz U, Keppler D. Hepatic uptake of bilirubin and its conjugates by the human organic anion transporter SLC21A6. *J Biol Chem* [Internet]. 2001 Mar 30 [cited 2024 Apr 22];276(13):9626–30.
83. HUNTON DB, BOLLMAN JL, HOFFMAN HN. The plasma removal on indocyanine green and sulfobromophthalein: effect of dosage and blocking agents. *J Clin Invest*. 1961;40:1648–55.
84. De Gasperi A, Mazza E, Prospero M. Indocyanine green kinetics to assess liver function: Ready for a clinical dynamic assessment in major liver surgery? *World J Hepatol*. 2016;8(7):355–67.

85. Hemming AW, Scudamore CH, Shackleton CR, Pudek M, Erb SR. Indocyanine green clearance as a predictor of successful hepatic resection in cirrhotic patients. *Am J Surg* [Internet]. 1992 [cited 2023 Aug 25];163(5):515–8.
86. Nonami T, Nakao A, Kurokawa T, Inagaki H, Matsushita Y, Sakamoto J, et al. Blood loss and ICG clearance as best prognostic markers of post-hepatectomy liver failure. *Hepatogastroenterology*. 1999;46(27).
87. Imamura H, Seyama Y, Kokudo N, Maema A, Sugawara Y, Sano K, et al. One Thousand Fifty-Six Hepatectomies without Mortality in 8 Years. *Arch Surg*. 2003;
88. Okochi O, Kaneko T, Sugimoto H, Inoue S, Takeda S, Nakao A. ICG pulse spectrophotometry for perioperative liver function in hepatectomy. *J Surg Res*. 2002;103(1).
89. Lee CY, Zhang JX, Jones JW, Southard JH, Clemens MG. Functional recovery of preserved livers following warm ischemia: improvement by machine perfusion preservation. *Transplantation* [Internet]. 2002 Oct 15 [cited 2024 Apr 22];74(7):944–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12394835/>
90. Bruinsma BG, Sridharan G V., Weeder PD, Avruch JH, Saeidi N, Özer S, et al. Metabolic profiling during ex vivo machine perfusion of the human liver. *Sci Rep*. 2016 Mar 3;6.
91. Lau NS, Ly M, Ewenson K, Toomath S, Ly H, Mestrovic N, et al. Indocyanine green: A novel marker for assessment of graft quality during ex situ normothermic machine perfusion of human livers. *Artif Organs* [Internet]. 2024 May 1 [cited 2024 Apr 22];48(5).
92. Olmedilla L, Lisbona CJ, Pérez-Peña JM, López-Baena JA, Garutti I, Salcedo M, et al. Early Measurement of Indocyanine Green Clearance Accurately Predicts Short-Term Outcomes After Liver Transplantation. *Transplantation* [Internet]. 2016;100(3):613–20.
93. Levesque E, Hoti E, Azoulay D, Adam R, Samuel D, Castaing D, et al. Non-invasive ICG-clearance: a useful tool for the management of hepatic artery thrombosis following liver transplantation. *Clin Transplant* [Internet]. 2011 Mar [cited 2024 Apr 23];25(2):297–301.
94. Dousse D, Vibert E, Nicolas Q, Terasawa M, Cano L, Allard MA, et al. Indocyanine Green Fluorescence Imaging to Predict Graft Survival After Orthotopic Liver Transplantation: A Pilot Study. *Liver Transpl* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2024 Apr 23];26(10):1263–74.
95. Koneru B, Leevy CB, Klein KM, Zweil P, Wilson DJ. Indocyanine green clearance in the evaluation of donor livers. In: *Transplantation Proceedings*. 1993.
96. Wesslau C, Kruger R, May G. Clinical investigations using indocyanine green clearance for evaluation of liver function in organ donors. In: *Transplantation: Journal of Cell and Organ Transplantation*. 1994.
97. Zotz RB, Schönfeld J V., Erhard J, Breuer N, Lange R, Beste M, et al. Value of an extended monoethylglycinexylidide formation test and other dynamic liver function tests in liver transplant donors. *Transplantation* [Internet]. 1997 Feb 27 [cited 2022 Jan 24];63(4):538–41.
98. Zarrinpar A, Lee C, Noguchi E, Yersiz H, Agopian VG, Kaldas FM, et al. A rapid, reproducible, noninvasive predictor of liver graft survival. *J Surg Res* [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2022 Feb 5];197(1):183–90.

99. Tang Y, Han M, Chen M, Wang X, Ji F, Zhao Q, et al. Donor Indocyanine Green Clearance Test Predicts Graft Quality and Early Graft Prognosis After Liver Transplantation. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2024 Feb 1];62(11):3212–20.
100. de Vries Y, von Meijenfeldt FA, Porte RJ. Post-transplant cholangiopathy: Classification, pathogenesis, and preventive strategies. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2018 Apr 1;1864(4):1507–15.
101. Plevris JN, Jalan R, Bzeizi KI, Dollinger MM, Lee A, Garden OJ, et al. Indocyanine green clearance reflects reperfusion injury following liver transplantation and is an early predictor of graft function. *J Hepatol*. 1999;30(1):142–8.
102. Starzl TE, Miller C, Broznick B, Makowka L. An improved technique for multiple organ harvesting. *Surg Gynecol Obstet*. 1987;165(4):343–8.
103. Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, Kaminski M, Abecassis M, Emond J, et al. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transpl* [Internet]. 2010 Aug [cited 2022 Jun 1];16(8):943–9.
104. Moons KGM, Altman DG, Reitsma JB, Ioannidis JPA, Macaskill P, Steyerberg EW, et al. Transparent Reporting of a multivariable prediction model for Individual Prognosis or Diagnosis (TRIPOD): explanation and elaboration. *Ann Intern Med* [Internet]. 2015 Jan 6 [cited 2023 Nov 8];162(1):W1–73.
105. ONT. Actividad de donación y trasplante hepático e intestinal en españa 2019 [Internet]. 2019. Available from: <http://www.ont.es/infesp/Memorias/Actividad de Donación y Trasplante Hepático e Intestinal 2019.pdf>
106. Asencio JM, Cortese S, López Baena JA, Olmedilla L, Pérez Peña JM, Salcedo MM, et al. Evaluation of Plasma Disappearance Rate Indocyanine Green Clearance as a Predictor of Liver Graft Rejection in Donor Brain Death. *Transplant Proc*. 2020; Jun;52(5):1472–1476.
107. Balakrishnan M, Garcia-Tsao G, Deng Y, Ciarleglio M, Jain D. Hepatic Arteriosclerosis: A Small Vessel Complication of Diabetes and Hypertension. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2015 Jun 29 [cited 2024 Aug 16];39(7):1000.
108. Hoyer DP, Paul A, Gallinat A, Molmenti EP, Reinhardt R, Minor T, et al. Donor information based prediction of early allograft dysfunction and outcome in liver transplantation. *Liver Int* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2024 Aug 18];35(1):156–63.
109. Bastos-Neves D, Salvalaggio PR de O, Almeida MD de. Risk factors, surgical complications and graft survival in liver transplant recipients with early allograft dysfunction. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2024 Aug 18];18(5):423–9.
110. Ali JM, Davies SE, Brais RJ, Randle L V., Klinck JR, Allison MED, et al. Analysis of ischemia/reperfusion injury in time-zero biopsies predicts liver allograft outcomes. *Liver Transplant* [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2024 Aug 18];21(4):487–99.
111. Cortese S, López Baena JÁ, Pérez Peña JM, Matilla AM, Olmedilla L, Morales Taboada Á, et al. Usefulness of Indocyanine Green Plasma Disappearance Rate in Liver Donors and Recipients: A Prospective Observational Study. *Transplant Proc* [Internet]. 2022 Nov 1 [cited 2024 Aug 25];54(9):2545–8.
112. Levesque E, Saliba F, Benhamida S, Ichai P, Azoulay D, Adam R, et al. Plasma

- disappearance rate of indocyanine green: a tool to evaluate early graft outcome after liver transplantation. *Liver Transpl* [Internet]. 2009 [cited 2024 Aug 18];15(10):1358–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19790157/>
113. Cherchi V, Vetrugno L, Terrosu G, Zanini V, Ventin M, Pravisani R, et al. Association between the donor to recipient ICG-PDR variation rate and the functional recovery of the graft after orthotopic liver transplantation: A case series. *PLoS One* [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2022 Jun 1];16(8).
  114. Kelly DM, Shiba H, Nakagawa S, Irefin S, Eghtesad B, Quintini C, et al. Hepatic blood flow plays an important role in ischemia-reperfusion injury. *Liver Transpl* [Internet]. 2011 Dec 1 [cited 2024 Aug 22];17(12):1448–56.
  115. Brunt EM. Surgical assessment of significant steatosis in donor livers: the beginning of the end for frozen-section analysis? *Liver Transpl* [Internet]. 2013 Apr [cited 2024 Apr 20];19(4):360–1.
  116. Riley RD, Snell KIE, Archer L, Ensor J, Debray TPA, Van Calster B, et al. Evaluation of clinical prediction models (part 3): calculating the sample size required for an external validation study. *BMJ* [Internet]. 2024 [cited 2024 Jun 5];384.
  117. Parente A, Tirota F, Pini A, Eden J, Dondossola D, Manzia TM, et al. Machine perfusion techniques for liver transplantation - A meta-analysis of the first seven randomized-controlled trials. *J Hepatol*. 2023 Nov 1;79(5):1201–13.
  118. Cortese S, Plua K, Perez-Alonso AJ, Hontoria MS, Pacheco D, Carroll NZ, et al. Internal and external validation of indocyanine green plasma disappearance rate to discard liver grafts before procurement. *Ann hepato-biliary-pancreatic Surg* [Internet]. 2024 Jun 20.doi: 10.14701/ahbps.24-086.

### Anexo A. Lista de Tablas

#### INTRODUCCIÓN

<b>Tabla 1.1</b> Principales indicaciones de trasplante hepático.....	5
<b>Tabla 1.2</b> Criterios pronósticos del King's College predictores de mal pronóstico en los pacientes con fallo hepático agudo por paracetamol y por otras causas.....	11
<b>Tabla 1.3</b> Principales contraindicaciones al trasplante hepático.....	12
<b>Tabla 1.4</b> Causas de rechazo de hígados valorados presencialmente (España 2023).....	33
<b>Tabla 1.5</b> Porcentaje de trasplantes realizados de los injertos valorados según las características del donante (España 2014-2023).....	34
<b>Tabla 1.6</b> Resumen de las experiencias previas de medición del aclaramiento de ICG en donantes hepáticos en muerte encefálica.....	42

#### RESULTADOS

<b>Tabla 4.1</b> Características de los donantes de la cohorte de desarrollo (n=71).....	64
<b>Tabla 4.2</b> Comparación de las características entre los donantes con injertos aceptados frente a aquellos con injertos rechazados en la cohorte de desarrollo.....	66
<b>Tabla 4.3</b> Análisis univariante y multivariante del rechazo del injerto (n=71).....	68
<b>Tabla 4.4</b> Comparación de las características entre los donantes entre la cohorte de desarrollo (n=71), frente a la cohorte de validación externa (n=17).....	73
<b>Tabla 4.5</b> Características de los receptores de trasplante hepático incluidos en el estudio (n=45).....	80
<b>Tabla 4.6</b> Resultados principales de los pacientes trasplantados hasta las 4 semanas (n=45).....	81
<b>Tabla 4.7</b> Comparación de las variables de los donantes y de los tiempos de isquemia entre los pacientes que desarrollaron disfunción precoz (n=15) y los que no (n=30).....	82
<b>Tabla 4.8</b> Análisis univariante y multivariante para predicción del riesgo de disfunción precoz del injerto.....	84
<b>Tabla 4.9</b> Análisis univariante y multivariante para predicción del riesgo de pérdida del injerto a las 4 semanas.....	84
<b>Tabla 4.10</b> Característica de la cohorte de receptores trasplantados en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón (n=37).....	85
<b>Tabla 4.11</b> Resultados del trasplante en la cohorte de pacientes del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.....	86
<b>Tabla 4.12</b> Comparación de datos de flujo y aclaramiento de verde de indocianina entre los pacientes que desarrollaron disfunción precoz (n=12) frente a aquellos sin disfunción (n=25).....	87
<b>Tabla 4.13</b> Comparación entre las variables de los donantes, del trasplante y de los receptores entre los pacientes que desarrollaron colangiopatía del injerto y los sin colangiopatía (n=29).....	89

## Anexo B. Lista de Figuras

---

### INTRODUCCIÓN

<b>Figura 1.1</b> Evolución de la lista de espera de trasplante hepático. España 2014-2023....	17
<b>Figura 1.2</b> Evolución temporal de la edad de los donantes hepáticos en España.....	31
<b>Figura 1.3</b> Evolución temporal de la causa de muerte de los donantes en España.....	31
<b>Figura 1.4</b> Evolución de donantes ofertados de hígado y porcentaje de donantes eficaces y utilizados del total ofertados en España (2014-2023).....	32
<b>Figura 1.5</b> Injertos hepáticos valorados presencialmente y no implantados. España (2014-2023).....	33
<b>Figura 1.6</b> Curva de concentración en el tiempo de Verde de Indocianina, con eje Y logarítmico. El triángulo en rojo representa la caída de concentración por unidad de tiempo.....	37
<b>Figura 1.7</b> Algoritmo decisional para resecciones hepáticas en pacientes con reserva hepática alterada.....	38

