

TRASPLANTE HEPATICO EXPERIMENTAL

Capítulo

5

Yolanda Quijano Collazo

LA CIRUGÍA EXPERIMENTAL. MODELOS DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

La observación y el estudio de los animales ha permitido al hombre aprender y comprender el soporte biológico de la vida en todos los ámbitos del conocimiento, entre los cuales se encuentran las Ciencias Quirúrgicas. Así la Cirugía Experimental es una actividad dentro del desarrollo científico, que ofrece un amplio abanico de posibilidades para el progreso de la Medicina. Como disciplina puede accederse a ella desde diversas ramas de la Ciencia y permite el ensayo y desarrollo de procedimientos quirúrgicos y el aprendizaje del Método Científico, de tal forma que, el trabajo con animales de laboratorio ha sido y es, antesala obligada para la innovación y puesta a punto de los avances en Cirugía Clínica. La reproducción y validación de los modelos experimentales ha facilitado la extrapolación de los conocimientos adquiridos a la Medicina

En Cirugía Experimental se define como **modelo** a aquella situación provocada y reproducible que proporciona un soporte biológico en el que puede estimarse la repercusión de diferentes parámetros para constatar una relación "causa/efecto", obviando la principal interferencia del trabajo experimental que es el azar.

Los modelos animales empleados en investigación se han dividido en cuatro grupos: espontáneos, inducidos, negativos y huérfanos.

1. Los modelos espontáneos o no manipulados se obtienen por selección de animales consanguíneos que expresan una variable o entre las pobla-

ciones en las cuales un gran número de animales expresan dicha variable.

2. Los modelos inducidos o manipulados se obtienen mediante una provocación experimental que se puede clasificar en cinco grupos:

- a. Administración de sustancias biológicamente activas, por ejemplo la inducción de diabetes tras la administración de estreptozotocina.
- b. Manipulación quirúrgica, como la hepatectomía parcial para el estudio de la regeneración hepática.
- c. Administración de dietas modificadas, carentes o excedentes en componentes, por ejemplo en el estudio de hipovitaminosis o hiperlipidemias.
- d. Cambios etológicos en modelos de aprendizaje o modificación de la conducta por el aislamiento en el caso de las "ratas asesinas".
- e. Manipulación genética o animales transgénicos que permiten la obtención de modelos especiales que están siendo de gran ayuda en la comprensión de mecanismos patogénicos y terapéuticos.

3. Los modelos negativos son aquellos en los cuales una determinada variable no se desarrolla, por ejemplo la resistencia de algunas razas de conejos a la infección gonocócica. El interés está en el estudio de los mecanismos que proporcionan esta resistencia.

4. Los modelos huérfanos son los que expresan una variable no conocida en la especie humana, como por ejemplo la enfermedad de Marek

producida por un virus linfoproliferativo. Cuando esta variable se describe también en la especie humana se dice que este modelo animal ha sido adoptado y se incluye en una de las categorías anteriores, como por ejemplo sucedió con la encefalitis espongiforme bovina y su correlación con la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

Las consideraciones que deben prioridad el inicio de un trabajo experimental responden a las preguntas ¿Qué? y ¿Para Qué?. La fuente del estudio experimental es la observación, de ella surgen los problemas, de estos las hipótesis y de ellas los diseños de los trabajos experimentales. Esta secuencia del razonamiento científico marcará la cronología del trabajo experimental.

La elección del modelo responde a la pregunta ¿Cómo?. El investigador debe plantear cómo puede reproducir en el laboratorio su problema, para lo cual tendrá en cuenta la selección del animal, el procedimiento quirúrgico y la viabilidad y rentabilidad de la técnica seleccionada en la resolución de su problema, es decir aquí deben ir implícitos la eficacia y la eficiencia del trabajo. La fiabilidad de su modelo y la posibilidad de reproducirlo le permitirá obtener el soporte para la conclusión de sus resultados. El conocimiento de las características anatómicas y funcionales de la especie utilizada le permitirá, en función de sus similitudes, extrapolar sus resultados a la especie humana.

La posibilidad de reproducir las experiencias está limitada por la variabilidad del modelo, sobre esta base el empleo de animales homogéneos asegura la fiabilidad de la respuesta esperada. Esta homogeneidad puede ser de tres tipos:

1. Somática: igualdad de sexo peso y edad. Fácil en roedores y difícil en animales grandes.
2. Genética: obtenida por una tasa de consanguinidad elevada
3. Sanitaria: que establece los tipos o categorías de los animales de laboratorio y las instalaciones donde se producen o mantienen, para evitar perturbaciones debidas a estados patológicos no deseados.

La relación entre los beneficios derivados de la investigación con animales y el número que debe emplearse corresponde a la significación. El Nacional Research Council de Estados Unidos en 1988, ha resumido la importancia que ha tenido para la humanidad el uso de animales destinados a la experimentación. Han contribuido, junto con los

cambios en la higiene y en la calidad de la nutrición, a incrementar la esperanza de vida del hombre en 25 años desde 1900 hasta 1990.

La tendencia general es ir disminuyendo el número de animales utilizados en los experimentos mediante la estandarización de los reactivos biológicos y la obtención de nuevos modelos, especialmente por las técnicas transgénicas que están permitiendo la creación de biomodelos experimentales que sobreexpresan o carecen de genes específicos o que portan genes heterólogos para la especie. El perfeccionamiento de técnicas sustitutorias, como los cultivos celulares y tisulares y los modelos matemáticos y de simulación por ordenador, también están contribuyendo a reducir estas necesidades.

Con la entrada de España a la Unión Europea en 1985, se incorporó al ordenamiento jurídico español la Directiva 86/609 y la ratificación del "Convenio Europeo sobre protección de animales vertebrados utilizados en experimentación y otros fines científicos", hecho en Estrasburgo el 18 de Marzo de 1986. Esta Directiva recuerda que no limitará el derecho de los Estados Miembros a aplicar o a adoptar medidas más estrictas para proteger a los animales utilizados en experimentación o para controlar o limitar la utilización de animales en experimentos, dejando pues libertad a los países para ser más exigentes que la propia Directiva.

TRASPLANTE DE ORGANOS EN ANIMALES

La Cirugía Experimental fue el pilar sobre el que se apoyaron los ensayos de extracción, conservación y revascularización de los órganos y animales domésticos y algunas clases de primates sirvieron como soporte para la observación del tipo, grado y carácter de los problemas que podían plantearse.

