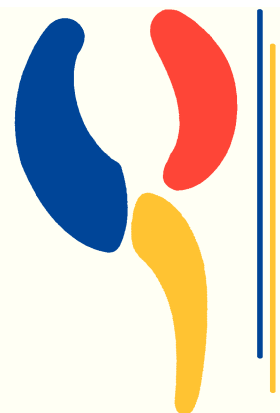


NEFROLOGIA



IMPORTANCIA CLÍNICA DE LA PROTECCIÓN INMUNOLÓGICA

Editores especiales

D. Serón, M. Crespo y J. M. Morales

- **Introducción: Importancia clínica de la agresión inmunológica del injerto después del trasplante renal** 1
J. M. Morales

- **1. Rechazo subclínico, una entidad de interés emergente** 3
D. Serón, F. O'Valle, F. Moreso y R. García del Moral

- **2. Rechazo agudo humoral o rechazo agudo mediado por anticuerpos anti-HLA post-trasplante renal** 15
M. Crespo, M. Solé, J. I. Aróstegui, M. Lozano, J. Martorell y F. Oppenheimer



Edición y Administración
GRUPO AULA MÉDICA, S.L.

Paseo del Pintor Rosales, 26
28008 Madrid
Tel.: 915 420 955. Fax: 915 595 172

Periodicidad

NEFROLOGÍA publica 6 números al año más el suplemento del Congreso de la Sociedad. Además publican a lo largo del año diferentes números extraordinarios de carácter monográfico

Suscripciones

GRUPO AULA MÉDICA, S.L.

Correo electrónico (Dpto. Suscripción)
suscripciones@grupoaulamedica.com

Internet

www.grupoaulamedica.com
www.libreriasaulamedica.com

Precios suscripción

La suscripción anual para la revista NEFROLOGÍA es 6 números más 1 suplemento al año:

- Profesional 88,20 €*
- Institución 129,25 €*

*Estos precios no incluyen IVA ni gastos de envío

Cambio de domicilio

Debe comunicarse a nuestro departamento de suscripciones.

Depósito Legal
M.10.667-1989

ISSN
0211-6995

La revista **Nefrología** está impresa en papel libre de ácido, norma ISO 9706

Publicación autorizada como soporte válido: 22/05-R-CM

www.grupoaulamedica.com

GRUPO AULA MÉDICA, S.L. - 2006



ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE EDITORIALES DE PUBLICACIONES PERIÓDICAS

Miembro de la:



FEDERACIÓN INTERNACIONAL DE LA PRENSA INTERNACIONAL

COMITÉ DE REDACCIÓN

Javier Arrieta
Aleix Cases
Francisco José Gómez Campderá
Francisco Maduell

Rafael Marín
Juan Navarro
Luis Pallardó
Francisco Rivera

COMITÉ EDITORIAL

J. M. Alcázar • P. Aljama • A. Alonso • J. Alsina • F. Álvarez Ude • F. Anaya • J. Aranzábal • M. D. Arenas • M. Arias • G. de Arriba • M. A. Bajo • P. Barceló • A. Barrientos • G. Barril • C. Bernis • F. J. Borrego • J. Bustamante • L. M. Callís • J. M. Campistol • J. Cannata • A. Caralps • F. Caravaca • C. Caramelo • D. del Castillo • A. Darnell • J. Díez • J. Egido • P. Errasti • C. de Felipe • E. Fernández Giráldez • M. A. Frutos • P. Gallar • N. Gallego • P. García Cosmes • F. García Martín • S. García de Vinuesa • M. A. Gentil • P. Gómez Fernández • M. T. González • M. González Molina • A. Gonzalo • J. L. Górriz • J. M. Griñó • J. A. Herrero • E. Huarte • D. Jarillo • L. A. Jiménez del Cerro • S. Lamas • I. Lampreabe • R. Lauzurica • X. M. Lens • F. Liaño • J. M. López Gómez • E. López de

Novales • J. M. López Novoa • V. Lorenzo • J. Lloveras • B. Maceira • J. F. Macías • R. Marcén • E. Martín Escobar • A. L. Martín de Francisco • A. Martín Malo • A. Martínez Castela • A. Mazuecos • B. Miranda • J. Montenegro • J. Mora • J. M. Morales • M. Navarro • A. Oliet • J. Olivares • L. M. Orte • F. Ortega • J. Ortuño • A. Palma • J. Pascual • R. Peces • V. Pérez Bañasco • M. Pérez Fontán • A. Pérez García • R. Pérez García • L. Piera • J. J. Plaza • M. Praga • C. Quereda • L. Revert • M. E. Rivera • J. L. Rodicio • A. Rodríguez Jornet • J. C. Rodríguez Pérez • D. Rodríguez Puyol • J. Rodríguez Soriano • D. Sánchez Guisande • R. Selgas • A. Serra • L. Sánchez Sicilia • J. M. Simón • J. M. Taberner • A. Tejedor • J. Teixidó • J. L. Teruel • A. Torres • F. A. Valdés • A. Vallo • A. Vigil

SECRETARÍA DE REDACCIÓN

Dr. Rafael Matesanz
Servicio de Nefrología
Hospital Ramón y Cajal
28034 Madrid



Sociedad Española de Nefrología



DIRECTOR Y REDACTOR JEFE

Rafael Matesanz

DIRECTORES HONORARIOS

Luis Hernando
David Kerr

NEFROLOGÍA se publicará habitualmente en castellano, con resumen amplio en inglés de todos los originales, además del resumen en castellano.

Para autores extranjeros existe la posibilidad de publicar en inglés, con su resumen correspondiente, y otro más amplio en castellano.

Aparecerán seis números ordinarios al año, más un número variable de suplementos dedicados a recoger los resúmenes de la reunión nacional de la SEN, temas monográficos u otros aspectos de interés, a juicio del Comité de Redacción. Cada número ordinario comprenderá: Editoriales: puesta al día resumida o asunto general de interés. Controversias en NEFROLOGÍA: opiniones contrapuestas de expertos sobre temas de actualidad. Originales: experimentales o clínicos, ocho a diez. Casos clínicos: no más de tres por número. Cartas al director: no más de 500 palabras. Crítica de libros: se analizarán aquellos que se reciban en la redacción de la revista. Anuncio de reuniones nacionales o internacionales y otras informaciones de interés.

Los sumarios de NEFROLOGÍA son reproducidos en *Current Contents-Clinical Practice*, *Current Advances in Biological Sciences* y en otras publicaciones del ISI; los resúmenes, en *Excerpta Medica*. Incluida en Index Medicus y Medline.

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NEFROLOGÍA

Villanueva, 11. 28001 MADRID

JUNTA DIRECTIVA

Presidente

Ángel Luis Martín de Francisco

Vicepresidente

Rafael Pérez García

Secretario

Roberto Alcázar

Tesorero

Joan Fort

Vocales

M.^a Antonia Álvarez de Lara
Alfonso Otero

Concepción Laviades
Emilio González Parra

Coordinador de Registro

Fernando García López

Coordinador de Investigación

Armando Torres (clínica)
Mariano Rodríguez Portillo (básica)

Director de la Revista Nefrología

Rafael Matesanz

Correo electrónico: senefro@senefro.org

Internet SEN: <http://www.senefro.org>

Internet NEFROLOGÍA:

<http://www.aulamedicamultimedia.com/sen/revista>



Sociedad
Española de
Nefrología

Publicación Oficial de la Sociedad Española de Nefrología



SUMARIO

IMPORTANCIA CLÍNICA DE LA PROTECCIÓN INMUNOLÓGICA

Editores especiales

D. Serón, M. Crespo y J. M. Morales

- 1 • **Introducción: Importancia clínica de la agresión inmunológica del injerto después del trasplante renal**
J. M. Morales

- 3 • **Rechazo subclínico, una entidad de interés emergente**
D. Serón, F. O'Valle, F. Moreso y R. García del Moral

- 15 • **Rechazo agudo humoral o rechazo agudo mediado por anticuerpos anti-HLA post-trasplante renal**
M. Crespo, M. Solé, J. I. Aróstegui, M. Lozano, J. Martorell y F. Oppenheimer





CONTENTS

CLINICAL IMPORTANCE OF IMMUNOLOGICAL PROTECTION

Special publishers

D. Serón, M. Crespo and J. M. Morales

- 1 • **Introduction: Clinical relevance of graft-induced immunological injury after renal transplantation**
J. M. Morales

- 3 • **Subclinical rejection, a condition of an emergent interest**
D. Serón, F. O'Valle, F. Moreso and R. García del Moral

- 15 • **Post-renal transplantataion humoral acute rejection or anti-HLA antibodies-mediated acute rejection**
*M. Crespo, M. Solé, J. I. Aróstegui, M. Lozano,
J. Martorell and F. Oppenheimer*





NORMAS

SÓLO SE ACEPTAN ESCRITOS
PARA NEFROLOGÍA A TRAVÉS
DE INTERNET



Sociedad
Española de
Nefrología

NEFROLOGIA es la publicación oficial de la **Sociedad Española de Nefrología**. Publica al año 6 números ordinarios y una serie de monográficos sobre temas de actualidad, siempre a juicio del Comité de Redacción. Uno de estos monográficos estará dedicado a publicar los resúmenes enviados al Congreso anual de la **SEN**.

CONTENIDOS

La revista **NEFROLOGIA** publicará de manera habitual los siguientes contenidos:

- Editoriales
- Comentarios editoriales
- Formación continuada/Revisiones
- Registros/Estadísticas
- Foros
- Originales
- Casos Clínicos
- Cartas al Editor
- Resúmenes de Congresos
- Recensiones bibliográficas
- Cualquier otro formato que a juicio del Comité de Redacción resulte de interés para los lectores de **NEFROLOGIA**

El envío de un trabajo a la revista implica que es original, no ha sido publicado, excepto en forma de resumen, y enviado únicamente a **NEFROLOGIA**. También que, de ser aceptado, queda en propiedad de la revista y, por tanto, su publicación total o parcial deberá ser autorizada por el Director de la misma. Antes de ser publicado cualquier trabajo deberá ser informado positivamente por al menos dos expertos en el asunto tratado. El Comité de Redacción se reserva el derecho de introducir modificaciones de estilo y/o acortar los textos que lo precisen, comprometiéndose a respetar el contenido del original.

MANUSCRITOS ENVIADOS A LA REVISTA

Trabajos originales:

- a) Texto redactado **en español** (castellano), con un resumen en el mismo idioma y otro mas amplio (hasta 400 palabras) en inglés encabezado por la traducción del título en este idioma. **Para los autores no hispano-parlantes** cabe la posibilidad de enviarlo en inglés con un resumen amplio (no más de 400 palabras) en español. No se admitirán trabajos en ningún otro idioma. **En ningún caso, el texto deberá tener una extensión superior a 5.000 palabras.**
- b) La presentación del trabajo se hará de la forma siguiente:

1. **Título completo** del trabajo y un **título corto** para encabezar la pagina (no más de 50 letras, incluidos espacios).
2. **Inicial y primer apellido de los autores.** Solo en el caso de que el primer apellido sea muy frecuente se utilizara también el segundo.
3. **Servicio y centro donde se ha realizado el trabajo.** En el caso de ser varios los servicios, identificar los autores pertenecientes a cada uno con asteriscos.
4. **Persona (nombre completo) y señas a quien debe ser enviada la correspondencia, con su dirección de Correo Electrónico.** Estas señas serán las que figuraran al pie de la primera página del trabajo impreso, en caso de publicación.
5. **Declaración de los autores**

Los autores firmantes, al enviar un trabajo a **NEFROLOGIA** asumen la siguiente declaración:

- 1) Haber participado en el diseño, realización o análisis e interpretación de los resultados del trabajo
- 2) Haber participado en la redacción del mismo o en la revisión de su contenido intelectual.
- 3) Aprobar la forma final del trabajo que se adjunta a esta declaración.
- 4) Aprobar su envío para publicación en **NEFROLOGIA**.
- 5) Que las fuentes de financiación están expresamente declaradas en el trabajo (sobre todo aquellas que pudieran plantear un conflicto de intereses).
- 6) Que las personas que se citan en los agradecimientos han dado su aprobación para ello.
- 7) Que el artículo no ha sido publicado en ninguna otra revista ni enviado para publicación simultáneamente.
- 8) Que se cede a **NEFROLOGIA** la propiedad intelectual del trabajo, así como el derecho a permitir la reproducción de datos o ilustraciones en otras publicaciones.
- 9) Se entiende que cada uno de los firmantes se responsabiliza del contenido del texto.



NORMAS

6. Hoja de Resúmenes

Resumen español: Hasta **300 palabras**. Deberá ser comprensible por sí mismo, sin ninguna referencia al texto, citas bibliográficas ni abreviaturas. Al final del resumen se añadirá hasta un máximo de **seis palabras clave**.

Resumen en inglés con título completo; deberá ser más explicativo, no más de **400 palabras**; podrá hacer referencia a tablas o figuras. **Incluirá hasta un máximo de seis palabras clave en inglés.**

7. Texto

Constará de los siguientes apartados:

- 1) **Introducción.**
- 2) **Material y métodos.**
- 3) **Resultados.**
- 4) **Discusión.**
- 5) **Bibliografía.** Se utilizarán las normas del estilo **Vancouver**.
- 6) **Pies de figuras:** Vendrán en página independiente, según el orden en que son mencionadas en el texto. Serán breves y muy precisos, ordenando al final por orden alfabético las abreviaturas empleadas con su correspondiente definición.
- 7) **Tablas:** Se enumerarán por cifras romanas, según el orden de aparición del texto. Llevarán un título informativo en la parte superior y las abreviaturas empleadas con su correspondiente definición en la inferior. Ambas como parte integrante de la tabla.
- 8) **Figuras:** **En formato Power Point o JPEG.** No más de 5 salvo en situaciones excepcionales aprobadas por el Comité de Redacción.

CASOS CLÍNICOS

Las mismas normas que para los originales en cuanto a hoja frontal, resúmenes, introducción, exposición del caso y bibliografía. Tendrán una **extensión máxima de 1.500 palabras con un máximo de 3 tablas o figuras.**

CARTAS AL EDITOR

Extensión máxima de 500 palabras y no más de una tabla o figura. El número de firmantes no será mayor de cuatro.

EDITORIALES

No tendrán más de **2.500 palabras**. Habitualmente no llevarán tablas ni figuras. Será potestad del Comité de Redacción valorar su publicación o no de acuerdo a la línea editorial de NEFROLOGIA.

COMENTARIOS EDITORIALES

No más de **1.000 palabras**. Se harán a petición del Comité de Redacción.

FORMACION CONTINUADA/REVISIONES

No más de 6.000 palabras. Elaboradas por encargo del Director de NEFROLOGIA, o bien a iniciativa de los autores. En este caso será potestad del Comité de Redacción valorar su publicación o no de acuerdo a la línea editorial de NEFROLOGIA.

Nefrología no admite escritos recibidos vía correo postal ordinario. El método de envío es exclusivamente por Internet en www.revistanefrologia.com.

Se enviarán pruebas de imprenta al primer autor si no hubiera indicación sobre a quién debe remitirse la correspondencia. Solo se admitirán correcciones de errores tipográficos. Las galeras corregidas deberán ser devueltas a la dirección que se indique en un plazo máximo de dos días después de recibidas. De no recibirse en el plazo fijado se considerarán aceptadas.

NÚMEROS MONOGRAFICOS

Se elaboraran siempre **tras la oportuna valoración del Editor de NEFROLOGIA, quien determinará su extensión, características y fuentes de financiación.** Habitualmente versarán sobre un único tema específico de interés en el campo de la especialidad. La preparación del número monográfico será efectuada por **uno o varios editores especiales** en quien delegará el Director de la Revista y que serán los responsables de todo el proceso.

PROCEDIMIENTO DE ENVÍO POR VÍA ELECTRÓNICA

▶▶▶ Ver página siguiente





MANUAL DE ACCESO AL ENVÍO DE ARTÍCULOS PARA SU PUBLICACIÓN EN LA REVISTA NEFROLOGÍA.

Por medio de esta aplicación podrá consultar todos los contenidos publicados y realizar el envío de sus trabajos para su publicación en Revista Nefrología, Publicación Oficial de la Sociedad Española de Nefrología.

Revista Nefrología está disponible en www.revistanefrologia.com. Al entrar puede consultar los contenidos del próximo número, el último número publicado o bien consultar el historial ordenado por Años/ Números. Así mismo puede realizar búsquedas para localizar artículos concretos.

Los artículos están disponibles en formato PDF para leer y visualizar de manera idéntica a su publicación los artículos y en formato Html que le permite visualizar el artículo desde cualquier navegador sin necesidad de tener instalado un lector de archivos PDF.