### MATERIAL Y MÉTODOS

<b>Figura 3.1</b> Aparatos de medición del aclaramiento del verde de indocianina utilizados en la cohorte de desarrollo. A, equipo portátil Pulsioflex® conectado al sensor LiMON®; B, equipo PiCCO2®, presente en los quirófanos del Centro promotor.....	50
--	----

### RESULTADOS

<b>Figura 4.1</b> Diagramas de cajas que ilustran la comparación de los principales parámetros analíticos de función hepática entre los donantes con injertos aceptados y rechazados.....	67
<b>Figura 4.2</b> Diagramas de cajas que muestran las diferencias de los valores de aclaramiento de verde de indocianina entre los donantes con injertos aceptados frente a los donantes con injertos rechazados.....	67
<b>Figura 4.3</b> Curvas ROC para predecir el descarte de los injertos hepáticos, basadas en el ICG-PDR (en rojo), el ICG-R15 (en azul) y en el índice de masa corporal (en verde).....	69
<b>Figura 4.4</b> Curvas ROC para predecir el descarte de los injertos hepáticos, basadas en el ICG-PDR (en azul) y en el ratio ICG-IMC (en rojo).....	70
<b>Figura 4.5</b> “Cinturón” de calibración (A) que muestra las desviaciones de la bisectriz (45% de línea de ajuste perfecto) en los niveles de confianza del 80% (cinturón interior: área gris claro) y 95% (cinturón exterior: área gris oscuro), y gráfico de calibración (B), que indica que las probabilidades predichas y empíricas son similares y que el modelo de predicción construido se ajusta bien a los datos.....	72
<b>Figura 4.6</b> Curvas ROC para predecir el descarte de los injertos hepáticos basadas en el ICG-PDR en la cohorte de desarrollo (en rojo) y en la cohorte de validación externa (en azul).....	74
<b>Figura 4.7</b> Gráfico de distribución de los valores de ICG-PDR de los donantes de injertos descartados, según los hallazgos dominantes en las biopsias (n=30). En rojo se ha marcado el cut-off establecido para el descarte (13.5 %/min).....	75

<b>Figura 4.8</b> Hallazgos histológicos en los injertos rechazados según el cut-off de aclaramiento de verde de indocianina (ICG-PDR) seleccionado para el descarte.....	75
<b>Figura 4.9</b> Microfotografías de cuatro biopsias hepáticas procedentes de injertos descartados cuyos donantes tenían aclaramiento de verde de indocianina (ICG-PDR) inferior a 13.5 %/min.....	76
<b>Figura 4.10</b> A. Histograma de distribución de los valores de ICG-PDR en la cohorte total de donantes (n=88). B. Diagrama de dispersión de valores de ICG-PDR según la edad del donante con recta de ajuste (en rojo) que muestra una correlación linear negativa moderada.....	77
<b>Figura 4.11</b> Gráficos de cajas del aclaramiento de verde de indocianina (ICG-PDR) según presencia o ausencia de (A) diabetes mellitus y (B) hipertensión arterial (HTA)....	78
<b>Figura 4.12</b> Diagrama de flujo de los donantes y de los trasplantes incluidos en el estudio.....	79
<b>Figura 4.13</b> Gráfico de dispersión de los valores de aclaramiento de verde de indocianina en los donantes de los pacientes que presentaron disfunción precoz (EAD) frente a aquellos sin disfunción.....	82
<b>Figura 4.14</b> Gráfico de cajas de la edad de los donantes de los pacientes con y sin disfunción precoz del injerto (EAD).....	82
<b>Figura 4.15</b> Gráfico de dispersión de la variación (T0-T1) de aclaramiento de verde de indocianina (ICG-PDR) en los pacientes sin disfunción y bilirrubina <12mg/dl pre-trasplante (puntos negros en T1), pacientes que desarrollaron disfunción precoz (puntos rojos en T1) y pacientes sin disfunción, pero con bilirrubina >12 mg/dl pre-trasplante (puntos verdes en T1).....	88

## Anexo C. Hoja de información al paciente

---

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** Evaluación española multicéntrica de los donantes hepáticos en muerte encefálica con test del Verde de Indocianina.

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** \_\_\_\_\_

Estimado paciente,

Le invitamos a participar en un estudio de investigación para valorar la utilidad de un test realizado en los donantes hepáticos que podría ayudar a predecir la funcionalidad de los injertos.

Antes de decidir sobre su participación, nos gustaría que comprenda por qué se realiza el estudio y qué implicará. Tómese el tiempo que considere adecuado para tomar su decisión.

**¿Por qué me han elegido?**

Usted ha sido invitado a participar en este estudio porque se someterá a un trasplante de hígado.

**¿Debo participar?**

No, participar en este estudio es voluntario. Si elige no participar, esto no afectará su atención o tratamiento.

**¿Qué pasará si acepto participar?**

Participar implica solo la recopilación de información de sus registros médicos. Este proyecto ha sido planeado para llevarse a cabo en muchos centros en España. Como se trata de un proyecto no intervencionista, el tratamiento se administrará como en la práctica clínica habitual y no se realizarán pruebas / investigaciones / exploraciones adicionales. No se requieren visitas o evaluaciones específicas para este proyecto. Será tratado y monitoreado como en la práctica clínica habitual y sus registros médicos serán la fuente de información de donde el médico del estudio recopilará los datos. Los datos recopilados durante este proyecto serán relativos a la función del hígado trasplantado y a la evolución clínica exclusivamente durante las primeras 4 semanas después del trasplante.

Sus datos serán recopilados para este proyecto solo después de que usted consienta para el mismo y firme el formulario de consentimiento para la recopilación de datos.

**¿Será confidencial mi participación en este estudio?**

Sí, toda la información recopilada sobre usted durante el curso del estudio se mantendrá estrictamente confidencial. Los datos se anonimizan antes de ingresar al registro. Se asignará un número de código de identidad único en el cual se ingresarán los datos de sus registros médicos para proteger su identidad y confidencialidad. El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, y en su reglamento de desarrollo. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio. Igualmente, tendrá derecho a retirar el consentimiento sobre

el tratamiento de datos, no obstante, dicha retirada podría determinar su cese en la participación del ensayo. Para ejercitar sus derechos, diríjase al investigador principal del estudio. Le recordamos que los datos no se pueden eliminar aunque deje de participar en el estudio o aunque retire su consentimiento sobre el tratamiento de datos, para garantizar la validez de la investigación y cumplir con los deberes legales y los requisitos de autorización de medicamentos. Así mismo tiene derecho a dirigirse a la Agencia de Protección de Datos si no quedara satisfecho.

Se le solicita también su consentimiento para la realización de este proyecto de investigación conforme a las exigencias del Reglamento Europeo 2016/679 de Protección de Datos y a la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales. No se cederán datos a terceros, salvo obligación legal. Al firmar el formulario de consentimiento, acepta que cualquier dato o resultado de este proyecto puede ser utilizado con fines científicos.

Con base en las explicaciones previas se solicita su consentimiento para el tratamiento de sus datos personales para los fines anteriormente indicados. No obstante, si tiene cualquier duda al respecto podrá trasladarla al investigador principal del estudio. Al firmar este documento, permitirá que el equipo de investigadores del proyecto, el resto del personal del proyecto, el comité de ética institucional y cualquier persona o agencia que la ley exija pueda ver sus datos según corresponda. La información de este proyecto, si se publica en revistas científicas o se presenta en reuniones científicas, no revelará su identidad.

#### **¿Cuáles son los posibles riesgos de participar?**

No hay riesgos involucrados en el proyecto, ya que este proyecto no es intervencionista. Sus registros médicos serán la fuente de todos los datos y se recopilarán los datos disponibles de acuerdo con la práctica clínica habitual.

#### **¿Cuáles son los beneficios de participar?**

Este estudio no tiene una financiación específica ni remuneración para los participantes. Sin embargo, los resultados de este proyecto podrían ayudar a la comunidad médica a tener una herramienta más para seleccionar mejor los injertos hepáticos que se trasplantan.

#### **¿Cómo contactarnos?**

Si tiene alguna pregunta sobre el estudio o sobre sus derechos como participante de investigación, comuníquese con el coordinador del estudio:

Dr. Sergio Cortese

Servicio de Cirugía General y Aparato Digestivo

Sección de Cirugía hepatobilio-pancreática y Trasplante hepático

Hospital General Universitario Gregorio Marañón

c/ Doctor Esquerdo 46, Madrid 28007

email: [sergio.cortese@salud.madrid.org](mailto:sergio.cortese@salud.madrid.org)

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

**Título del estudio:** Evaluación española multicéntrica de los donantes hepáticos en muerte encefálica con test del Verde de Indocianina.

#### INVESTIGADOR PRINCIPAL:

---

Yo (*Nombre y Apellidos del Paciente*).....con DNI.....declaro que he leído la Hoja de Información al Paciente, de la que se me ha entregado una copia. Se me han explicado las características del estudio, así como los derechos que puedo ejercitar, y las previsiones sobre el tratamiento de datos. He recibido suficiente información sobre el estudio.

Sé que se mantendrá en secreto mi identidad y que la información se gestionará de manera anonimizada.

Soy libre de revocar mi consentimiento en cualquier momento y por cualquier motivo, sin tener que dar explicación y sin que repercuta negativamente sobre cualquier tratamiento médico presente o futuro.

Yo doy mi consentimiento para que se utilicen mis datos como parte de este estudio. Consiento en participar voluntariamente.

Fecha:..... Firma del Paciente:.....

Constato que he explicado las características del estudio y las condiciones de conservación que se aplicarán a los datos conservados.

**Nombre del Investigador o la persona designada para proporcionar la información:**

Fecha:..... Firma Investigador:.....

Estudio ICG- Donantes

Código Centro.....

Código Paciente.....

## **CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS**

### **Evaluación española multicéntrica de los donantes hepáticos en muerte encefálica con test del Verde de Indocianina.**

#### Comprobación de criterios de selección:

#### Criterios de inclusión:

- donantes hepáticos de órgano entero
- en muerte encefálica

#### Criterios de exclusión:

- edad del donante inferior a 18 años
- donantes en asistolia
- re-trasplante
- donante "split"
- trasplante combinado hígado/riñón o trasplante multivisceral
- trasplante con injerto donante sometido a perfusión normotérmica exsitu

Consentimiento informado firmado por el receptor (fecha): .....

<b>DATOS DEL DONANTE</b>										
Fecha de donación				Sexo		Varón <input type="checkbox"/>		Mujer <input type="checkbox"/>		
Edad (años)		Peso (kg)		Talla (m)		Perímetro abdominal (cm)				
Días en UCI		Grupo ABO		VHC+		Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		
Causa de muerte		Anoxia <input type="checkbox"/>		ACV <input type="checkbox"/>		Trauma <input type="checkbox"/>		Otra <input type="checkbox"/>		
Factores riesgo CV		HTA <input type="checkbox"/>		Diabetes <input type="checkbox"/>		Dislipemia <input type="checkbox"/>		Tabaco <input type="checkbox"/>		
Enfermedades previas (especificar)										
Parada cardíaca		Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		Drogas vasoactivas		Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>
<b>Últimos datos de laboratorios disponibles</b>										
AST IU/L		ALT IU/L		GGT IU/L						
Bilirrubina (mg/dL)		Plaquetas (10 <sup>9</sup> /L)								
Hemoglobina (g/dL)		Glóbulos blancos (10 <sup>9</sup> /L)								
Sodio (mg/dL)		Creatinina (mg/dL)								
<b>Ecografía abdominal realizada</b>										
Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>								
Hallazgos ecográficos hepáticos		No patológico <input type="checkbox"/>		Esteatosis <input type="checkbox"/>		Otro (especificar)				
ICG-PDR (%/min)				ICG-R15 (%)						

<b>DATOS DEL INJERTO</b>									
Datos macroscópicos	Aspecto			Bordes			Superficie		
	Estático <input type="checkbox"/>	Fibrótico <input type="checkbox"/>	Normal <input type="checkbox"/>	Romos <input type="checkbox"/>	Normales <input type="checkbox"/>		Nodular <input type="checkbox"/>	Normal <input type="checkbox"/>	
<b>Validez "in situ"</b>									
Sí <input type="checkbox"/>				No <input type="checkbox"/>					
Razón de NO validez	Mal aspecto <input type="checkbox"/>		Mala perfusión <input type="checkbox"/>		Biopsia patológica <input type="checkbox"/>		Otra (especificar)		
Solución de preservación			Celsior <input type="checkbox"/>		U. Winsconsin <input type="checkbox"/>		HTK <input type="checkbox"/>		
T. isquemia fría (horas)			T. isquemia total (horas)						
Informe de Anatomía Patológica (Hígado NO válido "in situ")	Esteatosis	<30% <input type="checkbox"/>		Fibrosis <input type="checkbox"/>	Otro (especificar)				
		30%-60% <input type="checkbox"/>							
		>60% <input type="checkbox"/>							