La posibilidad de realizar anastomosis vasculares fue una de las múltiples aportaciones de Alexis Carrel y resolvió uno de los principales problemas técnicos del trasplante ¹. En 1902 sus modelos experimentales en perros le permitieron demostrar que era posible recuperar, temporalmente, la función de los órganos trasplantados². Posteriormente la conclusión de su trabajo en el Instituto Rockefeller de Nueva York, le permitió afirmar en 1911, que la barrera técnica del trasplante de vísceras estaba superada, pero fue más con-

tundente al concluir que podía intentarse la reimplantación de extremidades entre hombres tomado como donantes individuos fallecidos de muerte violenta ³, estableciendo de esta forma la importancia del carácter temporal en la conservación de los órganos y tejidos para garantizar su viabilidad. Sus trabajos sobre la fisiología de los órganos, el mantenimiento y conservación de los tejidos y la realización de cultivos celulares *in vitro* dan fe de su actividad creadora y su modelo de perfusión de órganos *ex vivo* ha sido el prelude de las extracciones y los trasplantes de órganos.

El trasplante realizado en el mismo individuo, autotrasplante, tiene su objetivo en el estudio de la conservación y el comportamiento fisiológico tras la reperfusión, acercándose a las condiciones óptimas de mantenimiento y recuperación del órgano combinando tiempos de isquemia, temperatura y soluciones de preservación que permitan frenar el metabolismo de forma reversible. Tiene trascendencia histórica, el estudio realizado en perros por R. Lillehei en 1959 en el que se evalúan los tiempos de isquemia intestinal tolerados a temperatura normal, el efecto de la hipotermia "in vivo" y la utilidad del lavado intraarterial con suero salino frío, bajando la temperatura del intestino hasta 10 grados y manteniendo la temperatura corporal a 35 grados. Los estudios fisiológicos mostraban que el daño producido en un órgano por la isquemia estaba relacionado con dos factores: el tiempo que permanecía fuera de la circulación sanguínea y la temperatura ⁴. Posteriores estudios en animales sobre el efecto beneficioso de la hipotermia para preservar la función de los órganos, han permitido conocer los cambios morfológicos y metabólicos y el efecto reversible o irreversible sobre rutas metabólicas ⁵⁻⁷. La temperatura óptima, el tiempo de almacenamiento y el tipo de solución de preservación para el injerto hepático, también se ha ensayado en animales ⁸⁻¹¹.

Los trasplantes realizados entre diferentes individuos de la misma especie, homotrasplante, (allogénico) añaden otra barrera y los primeros trasplantes de órganos realizados entre animales decepcionaron ya que los consecutivos fracasos sembraron la duda sobre su utilidad clínica. No se hicieron esperar los ensayos entre animales de diferentes especies, heterotrasplantes, (xenotrasplante) y la consideración del mono como animal más próximo al hombre ya condujo a Unger en 1909 a realizar un trasplante interespecie utilizando el

riñón de un mortinato, la hazaña no sobrepasó las 24 horas y la autopsia del primate confirmó que el fracaso era independiente del aspecto técnico.

Los trabajos realizados durante los primeros quince años del siglo XX, condujeron a superar la dificultad operatoria y a pensar que había otros problemas que excluía la causa quirúrgica como responsable del fracaso, estableciéndose ya las diferencias en el tiempo de supervivencia del injerto según su procedencia, siendo indefinida para los autotrasplantes, variable pero escasa para los homotrasplantes y de sólo unas horas para los heterotrasplantes. Se enunciaba así una incompatibilidad biológica de diversos grados entre el donante y el receptor¹²⁻¹⁴. Hensen en 1903 observó por primera vez, que el rechazo de homoinjertos podía deberse a un "proceso de inmunidad activa" ¹⁵. Murphy en 1914 dio forma a los procesos de rechazo y afirmó que estaban mediados por una célula pequeña de estirpe linfóide, pero sería Medawar quien definitivamente estableciera las bases científicas y considerara que el rechazo era un mecanismo inmunológico con sus características de especificidad antigénica y memoria inmunológica ¹⁴.

Parecía que todo apuntaba a que los fracasos en el trasplante se relacionaban con una reacción inmunitaria. Esta idea prevalece hasta 1951-53 en que Hume y Merrill en el Brigham de Boston comentan un caso de "compatibilidad casual", pero casi simultáneamente y tras el fracaso obtenido al trasplantar con cierto grado de parentesco, no se duda en afirmar que el único supuesto racional es el que se realiza entre individuos de la misma constitución genética. Esto se confirma al conseguir un éxito completo al trasplantar un riñón entre dos gemelos univitelinos.

La duda estaba planteada y la repercusión que tenía la barrera de la individualidad genética sobre el trasplante se enunciaba como responsable de los fracasos clínicos.

Las cinco leyes biológicas de la compatibilidad tisular enunciadas por Little, Bittner, Tyzzer, Strong y Cloudmann en 1941 tras sus estudios realizados sobre el control genético de los factores de resistencia a los aloinjertos tumorales, estaban basadas en las observaciones clásicas de la genética mendeliana de forma que el genotipo de un individuo venía determinado por la codominancia de dos haplotipos y esto determinaba los resultados obtenidos al realizar el trasplante:

1. Los injertos entre individuos isogénicos se aceptan
2. Los injertos entre alogénicos se rechazan
3. Los individuos de la primera generación filial (F1) aceptan injertos procedentes de su generación parental isogénica, mientras que los injertos de F1 en la parental se rechazan
4. Los injertos entre individuos F1 se aceptan
5. Los injertos entre la generación parental y los de la segunda generación filial (F2) se rechazan.

Las excepciones a estas leyes no tardaron en aparecer, comprobando que las hembras rechazaban injertos de machos consanguíneos, que algunos aloinjertos no eran sistemáticamente rechazados y que no siempre los individuos F1 aceptaban los injertos de sus padres isogénicos, así como los trasplantes entre los hermanos de la F1 podían rechazarse.

Ya se conocía desde 1900 la existencia y la antigenicidad del sistema ABO gracias a Landsteiner, y su importancia en las reacciones transfusionales fue atribuida a la presencia de anticuerpos naturales dirigidos contra antígenos de este sistema, de expresión principalmente eritrocitaria¹⁵.