Dispone de un buscador simple, pero potente, que buscará la/s palabra/s que usted introduzca en todas las partes de un artículo, incluido en cuerpo. Se ofrece asimismo un buscador más completo y con mayores opciones de búsqueda y ordenación, en el cual podrá afinar sus búsquedas si conoce datos concretos. Todas estas opciones, disponibles en el menú principal situado a la izquierda de la página web, le permitirán consultar los amplios contenidos de Revista Nefrología.

ENVÍO DE ORIGINALES

Para realizar el envío de un original para su publicación en Revista Nefrología debe estar registrado en la página Web previamente. Si es un nuevo usuario puede registrarse en la sección "Nuevo usuario". Rellene sus datos y acepte. Recibirá un mail confirmándole su registro en el buzón de correo que nos ha especificado.

Al validarse con el mail y contraseña accederá a su zona privada. En esta parte de la Web usted puede ver sus originales, revisiones (en caso de que sea revisor), sus datos, etc... las secciones son las siguientes:

Mis revisiones: Esta sección solo está disponible para usuarios calificados como revisores. Un revisor puede realizar dos acciones en esta sección con un original que le hayan asignado:

- **Aceptar tarea:** Indica al Comité Editorial (en adelante editor) que acepta la tarea de revisar el artículo o bien que la rechaza por algún motivo. Esto facilita al editor la asignación de un nuevo revisor para el artículo y acelerar los trámites para la publicación de un original. Esta opción también puede realizarse directamente en el mail que se le envía al revisor al asignarle un original.
- **Valorar:** Con esta opción el revisor valora el original y realiza un comentario sobre su valoración que será de utilidad para el editor a la hora de tomar una decisión.

La lista de originales asignados pueden filtrarse, para su mejor gestión por la tarea (si ha sido aceptada, rechazada o las que tiene pendientes), el estado o las valoraciones.

Mis artículos: En esta sección están los artículos que tiene el usuario en el sistema. Un artículo puede estar en el sistema pero no haber sido enviado a valorar. Esto permite al usuario redactar un artículo online y en varias sesiones. El autor podrá ver exactamente como los revisores y el editor visualizarán el documento. Una vez terminada la redacción de un original puede ser enviado a valorar con un solo "click".

Las operaciones que se pueden realizar en esta sección son las siguientes:

- **Nuevo:** permite crear artículos. Debe rellenar las secciones solicitadas. Como comprobará existe un editor de textos que le permitirá redactar su documento. En el caso (más común) en que ya lo tenga redactado puede realizar la acción de copiar/pegar sobre el editor de textos si se ha realizado el documento con Microsoft Word.
¡Atención! En el caso que use copiar/pegar debe usar el botón "Pegar desde Word". Esto mantendrá el formato original del documento y pintará las tablas y otros caracteres no Standard. Cuando tenga todo redactado puede optar por guardar el documento o guardarlo y enviarlo a valoración.
- **Editar:** puede editar un artículo guardado con anterioridad. Los artículos enviados a valorar no es posible su edición.
- **Borrar:** Siempre que un artículo no haya sido enviado a valorar.
- **Corregir:** Corrige un artículo que ha sido valorado por el editor como "Corregir". El artículo será aceptado para publicación tras realizar algunas modificaciones. Al marcar un artículo calificado como "Corregir" y pulsar esta opción visualizará los motivos de rechazo que le indica el editor. Pulsando sobre el botón "Corregir" que se encuentra en esa página el sistema generará un nuevo artículo con todos los datos del anterior, adjuntará tablas, pegará el cuerpo del texto, etc...(de esta forma no tendrá que volver a redactarlo) y podrá realizar las correcciones oportunas para que sea aceptado.
- **Ver:** Visualiza un documento.
- **Enviar a revisión:** Envía un documento para valoración por el Comité Editorial.

Mis versiones: Solo podrá acceder a esta sección si el documento seleccionado tiene versiones. Un mismo artículo puede tener varias versiones. Cada vez que modifique un original y guarde se guardará una nueva versión, pudiendo volver a una anterior en caso de que lo necesite. Cuando un artículo es enviado a revisión se envía la última versión disponible. Las versiones se pueden visualizar, editar o borrar.

Datos del usuario: En esta sección podrá modificar los datos personales que facilita a Revista Nefrologia.

Comentarios al editor: Una manera rápida de contactar con el editor para solventar alguna duda o realizar sugerencias.

Para cualquier problema, duda o sugerencia puede contactar con el personal de apoyo en info@revistanefrologia.com y se pondrán en contacto con usted lo antes posible.



INTRODUCCIÓN

Importancia clínica de la agresión inmunológica del injerto después del trasplante renal

J. M. Morales

Unidad de Trasplante Renal. Servicio de Nefrología. Hospital 12 de Octubre. Madrid.

En los últimos años, se han producido importantes mejoras en el ámbito del trasplante renal, como consecuencia de la progresión en las técnicas quirúrgicas y en la inmunosupresión. La supervivencia del injerto a corto plazo ha mejorado, pero la supervivencia de los injertos renales a largo plazo sigue siendo limitada y sólo discretamente mejor que la obtenida hace pocos años¹, lo que se hace especialmente evidente cuando sólo se consideran los injertos que han superado el primer año del trasplante². Aún así, los resultados obtenidos a día de hoy no dejan de ser esperanzadores, si tenemos en cuenta los cambios en las características demográficas e inmunológicas que, de manera paralela, se han producido en nuestra población trasplantada.

La supervivencia de los injertos renales se ve limitada a largo plazo por la muerte del paciente con injerto funcionante y por el desarrollo de una entidad clínico-patológica de origen multifactorial: la nefropatía crónica del injerto (NCI)³. El desarrollo de esta entidad, desde un punto de vista patológico, es prácticamente universal. En el mayor estudio publicado hasta el momento con biopsias renales de protocolo hasta diez años después del trasplante en una población portadora de un injerto simultáneo de páncreas y riñón, se objetivó cómo esta entidad estaba presente al menos en grado leve en casi el 100% de los pacientes poco después del trasplante⁴.

Desde el punto de vista histopatológico, la NCI es un cuadro caracterizado por la presencia de fibrosis intersticial, atrofia tubular y esclerosis glomerular, todo ello acompañado de cambios vasculares. La aparición de estas lesiones sigue una cronología. De este modo, en fases iniciales aparece el daño túbulo-intersticial, seguido posteriormente de cambios microvasculares y glomerulares, con fibrosis y atrofia progresivas⁴. En la patogenia de la NCI, se han implicado dos grupos de factores, los inmunológicos o aloantígeno-dependien-

tes y los no inmunológicos o aloantígeno-independientes. En términos generales, se considera que el primero de los grupos es fundamental en la génesis de la NCI, mientras que gran parte de los segundos parecen estar más implicados en favorecer su progresión. Los factores inmunológicos implicados en el desarrollo de la NCI representan una agresión inmunológica al injerto en sus diferentes modalidades clínicas. Bajo ese epígrafe se incluyen el rechazo agudo, celular y/o humoral, el número de rechazos, la presencia de anticuerpos anti-HLA, el desarrollo postrasplante de anticuerpos específicos contra el donante, el grado de compatibilidad HLA, el retrasplante y el abandono del tratamiento inmunosupresor, es decir, el incumplimiento terapéutico.

Los factores no inmunológicos incluyen un abigarrado número de factores tales como las lesiones preexistentes en base a las características del donante, la lesión por isquemia-reperusión inherente al proceso de la donación y el trasplante, el impacto vascular de determinados factores de riesgo cardiovascular después del trasplante y la nefrotoxicidad inducida por la utilización crónica de inhibidores de la calcineurina, terapia prácticamente utilizada de manera universal en el trasplante renal.

El advenimiento de los nuevos fármacos inmunosupresores ha reducido la tasa de rechazo agudo hasta cotas prácticamente inimaginables hasta hace pocos años. De este modo, si en la época de la azatioprina aproximadamente un 80% de pacientes experimentaba al menos un episodio de rechazo agudo, esta tasa disminuyó hasta el 40-45% con la aparición de ciclosporina. Posteriormente, las tasas de rechazo agudo han ido reduciéndose aún más, hasta 10-14%, con la aparición de tacrolimus y de fármacos con una potente actividad antiproliferativa, como el ácido micofenólico y los inhibidores de la mTOR. Esta mejoría progresiva en las tasas de rechazo agudo después del trasplante renal nos ha llevado a asumir como superado el componente inmunológico de la NCI. De hecho, en los últimos años, los esfuerzos se han dirigido hacia la modulación de los componentes no inmunológicos potencialmente modificables implicados en la génesis de la NCI, como la nefrotoxicidad crónica inducida por los inhibidores de

Correspondencia: Dr. José María Morales Cerdán
 Consulta de Trasplante Renal. Servicio de Nefrología
 Hospital 12 de Octubre
 Carretera de Andalucía, km. 5,400 - 28041 Madrid
 E-mail: jmorales@h12o.es

la calcineurina. Sin embargo, en base a los datos disponibles a día de hoy, cabe preguntarse si realmente el componente inmunológico de la NCI está realmente superado y si la implantación de nuevas combinaciones inmunosupresoras *de novo* o la modulación de la inmunosupresión en fase de mantenimiento garantiza una cobertura adecuada del injerto desde el punto de vista inmunológico.

Por un lado, las tasas de rechazo agudo anteriormente mencionadas y relacionadas con los resultados descritos en los ensayos clínicos más representativos de la literatura, hacen específicamente referencia al rechazo agudo clínicamente sospechado y confirmado por biopsia. Por tanto, estas tasas distan de representar la realidad de los insultos que, desde el punto de vista inmunológico, afectan al injerto. Aún más, hoy en día sabemos que la vigilancia histopatológica de los injertos renales mediante biopsia de protocolo puede poner de manifiesto lesiones inflamatorias sin repercusión clínica inmediata que se traducen en lesiones de cronicidad con el tiempo⁵. La modulación de la terapia inmunosupresora en este sentido, con el objeto de controlar el componente inflamatorio podría mejorar las perspectivas de futuro de los injertos renales. Por otro lado, en los últimos años hemos aprendido a reconocer el rechazo agudo humoral quizás responsable de pérdidas de injertos no factibles de controlar sin un diagnóstico y un abordaje terapéutico adecuados y se comienza a conocer la importancia de la inmunidad humoral en la génesis de la NCI y de la pérdida de injertos renales.

En este contexto, la actuación sobre otros factores potencialmente modificables que contribuyen a la génesis de la NCI no debe subestimar la importancia clínica de garantizar la cobertura inmunológica del injerto renal. En este sentido, las estrategias inmunosupresoras centradas en evitar, reducir o eliminar la exposición a distintos agentes inmunosupresores con el objetivo de reducir la tasa de efectos adversos a largo plazo, deberían vigilar pormenorizadamente el control de estos factores inmunológicos. De hecho, la no utilización de inhibidores de la calcineurina mediante la combinación de un anticuerpo anti-CD25, esteroides, sirolimus con exposición reducida y MMF, es decir, una pauta no nefrotóxica, no demostró superioridad, sino inferioridad en cuanto a función renal y pérdida del injerto, frente a una terapia basada en la combinación de tacrolimus con exposición reducida y MMF, en asociación con esteroides e inducción con daclizumab⁶. Curiosamente, la tasa de rechazo agudo fue significativamente superior con la primera de las terapias, poniéndose en evidencia de manera indirecta que la protección frente al rechazo agudo tenía una importancia crucial frente a la nefrotoxicidad, no sólo a largo plazo, sino a corto plazo, en cuanto a la consecución de una función renal y una supervivencia del injerto adecuadas.

Por último, la modulación de las terapias inmunosupresoras debe tener en consideración el perfil de los pacientes en lista de espera para recibir un trasplante renal. Aproximadamente un 10% de los pacientes en lista de espera para recibir un trasplante renal en España es hiperinmunizado, definiéndose como tal el paciente con una tasa de PRA > 75%⁷. Por otro lado, los pacientes en espera por un segundo o tercer trasplante y los pacientes que van a recibir un injerto combinado de riesgo inmunológico mayor, como los pacientes en espera por un trasplante de páncreas y riñón constituyen un grupo de pacientes en los que la cobertura del injerto frente al daño inmunológico es prioritario.

Por tanto, de haber considerado superada la agresión inmunológica del injerto, hemos pasado a subrayar la importancia adecuada de su correcto control, sobre todo en una época en el que el paciente de alto riesgo inmunológico sigue constituyendo un reto de frecuencia no despreciable en la práctica habitual.

Por todo ello, en la presente monografía, nos vamos a centrar de manera pormenorizada en dos aspectos de la agresión inmunológica al injerto, en concreto, en dos tipos específicos de rechazo agudo, seleccionados en base a su relativamente reciente conocimiento, bien en cuanto a su relevancia pronóstica, bien en cuanto a su adecuado reconocimiento y abordaje terapéutico: el rechazo agudo subclínico y el rechazo agudo de génesis humoral. La experiencia y la competencia de los autores hará fácil la comprensión de estos dos problemas y nos hará disfrutar de su lectura.

BIBLIOGRAFÍA

1. Meier-Kriesche HU, Schold JD, Kaplan B: Long-term renal allograft survival: Have we made significant progress or is it time to rethink our analytic and therapeutic strategies? *Am J Transplant* 2004; 4: 1289-1295.
2. Meier-Kriesche HU, Schold JD, Kaplan B: Preservation of Long-term Renal Allograft Survival: A Challenge for the Years to Come. *Am J Transplant* 2005; 5 (3): 632-633.
3. Serón D, Arias M, Campistol JM, Morales JM: Allograft Nephropathy Study Group. Late renal allograft failure between 1990-1998 in Spain: a changing scenario. *Transplantation* 2003; 76: 1588-1594.
4. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR: The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003; 349 (24): 294-299.
5. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR: Natural history, risk factors, and impact of subclinical rejection in kidney transplantation. *Transplantation* 2004; 78 (2): 242-249.
6. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A y cols.: Symphony comparing standard immunosuppression to low-dose cyclosporine, tacrolimus or sirolimus in combination with mmf, daclizumab and corticosteroids in renal transplantation. WTC2006-The World Transplant Congress, 22-27 July 2006, Boston, USA-Web Site (2006), p. 83, Abstr. 49.
7. www.ont.msc.es (acceso Octubre 2006).



ORIGINALES

Rechazo subclínico, una entidad de interés emergente

D. Serón¹, F. O'Valle², F. Moreso¹ y R. García del Moral²

¹Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Bellvitge. L'Hospitalet. Barcelona.

²Servicio de Anatomía Patológica. Universidad de Granada. Granada.

INTRODUCCIÓN

Las biopsias de protocolo realizadas en injertos renales con función estable han permitido caracterizar la evolución de las lesiones histológicas agudas y crónicas del aloinjerto. El rechazo subclínico se define como la presencia de lesiones de rechazo agudo en pacientes con función renal estable. Hasta la introducción de los criterios estandarizados para el diagnóstico de rechazo agudo definidos en las distintas reuniones de Banff¹, la caracterización del rechazo subclínico fue compleja, al no disponer de una definición histopatológica consensuada. En la figura 1 se muestra un ejemplo de los distintos grados de rechazo agudo que se pueden observar en biopsias de protocolo.

Los estudios realizados mediante biopsias de protocolo seriadas han permitido observar que la prevalencia de rechazo subclínico es máxima justo después del trasplante para disminuir durante los primeros meses siguiendo una curva exponencial. A partir del año de seguimiento, la prevalencia de rechazo subclínico tiende a estabilizarse. En la figura 2 se muestra la prevalencia de rechazo subclínico a lo largo del seguimiento reportada por distintos grupos. El interés creciente por esta entidad se basa en la existencia de una relación temporal entre la aparición precoz de rechazo subclínico y el posterior desarrollo de nefropatía crónica del trasplante.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La primera descripción de la presencia de hallazgos histológicos de rechazo agudo en injertos con función estable data de principios de la década de los

70². En la década de los 80, Matas y cols., realizaron biopsia de protocolo en el momento del alta a 50 pacientes tratados con suero antilinfocitario, azatioprina y esteroides³. En este estudio observaron que el 24% de los casos mostraba un infiltrado túbulo-intersticial entre ligero y moderado, mientras un 10% de los casos mostraba signos de necrosis tubular aguda. Aunque los pacientes con biopsia normal presentaban mejor función renal en el momento de la biopsia, el grupo con signos de rechazo presentaba una creatinina inferior a 200 $\mu\text{mol/L}$. En su estudio concluyeron que la biopsia no es útil para predecir la ulterior aparición de episodios de rechazo agudo, ni la supervivencia del injerto a medio plazo.