<b>DATOS DEL RECEPTOR</b>										
Edad (años)				Sexo		Varón <input type="checkbox"/>		Mujer <input type="checkbox"/>		
Peso (Kg)		Talla (m)		Grupo ABO						
Puntuación MELD				"Alerta 0"		Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		
Indicación trasplante (especificar)										
VHC+	Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		VHB+	Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		
OH-	Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		Cirrosis Biliar/Colangitis Esclerosante					
NASH	Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>							
Factores de riesgo CV			Tabaco <input type="checkbox"/>		HTA <input type="checkbox"/>		Diabetes <input type="checkbox"/>		Dislipemia <input type="checkbox"/>	
Sd. hepatopulmonar			Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		Sd. hepatorenal			
			Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		Sí <input type="checkbox"/>			No <input type="checkbox"/>
Dialisis preoperatoria			Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		Ventilación mecánica preoperatoria			
			Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		Sí <input type="checkbox"/>			No <input type="checkbox"/>
Datos basales	INR		AST(IU/L)		ALT(IU/L)		Bilir.(mg/dL)			
Día 0/1	INR		AST(IU/L)		ALT(IU/L)		Bilir.(mg/dL)			
Día 2/3	INR		AST(IU/L)		ALT(IU/L)		Bilir.(mg/dL)			
Día 4/5	INR		AST(IU/L)		ALT(IU/L)		Bilir.(mg/dL)			
Día 7 posoperatorio	Bilirrubina ≥10mg/dL.				INR ≥1.6		ALT o AST >2000 IU/L.			
	Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Día 28 posoperatorio	Necesidad de retrasplante				Trombosis arterial		Muerte del paciente			
	Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		Sí <input type="checkbox"/>		No <input type="checkbox"/>		Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>



## Evaluation of Plasma Disappearance Rate Indocyanine Green Clearance as a Predictor of Liver Graft Rejection in Donor Brain Death

J.M. Asencio<sup>a,b,\*</sup>, S. Cortese<sup>a,b</sup>, J.A. López Baena<sup>a,b</sup>, L. Olmedilla<sup>a,b</sup>, J.M. Pérez Peña<sup>a,b</sup>, M.M. Salcedo<sup>a,b</sup>, A. Matilla<sup>a,b</sup>, L. Martín<sup>a,b</sup>, C. Martínez<sup>a,b</sup>, M.I. Orue-Echebarria<sup>a,b</sup>, and P. Lozano<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Liver Transplant Unit, Hospital Universitario Gregorio Marañón de Madrid, Madrid, Spain; and <sup>b</sup>Faculty of Medicine, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

### ABSTRACT

**Introduction.** There currently exist no quantitative methods to assess graft viability before the donor procurement procedure. In Europe, around 20% of liver grafts evaluated “in situ” by an experienced surgeon are discarded. The aim of this study is to evaluate the use of the plasma disappearance rate indocyanine green (PDR-ICG) clearance in predicting liver graft rejection to avoid this 20% of futile surgeries.

**Objectives.** To evaluate PDR-ICG as a predictor of liver graft rejection in death brain donors compared with the gold standard evaluation by an experienced surgeon.

**Material and Methods.** Prospective observational single center study. From March 2017 to July 2019, 29 donors were included in the study, 17 were men and 12 women with a median age of 68 years  $\pm$  16.9 years. Donors had an intensive care unit stay of 2 days  $\pm$  4 days. PDR-ICG was measured with PICCO2 monitor. Indocyanine green clearance dose was 0.25 mg/kg injected intravenously in the operating room just before donor procurement procedure is initiated. The surgeon was unaware of the PDR-ICG measure until the decision of graft acceptance was taken. Data regarding the donors and biopsy results were included in a prospective database.

**Results.** PDR-ICG measure could be obtained in 10 minutes in all of the cases included. The median PDR-ICG obtained was 18%/min (range, 2.4-31%/min). Graft rejection took place in 15 out of the 29 donors. PDR-ICG value was less than 10%/min in 6 of these rejected grafts and less than 15%/min in 10 donors. All donor grafts with PDR-ICG <15% were discarded. The graft had been discarded in 5 donors with a PDR-ICG >15%.

**Conclusions.** In our study a plasma disappearance rate <10 would have identified the grafts that would be rejected, thus avoiding the displacement work and expense of the surgical team. These results should be confirmed in a multicentric study.

**N**OWADAYS, there exists no quantitative method for evaluating liver grafts viability. The “gold standard” is the intraoperative evaluation by an experienced surgeon during the graft procurement procedure. The mean cost of this operation is 9000€. In Europe, the rate of “in situ” discarded grafts by an experienced surgeon is of 20%. Hence, the number of futile surgeries that involve an expense to the public health system cannot be ignored.

Plasma disappearance rate indocyanine green (PDR-ICG) clearance has shown its usefulness in different pathologies. Gottlieb et al described low clearance rates of

ICG-PDR to be an early predictor of liver dysfunction, even anticipating the elevation of serum bilirubin levels [1]. Oellerich et al evaluated different liver function variables

\*Address correspondence to Jose Manuel Asencio, MD, PhD, FACS, Departamento de Cirugía General y Aparato Digestivo, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Universidad Complutense de Madrid c/ Doctor Esquerdo 46, 28007, Madrid, Spain. Tel: +34 626948426; Fax: +34 915868362. E-mail: jmasencio@gmail.com

available in patients who are candidates of liver transplantation. They found that the indocyanine green (ICG) half-life was the best prognostic predictor, regardless of the liver's disease etiology when compared with bilirubin, albumin cholinesterase, and the Child Pugh scale, which did not prove to be appropriate in establishing the short-term prognosis in cirrhotic patients [2]. There currently is a great deal of debate in using the PDR-ICG clearance rate as a predictor of liver dysfunction in cases of extreme hepatic resections. Okochi et al published a study with 22 patients who underwent a liver resection surgery; they found differences to be significant between the preoperative and postoperative PDR-ICG values as measured by spectrophotometry. They also found significantly lower clearance values in the 375 patients with prolonged jaundice [3].

Liver transplantation is one of the main fields of use of ICG clearance. The noninvasive measurement of PDR-ICG is easy to perform and cheap in the clinical environment. There are very few clinical and technical contraindications associated with it. Both invasive and noninvasive methods have been used for its measurement. The good correlation between the noninvasive and the invasive measuring techniques has been proven by several studies, which used sequential analyses using the arterial fiber-optic probe during the intraoperative and postoperative periods [4-6]. PDR-ICG to monitor liver function has been studied during the different stages of the transplant process, from the evaluation of the donor, the potential recipients on the waiting list, the intraoperative period, and the postoperative period, proving to be useful.

The aim of this study is to investigate the capacity of the measurement of PDR-ICG to predict graft rejection, avoiding a great number of futile surgeries.

## MATERIAL AND METHODS

This is a prospective, observational study with a single cohort of donors ( $n = 29$ ) and a retrospective analysis of data. It was carried out in the Liver Transplant Unit of Hospital General Universitario Gregorio Marañon in Madrid, Spain, a tertiary referral center, during the study period between March 2017 and July 2019. Brain death donors were included whenever the LIMON monitor was available and the 2 investigators were (J.M.A., S.C.) implicated. Donors younger than the age of 18 or those grafts used for split liver transplantation were excluded.

Demographic and hemodynamic data of the donor was collected before the procurement operation. The donor data includes the age, cause of death, height, weight, cold ischemia time, graft preservation solution (University of Wisconsin solution or histidine-tryptophan ketoglutarate solution or Celsior), and cause of death. These data and biopsy results are shown in Table 1.

### ICG Clearance (PDR-ICG)

A freshwater dilution of ICG monosodium salt was prepared at a concentration of 5 mg/mL. The plasma disappearance rate (PDR) was obtained in all patients using either the LIMON monitor or PICCO2 Monitor (Pulsion Medical Systems AG, Munich, Germany), which noninvasively measures the ICG plasma concentrations by pulse spectrophotometry with a finger clip sensor that detects 4 near-infrared wavelengths. After intravenous injection of a bolus of the dye (0.25 mg/kg), PDR was calculated automatically according to the time course of the blood ICG concentration (normal value, 18-25%/min) by monoexponential transformation of the original ICG concentration curve and backward extrapolation to time point zero (100%). Decay was described as a percentage change over time (%/min). PDR-ICG was determined at the operating room before starting the donor procedure by a member of the surgical team. The surgeon responsible of the donor evaluation was left unaware of the result. The acceptance or rejection of the graft was based exclusively in the surgeon evaluation.

Table 1. Demographics Baseline Characteristics for Accepted Grafts

Baseline Characteristics	Acceptance (n = 13)	No Acceptance (n = 15)	P
Donor age (y)	75.00 ± 21.67	68.00 ± 11.96	.88
Height (cm)	170.00 ± 9.74	164.00 ± 7.10	.21
Weight (kg)	72.50 ± 12.19	81.50 ± 21.46	.04*
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.94 ± 4.12	31.01 ± 7.83	.01*
ICU stay (d)	2.00 ± 3.38	2.50 ± 4.50	.48
GGT(U/L)	24.00 ± 49.91	42.00 ± 124.4	.38
AST (U/L)	24.00 ± 48.0	47.00 ± 80.87	.42
Bilirubin (mg/dL)	0.45 ± 1.31	0.55 ± 0.31	.43
Creatinine (mg/dL)	0.78 ± 0.48	0.84 ± 0.52	.48
Na (mEq/L)	145.5 ± 5.80	144.00 ± 43.78	.98
PDR-ICG (%/min)	24.65 ± 5.54	11.00 ± 7.8	<.01*
R15	2.50 ± 3.12	18.00 ± 11.97	<.01*
Cause of death			
Trauma	1 (7.1)	1 (6.6)	.39
Stroke	11 (78.5)	12 (80.0)	
Anoxia	1 (7.1)	1 (6.6)	
Other	0 (0)	1 (6.6)	
Nonheart beating donor (%)	0 (0)	0 (0)	
Split liver transplant (%)	0 (0)	0 (0)	

Abbreviations: AST, aspartate aminotransferase; BMI, body mass index; GGT, gamma-glutamyl transferase; ICU, intensive care unit; PDR-ICG, plasma disappearance rate indocyanine green.

\*Statistically significant.

Donor evaluation and organ procurement were performed according to the standard procedure as described elsewhere. All of the discarded liver grafts were biopsied during the liver procurement procedure. The specialist pathologist at our center analyzed the biopsies; the percentages of steatosis and fibrosis were described.

### Statistical Analysis

Collected data was registered in a database created in SPSS version 20 for Mac. The quantitative variables were expressed as means and standard deviations. If the data followed a normal distribution according to the Kolmogorov-Smirnov test, comparisons were made using the Student *t* test. The qualitative variables and risk measurement were analyzed using the  $\chi^2$  test. Predictive analysis was evaluated using receiver operator characteristic (ROC) curves.

## RESULTS

### Donor Characteristics

During the period from March 2017 to July 2019, 29 liver grafts from death brain donors were evaluated and included in this study. The mean donor age was 65.93 years (range, 25-88 years). The most common cause of death was cerebrovascular accident, followed by trauma and anoxia (78.08%, 14.9%, and 4.9% respectively). Demographic data are shown in Table 1.

Graft acceptance took place in 13 cases, whereas 15 grafts were rejected according to the experienced surgeon criteria. In general, no differences in the donor's characteristics between both groups (accepted and rejected) were found. The median donor weight was  $72.50 \pm 12.19$  in accepted donors vs  $81.50 \pm 21.46$  in rejected donors ( $P = .04$ ). The median PDR-ICG was  $24.65 \pm 5.54$  in accepted donors and  $11.00 \pm 7.8$  in rejected donors ( $P < .01$ ).

We performed the ROC curve analysis in order to investigate the capacity of PDR-ICG clearance for predicting organ rejection, and found an area under the ROC (95% confidence interval): 0.833 (0.682-0.985),  $P < .01$  (Fig 1). We evaluated the specificity and sensibility with which different PDR-ICG clearance cut-off values predicted graft rejection. When the cut point value of PDR-ICG was set at  $<10\%$ , as it has been described for in the evaluation of graft dysfunction after the receptor surgery, we observed that all organs were rejected with a specificity of 100% and a sensibility of 37.5%. We later evaluated the highest cut point of PDR-ICG that maintained a specificity of 100% in predicting graft rejection. With a PDR-ICG  $<15\%$ , we found a specificity of 100% and sensibility of 66.67% (Fig 2).

When biopsies were analyzed, we observed that all grafts with a PDR-ICG  $<10\%$  had fibrosis in the histologic study. Three of the 5 grafts with PDR-ICG clearance values between 10% and 15% had moderate or severe steatosis, and 2 had fibrosis.