Gorer y Snell, en 1938 iniciaron la localización de las barreras antigénicas que provocaban los fenómenos de rechazo, consiguieron cepas de ratón de idéntico genoma, empleando técnicas endogámicas de crianza, a excepción de uno o varios genes que intervenían decisivamente en el rechazo, de este modo fueron definiendo numerosos genes relacionados con la histocompatibilidad y pudieron concluir que el de mayor influencia en el trasplante era el sistema de genes H2 (30). Similares sistemas se fueron definiendo en otras especies: RT1 en la rata, B en el pollo, PLA en el perro, RhLA en el macaco y muy especialmente el HLA en el hombre. En 1952 Dausset definió el primer antígeno análogo, que denominó MAC y que estaba presente en leucocitos y plaquetas y que explicaba observaciones previas sobre anticuerpos leucoaglutinantes en enfermos leucopénicos y en transfundidos, posteriormente se fueron definiendo numerosos antígenos en leucocitos y en 1967 la O.M.S. lo denominó definitivamente Sistema HLA (Human Leucocytes Antigen).

Los estudios desarrollados por Monchick y Russell en 1970¹⁶ también constituyeron un avan-

ce relevante en la historia de los trasplantes. Los roedores con un alto índice de endogamia (cepas isogénicas) fueron la clave para contar con una reacción inmunológica genéticamente controlada y permitieron demostrar que existía un espectro de reacción alogénica cuyos polos estaban entre la aparición de un rechazo del injerto implantado (huésped contra injerto) ó un ataque del tejido extraño a su nuevo huésped (injerto contra huésped) y que esto podía provocarse deliberadamente eligiendo la dirección del trasplante entre cepas parentales y los híbridos de la primera generación filial (F1). De forma que los trasplantes realizados desde un progenitor hacia un individuo de la F1 provocaban en este una enfermedad injerto contra huésped mortal, pero si se utilizaba la F1 como donante y una cepa parental como receptora en el animal aparecía un rechazo aislado. El gran logro de estos investigadores fue conseguir el modelo para independizar los dos caminos de la respuesta inmune (RI) al poder realizar el trasplante en estos animales pequeños con el apoyo de la técnica microquirúrgica. De esta manera se aislaba el tipo de reacción inmunológica eligiendo la "dirección" del trasplante.

La tolerancia inmunitaria adquirida fue demostrada en el animal por Billingham y Medawar en 1959 por medio del intercambio celular durante la vida fetal o inmediatamente después del nacimiento. Pero esta observación no permitirá que se desarrollen las investigaciones sobre este aspecto del SI ya que desde el principio, la propuesta terapéutica será combatir el rechazo.

A mediados del siglo XX tiene lugar el desarrollo de los fármacos inmunosupresores. Los buenos resultados experimentales obtenidos en aloinjertos renales en perros por Calne y Murray en 1960 con la 6-mercaptopurina y su derivado la azatioprina desencadenaron el ensayo clínico y durante más de 20 años fue, junto con los corticoides, la base de la inmunosupresión en el trasplante.

En 1963 Starzl y Marchioro presentaron una nueva modalidad de tratamiento utilizando la azatioprina y los corticoides de forma intermitente para controlar los episodios agudos de rechazo.

Los ensayos con Ciclosporina en animales marcaron la trayectoria del trasplante a partir de 1980 y permitieron su expansión clínica¹⁷.

A partir de 1990 nuevamente estudios experimentales conseguían demostrar la mayor eficacia del Tacrolimus sobre el control del rechazo¹⁸.

Desde que en 1901 A. Ullman se propuso utilizar tejido sano, pero ajeno, con fines curativos, hasta el año 2000, en que podría decirse que el trasplante de órganos es una modalidad terapéutica muy extendida, ha habido una sucesión de avances que nos han favorecido más la realización práctica que la comprensión teórica de los fenómenos naturales que concurren en los mismos. Las diferentes cuestiones que pueden plantearse empiezan en la consideración de "tejido sano" como aquél que se manipula y preserva lejos de sus condiciones homeostáticas y del que se pretende recuperar la función una vez desprovisto de su sistema aferencial y eferencial con bloqueo de su drenaje linfático, pero lo más importante, es la presunción de otorgar al sistema HLA, como único papel biológico, el de una mera barrera antigénica para la realización de los trasplantes, aún aceptando que violamos una ley natural que antepone la identidad a la función, con el propósito de "traspasar vida."

TRASPLANTE HEPÁTICO EN ANIMALES

El trasplante hepático contempla tres aspectos globales que pueden reproducirse experimentalmente. Se comentarán cada uno de ellos y servirán de guía para definir un modelo experimental de trasplante hepático.

Técnica quirúrgica

Tradicionalmente los animales grandes han servido para el entrenamiento de la técnica quirúrgica. Los trasplantes pueden clasificarse desde el punto de vista técnico según:

- A. Tipo de injerto:
 - Entero
 - Parcial o segmentario
- B. Localización en el implante:
 - Ortotópico
 - Heterotópico
- C. Condición del receptor
 - Definitivo
 - Auxiliar
- D. Situación hemodinámica durante la fase anhepática:

Clampaje completo de la vena cava infra y suprahepática

Clampaje exclusivo de las venas suprahepáticas

Utilización de by-pass veno-venoso

Realización de un shunt porto-sistémico

E. Reconstrucción vascular

Arterial: Con reconstrucción Término-terminal o término-lateral

Sin reconstrucción arterial

Venosa: Término-terminal de ambas cavas o Término-lateral de las venas suprahepáticas con la cava suprahepáticas.

Término-terminal de ambas venas Porta o con interposición de injerto venoso entre la Porta y la vena Mesentérica Superior.

F. Reconstrucción biliar

Bilio-biliar: Término-terminal entre ambos colédocos

Bilio-digestiva: Término-lateral entre el colédoco y un asa yeyunal de intestino delgado.

Para definir un modelo experimental determinado se deberán enumerar todos y cada uno de los siguientes aspectos a fin de conocer las características específicas del tipo de trasplante realizado. Deberá indicarse en primer lugar el rango atendiendo a la especie de los animales, la dirección según el animal seleccionado como donante y como receptor constatando la disparidad en el caso de trasplantes xenogénicos, a continuación la raza y las características somáticas seguido de la procedencia y medidas de acondicionamiento o manipulaciones de cualquier índole realizadas sobre los animales, previas al trasplante, así como las características genéticas. Seguidamente el procedimiento quirúrgico, indicando el tipo de anestesia, la técnica quirúrgica y la forma de preservación.

En un ejemplo quedaría de la forma que sigue:

Trasplante alogénico completo entre roedores, unidireccional entre las cepas Lewis y Brown Norway, machos de 20 semanas con pesos comprendidos entre 200-250 gramos, (indicando la procedencia del estabulario y las condiciones de mantenimiento), con donantes sometidos a radiación corporal completa tres días antes del trasplante y receptores en ayunas 24 horas antes del trasplante, sin restricción de agua, tratándose de

cepas isogénicas con fenotipo RT1¹, RT1ⁿ cuya combinación y dirección del trasplante provoca una respuesta inmunológica leve.