Posteriormente, Burdick y cols., estudiaron un pequeño grupo de biopsias realizadas en injertos estables y las compararon con biopsias de rechazo agudo y necrosis tubular⁴. Mostraron que en casi todas las biopsias estables existe un infiltrado intersticial, aunque éste es menos grave que en los injertos con rechazo agudo. Uno de los hallazgos más remarcables es que la presencia de cambios de arteritis intimal permite diferenciar claramente entre injertos con rechazo agudo e injertos estables. Finalmente, no observaron diferencias al estudiar la expresión fenotípica (porcentaje de células CD3, CD4 y CD8 positivas) del infiltrado inflamatorio en las distintas situaciones clínicas evaluadas.

Por otra parte, Isoniemi y cols., reportaron los hallazgos histológicos en biopsias realizadas a los 2 años del trasplante en un grupo de 128 pacientes⁵. En este estudio destacaron la presencia de lesiones crónicas acompañadas de un infiltrado intersticial hasta en el 30% de los casos, mientras que la presencia de tubulitis o arteritis intimal era mínima.

PREVALENCIA DE RECHAZO SUBCLÍNICO

La prevalencia de rechazo subclínico varía entre hospitales y esta heterogeneidad depende en parte de la variabilidad entre observadores^{6,7}. En este sentido, cabe

Correspondencia: Dr. D. Serón
Servicio de Nefrología
Hospital Universitario de Bellvitge. L'Hospitalet
c/ Feixa Llarga, s/n
08907 Hospitalet de Llobregat. Barcelona
E-mail: 17664dsm@comb.es

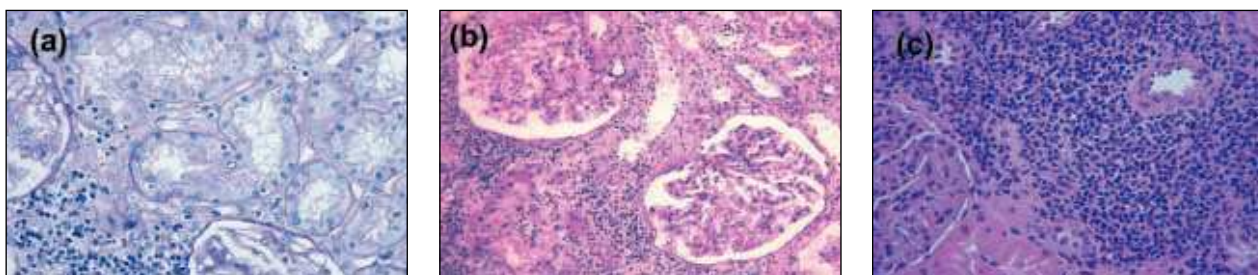


Fig. 1.—Rechazo agudo subclínico en biopsias de protocolo realizadas a los 4 meses; a) cambios «borderline» o límite; b) rechazo agudo Ia, y c) rechazo agudo Ib (x 200).

destacar que el propio grupo de Banff modificó en la conferencia de 1997 la definición de rechazo agudo grado I y II al comprobar que la definición propuesta por Colvin y cols.⁸ permitía mejorar la reproducibilidad en la valoración del grado histológico de rechazo agudo. Además, existen mecanismos biológicos que explicarían en parte esta variabilidad, como pueden ser las diferencias entre tratamientos inmunosupresores o la heterogeneidad de las poblaciones estudiadas.

En la literatura sólo existe un trabajo dirigido específicamente a valorar la reproducibilidad del diagnóstico de rechazo subclínico⁹. En este estudio se muestra una aceptable reproducibilidad para el diagnóstico de rechazo agudo (índice kappa entre 0,47 y 0,72), mientras que la reproducibilidad del diagnóstico de cambios «borderline» es más baja (índice kappa inferior a 0,4).

En la tabla I se resume la prevalencia de rechazo subclínico en distintos centros¹⁰⁻¹⁷. De los datos reportados hasta la actualidad, se desprende que la presencia de rechazo agudo durante los 3 primeros meses post-trasplante es muy elevada alcanzando entre un tercio y los dos tercios de los pacientes. Respecto al tipo de rechazo, en unos 2/3 de los casos se observan cambios «borderline» y en 1/3 se observa rechazo agudo grado I. La presencia de rechazo vascular (grado II) es excepcional en los injertos con función estable y existe poca información acerca de la prevalencia de rechazo humoral subclínico. En la figura 3 se muestra una biopsia obtenida de un injerto con función estable con mínimos depósitos de C4d en los capilares peritubulares. También se muestra el control positivo y el control negativo. De todas formas, en un estudio multicéntrico que incluía más de 500 biopsias de protocolo, no se pudo demostrar una asociación entre la presencia de depósitos de C4d en biopsias de protocolo y la evolución posterior del injerto¹⁸.

En la figura 4 se resume la secuencia temporal de las lesiones agudas y crónicas evaluadas mediante una biopsia del donante y dos biopsias de protocolo, una obtenida a los 4 meses y la otra a los 12 meses. Además, en los estudios realizados con anticuerpos monoclonales, se ha observado que la gravedad de la

lesión inflamatoria, así como la composición de los infiltrados inflamatorios, es similar en los pacientes con rechazo clínico que en los pacientes con rechazo subclínico, tal como se muestra en la figura 5.

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS AL RECHAZO SUBCLÍNICO

El rechazo subclínico se asocia tanto a variables del donante como del receptor (tabla II).

Variables del donante

La mayor parte de trabajos disponibles en la literatura se han realizado con trasplantes procedentes de donante cadáver, por lo cual la información con trasplante renal procedente de donante vivo es menor. Para comparar las diferencias según el tipo de donante nos es útil una de las primeras descripciones que valoró una serie de 10 trasplantes procedentes de donante vivo HLA-idéntico y 31 trasplantes procedentes de donante cadáver. En este trabajo se observó que la preva-

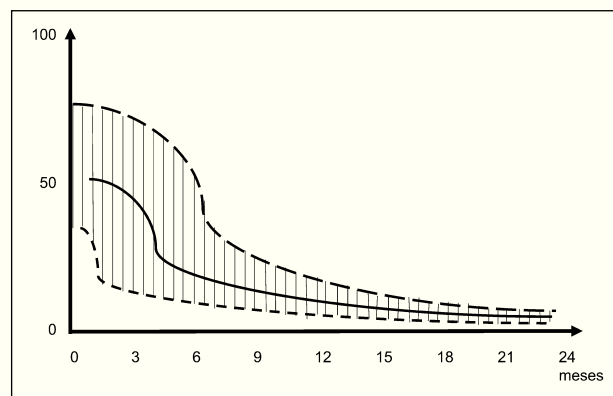


Fig. 2.—Prevalencia variable de rechazo subclínico teniendo en cuenta distintas series. La prevalencia es máxima en el post-trasplante inmediato para disminuir progresivamente de acuerdo con un modelo exponencial.

Tabla I. Prevalencia de los distintos grados de rechazo subclínico reportadas por distintos centros

Autor	Tiempo	N	No rechazo agudo	Cambios borderline	Rechazo agudo grado I	Rechazo agudo grado II
Rush ¹⁰	1 mes	25	32%	44%	24%	0%
	2 meses	25	12%	36%	52%	0%
	3 meses	25	44%	28%	28%	0%
	6 meses	25	64%	8%	28%	0%
	12 meses	25	68%	20%	12%	0%
Serón ¹¹	3 meses	98	61%	35%	4%	0%
Legendre ¹²	3 meses	31	25%	57%	18%	0%
	12 meses	31	52%	35%	13%	0%
Serón ¹³	3 meses	282	66%	30%	3%	1%
Nankivell ¹⁴	3 meses	112	21%	49%	25%	5%
	12 meses	112	85%	15%	0%	0%
Serón ¹⁵	3 meses	155	67%	28%	5%	0%
	12 meses	155	76%	23%	1%	0%
Roberts ¹⁶	7 días	76	75%	12%	13%	0%
	28 días	79	76%	16%	8%	0%
Choi ¹⁷	14 días	304	49%	38%	13%	0%

lencia de rechazo subclínico a los 3 y 12 meses era muy inferior en los receptores de un injerto de donante vivo¹². Una de las experiencias más amplias es la reportada por Choi y cols.¹⁷ que muestra en una serie de 304 biopsias de protocolo (195 de donante vivo emparentado y 109 de donante vivo no emparentado) una baja prevalencia de rechazo subclínico, siendo ésta menor en los receptores de un trasplante procedente de un donante vivo emparentado que de no emparentado (10% vs 19%). Por otra parte, en una serie japonesa con un número inferior de biopsias (127 casos) no se pudo demostrar una diferencia significativa en la in-

Tabla II. Variables clínicas asociadas a rechazo subclínico

Factores del donante
Donante cadavérico vs vivo
Donante vivo no emparentado vs emparentado
Donante fallecido por accidente cerebro-vascular vs traumatismo
Factores del receptor
Factores genéticos (polimorfismos)
Sensibilización frente al panel
Retrasplante
Incompatibilidad en el sistema HLA
Factores del trasplante
Tratamiento inmunosupresor
Rechazo agudo previo a la biopsia

cidencia de rechazo subclínico entre el donante vivo y el cadavérico¹⁹.

Finalmente, el grupo de Sydney ha reportado una mayor incidencia de rechazo subclínico en los pacientes trasplantados con un injerto procedente de donante cadáver fallecido por accidente cerebro-vascular que en los fallecidos por traumatismo craneo-encefálico²⁰.

Hasta la actualidad, no se ha podido relacionar el rechazo subclínico con otros factores del donante, como la edad y el género.

Variables del receptor

Dado que tanto la compatibilidad HLA, el re-trasplante y el grado de sensibilización, evaluado mediante el porcentaje de anticuerpos frente al panel (PRA), se han relacionado con la aparición de rechazo agudo clínico, distintos grupos han valorado la asociación entre estas variables y el rechazo subclínico.

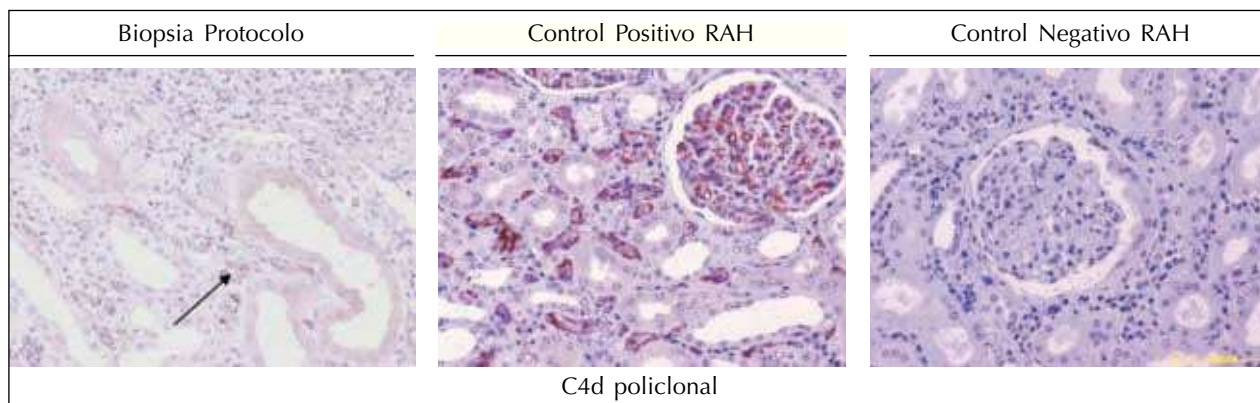


Fig. 3. — Mínimos depósitos de C4d en los capilares peritubulares de una biopsia de protocolo obtenida en un paciente con función renal estable a los 4 meses de evolución (x 200).

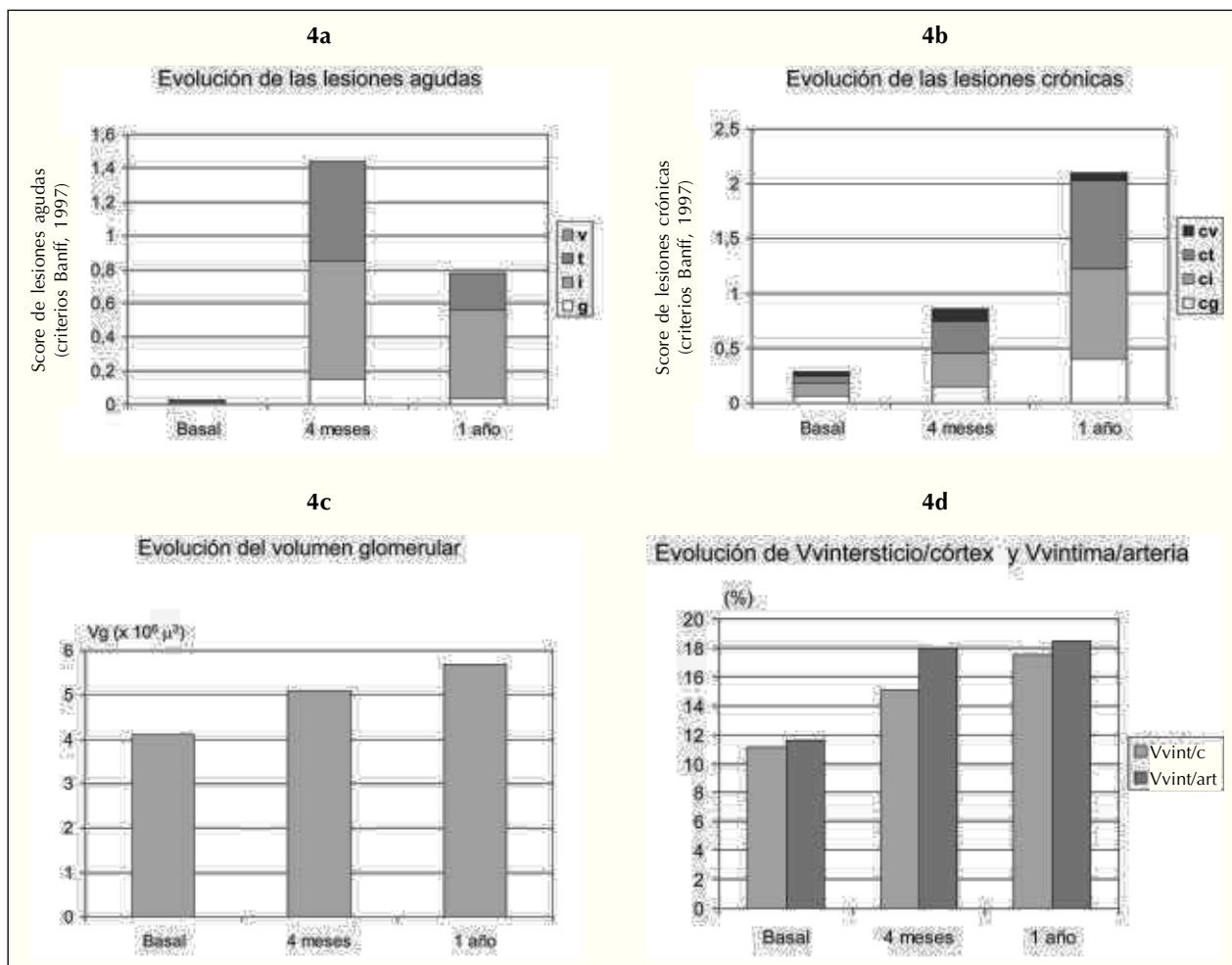


Fig. 4. —Evolución temporal de las lesiones agudas (a) y crónicas (b) en biopsias realizadas en el donante y en biopsias de protocolo realizadas a los 4 y 12 meses. La gravedad de las lesiones agudas evaluadas de acuerdo con los criterios de Banff (g, glomerulitis; i, infiltrado intersticial; t, tubulitis, v, vasculitis) es máxima a los 4 meses y menos intensa a los 12 meses (a). En cambio, las lesiones crónicas en los distintos compartimentos renales progresan durante el primer año (b). Durante este periodo de tiempo, aumenta el volumen glomerular (Vg) (c). La fracción de volumen intersticial cortical (Vvint/c), es decir, el tamaño del intersticio y la fracción de volumen intimal arterial (Vvint/art), es decir, el tamaño de la íntima vascular, aumentan siguiendo una curva que sugiere un modelo exponencial (d).

La relación entre compatibilidad HLA y evolución del injerto debe ser valorada en series con un número elevado de pacientes y la mayor parte de trabajos con biopsias de protocolo no exceden los 100 pacientes. Uno de los trabajos con una serie amplia de más de 300 casos¹⁷ muestra una asociación entre la compatibilidad HLA y rechazo subclínico. Así, la incidencia de rechazo subclínico pasa del 3% en los pacientes HLA-DR idénticos al 21% en los pacientes sin ninguna identidad HLA-DR. Estos resultados no han sido reproducidos por otros grupos.