### DISCUSSION

The evaluation of the donor's liver function is complex. Nowadays there are no quantitative methods able to predict the quality of the graft. Koneru et al first studied the use of ICG clearance in 1993. An invasive method was used for the determination of PDR-ICG clearance values. In that study they observed a 29% of primary nonfunction in the group of grafts with a PDR-ICG 10%/min. This highlighted the risk of using these grafts in a population with an average age of 30 years. In our cohort, 100% of the grafts with PDR  $<10\%$  were discarded by the surgeon. The median age of our donors was of 72 years, so the PDR-ICG could be more

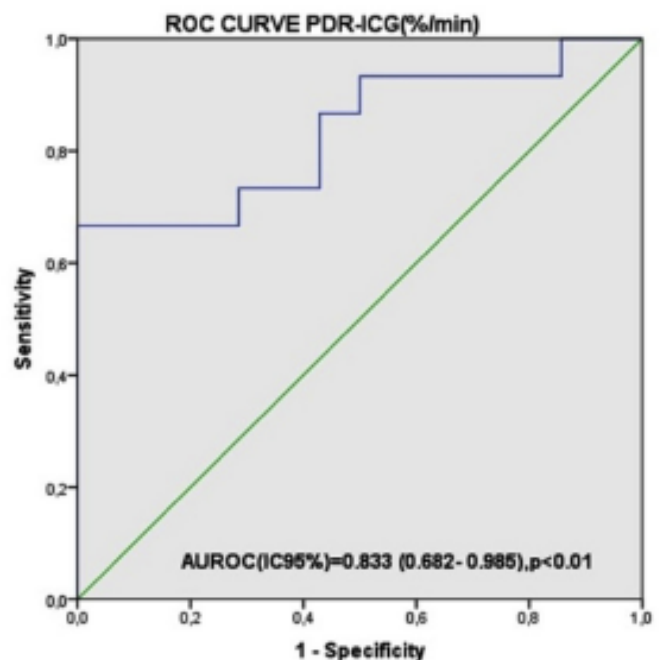


Fig 1. Receiver operator characteristic curve for plasma disappearance rate indocyanine green and graft acceptance.

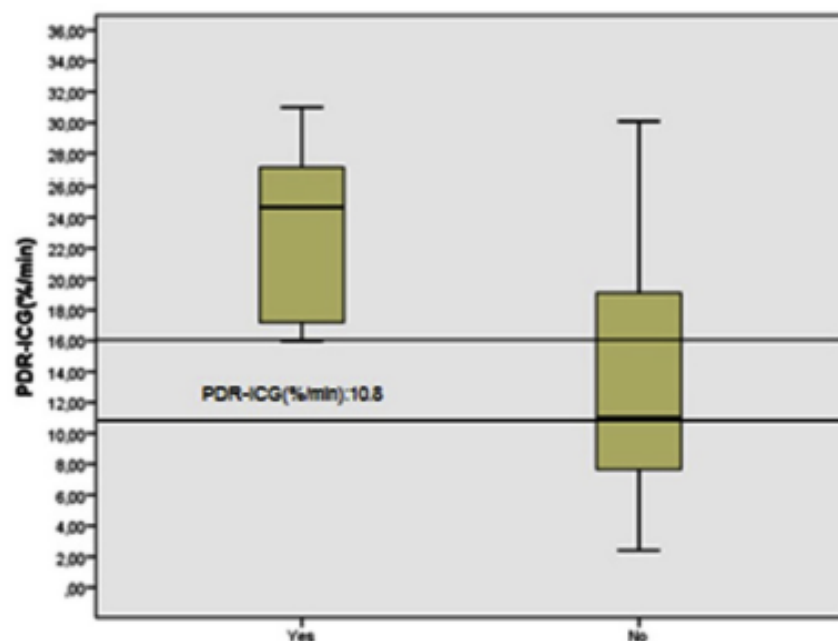


Fig 2. Cut-off for graft acceptance and plasma disappearance rate indocyanine green.

sensitive when identifying grafts that are not going to be accepted in context of this older population.

Zarrinpar et al studied the predictive value of PDR-ICG, measured during donor surgery, for early graft survival. They observed a positive correlation between PDR >19% and 7 days graft survival. In a similar study, Yunhua Tang et al had shown a positive correlation between R15 >11% with 3 months of graft survival. In our present study, we did not aim to evaluate the ability of PDR-ICG to predict the postoperative outcomes of the grafts in the receptor. We have already described the correlation between PDR-ICG <10% in the receptor after liver transplantation and poorer graft survival in a previous publication [7-9]. However, these experiences support the hypothesis that PDR-ICG measurement could be an interesting tool in the evaluation of the grafts.

Our results show that the cut-off PDR-ICG value below which grafts can be safely discarded is PDR-ICG <10%. In our group, all grafts were rejected by the surgeon during the liver procurement procedure. In addition, we found that no grafts with PDR-ICG values between 10% and 15% were accepted, therefore it could be said that by rejecting grafts on the sole basis of PDR-ICG <15%, no accepted graft will be missed. This situation changes with grafts with PDR-ICG >15% as some were accepted. However, if we establish the PDR-ICG cut-off value at <15%, our sensibility will increase at the expense of potentially rejecting valid grafts.

In Spain, about 1000 liver transplantations are performed each year. If we assume that 20% of evaluated grafts are rejected "in situ," about 250 futile surgeries are performed.

We imply that using the PDR-ICG measure could allow us to avoid a percentage of these futile procedures saving transplant teams time and money.

This study has the limitations of being a unicentric study with a small number of organs. Conducting a multicenter study can help validate these results and establish the most appropriate cut-off point.

In our study a PDR <10 would have identified the grafts that would be rejected, thus avoiding the displacement work and expense of the surgical team. These results should be confirmed in a multicentric study.

## CONCLUSIONS

In our study, PDR-ICG <10% had a specificity of 100% predicting graft rejection. These results should be confirmed in a multicentric study.

## REFERENCES

- [1] Gottlieb ME, Stratton HH, Newell JC, Shah DM. Indocyanine green. Its use as an early indicator of hepatic dysfunction following injury in man. *Arch Surg* 1984;119:264-8.
- [2] Oellerich M, Burdelski M, Lautz HU, Rodock B, Diewel J, Schulz M, et al. Assessment of pretransplant prognosis in patients with cirrhosis. *Transplantation* 1991;51:801-6.
- [3] Okochi O, Kaneko T, Sugimoto H, Inoue S, Takeda S, Nakao A. ICG pulse spectrophotometry for perioperative liver function in hepatectomy. *J Surg Res* 2002;103:109-13.
- [4] Hsieh CB, Chen CJ, Chen TW, Yu JC, Shen KL, Chang TM, et al. Accuracy of indocyanine green pulse spectrophotometry clearance test for liver function prediction in transplanted patients. *World J Gastroenterol* 2004;10:2394-6.



## Usefulness of Indocyanine Green Plasma Disappearance Rate in Liver Donors and Recipients: A Prospective Observational Study

Sergio Cortese<sup>a,b,\*</sup>, José Ángel López Baena<sup>a,b,c</sup>, José María Pérez Peña<sup>a,c</sup>, Ana María Matilla<sup>a,c</sup>, Luis Olmedilla<sup>a,c</sup>, Álvaro Morales Taboada<sup>a,b</sup>, María Luz Fernández Vázquez<sup>b</sup>, María Fernández Martínez<sup>b</sup>, and José Manuel Asencio<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup>Liver Transplant Unit, Hospital Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain; <sup>b</sup>Department of General and Digestive Surgery, Hospital Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain; and <sup>c</sup>Faculty of Medicine, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

### ABSTRACT

**Background.** Determination of indocyanine green (ICG) plasma disappearance rate (PDR) is a simple, inexpensive, and noninvasive tool to assess liver perfusion, absorption, and elimination. Its application in the liver transplant process has not been widely incorporated in clinical practice. This study aims to assess the usefulness of ICG PDR in the donor selection setting and in the early post-transplant phase and to analyze its variation between these 2 time points.

**Methods.** We performed a single-center prospective observational study. ICG clearance test was performed in 50 brain-dead donors (T0-PDR) to assess concordance with graft suitability. Rejected grafts biopsy specimens were analyzed to correlate histology with T0-PDR. In the recipients, ICG PDR was performed before wound closure (T1-PDR). The association of T0, T1, and T0-T1 variation with the development of early allograft dysfunction (EAD) was investigated.

**Results.** A total of 23 of 50 grafts were discarded because of poor macroscopic quality. A T0-PDR below 15.5%/min could predict graft rejection with 100% specificity and 69.6% sensitivity. All the biopsy specimens from donors with PDR < 10 %/min showed liver fibrosis. A total of 25 of the remaining 27 grafts were implanted; 5 patients (20%) developed EAD. T1-PDR performed better than T0-T1 variation to predict dysfunction.

**Conclusions.** ICG PDR could be used in the donors as a filter to discard poor-quality grafts before procurement and, in the early post-transplant phase, to predict EAD.

The disparity between the available grafts and recipient candidates challenges worldwide the liver transplant organizations. To overcome this gap, many centers adopted expanded criteria for donors (ECD) [1], considering risky conditions such as older age, liver steatosis, hepatitis C virus infection, or laboratory alterations. It is known that organs with one or more of these conditions are more susceptible to ischemia-reperfusion damage, which can lead to graft dysfunction, eventually worsening graft and patient survival. Despite the efforts to hierarchize risk factors and create algorithms of donor-recipient matching, the reality is that each hospital has been adopting his own policy of graft acceptance, which is somehow “empirical,” subjective, and often influenced by local waitlist pressure. There is some evidence that indocyanine green (ICG) plasma disappearance rate (PDR) in the donors might provide an objective and reproducible criteria to predict graft survival in the recipients [2–5], but very little is

known about the meaning of the variation of the ICG PDR of the graft once this is implanted. This study aims to assess the usefulness of ICG PDR to detect unsuitable graft and to investigate if the variation of ICG PDR in the early post transplant period could predict early graft dysfunction.

### MATERIALS AND METHODS

Between March 2017 and April 2022, donors after brain death older than 18 years were sequentially included in the study depending on staff

\*Address correspondence to Sergio Cortese, Departamento de Cirugía General y Aparato Digestivo, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, c/ Doctor Esquerdo 46, Madrid 28007, Spain. Tel: +34 915868355; Fax +34 915868657. E-mail: sergio.cortese@salud.madrid.org

and equipment availability. Grafts used for split technique or selected for normothermic machine perfusion were excluded. The study was conducted following the ethical principles deriving from the Declaration of Helsinki and was approved by our Institutional Review Board.

#### ICG Clearance in Donors and Recipients

The ICG PDR was obtained in the operating room in the minutes before laparotomy for liver procurement (T0-PDR) by means of pulse digital densitometry. The result was kept unknown for the surgeon in charge of the decision of graft acceptance or rejection, which was based on general evaluation of the donor history, gross macroscopic appearance of the liver, and quality of cold perfusion. Detailed methodology and equipment used have been described in our previous publication [6].

T1-PDR was obtained in the recipient after accomplishment of all the vascular anastomosis and usually before wound closure. When a reading of the PDR was not possible (hypothermia, shock, or perfusion of high-dose noradrenaline), it was repeated successfully within the first 24 hours after the surgical procedure when hemodynamic stability was achieved, as it has been published before [7]. (T0-T1)-PDR variation was the difference between donor's and recipient's PDR.

#### Postoperative Follow-up

Early allograft dysfunction (EAD) was defined according to Olthoff criteria [8], that is, 1 or more of the following conditions: (1) bilirubin  $\geq 10$  mg/dL on postoperative day 7, (2) international normalized ratio  $\geq 1.6$  on postoperative day 7, and (3) alanine aminotransferase or aspartate aminotransferase  $>2000$  IU/L within the first 7 days. At 4 weeks after liver transplant, arterial thrombosis of the graft, need for retransplant, or patient's death were also assessed.

#### Statistical Analysis

Collected data were registered in a database created in SPSS version 25 (IBM, Armonk, NY). The quantitative variables were expressed as medians and interquartile range (IQR). If the data followed a normal distribution according to the Kolmogorov-Smirnov test, comparisons were made using the Student *t* test. The qualitative variables and risk measurement were analyzed using the  $\chi^2$  test and Fisher exact test. Statistical significance was considered for *P* values  $< .05$ . Predictive analysis was evaluated using receiver operator characteristic (ROC) curves.

#### RESULTS

During the study period, 50 PDR determinations in liver donors were realized in different hospitals across Spain. Of 27 accepted grafts, one was not implanted because of unexpected carcinomatosis in the recipient, and another one was allocated to an external center. Therefore, PDR measurement was repeated in 25 receptors.