Se realiza el procedimiento quirúrgico bajo anestesia inhalatoria (indicando la forma de administración) manteniendo a los animales en respiración espontánea.

El trasplante comporta la sustitución del órgano entero colocándolo en su posición ortotópica con carácter definitivo, se elige el clampaje completo y la sustitución de vena cava así como la restauración fisiológica del flujo portal mediante la colocación de una prótesis extravascular termino-terminal, el injerto no será arterializado y la reconstrucción bilio-biliar se realizará sobre una prótesis endoluminal término-terminal, entre ambos colédocos.

La preservación del órgano pasará por la exanguinación selectiva en el donante con administración progresiva de 20 ml. de Ringer Lactato a 4°C. El almacenamiento del hígado se hará en un baño con la misma solución de preservación y a la misma temperatura, con un tiempo de isquemia fría equivalente al necesario para la preparación y hepatectomía del receptor.

Las distintas fases del trasplante, extracción, preservación e implante se han ensayado en perros, cerdos y primates no humanos¹⁹⁻²². Al comprobarse que los perros tienen una mayor susceptibilidad para desarrollar complicaciones vasculares tras el trasplante, las distintas razas de cerdos²³⁻²⁴ se han preferido para los ensayos experimentales de trasplante ortotópico de hígado entero^{20,25}. El hígado de los primates no humanos presenta grandes similitudes anatómicas, histológicas y metabólicas con el hígado humano, pero el empleo de estos animales en trabajos experimentales tiene grandes inconvenientes de orden ético y suscita un gran rechazo social tanto por su proximidad filogenética al humano como por encontrarse, muchas de las especies, en peligro de extinción. Otros primates, como el macaco rhesus y el babuino, se han utilizado durante muchos años e incluso el babuino ha sido utilizado como donante en xenotrasplante humano^{22,26,27}. La estandarización de las técnicas de partición hepática y el desarrollo de los trasplantes auxiliares heterotópicos²⁸ y de donante vivo²⁹⁻³², se han realizado en perros, primates y más recientemente en ratas³³ por presentar características anatómicas mejores

que los cerdos³⁴. La utilidad de estos trabajos experimentales se traduce en su inmediata aplicabilidad para la resolución de problemas clínicos de diferente índole, tanto en relación con las técnicas actuales de resección hepática, como con la solución a impedimentos en los trasplantes hepáticos de pacientes en edad pediátrica, que afectan a la disparidad de tamaño donante-receptor, con la posibilidad de conseguir injertos reducidos y con la escasez de donantes, permitiendo la partición hepática y la utilización de un órgano para dos receptores y las prometedoras expectativas que ofrece el donante vivo. También los trasplantes auxiliares se han utilizado para corrección de algunas enfermedades metabólicas.

Preservación

Comporta el aspecto fisiológico del trasplante. Las condiciones hemodinámicas en las que se obtiene el órgano, la integridad o ausencia de lesiones durante el procedimiento quirúrgico y el tránsito gradual para su conservación determinan la recuperación de la función. Las diferencias entre las especies y razas seleccionadas para estos estudios pasan por conocer los hábitos dietéticos y las características anatómicas y funcionales, no solo hepáticas sino también hemodinámicas, que pueden condicionar la realización del trasplante^{35,35}, así como el impacto del procedimiento quirúrgico a largo plazo^{37,38}. El cerdo representa un modelo de elección para la realización de estudios fisiológicos por similitudes dietéticas con el hombre³⁹. El comportamiento del órgano con las fórmulas de preservación con respecto a los parámetros fisiológicos normales y el daño hístico por la lesión de isquemia-reperfusión al reimplantarlo, son el otro aspecto a tener en cuenta para garantizar la viabilidad después del trasplante y por tanto otra vertiente que puede explorarse dentro de este apartado^{23,24,40}.

La utilización de modelos modificados quirúrgicamente, para reproducir los estados patológicos previos al trasplante, como la cirrosis⁴¹ la hipertensión portal⁴² o el fallo hepático fulminante^{43,44}, así como para secuenciar la capacidad de regeneración hepática y las alteraciones metabólicas del fallo hepático agudo y crónico, constituyen otra fuente importante de información de la fisiopatología hepática^{45,46}.

Desde el punto de vista funcional, también el hígado de algunos animales se ha utilizado como soporte metabólico en humanos, en circunstancias críticas de fallo hepático agudo, como solución transitoria ⁴⁷.

Inmunología

Sigue siendo la principal línea de investigación en el trasplante de órganos. La barrera inmunológica representa “el reto” con numerosas y prometedoras expectativas que han sido posibles gracias a la integración de varias líneas de trabajo que pueden englobarse en dos apartados:

1. El desarrollo de la técnica microquirúrgica, apoyada en el progreso de los medios de magnificación de los microscopios quirúrgicos, el perfeccionamiento del instrumental y la composición y calibración de las suturas ⁴⁸⁻⁵⁰.

2. La posibilidad de contar con cepas de roedores isogénicos. Estos animales, obtenidos mediante una técnica endogámica de crianza, poseen una dotación genética idéntica y un CMH conocido y constituyen un soporte fundamental para la investigación de los fenómenos inmunológicos implicados en el trasplante ^{19,51-53}. Conocer e identificar la procedencia y el fenotipo de las distintas poblaciones celulares, gracias a la existencia de marcadores monoclonales para distintos receptores de membrana de estirpe linfocítica, ha sido otra contribución trascendente para el desarrollo de este campo.

Los trasplantes hepáticos realizados en animales pequeños fueron posibles gracias al desarrollo del modelo experimental, por Lee, Calne, Kamada y Zimmerman ^{51,54-55} y su divulgación ha beneficiado a numerosos grupos de trasplante y sustenta importantes líneas de investigación inmunológica.

La trayectoria histórica experimental de este trasplante ha transcurrido por modelos de mayor a menor complejidad técnica ⁵⁶⁻⁵⁸, siendo los principales retos la disminución de la fase anhepática, la reconstrucción arterial y biliar y evitar las hemorragias.