El diagnóstico de rechazo subclínico es más frecuente en los pacientes hipersensibilizados, al igual que sucede con el de rechazo clínico. En nuestra experiencia, existe una asociación entre rechazo

subclínico y reactividad frente al panel, especialmente en los pacientes que presentan lesiones de nefropatía crónica del trasplante asociadas al rechazo subclínico²¹.

No se dispone de información suficiente para testar si los re-trasplantes presentan una prevalencia de rechazo subclínico distinta a la de los primeros trasplantes.

Aunque la necrosis tubular aguda se ha relacionado con la aparición de rechazo agudo clínico²², ninguna de las variables clínicas asociadas a la lesión por isquemia-reperfusión (edad del donante, tiempo de isquemia fría, requerimientos de diálisis post-trasplante) se ha relacionado con la presencia de rechazo subclínico.

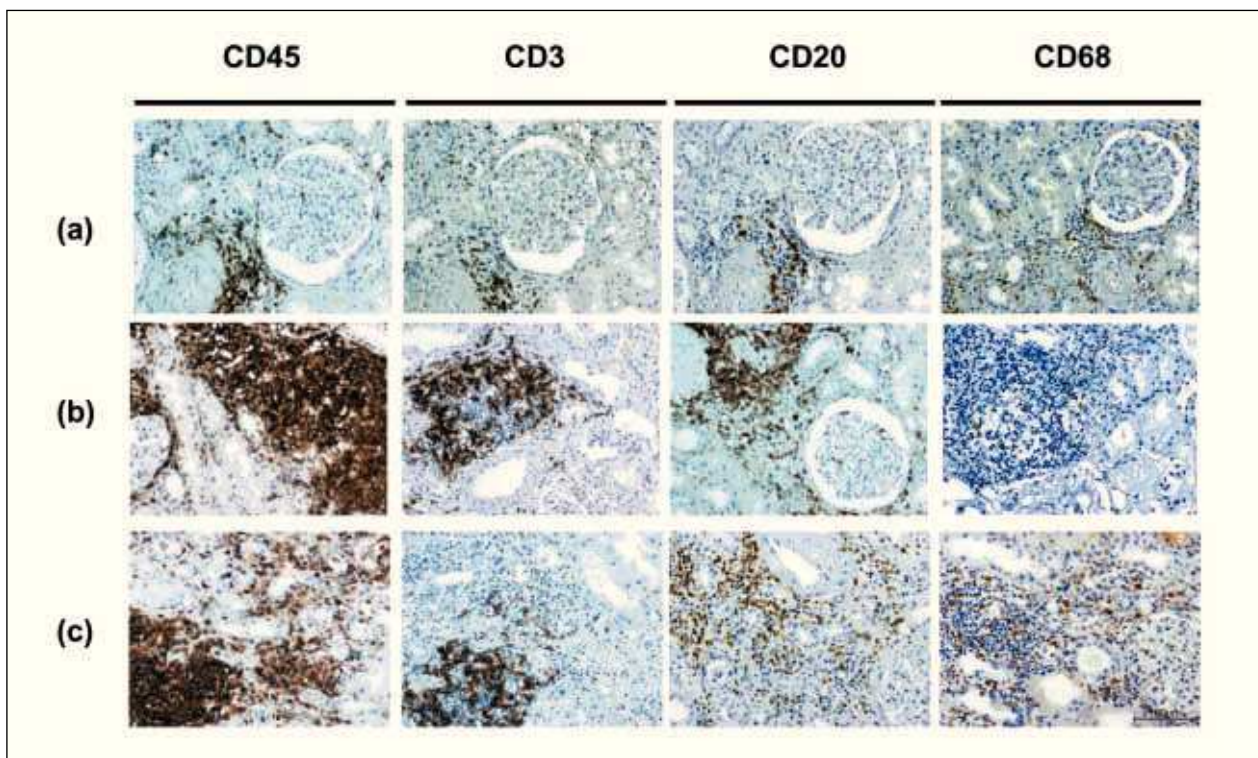


Fig. 5.— Infiltrado intersticial en una biopsia de protocolo con histología normal según los criterios de Banff (a), en una biopsia de protocolo obtenida en un paciente con rechazo subclínico (b) y en una biopsia realizada en un paciente con un deterioro agudo de la función renal que mostraba a la microscopía convencional un rechazo agudo intersticial (c). Todas las biopsias fueron teñidas con un anticuerpo monoclonal contra los leucocitos (CD45), linfocitos T (CD3), linfocitos B (CD20) y macrófagos (CD68). La gravedad de las lesiones inflamatorias es similar en los pacientes con rechazo subclínico y en los pacientes con rechazo clínico.

Uno de los hallazgos más consistentes en la literatura es la estrecha relación entre la presencia de episodios de rechazo clínico y el rechazo subclínico. Los pacientes que han presentado episodios de rechazo clínico antes de la biopsia tienen más riesgo de presentar rechazo subclínico. Además, se ha relacionado el hallazgo de rechazo subclínico con la ulterior aparición de episodios de rechazo agudo clínico¹⁶.

El grupo de Sydney ha mostrado que la presencia de rechazo subclínico persistente está estrechamente ligada a la presencia de rechazo agudo clínico, ya que aparece en el 38% de los pacientes con rechazo clínico pero tan solo en el 8% de los pacientes sin rechazo clínico²⁰.

Factores genéticos y rechazo subclínico

Se ha sugerido que las características genéticas del donante y/o receptor pueden modular la respuesta inmune y por lo tanto la aparición de rechazo agudo, tanto clínico como subclínico. Para ello, se ha estudiado la existencia de relaciones entre distintos poli-

morfismos de un solo nucleótido (SNPs) que pueden modular la producción de diversas citoquinas y la aparición de rechazo agudo post-trasplante. Nuestro grupo ha estudiado la asociación entre SNPs del gen del factor de crecimiento transformante β (TGF β 1) y rechazo subclínico. Recientemente, hemos mostrado una asociación entre el polimorfismo del codón 10 del exón 1 del TGF β 1 y una mayor prevalencia de rechazo subclínico²³. Además, hemos demostrado que esta asociación es independiente de otras variables clínicas. En cambio, no hemos hallado ninguna relación entre el polimorfismo del codón 25 del exón 1 del mismo gen y el rechazo subclínico. En este estudio, intentamos relacionar el polimorfismo con la producción de mRNA de TGF β 1 y no observamos ninguna relación, con lo cual no podemos concluir que el efecto se deba a una mayor producción de mRNA.

Por otra parte, el grupo de Winnipeg ha mostrado una asociación entre los polimorfismos de distintas citoquinas como TGF β 1, interferón- γ , interleuquina 10 (IL-10) y factor de necrosis tumoral- α (TNF α) y los datos histológicos en biopsias de protocolo realizadas a los 6 meses²⁴. Estos autores relacionan el polimorfismo del

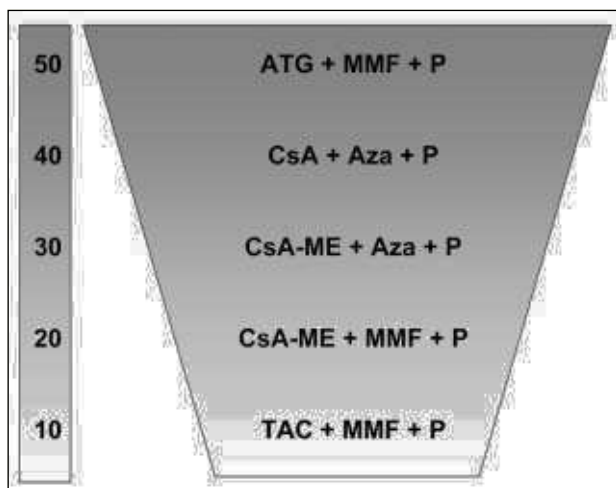


Fig. 6.—Prevalencia de rechazo subclínico según el tiempo de tratamiento inmunosupresor. ATG: Globulina anti-linocítico; MMF: Mofetil micofenolato; P: Prednisona; CsA: Ciclosporina A; Aza: Azatropina; TAC: Tracolimus; Csa-ME: Ciclosporina microemulsión.

codón 25 del TGFβ1 con una menor inflamación, sugiriendo que los altos productores de esta citoquina presentan menos rechazo subclínico. Por otra parte, los polimorfismos asociados con mayor producción de interferón-γ, IL-10 y TNFα se asocian con un peor pronóstico. Sin embargo, sería necesario demostrar que estos polimorfismos se asocian a la producción de las citoquinas que codifican para poder extraer resultados concluyentes. Es importante recordar que estudios epidemiológicos con gran número de pacientes no han sido capaces de detectar ninguna relación entre estos polimorfismos y la supervivencia del injerto²⁵.

RECHAZO SUBCLÍNICO Y NEFROPATÍA CRÓNICA DEL TRASPLANTE

El factor más estrechamente relacionado con la aparición de nefropatía crónica del trasplante es la presencia de episodios de rechazo agudo clínico. En este mismo sentido, diversos trabajos han sugerido una asociación entre la aparición de rechazo agudo subclínico y el ulterior desarrollo de nefropatía crónica del trasplante. De todas formas, ha sido el estudio de biopsias seriadas el que ha permitido demostrar una estrecha relación entre la aparición de rechazo agudo subclínico y nefropatía crónica del trasplante. Así, el grupo de Sydney²⁶ en una serie de 961 biopsias de protocolo realizadas en 120 receptores de un trasplante reno-pancreático a lo largo de 10 años, describe la historia natural de la nefropatía crónica del trasplante y muestra cómo el rechazo subclínico es una de las variables determinantes de la aparición de nefropatía crónica del

trasplante. Este grupo ha demostrado que el rechazo subclínico es muy frecuente durante los primeros meses (más del 35% de los casos en su serie) y condiciona la ulterior aparición de nefropatía crónica del trasplante. La presencia de rechazo agudo subclínico durante más de 2 años (a la que este grupo se refiere como verdadero rechazo crónico) es poco frecuente y afecta a menos del 5% de los casos.

Nuestro grupo también ha observado que existe una asociación entre rechazo subclínico y nefropatía crónica del trasplante. Así, en nuestra serie de 435 biopsias realizadas entre los 3 y 6 meses observamos que la prevalencia de nefropatía crónica del trasplante es superior en los pacientes con rechazo subclínico que en aquellos que no lo presentan (47% vs 37%)²¹. Además, en un estudio con 61 pacientes a los que se había realizado 2 biopsias seriadas a los 4 y 12 meses, mostramos cómo la presencia de rechazo subclínico en la primera biopsia no sólo se asocia con una mayor progresión de la fibrosis intersticial y atrofia tubular, sino también con una menor adaptación glomerular y una mayor progresión de la glomerulosclerosis²⁷. En la figura 4 se muestra como evolucionan durante el primer año las lesiones agudas y crónicas medidas según los criterios de Banff y mediante morfometría en los distintos compartimentos renales.

La definición de rechazo subclínico «borderline» y grado I se basa en la presencia de infiltrado intersticial inflamatorio asociado a tubulitis. Se ha propuesto que estas lesiones son responsables de las alteraciones producidas en la membrana basal tubular que pueden llegar a ser irreversibles y conducir al desarrollo de nefropatía crónica del trasplante. Estudios estructurales han mostrado la presencia de roturas de la membrana basal tubular en las áreas de tubulitis con pérdida de las proteínas de matriz de la membrana basal tubular. El número de roturas observadas se asocia a la función renal en el momento de la biopsia, así como al ulterior desarrollo de cambios de nefropatía crónica del trasplante²⁸.

TRATAMIENTO DEL RECHAZO SUBCLÍNICO

Se dispone de un solo estudio prospectivo, aleatorizado en el que se haya testado la eficacia del tratamiento de los episodios de rechazo subclínico²⁹. El grupo de Winnipeg diseñó un estudio con dos ramas: en una de ellas los pacientes eran sometidos a biopsia de protocolo al 1, 2, 3 y 6 meses, y los episodios de rechazo subclínico se trataban con pulsos de esteroides. En la otra rama, se efectuaba una biopsia de protocolo a los 6 meses. Los resultados de este estudio mostraron que el tratamiento con pulsos de esteroides del rechazo agudo subclínico se acompañaba

Tabla III. Prevalencia de rechazo agudo subclínico bajo distintas pautas de inmunosupresión

Autor	Inmunosupresión	N	Rechazo subclínico 3 meses («borderline», rechazo agudo)
Nankivell ²¹	CsA + Aza + P	61	63% (45%, 18%)
	Csa-ME + Aza + P	13	38% (23%, 15%)
	Csa-ME + MMF + P	25	24% (16%, 8%)
	TAC + CsA + P	21	5% (5%, 0%)
Nickerson ⁴¹ #	CsA + Aza + P	36	27%
	CsA-ME + MMF + P	17	31%
Moreso ⁴²	CsA-ME + MMF + P	49	35% (26%, 9%)
	TAC + MMF + P	49	14% (11%, 3%)
Gloor ⁴³	TAC + MMF + P	114	15% (12%, 3%)

CsA, ciclosporina A; Aza, azatioprina; P, prednisona; Csa-ME, ciclosporina A microemulsión; MMF, micofenolato mofetil; TAC, tacrolimus.

Reporta rechazo agudo, pero no valora la presencia de cambios «borderline» como rechazo subclínico.

de un menor grado de lesión crónica en la biopsia de protocolo a los 6 meses y de una mejor función renal a los 2 años del trasplante.

En un estudio no controlado realizado en Japón, se ha sugerido que el tratamiento con pulsos de esteroides del rechazo subclínico «borderline» también puede ser beneficioso a largo plazo³⁰. En este estudio, se evaluaron 127 biopsias de protocolo realizadas al momento del alta y se clasificó a los pacientes según la presencia de rechazo agudo, cambios «borderline» o inflamación inespecífica. A 21 pacientes de 46 con cambios «borderline» o inflamación inespecífica, se les trató con 3 pulsos de esteroides y se utilizó a los otros 25 pacientes como controles. Dicho tratamiento se asoció con la presencia de menos fibrosis intersticial en la biopsia de protocolo al año, así como con una mejor función renal al año.

RECHAZO SUBCLÍNICO Y TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR

Se ha evaluado la prevalencia del rechazo subclínico en pacientes tratados con distintas combinaciones de fármacos inmunosupresores. Aunque no se dispone de estudios prospectivos y aleatorizados que ofrezcan un nivel de evidencia máximo sobre este aspecto, los estudios disponibles sugieren que la combinación basada en tacrolimus y micofenolato mofetil se asocia a una menor tasa de prevalencia de rechazo subclínico.

En la tabla III se describen las aportaciones más relevantes sobre la presencia de rechazo subclínico bajo distintos tratamientos inmunosupresores. Cabe desta-

car que, para el grupo de Sydney, las distintas pautas de inmunosupresión forman parte de épocas distintas y, por tanto, puede haber otros factores no controlados que contribuyan a la disminución del rechazo subclínico aparte del tratamiento inmunosupresor²⁰. Para obviar este fenómeno, nuestro grupo analizó en un estudio de casos y controles la relación entre tratamiento con tacrolimus y ciclosporina asociados a micofenolato mofetil y esteroides en trasplantes realizados en la misma época. La prevalencia de rechazo subclínico en el grupo tratado con tacrolimus fue aproximadamente la mitad que en el grupo con ciclosporina³¹. En un estudio no controlado, el grupo de la Clínica Mayo ha reportado una baja incidencia de rechazo subclínico, similar a la reportada por nuestro centro³².

El grupo de Winnipeg se aparta de las conclusiones del resto de grupos al mostrar que la asociación ciclosporina A en microemulsión con micofenolato mofetil permite reducir la incidencia de rechazo agudo clínico, pero no la de rechazo subclínico, cuando se compara con ciclosporina clásica asociada a azatioprina, una pauta de inmunosupresión menos potente que la primera³³. Estos resultados no están de acuerdo con la hipótesis de que a mayor potencia de la pauta inmunosupresora, menor tasa de rechazo subclínico. Cabe destacar que este grupo ha descrito que la introducción de tacrolimus reduce especialmente el infiltrado inflamatorio, mientras que la introducción de micofenolato mofetil reduce la tubulitis²⁰.

Existen pocas experiencias en pacientes tratados sin anticalcineurínicos. En un reducido número de pacientes tratados con suero anti-linfocitario poli o monoclonal, micofenolato mofetil y prednisona hemos observado una mayor prevalencia de rechazo subclínico que en los pacientes tratados con anticalcineurínicos²¹.

A parte de la introducción de nuevos inmunosupresores, la mejoría de la monitorización de los fármacos inmunosupresores también puede contribuir a disminuir la tasa de rechazo agudo subclínico. Se ha sugerido que la monitorización de los niveles de ciclosporina a las 2 horas puede reducir la tasa de rechazo subclínico en comparación con la monitorización habitual del nivel valle³⁴.