Median age of the donors was 68.0 years (IQR, 52.5-77.3 years), and 27 (54%) were male. Donors whose livers were rejected, compared with those of accepted grafts, had a significantly higher body mass index (calculated as weight in kilograms divided by height in meters squared) (median, 30.3 [IQR, 27.1-35.2] vs 24.5 [IQR, 22.2-27.7]; *P* = .001, respectively) and rate of hypertension (73.9% vs 42.3%, *P* = .026, respectively) (Table 1). T0-PDR was significantly lower in

**Table 1. Comparison Between the Donors' Characteristics of Accepted vs Rejected Grafts**

Characteristic	Accepted (n = 27)	Rejected (n = 23)	<i>P</i> Value
Age, y	66 (49-78)	68 (59-77)	.304
Sex, male	14 (51.9)	13 (56.5)	.741
Cause of death			.792
Stroke	22 (81.5)	17 (73.9)	
Trauma	3 (11.1)	4 (17.4)	
Anoxia	2 (7.4)	2 (8.7)	
BMI	24.5 (22.2-27.7)	30.3 (27.1-35.2)	.001*
ICU stay, d	2 (1-3)	2 (1-5)	.112
Pressors	16 (69.6)	14 (77.8)	.556
Hypertension	11 (42.3)	17 (73.9)	.026*
Diabetes	4 (15.4)	6 (26.1)	.345
Dyslipidemia	6 (23.1)	8 (34.8)	.365
Steatosis at US	5 (21.7)	6 (31.6)	.470
T0-PDR, %/min	24.4 (19.5-27.3)	14.2 (10.7-19.7)	$< .001^*$
T0-R15, %	2.5 (1.5-5.4)	11.9 (5.2-21.6)	$< .001^*$
GGT, IU/L	21 (12-35)	42 (18-71)	.065
AST, IU/L	25 (19-46)	31 (19-54)	.403
ALT, IU/L	16 (11-41)	20 (12-50)	.266
Bilirubin, mg/dL	0.5 (0.3-0.8)	0.5 (0.3-0.9)	.353
Creatinine, mg/dL	0.8 (0.6-1.0)	0.8 (0.6-1.2)	.208
Platelets, $10^3/\text{mm}^3$	195 (137-263)	207 (133-242)	.903
Sodium, mEq/L	145 (140-151)	143 (141-148)	.279

Quantitative variables are expressed as medians and interquartile ranges; categorical variables are expressed as total counts and percentages.

ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BMI, body mass index (calculated as weight in kilograms divided by height in meters squared); GGT, gamma-glutamyl transferase; ICU, intensive care unit; PDR, plasma disappearance rate of indocyanine green; R15, indocyanine green retention rate at 15 min; T0, time 0 (values obtained before procurement); US, ultrasonography.

\* Statistically significant.

rejected donors (median, 14.2%/min [IQR, 10.7-19.7%/min] vs 24.4%/min [IQR, 19.5-27.3%/min]; *P*  $< .001$ ). ROC analysis demonstrated, for a cutoff set at 15.5%/min, a specificity of 100% and a sensitivity of 69.6% in predicting graft rejection (area under ROC, 0.871; 95% confidence interval, 0.769-0.974; *P*  $< .001$ ).

At histopathological analysis, the 5 specimens coming from donors with a PDR  $< 10\%$ /min showed fibrosis or cirrhosis, while approximately 90% of biopsy specimens from donors with PDR between 10%/min and 15%/min showed either periportal fibrosis, or macrovacuolar moderate-severe steatosis (Fig 1).

Median age of the recipients was 58 years (IQR, 50-60 years), and 56% were male. Median Model for End-Stage Liver Disease score of recipients was 17 (IQR, 10-19). Five patients (20%) experienced EAD. One patient (4%) developed arterial thrombosis, and another (4%) died in the 4 weeks of follow-up. Retransplant at 4 weeks was needed in 3 patients (12%). Arterial thrombosis, death and retransplant exclusively occurred in patients with EAD. (T0-T1)-PDR variation had a positive value (an actual decrease) in all but 4 receptors. (T0-T1)-PDR variation was greater in patients who experienced EAD than those who did not, although not significantly (*P* = .055). In 3 patients with very high bilirubin ( $> 12$  mg/dL) at transplant but with an uneventful postoperative course, the ICG PDR fall was significantly greater

PDR < 10%/min	PDR 10-15 %/min	PDR ≥ 15%/min
<p>5 biopsies</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 100% fibrosis or cirrhosis</li> </ul>	<p>9 biopsies</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 55.6% periportal fibrosis</li> <li>• 33.3% moderate-severe steatosis</li> <li>• 11.1% non-pathologic</li> </ul>	<p>7 biopsies</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 57.1% mild steatosis</li> <li>• 28.6% severe steatosis</li> <li>• 14.3% non-pathologic</li> </ul>

**Fig 1.** Histologic findings in the biopsy specimens of the rejected grafts, according to indocyanine green plasma disappearance rate values in the donors. PDR, plasma disappearance rate.

than in the uncomplicated patients with preoperative lower bilirubin (Fig 2).

At univariate analysis (Table 2), among 16 donor and recipients' variables tested, only T1-PDR was significantly associated with development of EAD ( $P = .006$ ; 95% confidence interval,  $-14.7$  to  $-2.9$ ).

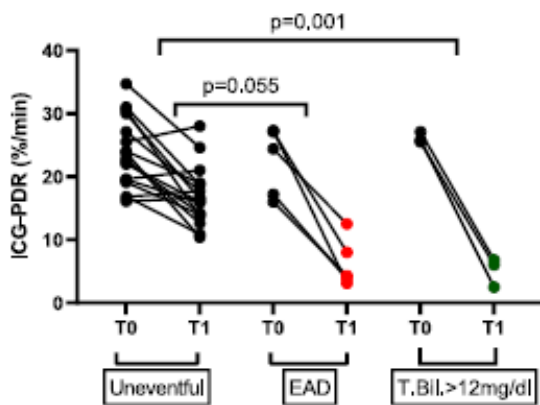
**DISCUSSION**

This study is, at the same time, an amplification of a previous pilot study [6] on the usefulness of ICG PDR for discarding unsuitable liver graft and an analysis of ICG PDR variation from the donor to the recipient. We found that a value < 15.5%/min of ICG PDR in the donor was invariably associated with liver discard by surgeons blinded for this result. Also, we found a consistent correlation of very pathologic values of ICG PDR (< 10%/min),

equivalent to 10% of our study population, and the pathologic finding of liver fibrosis or cirrhosis. In Spain, according to the National Transplant Organization, the discard rate in the last 10 years ranges from 25% to 30% and is mainly because of the gross appearance of liver grafts [9]. Such a high ratio between the effective and total number of donors is a direct consequence of implementation of ECD. In this scenario, ICG PDR could be realized in the intensive care units as a filter before a formal donor offer to any team to avoid higher costs, unnecessary travels, and waste of human resources. With this purpose, a cutoff of 100% specificity was chosen, so that no potential effective donor could be lost (no false-positive results). On the other hand, an ICG PDR > 15.5%/min could not guarantee the good quality of the graft and its acceptance, with the false-negative rate around 30%. In these cases, the causes of discard were mainly steatosis and arterial atheromatous disease.

Surprisingly, the same cutoff of 15%/min was established in another pioneer study by Wesslau et al [2] from Berlin University, published in the early 1990s. Although they still used an invasive thermo-dye probe to measure the elimination of a fixed quantity of ICG, they found that among 41 donors studied, 87.5% of the discarded graft had a PDR < 15%/min and that the only 2 accepted with such values developed postoperative dysfunction.

In our study, once a graft was considered suitable and got implanted, we generally observed a drop of ICG PDR from the donor to the recipient. Early T1-PDR was the only factor significantly associated with EAD in the recipients, as already published by our group [7], while its relative variation from donor to recipient did not perform better. These results are in line with those recently reported by Cherchi et al [10] with 18 matched donors and recipients. There is some evidence that the fall of PDR might represent a measure of ischemia-reperfusion damage [11] and, possibly, also a diminished biliary excretion activity because of general depletion of adenosine triphosphate-dependent carriers. Although blood flow is another known factor altering ICG dynamics, we could not find any association of T1-PDR with portal or arterial graft inflow in our series.



**Fig 2.** Scattered plot of (T0-T1)-PDR variations in patients with uneventful course and normal bilirubin at transplant (black spots at T1), patients who developed graft dysfunction (red spots at T1), and those with uneventful course, but bilirubin > 12 mg/dL at transplant (green spots at T1). EAD, early allograft dysfunction; ICG-PDR, indocyanine green plasma disappearance rate; T.Bil., total bilirubin.

**Table 2. Comparison of the Donors' and Recipient's Variables Between Patients With Uneventful Course vs Those Who Developed Early Allograft Dysfunction**

Variable	Uneventful	EAD	P Value
<b>Donor variable</b>			
Age, y	64.0 (37.3-76.8)	76.0 (56.0-83.0)	.239
BMI	24.1 (22.2-26.9)	26.4 (22.2-30.5)	.416
Length of ICU stay, d	2 (1-2)	1 (1-1)	.635
GGT, IU/L	20.5 (12.3-34.0)	23.0 (13.0-52.5)	.817
ALT, IU/L	14.0 (10.8-40.3)	16.0 (15.5-43.5)	.975
Sodium, mEq/L	145 (140-150)	147 (138-157)	.562
T0-PDR, %/min	23.9 (19.5-27.1)	24.4 (16.6-27.2)	.540
<b>Recipient variable</b>			
Age, y	56.5(48.0-61.8)	61.0 (56.0-67.0)	.194
MELD score	17 (10-19)	12 (10-21)	.548
Hepatopulmonary syndrome	1 (5.0)	2 (40.0)	.091
Warm ischemia time, min	37 (31-46)	35 (34-37)	.522
Total ischemia time, min	328 (269-428)	375 (296-465)	.433
Portal flow, mL/min	1150 (900-1400)	1400 (970-1575)	.582
HA flow, mL/min	160 (120-265)	150 (103-190)	.387
T1-PDR, %/min	16.0 (11.3-18.5)	4.3 (3.5-10.3)	.006*
(T0-T1)-PDR variation, %/min	8.8 (4.0-13.5)	13.4 (11.8-21.7)	.065

Quantitative variables are expressed as medians and interquartile ranges; categorical variables are expressed as total counts and percentages.

ALT, alanine aminotransferase; EAD, early allograft dysfunction; BMI, body mass index (calculated as weight in kilograms divided by height in meters squared); ICU, intensive care unit; GGT, gamma-glutamyl transferase; HA, hepatic artery; MELD, Model for End-Stage Liver Disease; T0-PDR, plasma disappearance rate of indocyanine green at procurement; T1-PDR, plasma disappearance rate in the recipient; (T0-T1)-PDR, variation between plasma disappearance rate from donor to recipient.

\* Statistically significant.

Another interesting finding of this clinical study is the confounding role of plasmatic bilirubin level in recipients, which might be considerably high in cholestatic conditions or acute liver failure. It has been described that bilirubin might act as a blocking competitor, as other anionic compounds, with the ICG molecule [12]. In these cases, T1-PDR might underestimate liver performance and should not be relied on. We acknowledge that this study is underpowered to detect the proper cutoff of bilirubin, with only few cases presenting with very high levels.

## CONCLUSIONS

In conclusion, ICG PDR in the donors can be considered an inexpensive bedside tool to preoperatively detect poor quality grafts and predict discards. A prospective multicentric observational study is currently being performed by 9 Spanish transplantation teams to confirm these results on a national basis. On the other hand, ICG PDR in the early post-transplant period has been confirmed to be a strong predictor of early graft dysfunction.

## REFERENCES

[1] Renz JF, Kin C, Kinkhabwala M, Jan D, Varadarajan R, Goldstein M, et al. Utilization of extended donor criteria liver allografts maximizes donor use and patient access to liver transplantation. *Ann Surg* 2005;242:556-63.

[2] Wesslau C, Kruger R, May G. Clinical investigations using indocyanine green clearance for evaluation of liver function in organ donors. *Transplantation* 1994;5:1-3.

[3] Koneru B, Leevy CB, Klein KM, Zweil P, Wilson DJ. Indocyanine green clearance in the evaluation of donor livers. *Transplant Proc* 1993;25:1919-20.

[4] Zarrinpar A, Lee C, Noguchi E, Yersiz H, Agopian VG, Kaldas FM, et al. A rapid, reproducible, noninvasive predictor of liver graft survival. *J Surg Res* 2015;197:183-90.

[5] Tang Y, Han M, Chen M, Wang X, Ji F, Zhao Q, et al. Donor indocyanine green clearance test predicts graft quality and early graft prognosis after liver transplantation. *Dig Dis Sci* 2017;62:3212-20.

[6] Asencio JM, Cortese S, López Baena JA, Olmedilla L, Pérez Peña JM, Salcedo MM, et al. Evaluation of plasma disappearance rate indocyanine green clearance as a predictor of liver graft rejection in donor brain death. *Transplant Proc* 2020;52:1472-6.

[7] Olmedilla L, Lisbona CJ, Pérez-Peña JM, López-Baena JA, Garruti I, Salcedo M, et al. Early measurement of indocyanine green clearance accurately predicts short-term outcomes after liver transplantation. *Transplantation* 2016;100:613-20.

[8] Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, Kaminski M, Abecassis M, Emond J, et al. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transplant* 2010;16:943-9.