La idea de una técnica de reconstrucción vascular sin sutura se debe a Nitze (1897), y fue utilizada para trasplante cardiaco accesorio en conejos por Heron (1970) y renal por Dunn (1976). Se denominó técnica de cuff y consiste en la colocación

de una prótesis extraluminal para anastomosis vasculares termino-terminales. En 1979 Kamada y Calne publicaron una serie de 300 trasplantes hepáticos en rata aplicando este procedimiento de reconstrucción vascular para la porta y la cava infrahepática que por tanto, acortaba la fase anhepática, supuso un inestimable avance para este modelo ^{59,60} por la simplificación de la técnica y el incremento de la supervivencia de los animales, aumentando así la eficacia (Fig. 5.1).

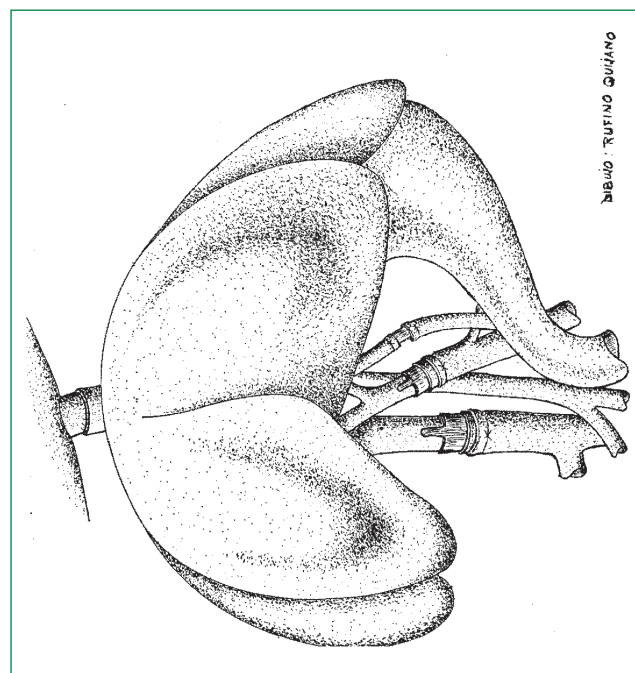


Fig 5.1 – Trasplante hepático ortotópico en rata según técnica de cuff (Kamada y Calne).

Esta misma técnica para la cava suprahepática, condujo a disminuir aún más la fase anhepática del trasplante ⁶¹.

La validación de este modelo experimental de trasplante hepático en ratas ⁶² daba paso a la posibilidad de profundizar en el conocimiento de la reacción inmunológica tras el trasplante, al permitir el trabajo con cepas de roedores isogénicos ^{19,51-53}. Estos animales ya habían sido utilizados en otros trasplantes y sus potenciales ventajas se habían esbozado al observarse que las distintas combinaciones entre las cepas provocaban diferente tipo y grado de respuesta ¹⁶. La disponibilidad de un mayor número de marcadores para identificar células efectoras del sistema inmune promovió el trasplante hepático en ratones cuya técnica mi-

croquirúrgica se apoya en la descrita para ratas, pero añade la dificultad del tamaño ⁶³.

El trasplante con estos animales permite la manipulación de la respuesta inmunológica (RI) según se realicen:

1. Trasplantes alogénicos completos: entre dos cepas isogénicas no relacionadas, (ej: BNàLW)

2. Trasplantes semialogénicos: entre cepas parentales e individuos de la primera generación filial, (ej: F1(BNxLW)àLW, o LWàF1(BNxLW).y F1(BNxLW)àBN o BNàF1(BNxLW))

3. Trasplantes isogénicos: entre individuos de la misma cepa, (ej: BNàBN)

Los factores que modifican la respuesta inmunológica obtenida con estos trasplantes son:

A. Selección de las cepas: se ha observado que hay cepas que son “buenas donantes” y otras que son “buenas receptoras”.

B. Combinación de las cepas: influye sobre la virulencia o agresividad de la RI.

C. Dirección del trasplante: para la misma combinación de cepas la respuesta obtenida va a depender de la cepa que se utiliza como donante y la que se designa como receptora ^{64,65}.

La dirección en la que se realiza el trasplante proporciona una variabilidad según sean:

a) Trasplantes alogénicos completos, influye sobre el grado de respuesta, que se clasifica como

— Leve (DAàPVG, o BNàLw)

— Moderado (DAàWAG)

— Severo (LWàBN)

b) Trasplantes semialogénicos, influye sobre el tipo de respuesta

— Rechazo agudo (F1àParental): ej.:F1 (BNxLW)àLW

— Enfermedad injerto contra huésped. (ParentalàF1): ej:LWàF1(BNxLW)

Sobre este panel de posibles combinaciones se ha observado que el hígado puede ser aceptado indefinidamente en combinaciones en las que otros injertos se rechazan ⁶⁶⁻⁶⁸ y que puede favorecer la evolución de injertos, como el riñón el corazón y la piel, si precede o se incluye con estos trasplantes ⁶⁹⁻⁷¹.

Estas observaciones experimentales han contribuido a conformar la idea actual de que el hígado goza de algunas particularidades inmunológicas y fisiológicas que hacen que se considere un órgano con capacidad tolerogénica ⁶⁹⁻⁷¹.

Así mismo se ha observado que puede desencadenarse una situación de tolerancia al injerto hepático, en ausencia de tratamiento inmunosupresor, tanto clínica como experimentalmente ⁷²⁻⁷⁴, este fenómeno se ha relacionado con la producción de un movimiento celular desde el hígado hasta órganos del sistema inmune periférico del receptor que constituiría un estado quimérico con posibles implicaciones en el proceso de tolerancia ^{72,73}. Esta teoría, basada tanto en la constatada capacidad hematopoyética del hígado ⁷⁵ como en algunas características fenotípicas y funcionales de estas “células pasajeras” en posibles mecanismos de producción de anergia sobre linfocitos alogénicos de receptor ⁷⁶⁻⁷⁸, pero no ha podido sin embargo explicar algunos de los hallazgos clínicos en los que parece no existir relación entre la existencia de este quimerismo y la evolución del trasplante ⁷⁹⁻⁸⁰.