Se dispone de escasa información sobre la utilidad de los inhibidores de mTOR (mammalian target of rapamycin), sirolimus y everolimus, sobre la aparición de rechazo subclínico. Un estudio prospectivo, aleatorizado, sobre la eficacia de tacrolimus y micofenolato mofetil *versus* tacrolimus y sirolimus en pacientes libres de esteroides ha comparado la aparición de rechazo subclínico a lo largo del seguimiento. En ambos grupos, la incidencia es baja a los 1, 6, 12 y 24 meses post-trasplante³⁵.

En un estudio en el que los pacientes tratados con sirolimus, ciclosporina y prednisona fueron aleatori-

zados a los 3 meses para continuar con triple terapia o retirar ciclosporina, se observó que al año, pero no a los 3 años, los pacientes con sirolimus sin ciclosporina tenían más lesiones agudas³⁶.

Finalmente, es importante tener en cuenta que, aunque las pautas más potentes se asocian a menores tasas de rechazo subclínico, su utilización puede acompañarse de un aumento de las complicaciones derivadas de la sobre-inmunosupresión como por ejemplo, las nefritis inducidas por virus³⁷. En la figura 6 se representa la prevalencia esperada con distintas combinaciones de inmunosupresores.

RECHAZO SUBCLÍNICO Y SUPERVIVENCIA DEL INJERTO

Ha sido ampliamente descrita en la literatura la asociación entre la frecuencia y gravedad de los episodios de rechazo agudo clínico y el ulterior fracaso del injerto. Este tipo de asociación es más estrecha en los casos de rechazo agudo vascular y rechazo agudo tardío. Además, estos dos eventos se asocian también con el desarrollo de nefropatía crónica del trasplante. En cambio, algunos trabajos han puesto en duda que el rechazo intersticial agudo «borderline y grado I» según los criterios de Banff) de aparición durante el primer trimestre post-trasplante se asocie con la supervivencia del injerto. De forma parecida, han sido necesarios estudios prospectivos con largos períodos de seguimiento para poder evaluar de forma adecuada la asociación entre rechazo subclínico y supervivencia del injerto.

El grupo de Sydney ha demostrado que existe una estrecha relación entre la aparición de rechazo subclínico, nefropatía crónica del trasplante y disfunción crónica del injerto²⁰. La presencia de rechazo subclí-

nico no sólo se asocia a una menor tasa de filtración glomerular a los 3 meses (62 ml/min en los pacientes sin rechazo, 58 ml/min en los pacientes con cambios «borderline» y 52 ml/min en los pacientes con rechazo agudo), sino que la presencia de rechazo subclínico persistente se acompaña de un deterioro funcional renal progresivo. Así, los pacientes con rechazo subclínico persistente presentan una disminución de la tasa de filtración glomerular desde 54 ml/min a los 3 meses hasta 35 ml/min a los 2 años.

El estudio llevado a cabo en Seúl con más de 300 receptores de un trasplante renal procedente de donante vivo y con un seguimiento superior a los 10 años¹⁷, ha mostrado que los pacientes con rechazo agudo subclínico en una biopsia realizada a los 14 días presentan peor supervivencia que los pacientes con una biopsia normal (60% vs 96% a los 10 años). En cambio, la supervivencia de los pacientes que mostraban cambios «borderline» en la biopsia de protocolo es similar a la de los que mostraban una biopsia normal (96% y 94% a los 10 años, respectivamente).

En un estudio realizado en un grupo de pacientes pediátricos, se muestra que la presencia de cambios de nefropatía crónica aislada al año del trasplante tiene mínimas consecuencias funcionales a los 5 años. En cambio, la presencia del mismo grado de nefropatía crónica en asociación con rechazo subclínico se acompaña de un deterioro funcional progresivo, así como de una peor supervivencia del injerto³⁸. Estos resultados, han sido confirmados por el grupo de la Clínica Mayo que, en un estudio con casi 300 pacientes, ha mostrado que la presencia de rechazo subclínico en asociación con cambios de nefropatía crónica en la biopsia de protocolo al año se asocia con una peor supervivencia que la presencia de nefropatía crónica aislada³⁹. Nuestro grupo, en un estudio con más de 400 biopsias realizadas entre los 4 y los 6 meses, ha mostrado también que la presencia de rechazo subclínico en asociación con cambios de nefropatía crónica comporta un peor pronóstico a largo plazo que la presencia de cambios de nefropatía crónica aislada²¹. En cambio, los pacientes que presentaban rechazo subclínico sin nefropatía crónica del trasplante tenían una supervivencia a largo plazo similar a la de los pacientes con una biopsia normal (fig. 7).

Tan sólo un grupo no ha mostrado efectos deletéreos del rechazo subclínico sobre la disfunción crónica del injerto y la supervivencia. El grupo de Oxford, en un estudio con 115 pacientes, concluye que la presencia de rechazo subclínico en la biopsia de protocolo realizada a los 28 días no tiene efectos a largo plazo¹⁶. A los 6 años de seguimiento, la supervivencia es similar en los pacientes con y sin rechazo subclínico (75% vs 80%). Entre sus resultados, destaca que la creatinina sérica a los 6 meses es incluso infe-

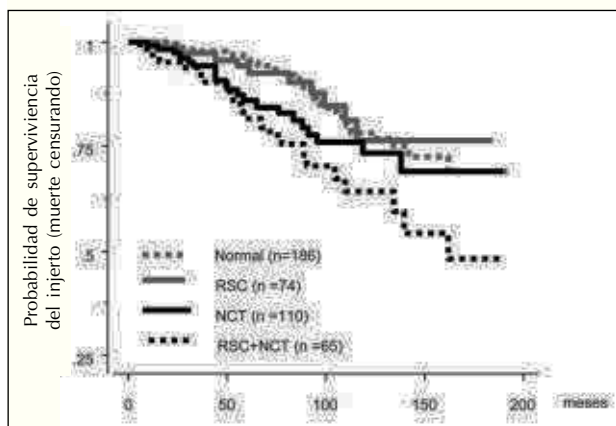


Fig. 7.—Supervivencia del injerto censurando la muerte del paciente con injerto funcionando según las categorías diagnósticas en la biopsia de protocolo realizada a los 3-6 meses del trasplante. RSC, rechazo subclínico; NCT, nefropatía crónica del trasplante.

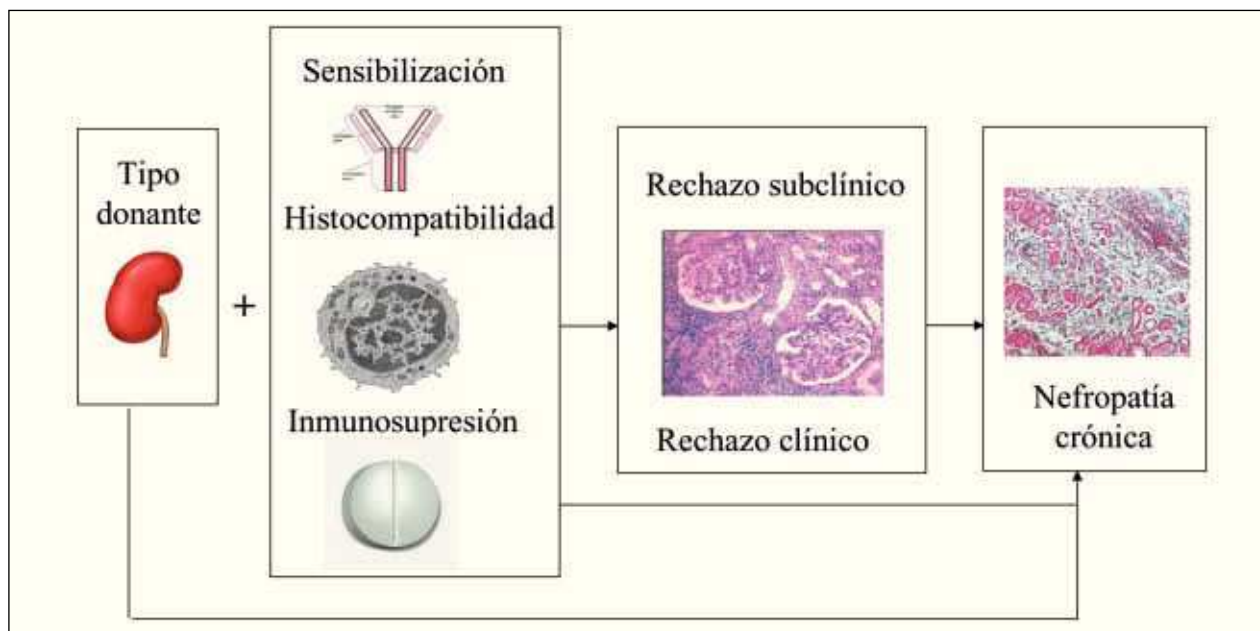


Fig. 8.—Diagrama que representa la relación temporal entre distintos factores de riesgo asociadas al rechazo subclínico y la nefropatía crónica del trasplante.

rior en los pacientes con rechazo subclínico que en los pacientes sin rechazo ($129 \mu\text{mol/l}$ vs $163 \mu\text{mol/l}$).

Tomados todos estos datos en conjunto, parece demostrarse que la presencia de rechazo subclínico grado I afecta la supervivencia del injerto a largo plazo, especialmente cuando se asocia con cambios de nefropatía crónica del injerto. Todavía está por demostrar si la presencia de cambios «borderline» sin nefropatía crónica asociada puede afectar la supervivencia del injerto renal. No se puede olvidar que todos los estudios se han realizado en pacientes tratados con anticalcineurínicos y estos pueden también ser responsables de la progresión del daño crónico. Los estudios futuros en pacientes sin anticalcineurínicos utilizando fármacos no nefrotóxicos nos ayudarán a contestar esta pregunta.

Tomados estos datos en su conjunto, en la figura se muestra el papel central del rechazo subclínico en la progresión de la nefropatía crónica y las variables relacionadas con el mismo.

DIFERENCIAS ENTRE RECHAZO AGUDO SUBCLÍNICO Y CLÍNICO

Dado que los hallazgos histopatológicos en el rechazo agudo clínico y subclínico son indistinguibles, se han llevado a cabo distintos trabajos para detectar alteraciones estructurales que justifiquen la presencia

de lesiones de rechazo agudo sin deterioro funcional. Es de destacar que en los injertos con función estable la presencia de rechazo vascular (grado II ó III) es muy infrecuente, es decir, el rechazo vascular agudo casi siempre se traduce en deterioro funcional. Para valorar la falta de deterioro funcional en los episodios de rechazo subclínico túbulo-intersticiales (cambios «borderline» y grado I) se ha estudiado la expresión fenotípica y el grado de activación de las células que infiltran el intersticio renal⁴⁰⁻⁴³. En la figura 5 se muestra la expresión fenotípica de distintas subpoblaciones linfocitarias en biopsias sin rechazo, con rechazo subclínico y con rechazo clínico.

En un estudio comparando 10 biopsias normales, 13 casos de rechazo subclínico y 9 de rechazo clínico, se evaluaron distintas subpoblaciones linfocitarias en el infiltrado intersticial³⁵. El número de células CD3 (linfocitos T) positivas era similar en los pacientes con rechazo clínico o subclínico. En cambio, se mostró una tendencia a un mayor número de células CD20 (linfocitos B), CD8 (linfocitos T citotóxicos) y CD68 (macrófagos) positivas en los pacientes con rechazo clínico que no alcanzaba significación estadística dado el pequeño tamaño de la muestra. En este mismo trabajo, se mostró una mayor expresión de AIF-1 (factor inflamatorio del aloinjerto producido por los macrófagos activados), pero no se observó una mayor expresión de $\text{TNF-}\alpha$, perforina o CD25 (receptor de interleuquina 2). Por otra parte, este mismo

grupo de investigación ha demostrado que la expresión de RNA mensajero de perforina y otros mediadores de lesión es menor en los pacientes con rechazo subclínico que en los pacientes con rechazo clínico⁴¹. Es decir, en el espectro entre la normalidad y el rechazo agudo con deterioro funcional, se halla el rechazo subclínico que muestra unas lesiones muy parecidas al rechazo clínico pero de menor intensidad.

Por otra parte, se ha descrito que una mayor expresión de la proteasa inhibidora de granzima B (PI-9) justificaría la falta de deterioro funcional en los injertos con rechazo subclínico⁴². Se ha demostrado que las células T citotóxicas granzima B positivas, responsables de la destrucción de las células tubulares, se expresan de forma parecida en el rechazo agudo clínico y subclínico. Así pues, la expresión de PI-9 en las células tubulares epiteliales constituiría un mecanismo de resistencia a la apoptosis inducida por granzima B.

La aplicación de técnicas de biología molecular más complejas, como los *microarrays* de DNA, ha permitido caracterizar la heterogeneidad molecular del rechazo agudo y demostrar que el análisis sistemático de patrones de expresión génica permite valorar fenómenos como la respuesta al tratamiento⁴⁴. No se dispone hasta la actualidad de estudios para valorar si el patrón de expresión génica entre el rechazo agudo clínico y subclínico es distinto.

OTROS MARCADORES NO HISTOLÓGICOS DE RECHAZO SUBCLÍNICO

Dado que la presencia de episodios de rechazo agudo, tanto clínico como subclínico, es muy prevalente durante los primeros meses post-trasplante y su monitorización obliga a la realización de biopsias iterativas, se ha valorado la utilidad de otros métodos para su detección. Estos métodos se han basado en la aplicación de técnicas de genómica y proteómica para el estudio de muestras de orina obtenidas de injertos con rechazo agudo o función estable. Así, se ha demostrado que la cuantificación del RNA mensajero codificante de proteínas citotóxicas, como granzima B y perforina, en las células de la orina ofrece un método no invasivo para diagnosticar el rechazo agudo⁴⁵. Además, se ha demostrado que los niveles urinarios de RNA mensajero de FOXP3 (marcador de células T reguladoras) se relacionan con la reversibilidad de los episodios de rechazo agudo⁴⁶. Por otra parte, la aplicación de la proteómica ha permitido analizar el espectro de las proteínas presentes en la orina y se ha descrito que la combinación de electroforesis con espectrometría de masas permite definir un espectro característico para el rechazo agudo túbulo-intersti-

cial (grado I según Banff), siendo este espectro similar en el rechazo clínico y subclínico^{47,48}. Parece ser que la aparición del patrón proteómico urinario característico del rechazo agudo precede a los hallazgos en la biopsia. A pesar de su potencial utilidad, estas técnicas novedosas no han sido aplicadas todavía a grandes series de pacientes y, por lo tanto, no se ha valorado de forma adecuada la existencia de un patrón de expresión distinto entre el rechazo agudo clínico, el rechazo agudo subclínico en sus distintos grados y la ausencia de rechazo.

PERSPECTIVAS DE FUTURO

En la última década, se ha descrito y caracterizado el rechazo subclínico gracias a la realización de biopsias de protocolo. En varios estudios se ha descrito una relación entre la presencia de rechazo subclínico y una peor evolución del injerto, de ahí su relevancia e interés clínico. Estas observaciones plantean si los datos actuales son lo suficientemente sólidos como para adoptar políticas activas de biopsias de protocolo con el fin de diagnosticar el rechazo subclínico y tratarlo adecuadamente. Sin embargo, la mayoría de los datos en relación al rechazo subclínico proceden de estudios observacionales, y aunque existen datos acerca de la prevalencia del rechazo subclínico bajo distintos tratamientos inmunosupresores que nos orientan acerca de las mejores estrategias de prevención de esta entidad, no existe información consistente acerca de su tratamiento. Por lo tanto, se hace patente la necesidad de realizar ensayos clínicos con el fin de evaluar si la prevención o el tratamiento de esta entidad puede mejorar la evolución posterior del injerto.

Hasta la actualidad, no existen datos que justifiquen la utilización del rechazo subclínico como una variable de eficacia primaria. Sin embargo, en ensayos en los que se realizan biopsias de protocolo se ha incluido el rechazo subclínico como una variable de eficacia secundaria.

El diseño de un hipotético ensayo clínico para evaluar la eficacia de una modificación del tratamiento inmunosupresor en el rechazo subclínico implica importantes dificultades metodológicas. Si tenemos en cuenta que la prevalencia de rechazo subclínico a los 3 meses en pacientes tratados con tacrolimus, micofenolato mofetilo y prednisona es del 10%, para incluir un paciente con rechazo subclínico en el ensayo clínico hay que realizar una biopsia de protocolo a 10 pacientes. La segunda dificultad, es que la evaluación del efecto del tratamiento en un plazo razonable implica la realización de una segunda biopsia para poder comparar la progresión de las lesiones

agudas y crónicas entre el grupo control y el grupo tratamiento. Si asumimos que la incidencia de nefropatía crónica progresa del 30 al 50% entre los 3 meses y el año en el grupo control y asumimos que en el grupo tratamiento la nefropatía crónica progresará del 30 al 40%, asumiendo un riesgo α del 5% y un poder estadístico del 80%, serían necesarios unos 80 pacientes por grupo y quizá unos 100 por grupo para obtener una muestra de tejido evaluable. Si para incluir un paciente hemos de biopsiar a diez, el número de pacientes a incluir en el estudio sería de 2.000 pacientes. Estos cálculos teóricos ilustran la dificultad para diseñar un ensayo clínico cuya finalidad sea el tratamiento del rechazo subclínico.