[9] Organización Nacional de Trasplantes. Actividad de donación y trasplante HEPÁTICO España. <[http://www.onte.es/infesp/Me morias/ ACTIVIDAD DE DONACIÓN Y TRASPLANTE HEPÁTICO ESPAÑA 2021.pdf](http://www.onte.es/infesp/Me%20morias/ACTIVIDAD%20DE%20DONACION%20Y%20TRASPLANTE%20HEPATICO%20ESPANA%202021.pdf)>; 2021 [accessed 03.04.22].

[10] Cherchi V, Vetrugno L, Terrosu G, Zanini V, Ventin M, Pravisani R, et al. Association between the donor to recipient ICG-PDR variation rate and the functional recovery of the graft after orthotopic liver transplantation: a case series. *PLoS One* 2021;16:e0256786.

[11] Plevris JN, Jalan R, Bzeizi KI, Dollinger MM, Lee A, Garden OJ, et al. Indocyanine green clearance reflects reperfusion injury following liver transplantation and is an early predictor of graft function. *J Hepatol* 1999;30:142-8.

[12] Hulton DB, Bollman JL, Hoffman HN. The plasma removal on indocyanine green and sulfobromophthalein: effect of dosage and blocking agents. *J Clin Invest* 1961;40:1648-55.

### Original Article

## Internal and external validation of indocyanine green plasma disappearance rate to discard liver grafts before procurement

Sergio Cortese<sup>1,2</sup>, Katherine Plua<sup>3</sup>, Alejandro J. Perez-Alonso<sup>4</sup>, María Savoie Hontoria<sup>5</sup>, David Pacheco<sup>5</sup>, Natalia Zambudio Carroll<sup>6</sup>, Manuel Ángel Barrera Gómez<sup>5</sup>, José María Pérez Peña<sup>5</sup>, Álvaro G. Morales Taboada<sup>1,2</sup>, María Fernández Martínez<sup>1,2</sup>, Sergio Hernández Kakauridze<sup>1,2</sup>, Ana María Matilla<sup>1</sup>, José Ángel López Baena<sup>1,2,6</sup>, José Manuel Asencio<sup>1,2,6</sup>

<sup>1</sup>Liver Transplant Unit, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain,

<sup>2</sup>Department of General and Digestive Surgery, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain,

<sup>3</sup>Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, Spain,

<sup>4</sup>Liver Transplant and HPB Surgery Unit, Department of General and Digestive Surgery, Hospital Virgen de las Nieves, Granada, Spain,

<sup>5</sup>Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria, Santa Cruz de Tenerife, Spain,

<sup>6</sup>Department of Medicine, Faculty of Medicine, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

**Backgrounds/Aims:** Thirty percent of liver grafts in donors after brain death (DBD) in Spain are rejected by procurement surgeons owing to marginal graft quality. Poor donor indocyanine green (ICG) clearance has been associated with graft discard and malfunction. This study aimed to internally and externally validate the predictive value of ICG-plasma disappearance rate (ICG-PDR) to reject grafts before donation and set a cut-off to avoid missing any potential effective donors.

**Methods:** Between March 2017 and August 2023, ICG clearance test was performed immediately before procurement in 71 DBD. The surgeon was blinded to test results. Univariate and multivariate analyses were performed to detect independent predictors of graft discard. Discrimination and calibration of predictors were assessed and a cut-off with 100% specificity was set. External validation was performed on 17 donors evaluated by three other transplantation teams.

**Results:** In the training cohort, 30 of 71 grafts were discarded for transplantation. ICG-PDR was the only donor variable independently associated with graft discard. The area under receiver operating characteristic curve for ICG-PDR was 0.875 (95% confidence interval: 0.768–0.947) and good calibration was observed. Below a PDR of 13.5%/min, no graft was accepted for transplantation. These results were successfully validated using the external cohort of donors.

**Conclusions:** ICG clearance test performed in DBD was internally and externally validated to predict liver graft discard. It could be used as a screening tool before donation to avoid unnecessary costs of travel and human resources.

**Key Words:** Donor selection; Brain death; Indocyanine green; Delayed graft function; Spain

### INTRODUCTION

Despite having one of the world's highest organ donation rates per million inhabitants, Spain's proportion of liver grafts discarded at procurement in donors after brain death (DBD) has gradually increased in the last 10 years from 25% to 30% [1]. Increasing donor age, obesity epidemic, high incidence of metabolic syndrome, and previous or current alcohol consumption have undoubtedly worsened the quality of grafts offered for evaluation. The utilization of marginal donors, also referred to as "donors with extended criteria" (ECD), has augmented the

Received: April 5, 2024, Revised: April 18, 2024,

Accepted: April 29, 2024, Published online: June 20, 2024

Corresponding author: Sergio Cortese, MD

Hospital General Universitario Gregorio Marañón, C. Doctor Esquerdo 46, Madrid 28007, Spain

Tel: +34-653791459, Fax: +34-915868657, E-mail: sergio.cortese@hotmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1645-2143>



Copyright © The Korea Association of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery  
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

donor pool with acceptable outcomes [2]. However, this strategy might be challenging for transplantation teams who must evaluate a larger number of potential donors with corresponding increases of travel costs, human resources, and operating room facilities, knowing that these efforts will eventually be unnecessary in almost one-third of cases. Unreimbursed travel and time costs are also burdensome for potential recipients and their families.

Although prerecovery percutaneous biopsy to identify fibrosis, steatosis, or necrosis in marginal donors has shown promising outcomes [3,4], it is rarely performed in Spain owing to logistical issues and concerns about the safety of the procedure.

Ultrasonography (US) as part of the routine donor workup has shown a low positive predictive value to identify steatosis [5]. It might be challenging to perform and interpret, especially in obese donors. More sensitive abdominal cross-sectional imaging is performed only in trauma DBD or when a solid undefined nodule is found on US.

Currently, there is no objective gold standard to accept or discard a liver graft. The decision is made by the transplant surgeon who simultaneously considers macroscopic appearance of the liver (before and after cold perfusion), past medical history of the donor, pre-procurement hemodynamic events with evolution of liver enzymes, and, if available, the result of biopsy. This decision is unavoidably influenced by the pressure of the local waitlist and the perceived risk of a specific donor-recipient match. Additionally, the increasing availability of dynamic ex-situ machine perfusion technologies is changing the current criteria for graft usability and final acceptance for transplantation. The sum of all these factors makes a surgeon's decision somehow empirical and difficult to standardize among various transplantation centers. Indocyanine green (ICG) clearance is a dynamic test widely employed in liver surgery to estimate hepatic functional reserve in patients with cirrhosis [6]. In the field of liver transplantation, poor recipient ICG clearance measured shortly after implantation has been proven useful for predicting early graft malfunction and one-year graft loss [7]. Although the ICG clearance test performed on DBDs before the procurement operation has been correlated with malfunction in the recipient [8,9] and one-week graft survival [10], it has not been validated as a tool to discard a graft before procurement. A prospective pilot study on 29 DBDs published in 2020 by our group [11] showed that an ICG-plasma disappearance rate (ICG-PDR) below 15%/min was associated with graft rejection by the surgeon who was in charge of the retrieval. The present work aimed to internally validate our previous finding in a larger cohort of donors and set the best cut-off for ICG-PDR to avoid discarding any potential valid graft. Secondary objectives of this study were to externally validate the test on a cohort of donors evaluated by other Spanish centers, to correlate histological changes in discarded livers with PDR results, and to assess the effect of donor ICG clearance in graft malfunction on transplanted grafts.

## MATERIALS AND METHODS

Between March 2017 and August 2023, DBDs older than 18 years were prospectively included in this study at Gregorio Marañón General University Hospital, Madrid (HGUGM). To maintain consistency in the acceptance criteria, only donors evaluated by two surgeons (JMA, SC), both with more than 5 years of experience in liver procurement, were included.

The ICG-PDR was obtained in the operating room a few minutes before laparotomy, after intravenous injection of a weight dependent dose (0.25 mg/kg) of the dye dissolved in sterile water and flushed with 10 mL of saline solution. The ICG-PDR was measured using pulse digital densitometry (LiMon, Pulsion Medical System). A finger probe was used to detect fractional pulsatile changes in the optical absorption of the dye and the signal was transmitted to a portable display. The result of ICG-PDR, usually obtained in less than 10 minutes, was kept unknown to the surgeon in charge of the procurement. Grafts used for split technique or selected for ex-vivo machine perfusion were excluded from this study. Wedge biopsies of discarded grafts were taken to perform a deferred pathological study of formalin-fixed and paraffin-embedded specimens.

Donors from "HGUGM" were employed as a development cohort to assess the performance of ICG clearance to predict graft discard and choose the best cut-off to avoid false positive results. From March 2021 to May 2023, three other transplantation groups in Spain ("Rio Hortega" University Hospital, Valladolid; "Virgen de las Nieves" University Hospital, Granada; and "Nuestra Señora de Candelaria" University Hospital, Santa Cruz de Tenerife) joined the protocol and recruited a cohort of donors for external validation.

Basic demographic variables of donors, along with other characteristics available before procurement (cause of death, past medical history, body mass index, latest laboratory tests, days of intensive care unit (ICU) stay before donation, need of vasoactive drugs, liver US findings) and ICG clearance parameters, were compared between accepted and rejected grafts. An US report was classified as pathological if any liver anomalous finding (higher echogenicity, abnormal contour, segmental or lobar hypertrophy/hypotrophy) was described. Uni- and multivariate analyses were performed to assess independent predictors of graft rejection. A cut-off was set for a predictor specificity of 100% by the analysis of receiver operating characteristic (ROC) curve.

In grafts that were accepted and transplanted, early allograft dysfunctions (EADs) in recipients were assessed according to Olthoff's criteria [12] for the following conditions: 1) bilirubin  $\geq 10$  mg/dL on postoperative day (POD) 7, 2) international normalized ratio  $\geq 1.6$  on POD 7, and 3) alanine aminotransferase (ALT) or aspartate aminotransferase (AST)  $> 2,000$  IU/L within the first 7 days. Donors' characteristics were compared between patients who developed EAD and those with uncomplicated postoperative course.

The predictive model's development followed the recommendations stated in the Transparent Reporting of a Prediction Model for Individual Prognosis or Diagnosis (TRIPOD) Initiative [13]. This study was conducted in accordance with the ethical principles of the Declarations of Helsinki. It was approved by the Institutional Review Board of "HGUGM" (code "ICG-Donantes," minutes ref. 26/2020). Written consent was obtained from all participating patients.

### Statistical analysis

Quantitative variables are expressed as median and interquartile range (IQR). If data followed a normal distribution according to the Kolmogorov-Smirnov test, comparisons were made using Student's t-test. Otherwise, non-parametric tests were used. Qualitative variables were analyzed using  $\chi^2$  and

Fisher's exact tests. Predictive analysis was performed using ROC curves. Statistical significance was set at  $p < 0.05$ .

Considering a ratio of accepted to rejected grafts of 3.4, according to the data offered by the National (Spanish) Transplant Organization [1], a sample number of at least 40 donors was needed for the development cohort to achieve an area under ROC curve (AUROC)  $\geq 0.8$  (good prediction) with a type a error of 0.05 and a  $\beta$  error of 0.20.

Validation of the predictor in the development cohort was performed by examining calibration and discrimination. The overall performance of the model was evaluated using the Brier score. In the validation set, the AUROC of the predictor was calculated and compared to that obtained in the training set. Statistical analysis was performed using Stata Statistical Software, Release 17 (StataCorp., LLC) and SPSS version 25 (IBM Corp.).

**Table 1.** Donors' characteristics of accepted versus rejected grafts

Characteristic	Accepted (n = 41)	Rejected (n = 30)	p-value
Age (yr)	65 (50–78)	68 (59–77)	0.150
Sex (male)	21 (51.2)	13 (43.3)	0.649
Cause of death			0.807
Stroke	34 (82.9)	23 (76.7)	
Trauma	4 (9.8)	4 (13.3)	
Anoxia	3 (7.3)	3 (10.0)	
Cardiac resuscitation	6 (16.7)	3 (11.1)	0.403
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26.0 (23.3–29.3)	29.9 (26.1–32.9)	0.002*
ICU stay (day)	2 (1–4)	2 (1–4)	0.540
Pressors	23 (62.2)	20 (80.0)	0.135
Hypertension	22 (53.7)	22 (73.3)	0.092
Diabetes mellitus	10 (25.0)	8 (26.7)	0.875
Dyslipidemia	11 (27.5)	11 (36.7)	0.414
Ultrasonography (pathological)	6 (14.6)	5 (18.5)	0.670
Marginal donor (Eurotransplant criteria)	27 (65.9)	29 (96.7)	0.002*
ICG-PDR (%/min)	24.0 (19.1–27.3)	14.3 (11.0–18.5)	< 0.001*
ICG-R15 (%)	2.7 (1.5–5.7)	11.7 (6.2–18.0)	< 0.001*
GGT (IU/L)	30 (18–65)	40 (20–71)	0.343
AST (IU/L)	25 (19–52)	27 (20–52)	0.876
ALT (IU/L)	18 (12–44)	19 (15–33)	0.946
Bilirubin (mg/dL)	0.5 (0.3–0.8)	0.6 (0.3–0.8)	0.628
Creatinine (mg/dL)	0.7 (0.6–0.9)	0.8 (0.6–1.2)	0.215
Platelets (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	196 (158–264)	212 (113–267)	0.961
Sodium (mEq/L)	144 (140–150)	144 (141–148)	0.955

Quantitative variables are expressed as median (interquartile range). Categorical variables are expressed as total counts (%).

ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BMI, body mass index; GGT, gamma-glutamyl transferase; ICU, intensive care unit; ICG-PDR, indocyanine green plasma disappearance rate; ICG-R15, indocyanine green retention rate at 15 minutes.

\*Statistically significant.

## RESULTS

Seventy-three donors were evaluated by the "HGUGM" team. The ICG test could be performed in all but two donors who exhibited severe peripheral vasoconstriction and were unable to transmit a quality signal to the finger probe. The remaining 71 donors were included in the training cohort. Thirty (42.3%) grafts were discarded because of a poor quality at macroscopic evaluation, including those with parenchymal stiffness (16 cases), macroscopic steatosis (11 cases), irregular appearance after cold flush (2 cases), and severe atheromatous disease (1 case). Donors whose livers were rejected had a significantly higher body mass index than those with accepted grafts (median: 29.9 kg/m<sup>2</sup>, IQR: 26.1–32.9 kg/m<sup>2</sup> vs. median: 26.0 kg/m<sup>2</sup>, IQR: 23.3–29.3 kg/m<sup>2</sup>,  $p = 0.002$ ). They were more frequently classified as ECD by Eurotransplant criteria [14]. ICG-PDR was significantly lower in rejected donors (median: 14.3%/min, IQR: 11.0–18.5%/min vs. median: 24.0%/min, IQR: 19.1–27.3%/min,

**Table 2.** Univariate and multivariate analyses of donors' variables for predicting graft discard in the training cohort (n = 71)

Donor variable	Univariate analysis (p)	Odds ratio	95% CI	p-value
Age	0.113	-	-	-
ICG-PDR	< 0.001	0.788	0.697–0.892	< 0.001
Arterial hypertension	0.095	-	-	-
BMI	0.005	1.114	0.995–1.247	n.s.
Extended criteria for donation	0.011	2.311	0.218–24.459	n.s.

Variables with a  $p < 0.05$  at univariate analysis were entered in a multivariate regression model.

ICG-PDR, indocyanine green plasma disappearance rate; BMI, body mass index; CI, confidence interval; n.s., not statistically significant.

$p < 0.001$ ), while conventional liver laboratory parameters and US results did not show any differences between the two groups (Table 1).

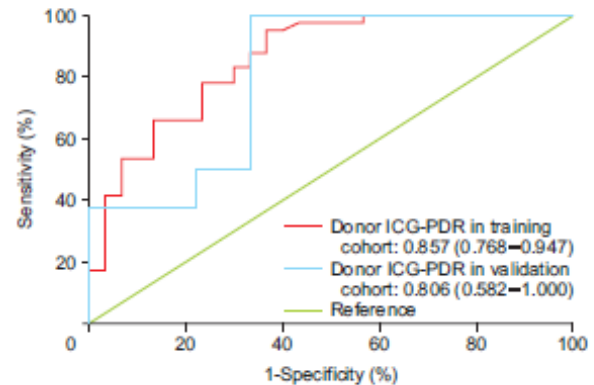
In multivariate regression analysis, ICG-PDR was the only independent predictor of graft rejection (odds ratio = 0.788, 95% confidence interval [CI]: 0.697–0.892,  $p < 0.001$ ) (Table 2). ROC analysis showed that ICG-PDR had a good accuracy in predicting graft discard or acceptance, with an AUROC of 0.857 (95% CI: 0.768–0.947) (Fig. 1). Setting a specificity of 100%, the corresponding cut-off was 13.5%/min. Below this value, none of the donors had suitable livers for transplantation. With such a cut-off, sensitivity, positive predictive value, and negative predictive value were 43%, 100%, and 71%, respectively. Thirteen out of 30 discarded grafts (43.3%) could have been correctly identified in this cohort of donors.

#### Internal validation

For internal validation of PDR, the Hosmer-Lemeshow test was computed by partitioning the study population into five groups based on the predicted probability of graft suitability obtained from the risk prediction model. The chi-square statistic used to compare the observed and expected events had  $p = 0.455$ , showing a good calibration. The calibration belt (Fig. 2A) showed a statistic value of 1.55 with a  $p$ -value of 0.214, indicating that the hypothesis of good calibration could not be rejected. The calibration plot for internal validation is shown in Fig. 2B. The global accuracy of the test was good, with a Brier score of 0.150 (95% CI: 0.107–0.194).

#### External validation

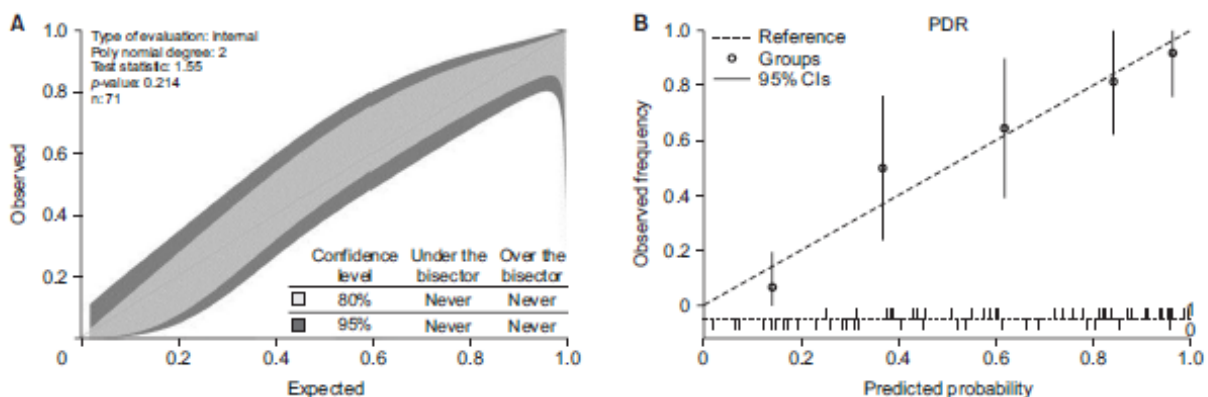
The external validation cohort consisted of 17 donors. Characteristics of training and validation cohorts of donors are shown in Table 3. The two populations did not show any



**Fig. 1.** Receiver operating characteristic curves of ICG-PDR in liver donors in the prediction of graft discard by procurement surgeon both in the training cohort (red line) and the validation cohort (blue line). An area under curve of 1.0 is characteristic of an ideal test, whereas an area of 0.5 or less indicates a test of non-diagnostic value. ICG-PDR, indocyanine green plasma disappearance rate.

significant differences in demographics, donor characteristics, or liver-specific test results. Rate of discard was 42.3% in the training set and 52.9% in the validation set, showing no significant ( $p = 0.426$ ) difference.

ICG-PDR in the validation cohort showed a good discrimination power, with an AUROC of 0.806 (95% CI: 0.582–1.000), not statistically different from that of the training set ( $p = 0.673$ ) (Fig. 1). Out of the nine donors whose livers were discarded in the external cohort, five (55.6%) donors had an ICG-PDR of less than 13.5%/min. Therefore, they could have been recognized as unsuitable. Concurrently, no donor with an ICG-PDR < 13.5%/min had a valid graft.



**Fig. 2.** Calibration belt (A) showing deviations from the bisector (45% line of perfect fit) at 80% (inner belt: light grey area) and 95% (outer belt: dark grey area) confidence levels, and calibration plot (B) indicating that predicted and empirical probabilities are similar and that the built prediction model fits the data well. PDR, plasma disappearance rate; CI, confidence interval.

**Table 3.** Comparison of donor's characteristics between development and validation cohorts

Characteristic	Development cohort (n = 71)	Validation cohort (n = 17)	p-value
Age (yr)	68 (55–79)	66 (47–74)	0.234
Sex (male)	38 (53.5)	11 (64.7)	0.404
Cause of death			0.755
Cerebrovascular accident	57 (80.3)	14 (82.4)	
Trauma	8 (11.3)	1 (5.9)	
Anoxia	6 (8.5)	2 (11.8)	
Cardiac resuscitation	9 (14.3)	4 (23.5)	0.359
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.7 (24.5–31.1)	25.2 (22.7–30.0)	0.252
ICU stay (day)	2 (1–4)	3 (1–4)	0.865
Pressors	49 (72.1)	13 (76.5)	0.487
Hypertension	44 (62.0)	11 (64.7)	0.834
Diabetes	18 (25.7)	2 (11.8)	0.338
Dyslipidemia	22 (31.4)	2 (11.8)	0.136
Extended criteria donor (%)	56 (78.9)	11 (64.7)	0.218
ICG-PDR (%/min)	19.5 (14.7–25.5)	19.0 (12.5–22.9)	0.495
ICG-R15 (%)	5.4 (2.2–10.9)	5.7 (3.0–10.5)	0.669
GGT (U/L)	31 (18–66)	40 (30–65)	0.264
AST (U/L)	26 (19–52)	31 (22–54)	0.369
ALT (U/L)	19 (12–43)	25 (20–45)	0.145
Bilirubin (mg/dL)	0.6 (0.3–0.8)	1.0 (0.4–1.3)	0.081
Creatinine (mg/dL)	0.8 (0.6–1.0)	0.9 (0.7–1.1)	0.229
Platelets (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	210 (151–265)	220 (164–265)	0.670
Sodium (mEq/L)	144 (140–148)	143 (140–148)	0.965
US findings (pathological)	11 (16.2)	0 (0)	0.083
Rate of discard (%)	42.3	52.9	0.426

Quantitative variables are expressed as median (interquartile range). Categorical variables are expressed as total counts (%). ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BMI, body mass index; GGT, gamma-glutamyl transferase; ICU, intensive care unit; ICG-PDR, indocyanine green plasma disappearance rate; ICG-R15, indocyanine green retention rate at 15 minutes; US, ultrasonography.

### Pathological findings

Considering the two cohorts as a whole, 39 discarded grafts were analyzed. Nine biopsies were missing. Therefore, only thirty specimens were available for pathological assessment. Among 16 biopsies coming from donors with a PDR ≤ 13.5%/min, 12 with bridging fibrosis or cirrhosis, 2 with severe steatosis, 1 with moderate steatosis, and 1 with non-specific features were found. Among the 14 specimens from donors with PDR > 13.5%/min, 7 with periportal fibrosis, 3 with severe steatosis or steatohepatitis, 2 with ischemic changes, and two with mild steatosis or considered non-pathological were found (Fig. 3).

PDR ≤ 13.5%/min	PDR > 13.5%/min
16 Biopsies • 75% - bridging fibrosis or cirrhosis • 12.5% - severe steatosis • 6.3% - moderate steatosis • 6.3% - non-pathological	14 Biopsies • 50% - periportal fibrosis • 21.4% - severe steatosis or steatohepatitis • 14.3% - ischemic damage • 14.3% - non-pathological or mild steatosis

**Fig. 3.** Histologic findings for biopsy specimens of rejected grafts according to the cut-off of indocyanine green plasma disappearance rate (PDR) selected for discard.**Table 4.** Comparison of donor variables and cold ischemic time between patients who developed early allograft dysfunction (EAD) and those with a normal postoperative course

Variable	EAD (n = 15)	Non-EAD (n = 30)	p-value
Age (yr)	75 (58–80)	60 (41–73)	0.037*
Sex (male)	7 (46.7)	17 (56.7)	0.526
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.5 (24.5–29.6)	24.8 (22.3–27.8)	0.170
Cause of death (stroke vs. others)	12 (80.0)	25 (83.3)	0.542
Pressors	13 (86.7)	17 (56.7)	0.043*
Cardiac resuscitation	4 (26.7)	3 (10.3)	0.166
Arterial hypertension	11 (73.3)	13 (43.3)	0.055
Diabetes mellitus	4 (26.7)	4 (13.3)	0.241
Dyslipidemia	5 (33.3)	6 (20.0)	0.266
Ultrasonography (pathological)	3 (20.0)	3 (10.0)	0.311
ICU stay (day)	2.5 (1.0–3.3)	2.0 (1.0–4.0)	0.900
GGT (IU/L)	36.0 (24.0–65.3)	26.5 (14.8–46.8)	0.359
AST (IU/L)	37 (23–56)	28 (18–49)	0.408
ALT (IU/L)	25 (15–51)	19 (12–41)	0.352
Bilirubin (mg/dL)	0.8 (0.5–1.1)	0.5 (0.3–0.8)	0.135
Platelets (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	204 (137–258)	214 (153–264)	0.731
ICG-R15 (%)	2.7 (2.3–2.6)	3.1 (1.6–5.7)	0.588
ICG-PDR (%/min)	24.0 (17.2–27.1)	22.7 (19.1–27.1)	0.782
Marginal donor	11 (73.3)	16 (53.3)	0.167
Cold ischemic time (min)	335 (293–420)	303 (238–363)	0.112

Quantitative variables are expressed as median (interquartile ranges). Categorical variables are expressed as total counts (%). ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BMI, body mass index; GGT, gamma-glutamyl transferase; ICU, intensive care unit; ICG-PDR, indocyanine green plasma disappearance rate; ICG-R15, indocyanine green retention rate at 15 minutes.