Puede conseguirse una menor virulencia de los fenómenos de rechazo o una aceptación de otros injertos como el riñón y el intestino cuando se trasplantan simultáneamente y proceden del mismo donante ^{74, 81-83} e incluso transferir este efecto de forma pasiva desde animales con trasplante hepático a receptores de otros injertos utilizando la misma dirección y cepas para el trasplante ⁸⁴⁻⁸⁷, en modelos de transferencia adoptiva. Estos y otros fenómenos observados dirigen las investigaciones actuales hacia el estudio de la inducción de tolerancia que se concibe como la forma más fisiológica para la realización de los trasplantes. Recientes averiguaciones en este sentido han podido explicar en parte la normalidad histológica del injerto hepático a las cuatro semanas observada por Kamada en sus estudios experimentales ⁸⁸, al constatare un proceso local de apoptosis intrahepática de células inmunocompetentes del receptor ⁸⁹, otorgando un posible papel tolerogénico al fenómeno de eliminación de estos linfocitos que infiltran el órgano trasplantado y únicamente demostrado en el hígado ⁹⁰. Este fenómeno de apoptosis intrahepática se debe en gran parte a un cambio en la expresividad de las moléculas de membrana del propio hepatocito que induce el fenómeno de apoptosis alogénica ^{91,92}, la importancia de este fenómeno radica en la posibilidad de

ser provocado ya que, por otra parte, se sabe que es un aspecto constitutivo en territorios "tradicionalmente inmunoprivilegiados" ⁹³.

La manipulación inmunológica de estos modelos para conseguir minimizar el rechazo o conseguir una "ausencia de respuesta" se ha probado con la administración de antígenos de forma previa al trasplante así como de diversos tipos de células de estirpe hematopoyética. Recientes descubrimientos pudieran respaldar estas provocaciones ⁹⁴. Del mismo modo la influencia "tolerogénica" sobre la inmunidad humoral se pone de manifiesto en modelos de transferencia pasiva de IgG anti-MHC de clase II procedente de ratas injertadas, al prolongar la supervivencia de injertos renales y cardiacos procedentes de las mismas ratas donantes. Esta enigmática función también se ha observado en humanos ^{81,83}.

La investigación en este aspecto tiene varios objetivos. Un objetivo es conseguir el control de un fenómeno natural con el menor número de efectos secundarios, esto supone todo el desarrollo de la terapia inmunosupresora que ha transcurrido, progresivamente, desde la utilización de fármacos con un mecanismo de acción muy grosero sobre el sistema inmune y con importantes efectos colaterales, pasando por la actuación sobre procesos de síntesis intracelular, más específico pero no exento de consecuencias deletéreas y lo que supone la forma más específica de bloqueo de la RI que se dirige contra la expresión en la membrana celular de moléculas de estimulación y coestimulación. El otro propósito pasaría por conseguir una adaptación progresiva del Sistema Inmune que evitase el ataque al injerto, o lo que resulta más prometedor, que es la posibilidad de inducir o capacitar a dicho sistema para recibir un órgano o tejido alogénico.

Si bien es cierto que la extrapolación de los resultados en el trasplante hepático con ratas debe tener en cuenta la ausencia de similitudes con la especie humana, así como las peculiaridades derivadas de las diferentes combinaciones entre cepas utilizadas para el trasplante, todos los resultados parecen indicar que el hígado tiene mayor resistencia al rechazo y modifica el curso de otros trasplantes ^{55,62,95-97}.

La Investigación con animales de experimentación debe estar promovida e impulsada por un espíritu de servicio a la Vida, con un propósito de beneficio común.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carrel A. The surgery of blood vessels. Bull J Hopkins. 1907,18:190.
2. Carrel A, Guthrie CC. The transplantation of veins and organs. Am J Med. 1905,10:1101
3. Carrel A. Result of the transplantation of blood vessels, organs and limbs. JAMA1908,51:1662-1667
4. Lillehey R Ann Surg. Oct. 1959.150.4.543-60
5. Collins G, Bravo Shugarman M, Novon S. Kidney preservation for transportation 12 hours storage in rabbits. Transplant Proc 1969; 1: 801
6. Fisher E, Copeland C Fisher B. Correlation of ultrastructure and function following hypothermic preservation of canine kidneys. Lab Invest 1967,17:99.
7. Chilson O, Costello L, Kaplan N. Effects of freezing on encimes. Fed Proc 1965,55:24
8. Marshall VC, Howden BO, Jablonski P. Effect of storage temperature in rat liver transplantation:4º degrees C is optimal and gives successful 48-hours preservation. Transplant Proc 1994,26:
9. Kamada N, Calne RY, Wrigth DGD, Lines JG. Orthotopic rat liver transplantation after long term preservation by continuous perfusion with fluorocarbon emulsion. Transplantation 1980,30:43
10. Toledo-Pereyra LH, Finkelstein I, Hilchenbach G, Alvarez H, Cramer T, Guerra E. Comparative analysis of colloid solution for liver preservation: a bimodal distribution of UW solution on its protective effect. Transplant Proc 1990,22:516
11. Toledo-Pereyra LH. Liver preservation: experimental and clinical observation. Transplant Proc 1988,20:965
12. Ullman E. Tissue and organ transplantation. Ann Surg 1914,60:95-219
13. Neuhof H. The transplantation of tissues. Appleton. Nueva York 1923
14. Medawar PB. The immunology of transplantation. Harvey Lectures. 1956,52:406
15. Morris PJ. Tissue transplantation. Churchill Livingstone. New York. 1982
16. Monchick GJ, Russell PS. Transplantation of small bowel in the rat: technique and immunological considerations. Surgery 1971; 70: 693-702
17. Calne RY, White DJG. The use of Cyclosporine A in clinical organ grafting. Ann Surg 1982,196:330-337.
18. Flye MW. Orthotopic liver transplantation in outbred and partially inbred swine. In Swindle MM, ed. Swine as models in Biomedical Research. Ames, IA, Iowa State University Press 1992, pp 44-56.
19. Todo S, Kam I, Lynch S, Starzl TE. Animal research in liver transplantation with special reference to the dog. Semin Liver Dis 1985,5:309-317
20. Steining D, Mentha G, Lecoultre C. Experimental porcine orthotopic liver transplantation: A training protocol for transplantation in human. Helv Chir Acta 1990,57:177-186
21. Calne RY, Davis DR, Pena JR. Hepatic allografts and xenografts in primates. Lancet 1970,1:103106.
22. Myburgh JA, Mieny CJ, Vetten B. The techniques of orthotopic hepatic allotransplantation in the baboon. S Afr J Surg 1971,9:81-86
23. Koizumi M, Onkohchi N, Katoh H. Preservation and reflow damage in liver transplantation in the pigs. Transplant Proc 1989,21:1323-1326.
24. Yanaga K, Makowka L, Lebeau G. A new liver perfusion and preservation system for transplantation research in large animals. J Invest Surg 1990,1:65-75
25. Swindle MM. Swine as replacement for dogs in the surgical teaching and research laboratory. Lab Anim Sci 1984,34:383-385
26. Starzl TE, Fung J, Tzakis A. Baboon-to-human liver transplantation. Lancet 1993,341:65-71.