CONCLUSIÓN

El rechazo subclínico es una entidad que fue descrita hace más de 30 años, pero que no ha sido bien caracterizada hasta la última década gracias a la utilización sistemática de biopsias de protocolo. Su incidencia es máxima en el post-trasplante inmediato y disminuye siguiendo una curva exponencial durante el primer año. Sin embargo, a partir del año hasta un 10-15% de los pacientes sigue presentando rechazo subclínico. El rechazo subclínico se asocia a una progresión de la nefropatía crónica del trasplante y peor supervivencia del injerto a largo plazo. La relación entre la presencia de rechazo subclínico y peor pronóstico es especialmente evidente en los pacientes en los que el rechazo subclínico se asocia a la presencia de nefropatía crónica del trasplante. La incidencia de rechazo subclínico es variable en función del tipo de tratamiento inmunosupresor. Las pautas más potentes se asocian a una menor incidencia de rechazo subclínico, aunque no disponemos todavía de evidencias suficientes para saber cuál es el tratamiento más adecuado para los pacientes con rechazo subclínico. En la figura 8 se muestra un diagrama con los eventos clínicos asociados a rechazo subclínico y su relación con la nefropatía crónica.

BIBLIOGRAFÍA

- Racusen LC, Solez K, Colvin RB y cols.: The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 55: 713-723, 1999.
- Ratner MI, Tomilina NA, Alekseev LP, Fedorova ND: Subclinical crises of kidney allotransplantation rejection. *Vestn Akad Med Nauk SSSR* 28: 59-64, 1973.
- Matas AJ, Sibley R, Mauer SM y cols.: Pre-discharge, post-transplant kidney biopsies does not predict rejection. *J Surg Res* 32: 269-274, 1982.
- Burdick JF, Beschoner WE, Smith WJ y cols.: Characteristics of early routine renal allograft biopsies. *Transplantation* 38: 679-683, 1984.
- Isoniemi H, Krogerus L, Von Willebrand E, Taskinen E, Aho-nen J, Häyry P: Histopathological findings in well-functioning, long-term renal allografts. *Kidney Int* 41: 155-160, 1992.
- Marcusen N, Olsen TS, Benediktsson H y cols.: Reproducibility of the Banff classification of renal allograft pathology. *Transplantation* 60: 1083-1089, 1995.
- Furness PN, Taub N: International variation in the interpretation of renal transplant biopsies: report of the CERTAP project. *Kidney Int* 60: 1198-2010, 2001.
- Colvin RB, Cohen AH, Saiontz C y cols.: Evaluation of pathologic criteria for acute renal allograft rejection: reproducibility, sensitivity, and clinical correlation. *J Am Soc Nephrol* 8: 1930-1941, 1997.
- Veronese FV, Manfro RC, Roman FR y cols.: Reproducibility of the Banff classification in subclinical kidney transplant rejection. *Clin Transplant* 19: 518-521, 2005.
- Rush DN, Jeffery JR, Gough J: Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. *Transplantation* 59: 511-514, 1995.
- Serón D, Moreso F, Bover J y cols.: Early protocol renal allograft biopsies and graft outcome. *Kidney Int* 51: 310-316, 1997.
- Legendre C, Thervet E, Skiri H y cols.: Histologic features of chronic allograft nephropathy revealed by protocol biopsies in kidney transplant recipients. *Transplantation* 65: 1506-1509, 1998.
- Serón D, Moreso F, Ramón JM y cols.: Protocol renal allografts biopsies and the design of clinical trials aimed to prevent or treat chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 69: 1849-1855, 2000.
- Nankivell BJ, Fenton-Lee CA, Kuypers DR y cols.: Effect of histological damage on long-term kidney outcome. *Transplantation* 71: 515-521, 2001.
- Seron D, Moreso F, Fulladosa X, Hueso M, Carrera M, Grinyo JM: Reliability of chronic allograft nephropathy diagnosis in sequential protocol biopsies. *Kidney Int* 61: 727-733, 2002.
- Roberts ISD, Reddy S, Russell C y cols.: Subclinical rejection and borderline changes in early protocol biopsies specimens after renal transplantation. *Transplantation* 77: 1194-1198, 2004.
- Choi BS, Shin MJ, Sjin SJ y cols.: Clinical significance of an early protocol biopsy in living-donor renal transplantation: ten-year experience at a single center. *Am J Transplant* 5: 1354-1360, 2005.
- Mengel M, Bogers J, Bosmans JL y cols.: Incidence of C4d stain in protocol biopsies from renal allografts: results from a multicenter trial. *Am J Transplant* 5: 193-201, 2005.
- Ishikawa MM, Mizuiri S, Aikawa A, Ohara T, Hasegawa A: Significance of subclinical rejection in early renal allograft biopsies for chronic allograft dysfunction. *Clin Transplant* 19: 456-465, 2005.
- Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CLS, O'Connell PJ, Allen RDM, Chapman JR: Natural history, risk factors, and impact of subclinical rejection in kidney transplantation. *Transplantation* 78: 242-249, 2004.
- Moreso F, Ibernón M, Goma M y cols.: Subclinical rejection associated with chronic allograft nephropathy in protocol biopsies as a risk factor for late graft loss. *Am J Transplant* 6: 747-752, 2006.
- Moreso F, Seron D, Gil-Vernet S y cols.: Donor age and delayed graft function as predictors of renal allograft survival in rejection-free patients. *Nephrol Dial Transplant* 14: 930-935, 1999.
- Hueso M, Navarro E, Moreso F y cols.: Relationship between subclinical rejection and genotype, renal messenger RNA, and plasma protein transforming growth factor- β_1 levels. *Transplantation* 1: 1463-1466, 2006.
- Tinckam K, Rush D, Hutchinson I y cols.: The relative importance of cytokine gene polymorphisms in the development

D. SERÓN y cols.

- of early and late acute rejection and six-month renal allograft pathology. *Transplantation* 79: 836-841, 2005.
25. Mytilineos J, Laux G, Opelz G.: Relevance of IL10, TGF β 1, TNF α and IL4R α gene polymorphisms in kidney transplantation: a collaborative study report. *Am J Transplant* 4: 1684-1671, 2004.
 26. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CLS, O'Connell PO, Allen RDM, Chapman JR: The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Eng J Med* 349: 2326-2333, 2003.
 27. Ibernón M, Goma M, Moreso F y cols.: Subclinical rejection impairs glomerular adaptation after renal transplantation. *Kidney Int* 2006 (en prensa).
 28. Bonsib SM, Abul-Ezz SR, Ahmad I y cols.: Acute rejection-associated tubular basement membrane defects and chronic allograft nephropathy. *Kidney Int* 58: 2206-2014, 2000.
 29. Rush DN, Nickerson P, Gough J y cols.: Beneficial effects of treatment of early subclinical rejection: a randomized study. *J Am Soc Nephrol* 9: 2129-2134, 1998.
 30. Miyagi M, Ishikawa Y, Mizuiri S, Aikawa A, Ohara T, Hasegawa A: Significance of subclinical rejection in early renal allograft biopsies for chronic allograft dysfunction. *Clin Transplant* 19: 456-465, 2005.
 31. Moreso F, Seron D, Carrera M y cols.: Baseline immunosuppression is associated with histological findings in early protocol biopsies. *Transplantation* 78: 1064-1068, 2004.
 32. Gloor JM, Cohen AJ, Lager DJ y cols.: Subclinical rejection in tacrolimus-treated renal transplant patients. *Transplantation* 1965-1968, 2002.
 33. Nickerson P, Jeffery J, Gough J y cols.: Effect of increasing baseline immunosuppression on the prevalence of subclinical rejection: a pilot study. *J Am Soc Nephrol* 10: 1801-1805, 1999.
 34. Barama A, Sepandj F, Gough J, McKenna R: Correlation between Neoral 2 hours post-dose and histologic findings on surveillance biopsies. *Transplant Proc* 36 (Supl. 2): 465S-467S, 2004.
 35. Anil Kumar MS, Heifets M, Fyfe B y cols.: Comparison of steroid avoidance in tacrolimus/mycophenolate mofetil and tacrolimus/sirolimus combination in kidney transplantation monitored by surveillance biopsies. *Transplantation* 80: 807-814, 2005.
 36. Mota A, Arias M, Taskinen EI y cols.: Sirolimus-based therapy following early cyclosporine withdrawal provides significantly improved renal histology and function at 3 years. *Am J Transplant* 4: 953-961, 2004.
 37. Buehrig CK, Lager DJ, Stegall MD y cols.: Influence of surveillance renal allograft biopsy on diagnosis and prognosis of polyomavirus-associated nephropathy. *Kidney Int* 64: 665-673, 2003.
 38. Shishido S, Asanuma H, Nakai H y cols.: The impact of repeated subclinical acute rejection on the progression of chronic allograft nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 14: 1046-1052, 2003.
 39. Cosio FG, Grande JP, Wadei H, Larson TS, Griffin MD, Stegall MD: Predicting subsequent decline in kidney allograft function from early surveillance biopsies. *Am J Transplant* 5: 2464-2472, 2005.
 40. Grimm PC, McKenna R, Nickerson P y cols.: Clinical rejection is distinguished from subclinical rejection by increased infiltration by a population of activated macrophages. *J Am Soc Nephrol* 10: 1582-1589, 1999.
 41. Lipman M, Shen Y, Jeffery J y cols.: Immune activation gene expression in stable renal allograft biopsies: molecular evidence for subclinical rejection. *Transplantation* 66: 1673-1681, 1998.
 42. Rowshani AT, Florquin S, Bemelman F, Kummer JA, Hack CE, Ten Berge IJM: Hyperexpression of the granzyme B inhibitor PI-9 in human renal allografts: a potential mechanism for stable renal function in patients with subclinical rejection. *Kidney Int* 66: 1417-1422, 2004.
 43. Veronese FV, Noronha IL, Manfro RC, Edelweiss MI, Goldberg J, Gonçalves LF: Prevalence and immunohistochemical findings of subclinical kidney allograft rejection and its association with graft outcome. *Clin Transplant* 18: 357-364, 2004.
 44. Sarwal M, Chua MS, Kambham N y cols.: Molecular heterogeneity in acute renal allograft rejection identified by DNA microarray profiling. *N Eng J Med* 349: 125-138, 2003.
 45. Li B, Hartono C, Ding R y cols.: Non invasive diagnosis of renal allograft rejection by measurement of messenger RNA for perforine and granzyme B in urine. *N Eng J Med* 344: 947-954, 2001.
 46. Muthukumar T, Dadhanian D, Ding R y cols.: Messenger RNA for FOXP3 in the urine of renal-allograft recipients. *N Eng J Med* 353: 2342-2351, 2005.
 47. Schaub S, Rush D, Wilkins J y cols.: Proteomic-based detection of urine proteins associated with renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 15: 219-227, 2004.
 48. Wittke S, Haubitz M, Walden M y cols.: Detection of acute tubulointerstitial rejection by proteomic analysis of urinary samples in renal transplant rejection. *Am J Transplant* 5: 2479-2488.



ORIGINAL

Rechazo agudo humoral o rechazo agudo mediado por anticuerpos anti-HLA post-trasplante renal

M. Crespo*, M. Solé**, J. I. Aróstegui***, M. Lozano****, J. Martorell*** y F. Oppenheimer*****

*Servicio de Nefrología. Hospital del Mar. Barcelona. **Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Clínic i Provincial. Barcelona.

Servicio de Inmunología. Hospital Clínic i Provincial. Barcelona. *Unidad de Aféresis. Hospital Clínic i Provincial. Barcelona.

*****Unidad de Trasplante Renal. Hospital Clínic i Provincial. Barcelona.

A lo largo de las últimas décadas hemos asistido a una mejoría significativa de la supervivencia a corto plazo de los injertos renales. El interesante análisis del registro de trasplante de la UNOS de S. Hariharan y cols. publicado en el año 2000 mostraba una excelente mejoría en la supervivencia a un año de los injertos renales, que no parecía haberse traducido en una mejoría tan llamativa en la supervivencia a largo plazo¹. Resaltaba, por tanto, que el problema más importante al que se enfrenta la comunidad trasplantadora hoy en día es el rechazo crónico y de forma más amplia la mal llamada «nefropatía crónica del injerto» (término en fase de modificación), que condiciona la pérdida de la función del trasplante renal a medio o largo plazo, junto con la muerte de los receptores con injerto funcionante. Sin embargo, si leemos con detalle el artículo de S. Hariharan y cols., no podemos dejar de lado el hecho de que, a pesar de esta mejoría significativa, durante el primer año todavía se pierden entre un 5 y un 10% de los injertos renales; un porcentaje mayor en receptores de elevado riesgo inmunológico. Además, este análisis demuestra que el factor de riesgo más potente para el desarrollo de «rechazo crónico» es el rechazo agudo durante el primer año post-trasplante renal¹.

En definitiva, en una época como ésta, testigo de importantes avances técnicos diagnósticos y terapéuticos, la prevención, identificación y tratamiento adecuado del rechazo agudo debe seguir siendo una de nuestras prioridades. Con la ayuda de los conocimientos actuales podemos identificar algunos de los mecanismos humorales y celulares del rechazo agudo, y por tanto evitar o resolver una buena parte de ellos. Nuestro objetivo es revisar esencialmente los datos relevantes disponibles en relación con el *rechazo agudo humoral* mediado por anticuerpos anti-HLA.

LA HISTORIA ANTIGUA DEL RECHAZO HUMORAL

Las primeras experiencias clínicas en trasplante renal demostraron la importancia que tenía la existencia de anticuerpos donante-específicos (ADS) preformados en el momento de la realización del trasplante renal. Existía una pugna en aquellos días entre algunos estudiosos más orientados a resaltar la relevancia de los mecanismos celulares del rechazo y otros más preocupados por los mecanismos mediados por anticuerpos. Ya en los primeros años 60 varios autores relacionaron el *rechazo hiperagudo* de alotrasplantes renales con la existencia de anticuerpos preformados en el suero del receptor frente a los linfocitos del donante²⁻⁵, un tipo de rechazo ya insinuado por la experimentación con xenoinjertos en décadas previas. En el campo del alotrasplante, estos antígenos fueron identificados progresivamente como pertenecientes al sistema sanguíneo ABO (conocidos por los trabajos de Landsteiner en 1901) o al Sistema Mayor de Histocompatibilidad (descubrimiento de Dausset en 1952). El estudio histológico de los injertos destruidos de forma prácticamente inevitable en minutos u horas tras la revascularización del trasplante en presencia de ADS reveló la presencia de un intenso infiltrado intersticial constituido por neutrófilos y trombos de fibrina en capilares, asociados en ocasiones con necrosis fibrinoide arterial. La ausencia de infiltrado mononuclear sugería una patogenia diferente de la atribuida al clásico «rechazo agudo celular».

Reflejo del interés que despertaban estos episodios y de la rápida evolución en el conocimiento de la relevancia clínica de los mecanismos humorales de rechazo mediados por anticuerpos antilinfocitarios, entre 1968 y 1970, *New England Journal of Medicine* publicó cuatro artículos sobre el tema⁴⁻⁷ (fig. 1). Las dos primeras publicaciones recogieron casos de *rechazos hiperagudos* en los que destacaban la presencia de neutrófilos en capilares peritubulares y glomerulares,

Correspondencia: Dr. M. Crespo Barrio
Hospital del Mar
Passeig Maritim, 25-29
08003 Barcelona
E-mail: mcrespo@imas.imim.es

datos que anticipaban algunas de las características histopatológicas de lo que hoy llamamos *rechazo agudo humoral*^{4,5}. En 1969, R. Patel y Pl. Terasaki publicaron un artículo sobre el «Significado del *crossmatch* positivo en el trasplante renal»⁶. Estos autores revisaron la experiencia acumulada durante cuatro años de varios centros de EE.UU. y observaron que aquellos pacientes que se trasplantaban con una prueba cruzada o *crossmatch* positivo, perdían el injerto de forma precoz (24/30 injertos) frente a aquellos que no tenían anticuerpos pretrasplante (8 pérdidas de 195 trasplantes). Con estos datos concluyeron que la presencia de anticuerpos citotóxicos contra el donante «parecía» ser una fuerte contraindicación para el trasplante. El último *New England Journal of Medicine* sobre este tema es del año 1970 y lo firma M. Jeannet con el grupo de trasplante de Boston⁷. Relata una revisión similar a la de Patel y Terasaki, pero ampliando el espectro de pacientes con aquellos receptores con prueba cruzada positiva y/o negativa pre-trasplante, que presentaban pruebas cruzadas positivas y/o negativas en las primeras semanas postrasplante. El análisis recogía un número de hasta 12 injertos perdidos de forma precoz en 16 pacientes, cuya prueba cruzada se positivizaba post-trasplante, frente a sólo dos pérdidas de 12 pacientes que mantenían una prueba cruzada negativa en todo momento. Esta es, por tanto, la primera publicación que sugiere que la aparición de ADS *de novo* post-trasplante implica un mal pronóstico para la supervivencia del injerto, y que el daño renal se caracteriza también en estos casos por una llamativa presencia de lesiones vasculares. Es la primera publicación que presenta de forma diferenciada casos de *rechazo hiperagudo* y de *rechazo agudo humoral*.