\*Statistically significant.

### Donor plasma disappearance rate and transplant outcomes

Of 49 accepted grafts in pooled cohorts, three were assigned to external centers and lost to follow-up and one was not transplanted after finding progression of hepatocellular carcinoma in the recipient. The remaining 45 transplanted patients were

established as the study cohort. Fifteen (33.3%) patients with EAD were observed. Donors' median PDR among patients with EAD versus patients with uncomplicated postoperative course was not statistically significantly different (24.0%/min, IQR: 17.2–27.1%/min vs. 22.7%/min, IQR: 19.1–27.1%/min,  $p = 0.782$ ). Donors' variables that showed differences between EAD and non-EAD patients were donor age (median: 75 years, IQR: 58–80 years vs. median: 60 years, IQR: 41–73 years,  $p = 0.037$ ) and the use of vasoactive drugs prior to donation (86.7% vs. 56.7%,  $p = 0.043$ ) (Table 4).

## DISCUSSION

This study internally validated ICG-PDR as a useful test to discard liver grafts in a prospective study of 71 DBD evaluated by a transplantation team in Spain. A cut-off for PDR of 13.5%/min was found. Below this value, all grafts were deemed unsuitable due to marginal quality. This result was externally validated in a prospective cohort of 17 donors evaluated by three other Spanish transplantation centers, showing well-concordant outcomes. A microscopic confirmation of parenchymal structural damage, namely bridging fibrosis, cirrhosis, or severe steatosis, was found in the great majority of specimens from donors with  $PDR \leq 13.5\%/min$ .

Some authors in the early '90 showed a possible application of the ICG clearance test in liver donors. Wesslau et al. [15] have studied ICG clearance using a thermodilution method in 41 donors. They found that out of 21 grafts accepted for transplantation, only two had a  $PDR < 15\%/min$ . Interestingly, these two cases had a graft failure.

In more recent years, relying on modern non-invasive trans-cutaneous digital probes, Zarrinpar et al. [10] from UCLA University, USA found that ICG-PDR in 53 donors was the only donor variable associated with non-survival of the graft with an ideal cut-off of 19.3%/min (meaning by "non-survival" both discard before transplantation and 7-days graft failure after transplantation). In the present study, we could not find any correlation between donor ICG clearance and EAD in the 45 patients who underwent transplantation. This could be explained by the inherent design of the present study, which aimed primarily to validate a method to discard grafts before procurement, and not to predict the risk of graft dysfunction. However, it would have been questionable to set both surgeons' turndown of organ and graft failure after transplantation as the end-point of the study. In the latter situation, the recipient's conditions, ischemic time, and technical variables could also intervene, making the ICG-PDR cut-off difficult to interpret and apply in clinical use.

ICG clearance is known to be influenced both by hepatic arterial blood flow and liver-specific extraction rate [16]. A matter of concern is the reliability of ICG-PDR in the context of brain-dead donation, when hemodynamic stability is often dependent on vasoactive drugs. ICG clearance test might not be

trustful during high volume fluid resuscitation and in presence of severe hemodynamic shock [17]. In this respect, Tang et al. [9] have analyzed 3 months graft survival in 90 patients. DBDs had one or multiple measurements of ICG clearance within 6 h of procurement. A poor ICG retention rate at 15 minutes (ICG-R15) was a reason for attempting to improve maintenance measures in donors. An ICG-R15 below 11% was considered the maintenance target before procurement. Notably, the mean donor age in this Chinese cohort was 31 years, which was far from the Western reality of a significantly older donor population. In their scenario, ICG clearance could reflect a state of physiological instability related to brain death and/or sepsis rather than a reliable indicator of liver quality.

In 2020, our group at "HGUGM" published results of a pilot study of 29 DBDs [11], showing a good correlation between donor's ICG-PDR and decision of the surgeon (blinded to PDR results) to accept or discard the graft. Thereafter, we recruited more donors and started a multicentric study to validate our results. We set a cut-off with 100% specificity to avoid any false positive results. Our purpose was to ideally adopt the ICG clearance test, which requires non-invasive bedside equipment already available in many ICUs, as a screening before a donation is pursued by on-site procurement coordinators.

The overall rate of graft discard in the present dataset was 39 out of 88 (44.3%). This rate is somewhat higher than expected according to national statistics [1] possibly because the cohort did not include all consecutive donors available for logistic reasons. Applying ICG-PDR cut-off as a filter before donation, 18 (46.2%) donors with unsuitable grafts could have been identified correctly, thus avoiding unnecessary travels and waste of financial and human resources.

Surprisingly, none of the donors' laboratory tests or ultrasound findings could suggest graft turndown, although the majority of discarded grafts showed advanced pathological injury. A possible explanation for this was that the study cohort was composed of donors already selected for liver evaluation, having preemptively discarded those with gross abnormalities in the workup.

This study has some limitations that should be pointed out. First, only 17 donors could be recruited for external validation. Therefore, AUROC comparison between training and validation cohorts might lack a sufficient power. Despite this, both datasets were comparable for all donor characteristics. Most importantly, no valid graft would have been missed in the validation cohort using the established cut-off.

Second, approximately 20% of specimens for pathological study were eventually missing for analysis. Additionally, the spectrum of variability and combination of histological findings made it difficult to establish a straightforward correlation between ICG elimination and microscopic liver anatomy. While a  $PDR$  below 13.5%/min was almost invariably associated with advanced histological damage, findings in discarded grafts from donors with a  $PDR$  above 13.5%/min were quite

variable, ranging from periportal fibrosis or severe steatosis to apparently healthy liver. Although this subgroup of grafts was unviable for transplantation according to surgeon's criteria, they still showed reasonably preserved ICG elimination. They might be an interesting target for future studies with machine perfusion technologies, including hypothermic oxygenated machine perfusion (HOPE), normothermic machine perfusion (NMP), and controlled oxygenated rewarming. It is significant that most of the clinical trials thus far [18] comparing dynamic perfusion techniques with cold static storage have included donors with ECD grafts. The definition of ECD [14] (any donor with at least one of the following criteria: age > 65 years, ICU stay with ventilation > 7 days, body mass index > 30 kg/m<sup>2</sup>, steatotic liver > 40%, serum sodium > 165 mmol/L, ALT > 105 U/L, AST > 90 U/L, serum bilirubin > 3 mg/dL) is quite broad. Thus, grafts of very different qualities might have been grouped in the same category. As a matter of fact, in our training cohort, almost 80% of donors fulfilled the ECD criteria. A more objective stratification inside the ECD group by the donor's ICG clearance determination might help select which grafts would benefit more from these perfusion techniques. However, in the current study, we intentionally excluded grafts selected for NMP or HOPE because the surgeon's criteria of acceptance might have been different in such cases. In addition, these technologies were not available at our center during the first part of the study period.

Despite the above-mentioned limitations, this is the first study to validate pre-retrieval ICG clearance test in DBD as a tool to predict graft discard in a Spanish population. External validation in a larger international cohort is warranted to explore the applicability of this strategy in other countries.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank José María Bellón of the "Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón" (IiSGM) for his support in statistical analysis.

## FUNDING

None.

## CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

## ORCID

Sergio Cortese, <https://orcid.org/0000-0003-1645-2143>  
 Katherine Plua, <https://orcid.org/0000-0002-2217-9545>  
 Alejandro J. Perez-Alonso,  
<https://orcid.org/0000-0003-0468-9928>

María Savoie Hontoria,

<https://orcid.org/0000-0002-0243-3817>

David Pacheco, <https://orcid.org/0000-0003-4232-8576>

Natalia Zambudio Carroll,

<https://orcid.org/0000-0002-8477-9431>

Manuel Ángel Barrera Gómez,

<https://orcid.org/0000-0001-8216-6212>

José María Pérez Peña,

<https://orcid.org/0000-0002-4390-2253>

Álvaro G. Morales Taboada,

<https://orcid.org/0000-0002-1479-6607>

María Fernández Martínez,

<https://orcid.org/0000-0003-4687-2122>

Sergio Hernández Kakauridze,

<https://orcid.org/0000-0002-1124-3652>

Ana María Matilla, <https://orcid.org/0000-0003-3162-4812>

José Ángel López Baena,

<https://orcid.org/0000-0001-8450-0798>

José Manuel Asencio, <https://orcid.org/0000-0002-7533-5513>

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization: SC, JMA, JALB, JMPP, AMM. Data curation: SC, JMA, KP, AJPA, MSH, DP, NZC, MABG, AGMT, MFM, SHK. Methodology: SC, JMA. Writing - original draft: SC. Writing - review & editing: SC, JMA, JALB.

## REFERENCES

1. Organización Nacional de Trasplantes (ONT). Actividad de donación y trasplante hepático España 2022 [Internet]. ONT 2022 [cited 2024 Jan 23]. Available from: <https://www.ont.es/wp-content/uploads/2023/06/DONACION-Y-TRASPLANTE-HEPATICO-2022.pdf>.
2. Ali Deeb A, Settmacher U, Fritsch J, Dondorf F, Rohland O, Rauchfuß F. Postoperative outcomes in 415 patients following liver transplantation using extended donor criteria: a study from a single center in Germany. *Ann Transplant* 2023;28:e939060.
3. Mangus RS, Borup TC, Popa S, Saxena R, Cummings O, Tector AJ. Utility of pre-procurement bedside liver biopsy in the deceased extended-criteria liver donor. *Clin Transplant* 2014;28:1358-1364.
4. Oliver JB, Machinani P, Bongu A, Patel T, Nespral J, Kadric C, et al. Liver biopsy in assessment of extended criteria donors. *Liver Transpl* 2018;24:182-191.
5. Saadeh S, Younosst ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002;123:745-750.
6. Nishio T, Taura K, Koyama Y, Ishii T, Hatano E. Current status of preoperative risk assessment for posthepatectomy liver failure in patients with hepatocellular carcinoma. *Ann Gastroenterol Surg* 2023;7: 871-886.
7. Olmedilla L, Lisbona CJ, Pérez-Peña JM, López-Baena JA, Garutti I, Salcedo M, et al. Early measurement of indocyanine green clearance accurately predicts short-term outcomes after liver transplantation.

- Transplantation 2016;100:613-620.
8. Koneru B, Leevy CB, Klein KM, Zweifel P, Wilson DJ. Indocyanine green clearance in the evaluation of donor livers. *Transplant Proc* 1993;25:1919-1920.
  9. Tang Y, Han M, Chen M, Wang X, Ji F, Zhao Q, et al. Donor indocyanine green clearance test predicts graft quality and early graft prognosis after liver transplantation. *Dig Dis Sci* 2017;62:3212-3220.
  10. Zarrinpar A, Lee C, Noguchi E, Yersiz H, Agopian VG, Kaldas FM, et al. A rapid, reproducible, noninvasive predictor of liver graft survival. *J Surg Res* 2015;197:183-190.
  11. Asencio JM, Cortese S, López Baena JA, Olmedilla L, Pérez Peña JM, Salcedo MM, et al. Evaluation of plasma disappearance rate indocyanine green clearance as a predictor of liver graft rejection in donor brain death. *Transplant Proc* 2020;52:1472-1476.
  12. Olthoff KM, Kulk L, Samstein B, Kaminski M, Abecassis M, Emond J, et al. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transpl* 2010;16:943-949.
  13. Moons KG, Altman DG, Reitsma JB, Ioannidis JP, Macaskill P, Steyerberg EW, et al. Transparent Reporting of a multivariable prediction model for Individual Prognosis or Diagnosis (TRIPOD): explanation and elaboration. *Ann Intern Med* 2015;162:W1-W73.
  14. Braat AE, Blok JJ, Putter H, Adam R, Burroughs AK, Rahmel AO, et al. The Eurotransplant donor risk Index in liver transplantation: ET-DRI. *Am J Transplant* 2012;12:2789-2796.
  15. Wesslau C, Kruger R, May G. Clinical investigations using indocyanine green clearance for evaluation of liver function in organ donors. *Transplantation* 1994;5:1-3.
  16. Janssen MW, Druckrey-Fiskaen KT, Omid L, Sliwinski G, Thiele C, Donaubaer B, et al. Indocyanine green R15 ratio depends directly on liver perfusion flow rate. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2010;17:180-185.
  17. Sakka SG. Assessment of liver perfusion and function by indocyanine green in the perioperative setting and in critically ill patients. *J Clin Monit Comput* 2018;32:787-796.
  18. Parente A, Trotta F, Pini A, Eden J, Dondossola D, Manzia TM, et al. Machine perfusion techniques for liver transplantation - a meta-analysis of the first seven randomized-controlled trials. *J Hepatol* 2023;79:1201-1213.