27. Skiu M, Fortner J, Kawano N. Orthotopic homotransplantations of liver in baboons. In Goldsmith E, Moor-Jankowski J, eds. *Medical Primatology*. New York, S Karger, 1971, pp 92-101.
28. Dionigi R, Alexander JW, Meakins JL, Fidler JP. Auxiliary liver allotransplantation in dogs. *Eur Surg Res* 1971, 3:93-104
29. Houssin D, Vigouroux C, Filipponi F. One liver for two: An experimental study in primates. *Transplant Int* 1988,1:201-204.
30. Bax N M A, Vermeire B J M, Dubois M. Orthotopic nonauxiliary homotransplantation of part of the liver in dogs. *J Pediatr Surg* 1982,17:906-913
31. Tanaka K, Tokunaga Y, Zaima M. Graft transection and warm perfusion in situ in canine partial orthotopic liver transplantation. *Transpl Int* 1988,1:213-218
32. Cherqui D, Emond JC, Pietrabissa A. Orthotopic liver transplantation and living donors. An experimental study in the dog. *Chirurgie* 1990,116:711-720.
33. Schleimer K, Lange R, Rauhen U, Nowak B, Brandt-Mainz K, De Groot H, Erhand J. Auxiliary rat liver transplantation with portal vein arterialisation in acute hepatic failure. *Transplantation* 2000,15;70 (1):5-6.
34. Ellenport CR, Carnivore digestive system. In Getty R ed Sisson and Gross-man's. *The Anatomy of the Domestic Animals* 5th ed Philadelphia, WB Saunders, 1975,pp1538-1558.
35. Benharkate M, Zanini V, Blanc R. Hemodynamic parameters of anesthetized pigs: a comparative study of farm piglets and Gottingen and Yucatan miniature swine. *Lab Anim Sci* 1993,43:68-72
36. Alexander B, Mathie RT. Diminished hyperaemic response of the hepatic artery to portal venous occlusion (the buffer response) in Asian hybrids minipigs: a comparison of the response to that observed in dogs. *J Comp Physiol* 1993,163:5-10
37. Moreland KJ. Ulcer disease of the upper gastrointestinal tract in small animals. *Pathophysiology, diagnosis and management*. *Comp Cont Educ Pract Vet*. 1988,10:1265-1279.
38. Stanton ME, Bright RM. Gastroduodenal ulceration in dogs of 43 cases and literature review. *J Vet Intern Med* 1989,3:238-244.
39. Fisher R, Putnam CW, Koep LJ. Cryopreservation of pig and human liver slices. *Cryobiology*, 1991,28:131-142.
40. Hannon JP, Bossone CA, Wade CE. Normal physiologic values for conscious pigs used in biomedical research. *Lab Anim Sci*. 1990,40:293-298
41. Levy M. Sodium retention and ascites formation in dogs with portal cirrhosis. *Am J Physiol*.1977,233:F572-F585.
42. Unikowsky B, Wexler MJ, Levy M. Dogs with experimental cirrhosis of the liver but without intrahepatic hypertension do not retain sodium or form ascites. *J Clin Invest*. 1983,72:1594-1604.
43. Mazzioti A, Bernardi M, Antonini L. Plasma amino acid patterns in experimental hepatic acute failure: comparison between hepatectomy and liver devascularization in pigs. *Surgery* 1981,90:527-534.
44. Aguirre AM, Yoshimura N, Westman T, Fischer JE. Plasma amino acids in dogs with two experimental forms of liver damage. *J Surg Res* 1974; 16: 339-45.
45. Ferenci P, Puspok A, Steindl P. Current concepts in the pathophysiology of hepatic encephalopathy. *Eur J Clin Invest* 1992,22:573-581.
46. Egawa H, Morimoto T, Takeuchi T, Yamaoka Y, Ozawa K, Yamaguchi T, et al. Extent of ischaemia cause by hepatic vascular exclusion as evaluated in a canine model. *Clin Sci* 1992,82:335-338.
47. Kamiyama Y, Ozawa K. Metabolic correction of plasma amino-gram by pig or baboon liver cross-hemodialysis with an interposed membrane. *Nippon Geka Hokan* 1991,60:277-278.
48. Dunn DC. Orthotopic renal transplantation in the rabbit. *Transplantation* 1976,22:427-433.
49. Heron I. A technique for accessory cervical heart transplantation in rabbits and rats. *Acta Pathol Microbiol Scand(A)* 1971,79:366-372.
50. Limmer J, Calne RY. A simplified technique for orthotopic liver transplantation in the rat using a cuff technique for portal vein and infrahepatic vena cava anastomoses. *Eur Surg Res* 1981,13:236-242.
51. Lee S, Charter AC, Orloff MJ. Simplified technique for orthotopic liver transplantation in the rat. *Am J Pathol* 1975,130:38.
52. Billingham RE, and Silvers WK. Inbred animals and tissue transplantation immunity. *Transplant Bull* 1959,6:399-406.
53. Festing MFW, and Staats J. Standardized nomenclature for inbred strain of rats fourth listing. *Transplantation* 1973,16:221-245.
54. Kamada N, Calne RY. Orthotopic liver transplantation in the rat. Technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage. *Transplantation* 1979,28:47
55. Zimmerman FA, Butcher GW, Davies HS. Techniques for orthotopic liver transplantation in the rat and some studies of the immunologic response to fully allogenic liver grafts. *Transplant Proc* 1979,11:571.
56. Lee S, Charter AC, Chandler JG, Orloff MJ. A technique for orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* 1973; 16:664.
57. Lee S, Charter AC, Orloff MJ. Simplified technique for orthotopic liver transplantation in the rat. *Am J Surg* 1975, 103:38.
58. Lee S. Liver transplantation. In Lee S, ed *Experimental Microsurgery*. New York, Igaku Shoin, 1987, p 213
59. Kamada N, Calne RY. Orthotopic liver transplantation in the rat. Technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage. *Transplantation* 1979; 28:47-50
60. Zimmerman FA, Butcher GW, Davies HS. Techniques for orthotopic liver transplantation in the rat and some studies of the immunologic response to fully allogenic liver grafts. *Transplant Proc* 1979,11:571.
61. Tsuchimoto S, Kusumoto K, Nakajima Y. Orthotopic liver transplantation in the rat: A simplified technique using the cuff method for suprahepatic vena cava anastomosis. *Transplantation* 1988; 45:1153.
62. Kamada N, Calne RY. A surgical experience with 530 liver transplants in the rat. *Surgery* 1983; 93:64.
63. Qian SG, Fung JJ, Demetris AV, Ildstad ST, Starzl TE. Orthotopic liver transplantation in the mouse. *Transplantation* 1991; 52:562-4.
64. Tsuchimoto S, Matsuno Y. The effect of RT1 subregion differences on liver allografts survival in the rat. *Transplantation* 1985,40:218.
65. Zimmermann FA, Davies HFFS, Schmidt T. Orthotopic liver allografts in the rat: the influence of strain combination on the fate of the graft. *Transplantation* 1984,37:406
66. Yasunori H, Morito M., Valdivia LA, Kubota N, Nakano Y, Mori T. Immunological unresponsiveness to hepatic allograft in rat. *Transplantation* 1989,47:1043-1047.
67. Engemann R, Ulrichs K, Thiede A. Value of a physiological liver transplant model in rats. Induction of specific graft tolerance in a fully allogeneic strain combination. *Transplantation* 1982,33:566.
68. Kamada N, Brons G, Davies HS. Fully allogenic liver grafting in rats induces a state of systemic nonreactivity to donor transplantation antigens. *Transplantation* 1980,29:429.
69. Kamada N. The immunologic of experimental liver transplantation in the rat. *Immunology* 1985,55:369.
70. Kamada N, Davies H, Roser B. Reversal of transplantation immunity by liver grafting. *Nature* 1982; 292: 840.
71. Kamada N, Wight DG. Antigen-specific immunosuppression induced by liver transplantation in the rat. *Transplantation* 1984,38:217.
72. Starzl T E, Demetris A J, Trucco M, Murase N, Ricordi C, Ildstad S. Cell migration and Chimerism after whole-organ transplantation: The basis of graft acceptance. *Hepatology* 1993 17,6:1127-1152.
73. Starzl TE, Demetris AJ, Murase N, Ildstad S, Ricordi C, Trucco M. Cell migration, chimerism and graft acceptance. *Lancet* 1992,339:1579.
74. Meyer D, Baumgardt S, Loeffler S, Czub S, Otto C, Gassel H J. Apoptosis of T lymphocytes in liver and/or small bowel allografts during tolerance induction. *Transplantation* 1998,66:1530-1536.