La aplicación de la compatibilidad ABO y la indicación de obtener pruebas cruzadas «negativas» pre-trasplante recomendada desde aquella época —es decir, la demostración de la ausencia de anticuerpos en el suero del receptor contra los linfocitos del donante— han hecho prácticamente desaparecer el *rechazo hiperagudo*. Sin embargo, aquellas experiencias iniciales permitieron conocer y describir con detalle los datos clínicos, inmunológicos e histológicos básicos de este tipo de rechazo, puramente humoral, en el riñón trasplantado.

LA HISTORIA MODERNA DEL RECHAZO AGUDO HUMORAL

Las claves esenciales

Durante los años 80, algunos grupos investigaron la relación entre la aparición de anticuerpos anti-HLA

post-trasplante, no siempre donante-específicos (es decir, estudio del porcentaje de anticuerpos frente a un panel heterogéneo de antígenos HLA (PRA) en lugar de usar pruebas cruzadas donante-específicas), y el pronóstico del injerto renal, utilizando técnicas distintas, sueros recogidos en distintos momentos post-trasplante y sólo en contadas ocasiones incluyendo valoración histológica⁸⁻¹². Muchos de estos estudios encontraron un peor pronóstico de los rechazos agudos asociados con la aparición de anticuerpos. Con estudios específicos, Martin y cols., mostraron que entre 50 pacientes que desarrollaban una prueba cruzada positiva post-trasplante, hasta un 67% de ellos perdían el injerto precozmente⁸. También Greger y cols., refirieron que de 36 de 87 receptores de trasplante renal cuyo *crossmatch* era positivo postrasplante, hasta un tercio de ellos perdían el injerto¹¹. Sin embargo, éstas y otras experiencias no buscaron marcadores específicos de rechazo humoral o rechazo mediado por anticuerpos, y en general no plantearon tratamientos claramente diferenciados de esta entidad.

Fue el grupo de P. Halloran el que a principios de los años 90 profundizó en el interés por los mecanismos humorales del rechazo y señaló que el rechazo agudo asociado con el desarrollo de ADS *de novo* es una entidad clínico-patológica que implica mal pronóstico^{13,14}. En una primera comunicación, estos autores describieron el curso clínico de siete pacientes que presentaron rechazo agudo mediado por anticuerpos frente a antígenos HLA de clase I del donante. Incluyeron cuatro enfermos que desarrollaron ADS *de novo* post-trasplante y tres enfermos con anticuerpos preexistentes no detectados en el estudio inmediato pre-trasplante, cuya disfunción no se comportó como *rechazo hiperagudo*. Los siete enfermos presentaron un rápido deterioro de la función del injerto durante la primera semana post-trasplante, con lesiones histológicas diferenciadas —sin infiltrado mononuclear o poco prominente— y un pésimo pronóstico (5/7 perdieron el injerto a pesar de tratamiento antilinfocitario)¹³. En un estudio prospectivo posterior compararon 13 receptores de trasplante renal con ADS anti-HLA de clase I *de novo* post-trasplante y 51 receptores sin anticuerpos. Las siguientes diferencias entre ambos grupos resultaron significativas: incidencia de rechazo (100% de los enfermos con ADS frente a sólo 41% de los receptores sin ADS), características clínicas del rechazo (aparición precoz, oliguria y necesidad de diálisis en los primeros), lesiones histológicas [daño endotelial en la microcirculación, infiltrado por neutrófilos en capilares peritubulares (CPT) o glomérulos y depósitos de fibrina en glomérulos o vasos] y pronóstico (5/13 injertos perdidos en el primer grupo y 2/51 en el segundo)¹⁴.

En la misma época, en Alemania, el grupo de H.E. Feutch realizaba estudios sobre el significado de la de-

tección de C4d en biopsias renales. Después de unos estudios iniciales en tejido renal de riñones nativos, se centraron en la detección de C4d en biopsias de injertos renales^{15,16}. Utilizando técnicas de inmunohistoquímica, fueron los primeros en evidenciar un depósito importante de C4d en vasos intersticiales, especialmente en CPT de injertos con rechazo agudo, fundamentalmente en enfermos hipersensibilizados pre-trasplante. La coexistencia de inmunoglobulinas y C4 binding-protein en varias de esas biopsias apoya una activación local del complemento mediada por anticuerpos¹⁵. Este grupo encontró una menor supervivencia a corto plazo de los injertos que mostraban depósitos de C4d en CPT durante los primeros meses post-trasplante frente a aquellos que no presentaban estos depósitos (57 *versus* 90%), y especularon que este marcador distinguiría «rechazos celulares puros» de «rechazos mixtos» con mecanismos humorales de lesión tisular¹⁶. En estudios consecutivos se centraron en la búsqueda de anticuerpos pre-trasplante que pudieran predecir el daño humoral, utilizando líneas celulares linfoblásticas^{17,18}, sin emplear sueros contemporáneos al momento de la biopsia. En definitiva, concluyeron que el hallazgo de C4d y/o la detección de anticuerpos anti-HLA pre-trasplante suponen un factor de riesgo y permiten resaltar mecanismos humorales de rechazo no detectables de otra manera. Sin embargo no detectaron anticuerpos donante-específicos post-trasplante, es decir, no completaron la caracterización de la entidad diagnóstica.

Los estudios de Boston

Desde mediados de los años 90, a partir de las publicaciones de Halloran, también el grupo de trasplante renal del Massachusetts General Hospital (MGH) de Boston retomó el interés por los mecanismos humorales de rechazo. A finales del año 1994, una joven receptora hipersensibilizada (PRA máximo con células T: 100%, PRA pre-trasplante con células T: 68%) con pruebas cruzadas negativas pre-trasplante (con células T y B, por citotoxicidad y citometría de flujo) y positivas el día 8 post-trasplante, había sufrido la pérdida precoz del injerto renal, a pesar de inducción con terapia antilinfocitaria. El estudio histológico mostraba importante infiltración por neutrófilos en CPT, además de rechazo agudo celular con endotelialitis. El grupo se interesó por la identificación de forma prospectiva de rechazos agudos severos refractarios al tratamiento habitual (tratamiento con corticoides y anticuerpos antilinfocitarios) con prueba cruzada positiva post-trasplante (con prueba cruzada negativa pre-trasplante), y presencia de neutrófilos en capilares peritubulares en la biopsia del injerto renal.

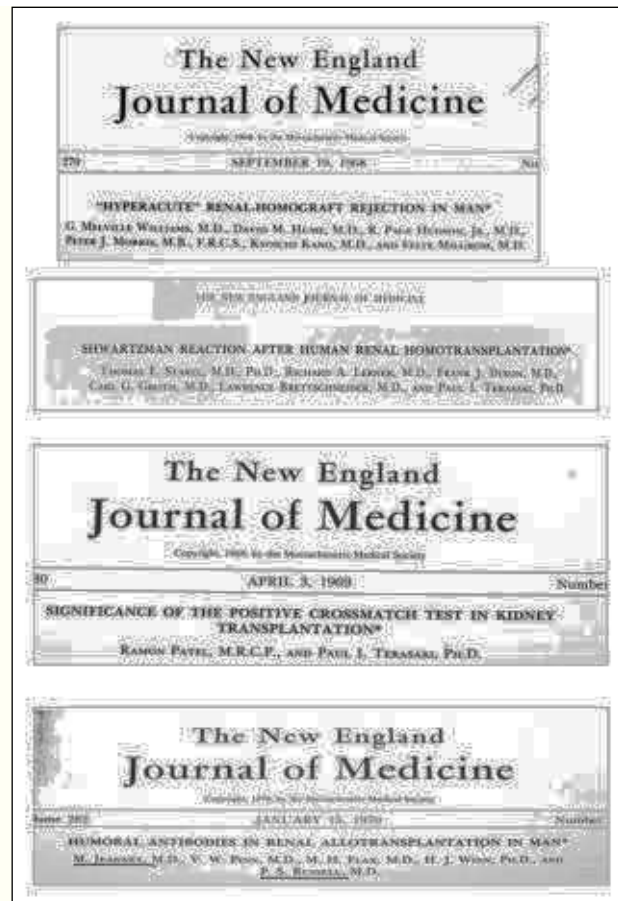


Fig. 1. —Varios titulares del *New England Journal of Medicine* que resaltan la importancia de los mecanismos humorales de rechazo en la época inicial de los trasplantes renales (años 60).

A raíz de aquella dramática pérdida de la paciente anterior, M. Pascual y cols., del MGH propusieron una estrategia diferenciada de tratamiento de este tipo de rechazo, cuya eficacia comunicaron con una primera serie de cinco pacientes publicada en 1998¹⁹. El tratamiento combinaba la realización de recambios plasmáticos y el rescate con los entonces nuevos fármacos inmunosupresores tacrolimus y micofenolato, complementados con la administración de dosis bajas de gammaglobulina policlonal (fig. 2). La respuesta a este tratamiento fue excelente y los cinco enfermos tratados presentaban una buena función renal entre 1 y 2 años post-trasplante (creatininas = 0,9-1,8 mg/dl).

Este mismo grupo de Boston decidió evaluar la posible correlación entre la presencia de C4d en CPT —sugerida su implicación en rechazos humorales por H. E. Feutch— y la presencia de ADS mediante prueba cruzada post-trasplante renal. R. Collins y cols., publicaron esta experiencia en el año 1999²⁰, en la que comparaban una serie de 16 biopsias de 10 pa-

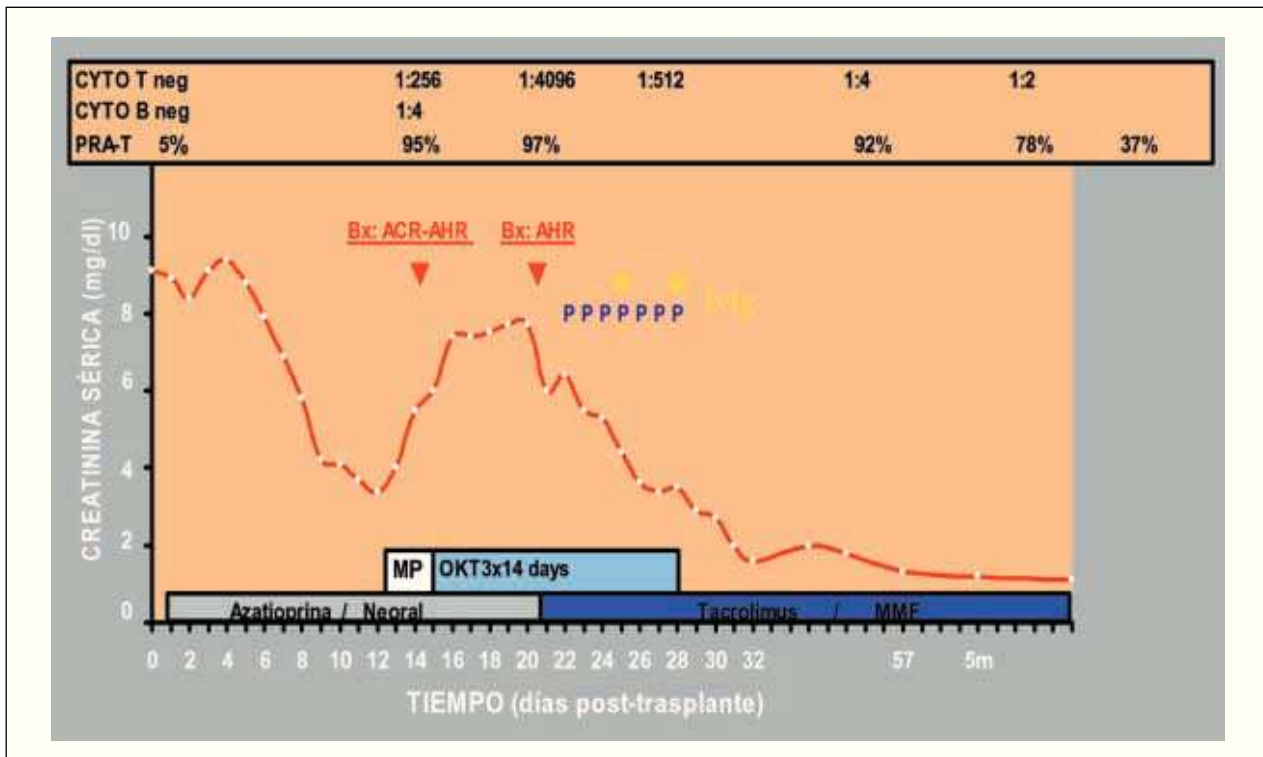


Fig. 2.—Esquema terapéutico en un caso de rechazo agudo humoral en la década de los años 90. Este caso incluyó la necesidad de conversión de la inmunosupresión basal a tacrolimus y micofenolato mofetil, junto con la realización de recambios plasmáticos y la administración de dosis bajas de gammaglobulina policlonal.

CYTO: prueba cruzada por citotoxicidad mediada por complemento. Bx: biopsia renal. ACR: rechazo agudo celular. AHR: rechazo agudo humoral. P: recambios plasmáticos. Ivlg: gammaglobulina policlonal. MP: metilprednisona.

cientes con diagnóstico prospectivo de *rechazo agudo humoral* (rechazo agudo refractario precoz con prueba cruzada positiva post-trasplante) con 24 biopsias de pacientes *sin rechazo humoral*. Las 16 biopsias de estos 10 pacientes con *rechazo agudo humoral* demostraban, por técnicas de inmunofluorescencia indirecta, C4d en capilares peritubulares de forma difusa y brillante; sólo una de las biopsias de los otros 24 pacientes presentaba estos depósitos. Por tanto, parecía que los depósitos difusos de C4d en capilares peritubulares demostrados por técnica de inmunofluorescencia indirecta suponían un buen marcador histológico de *rechazo agudo humoral* con los criterios básicos empleados entonces.

De forma consecutiva, entre los años 1999 y 2001, el grupo de Boston realizó una revisión sistemática de la población trasplantada entre los años 95 y 99 para evaluar si esta correlación entre C4d, anticuerpos anti-HLA donante-específicos y disfunción renal era sólida²¹⁻²³. Revisaron los datos clínicos, serológicos e histológicos de 232 trasplantes renales, seleccionando 81 pacientes que habían sufrido al menos un episodio de rechazo agudo durante los primeros tres meses post-

trasplante renal (fig. 3). Para el análisis realizado partiendo del punto de vista serológico, aquel grupo se dividió en dos subgrupos: 51 pacientes que habían sufrido un rechazo córtico-resistente y 30 pacientes que habían sufrido un rechazo córtico-sensible. Entre los 51 pacientes con rechazo córtico-resistente, 19 presentaban ADS (frente a antígenos HLA de clase I y/o II), es decir, prueba cruzada positiva post-trasplante, y 32 no tenían anticuerpos en los sueros post-trasplante. La biopsia por disfunción renal correspondiente a la época de la extracción del suero, mostró la presencia de C4d en 18 de los 19 pacientes con anticuerpos, y sólo en dos de los 32 pacientes sin anticuerpos. Dentro del grupo de 30 pacientes con rechazo agudo córtico-sensible que sirvió de grupo control, había sueros de hasta 27 pacientes y ninguno tenía anticuerpos post-trasplante. Sólo un paciente de este grupo tenía C4d en capilares peritubulares, pero desafortunadamente no se había recogido suero de este paciente para poder realizar el estudio de anticuerpos post-trasplante. En conclusión, la incidencia de *rechazo agudo humoral* estricto considerando los criterios clínicos, serológicos e histológicos, era de 18 de 232 pacientes (7,7%).