75. Taniguchi H, Toyoshima T, Fukao K, Nakauchi H. Presence of hematopoietic stem cells in the adult liver. *Nat Med* 1996,2(2):198-203.
76. Thomson A W, Lu L, Are the dendritic cells the key to liver transplantation tolerance?. *Immunology today* 1999,20(1):27-32.
77. Lenschow D J, Walunas T L, Bluestone J A. The CD28/B7 system of T cell co stimulation. *Annu Rev Immunol* 1996,14:591-617.
78. Starzl T E, Zinkernagel R M. Antigen localitation and migration in immunity and tolerance. *N Engl J Med*.1998,339:1905-1913.
79. Devlin J, Thomson L, Wong T, Donaldson P, Portmann B, Williams R. Defining the outcome of immunosuppression withdrawal after liver transplantation. *Hepatology* 1998,27(4):926-933.
80. Schlitt H J, Hundrieser J, Ringe B, Pichlmayr R. Systemic microchimerism of donor-tipe associated with irreversible acute liver graft rejection eight years after transplantation. *N Engl J Med*.1994,330:646-647.
81. GonwaTA, Nery JR, Husberg BS, Klintmalm GB. Simultaneous liver and kidney transplantation in man. *Transplantation* 1988,46:690.
82. Flye MW, Duffy BE, Pheland DL. Protective effects of liver transplantation on a simultaneously transplanted kidney in a highly sensitized patient. *Transplantation* 1990,50:1051
83. Grant D, Wall W, Mimeault R. Successful small-bowel/liver transplantation. *Lancet* 1990,335:181.
84. Sumimoto R, Kamada N. Immunosuressive effect of soluble class I antigen and its complexes with monoclonal antibody on advanced heart graft rejection in rats. *Transplant Proc* 1991,23:86.
85. Sumimoto R, Kamada N. Evidence that soluble class I antigen in donor serum induces the suppression of heart allograft rejection in rats. *Immunol Lett* 1990,26:81.
86. Sumimoto R, Kamada N. Specific suppression of allograft rejection by soluble class I antigen and complexes with monoclonal antibody. *Transplantation* 1990,50:678.
87. Kamada N. Transfer of specific immunosuppression of graft rejection using lymph from tolerant, liver grafted rats. *Immunology* 1985; 55: 241
88. Kamada N, Davies HS, Wight D. Liver transplantation in the rat: Biochemical and histological evidence of complete tolerance induction in non-rejector strains. *Transplantation* 1983,35:304.
89. Quian S, Lu L, Fu F. Apoptosis within spontaneously accepted mouse liver allografts: evidence for deletion of cytotoxic T cells and implication for tolerance induction. *J Immunol* 1997,158:4654.
90. Sharland A, Shastry S, Wang C, Rokahr K, Sun J, Sheil AG, et al. Kinetics of intragraft cytokine expression, cellular infiltration, and cell death in rejection of renal allograft compared with acceptance of liver allografts in a rat model. *Transplantation* 1998; 65: 1370-7.
91. Fandrich F, Lin X, Zhu X, Klöppel G Parwaresch R, Kremer B. CD95L confers immune privilege to liver grafts wich are spontaneously accepted. *Transplantation* 1998,30:1057-1058.
92. Pan T L, Goto S, Lin Y C, Lord R, Chiang K C, Lai C Y. The Fas and Fas Ligand pathway in liver allograft tolerance. *Clin Exp Immunol* 1999,118:180-187.
93. Griffith T S, Brunner T, Fletcher S M, Green D R, Ferguson T A. Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science* 1995,270:1189-1192.
94. Petersen B, Groff J P, Greenberger J S, Michalopoulos. Hepatic oval cells express the hematopoietic stem cell marker Thy-1 in the rat. *Hepatology* 1998,27(2):433-445.
95. Engemann R, Ulrichs K, Thiede A. Value of a physiological liver transplant model in rats. Induction od specific graft tolerance in a fully allogeneic strain combination. *Transplantation* 1982; 33: 566.
96. Davies HS, Kamada N, Roser BJ. Liver allografts and the induction of donor-specific unresponsiveness. In Calne RY, ed. *Transplantation Immunology: Clinical and Experimental*. Oxford, Oxford University Press 1984, p 222
97. Kamada N, Brons G, Davies HS. Fully allogenic liver grafting in rats induces a state of systemic nonreactivity to donor transplantation antigen. *Transplantation* 1980,29:429.