La definición actual

Los estudios previos, junto con la experiencia acumulada de forma consecutiva en otros centros europeos y de EE.UU.²⁴⁻²⁷, contribuyeron al afianzamiento de los criterios diagnósticos, de manera que en la Sexta Conferencia de Patología del Trasplante de Banff²⁸, cuyas conclusiones se publicaron en el año 2003, se consensó una definición de rechazo agudo mediado por anticuerpos o *rechazo agudo humoral* post-trasplante renal. Para etiquetar por tanto una disfunción aguda post-trasplante renal de *rechazo agudo humoral*, los criterios de esta definición son los siguientes:

1. Evidencia serológica de anticuerpos anti-HLA u otros anticuerpos antiendotelio donante-específicos (ABO, MICA, etc.)
2. Evidencia inmunopatológica de acción de los anticuerpos: presencia de C4d y/o, menos frecuentemente, presencia de inmunoglobulinas en capilares peritubulares o inmunoglobulinas y complemento en casos de necrosis fibrinoide-arterial.
3. Evidencia morfológica de lesión aguda en el tejido renal con datos histológicos de actividad.

Los criterios no se modificaron en la siguiente reunión del grupo en 2005, aunque existen múltiples estudios en marcha que tal vez incorporen matices en el futuro²⁹. La identificación del *rechazo agudo humoral* basada en estos criterios tiene una importancia práctica, puesto que en la actualidad contamos con estrategias eficaces para prevenirlo y/o tratarlo.

ALGUNOS DATOS FISIOPATOLÓGICOS DEL RECHAZO AGUDO HUMORAL MEDIADO POR ANTICUERPOS

Diversos estudios iniciales en el campo del trasplante experimental demostraron la presencia de un infiltrado de células mononucleares en injertos rechazados, así como la capacidad de provocar rechazo agudo con la transferencia de células linfoides^{30,31}. La incapacidad para producir rechazo en ratas timectomizadas en el periodo neonatal o ratas genéticamente atímicas estableció el papel crítico de los linfocitos T^{32,33}. Por otro lado, si bien los mecanismos por los cuales la inmunidad humoral producía la destrucción del injerto no estaban claros, algunos estudios proponían que la unión de los ADS a antígenos presentes en la pared vascular activaba la cascada del sistema del complemento con atracción de polimorfonucleares y plaquetas^{4,7}. Algunas experiencias de la época, que evidenciaron consumo de com-

plemento durante los episodios de rechazo agudo, apoyaban esta hipótesis³⁴. Estos y otros experimentos permitieron aclarar progresivamente muchos detalles de la respuesta celular inmunológica del huésped frente al aloinjerto, desencadenada por la identificación del mismo como «extraño», debido fundamentalmente a la existencia de los antígenos de histocompatibilidad (HLA en humanos).

Los linfocitos B, al transformarse en células plasmáticas, son capaces de sintetizar anticuerpos, es decir, inmunoglobulinas capaces de unirse de forma específica a otras moléculas concretas. En la reacción inmunológica post-trasplante la activación de las células B depende de tres tipos de señales. Por un lado, la unión del antígeno a la inmunoglobulina de membrana o receptor de la célula B (BCR), por otro una segunda señal que las células T envían a las células B a través de la interacción CD40 ligando-CD40 y finalmente la liberación de citoquinas por parte de los linfocitos T. Un proceso de apoptosis mantiene una regulación estrecha del desarrollo de las células B activadas y de memoria³⁵. Existe la posibilidad de que las células B puedan activarse sin la intervención de las células T en algunos casos de antígenos no proteicos.

Existen anticuerpos naturales producidos por linfocitos B primarios, como las isohemaglutininas frente al sistema ABO, sintetizadas sin contacto previo con el antígeno, y anticuerpos secundarios derivados de los linfocitos B de memoria, que requieren un contacto previo con el antígeno, como los anti-HLA. La aparición de anticuerpos anti-HLA se desencadena tras transfusiones de hematíes (no desleucotizadas), embarazos y trasplante de órganos, y también parece que algunas infecciones virales o vacunas son capaces de producir o modificar la sensibilización³⁶. Un segundo contacto con antígenos HLA presentes en un órgano puede por tanto desencadenar daño tisular. Los anticuerpos pueden producir este daño dependiendo de variables como especificidad, subclase, concentración, etc.³⁷. La lesión puede ser consecutiva a la activación del sistema del complemento (que produce contracción de músculo liso, quimiotaxis y fagocitosis) o a citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC: las células NK son capaces de destruir células recubiertas por anticuerpos sin intervención de las células T)³⁸.

El papel patogénico de los ADS y el complemento ha sido demostrado en animales. Un ejemplo precoz lo constituyen los experimentos de Winn y cols., que mostraron que injertos cutáneos de ratón en ratas inmunosuprimidas podían ser destruidos por la transfusión de antisueros específicos³⁹. Este fenómeno se abolía con el bloqueo del sistema del complemento en las ratas receptoras. Experiencias con ratas deficientes en complemento, que no sufrían rechazo hi-

peragudo tras la transfusión de ADS, a diferencia de las ratas control, apoyan también estos datos⁴⁰. En humanos existen múltiples ejemplos ya comentados del papel patogénico de la presencia de ADS pre-trasplante renal²⁻⁶, y de la lesión histológica asociada con infiltración por neutrófilos, trombosis, etc, y los estudios de la última década han confirmado la presencia de complemento en estos casos¹⁵⁻²⁹. La activación del complemento (lisis y liberación de anafilotoxinas) parece la responsable del reclutamiento celular y la lesión histológica. S. Sacks revisó recientemente, con motivo de la penúltima reunión de Banff, el papel potencial del complemento en el rechazo del injerto, en concreto el complemento producido por las células renales²⁹. Los experimentos de JR Pratt han demostrado que las células epiteliales e inflamatorias pueden producir a nivel local renal una parte importante de las fracciones del complemento⁴¹; y que la ausencia de la fracción C3 del complemento en receptores renales puede modular el rechazo y regular las células T⁴². Existen datos que permiten afirmar que el complemento ejerce un papel regulador del sistema inmune. Sin embargo, también es posible que el papel del complemento se ciña exclusivamente al de efector del daño mediado por anticuerpos en el *rechazo agudo humoral*.

Algunos autores continúan debatiendo la relevancia clínica de la aparición de ADS anti-HLA *de novo*, sobre todo debido al uso de diferentes técnicas en la detección de los ADS. T. C. Fuller y cols., hace unos años sugirieron que una prueba cruzada positiva por técnica directa (citotoxicidad mediada por complemento) pre-trasplante anticipa el rechazo hiperagudo por la presencia de suficiente cantidad y calidad de anticuerpos necesarios para fijar complemento. Sin embargo, opinaban que la detección de ADS por técnica indirecta (citometría de flujo o ELISA) se correlacionaría con la aparición de «rechazo agudo acelerado» o «rechazo agudo humoral», ya que estos anticuerpos ocasionarían citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC)⁴³. Planteaban que la detección de ADS por distintas técnicas puede reflejar diferentes mecanismos de daño mediado por anticuerpos. Sin embargo, las series del MGH de Boston y del Hospital Clínic de Barcelona han mostrado que sólo algunos pacientes trasplantados con pruebas cruzadas prospectivas negativas por citotoxicidad que sufrían *rechazo agudo humoral* post-trasplante renal tenían pruebas cruzadas positivas retrospectivamente por citometría de flujo^{22,44-46}. La mayor parte de los pacientes de nuestras series con *rechazo agudo humoral* tienen pruebas cruzadas negativas pre-trasplante por citotoxicidad y por citometría de flujo.

También en ese sentido, JC Scornik y cols., opinaban que el significado de la presencia de ADS podría de-

pende de la expansión clonal de células B existente en el receptor⁴⁷. Así, cuando la expansión clonal es mínima y la detección de ADS se obtiene sólo con citometría de flujo, el significado de la presencia de estos anticuerpos no implicaría mal pronóstico. Orientada hacia la confirmación de esos resultados abundaría nuestra experiencia en el diagnóstico sistemático del *rechazo agudo humoral* en Barcelona. Hemos observado al menos dos pacientes sin ADS pre o post-trasplante por citotoxicidad, pero con prueba cruzada por citometría de flujo débilmente positiva pre-trasplante y negativa post-trasplante, que presentaban depósitos difusos de C4d en biopsias post-trasplante sin necesidad de tratamiento específico (M. Crespo, datos no publicados).

Niveles bajos de anticuerpos podrían no activar el complemento lo suficiente como para contrarrestar las proteínas reguladoras presentes en la superficie de las células endoteliales⁴⁰. Otros autores sugieren que el daño mediado por ADS puede depender de la variabilidad inter e intra-individual en la expresión de los antígenos HLA del injerto⁴⁸.

En 2003, P. Halloran publicó datos acerca de modelos *knock-out* de trasplante que habían permitido a su grupo evaluar con detalle el proceso de rechazo de aloinjertos MHC (major histocompatibility, equivalente al HLA humano) idénticos o no, en ratones que mantenían un riñón propio y no recibían inmunosupresión^{29,49}. En estos ratones observaron tres tipos diferentes de lesión del injerto progresivas en el tiempo. Hacia el día 5 presentaban infiltración intersticial y en una segunda fase tubulitis, ambas totalmente dependientes de los linfocitos T (no se presentaban en *knock-outs*). El tercer tipo de lesiones aparecía hacia el día 21 post-trasplante y consistía en edema, congestión, necrosis y depósito de inmunoglobulinas. Estas últimas lesiones se encontraban ausentes en ratones *knock-out* para inmunoglobulinas y presumiblemente reflejan los efectos de los anticuerpos sobre el injerto. Este modelo muestra la tubulitis como principal lesión del injerto mediada por linfocitos T independientemente de la acción de anticuerpos. Sin embargo, la endotelialitis aparece como una combinación de efectos mediados por linfocitos T y por anticuerpos.

Hoy, muchos estudios anatómo-patológicos en trasplante renal y cardíaco respaldan el hecho de que el daño microvacular es el dato característico del rechazo mediado por anticuerpos, hiperagudo, agudo o crónico. La activación de las células endoteliales microvasculares y su muerte puede contribuir a la pérdida del injerto merced a la destrucción capilar, hemorragia intersticial o formación de microtrombos en el daño humoral agudo, o a la formación y progresión de cicatrices fibrosas en el *rechazo humoral crónico*⁵⁰.

INCIDENCIA

Estudios sistemáticos, como el realizado en Boston, y estudios prospectivos, como la serie estudiada en el Hospital Clínico de Barcelona, sugieren una incidencia de rechazo agudo humoral que oscila entre 2 y 10%^{22, 23, 46}. En Boston, entre el año 1994 y 1998, se identificaron 18 casos de rechazo agudo humoral de 232 trasplantes renales que recibieron inmunosupresión basal con esteroides, ciclosporina y azatioprina o micofenolato^{22, 23}. En el Hospital Clínico de Barcelona, entre el año 2002 y 2005, se diagnosticaron también 18 casos, pero de 505 trasplantes renales realizados, que recibieron mayoritariamente tratamiento inmunosupresor con tacrolimus y micofenolato⁴⁶. Esta incidencia corresponde al rechazo agudo humoral completo *sensu stricto*, cumpliendo todos los criterios expuestos. Sin embargo, existen series que han recogido únicamente la incidencia de aparición de ADS *de novo* post-trasplante o la presencia de depósitos de C4d en las biopsias renales y pueden ofrecer datos de incidencia algo diferentes. Por otro lado, la incidencia del rechazo agudo humoral, dados los factores de riesgo implicados en su aparición, puede variar de forma importante según el tipo de población trasplantada en cada centro, así como posiblemente según la inmunosupresión de inducción empleada.

La serie de Boston encontró que hasta el 30% de los pacientes con rechazo córtico-resistente cumplían criterios de *rechazo agudo humoral* (fig. 3)^{22, 23}. Un estudio reciente del grupo de Milwaukee presentado en el último Congreso Mundial de Trasplante de 2006, encontró ADS durante los primeros seis meses post-trasplante en el 9% de los pacientes, y en concreto en el 30% de los que sufrieron rechazo agudo⁵¹.

Entre los factores de riesgo, las series mejor descritas han demostrado que tanto la sensibilización pre-trasplante como la sensibilización máxima histórica elevadas y el hecho de recibir un re-trasplante son factores de riesgo de rechazo agudo humoral. Conviene sin embargo subrayar que las series de Boston y Barcelona demuestran que, si bien la mayor parte de los pacientes que sufrieron *rechazo agudo humoral* presentaban estos factores de riesgo, algunos pacientes no tenían evidencia alguna de sensibilización previa al trasplante y recibían un primer injerto renal^{22, 46}.

Análisis de la base de datos de trasplante de Estados Unidos (UNOS) o del Estudio Europeo Colaborativo han demostrado en múltiples ocasiones el efecto que la sensibilización pre-trasplante tiene en la supervivencia del injerto. Un estudio publicado en el año 2000 demostraba una vida media del injerto superior en aquellos pacientes no sensibilizados en comparación con los que tenían una tasa de PRA > 50%. Sin embar-

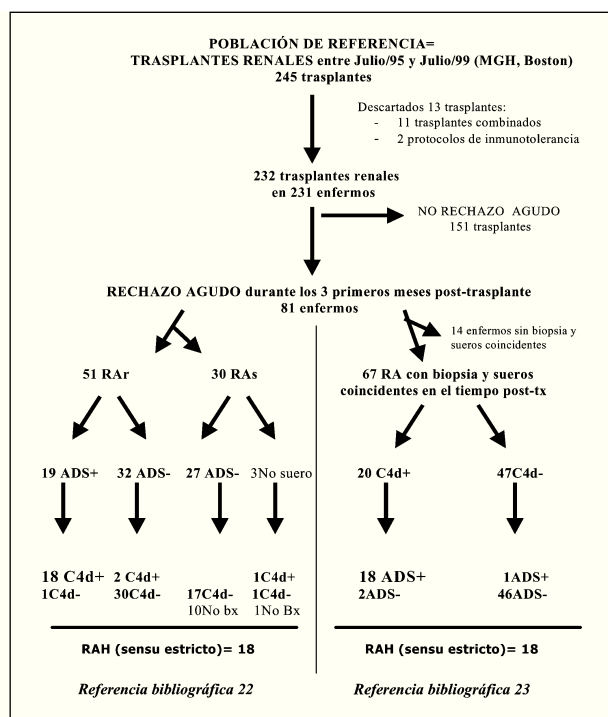


Fig. 3.—A finales de los años 90, el grupo de trasplante renal del Massachusetts General Hospital MGH de Boston propuso los siguientes criterios diagnósticos: disfunción renal grave, anticuerpos donante-específicos post-trasplante y depósitos de C4 en capilares peritubulares en la biopsia renal correspondiente. Este esquema muestra los datos de los estudios realizados allí entre 1998 y 2000 para evaluar la solidez de los criterios diagnósticos. RAr: rechazo agudo córtico-resistente; RAs: rechazo agudo córtico-sensible; ADS: anticuerpos donante-específicos; RAH: rechazo agudo humoral.

go, este efecto era muy potente en la supervivencia a 1 año, y leve en la supervivencia a 5 años (45% vs 0,4%). La tasa de PRA se correlacionaba también con la aparición de rechazos precoces, y consecutivamente con una peor supervivencia⁵².

Algunos estudios habían sugerido que la isquemia fría asociada a la realización de un trasplante renal de donante cadáver podía favorecer la aparición de rechazo agudo humoral. Sin embargo, diversos artículos han comunicado casos de rechazo agudo humoral en receptores de trasplante renal de vivo. Además, la revisión de una serie de 17 trasplantes renales de donante en asistolia realizada en el Hospital Clínico de Barcelona, mostró que sólo una de 22 biopsias renales realizadas en estos pacientes presentaba depósitos de C4d. La paciente con depósitos de C4d era una paciente hipersensibilizada que presentó también ADS *de novo* durante la primera semana post-trasplante renal y requirió tratamiento específico^{46, 53}.

Por otro lado, existen varias comunicaciones de casos de *rechazo agudo humoral* en un primer trasplante renal de vivo realizado de esposo a esposa,

en mujeres con embarazos previos de la misma pareja^{46,54}.

La sensibilización pre-trasplante es un dato que debe, por tanto, preocuparnos en nuestros pacientes en lista de espera. En España, alrededor de un 10% de los pacientes en lista de espera tienen una sensibilización muy elevada pre-trasplante (PRA > 75%) (datos de la ONT). Además, la pérdida de un injerto renal previo se está convirtiendo en una de las causas más frecuentes de vuelta a la lista de espera. Es decir, entre los pacientes que esperan un trasplante, cada vez más pacientes van a recibir un re-trasplante (fig. 4).

DATOS CLÍNICOS DE INTERÉS

El análisis de los datos clínicos relativos a pacientes con *rechazo agudo humoral* no permite, en líneas generales, apreciar criterios clínicos válidos para un diagnóstico diferencial, al margen de la refractariedad al tratamiento esteroideo y antilinfocitario, más frecuente en estos episodios que en los de rechazo agudo celular, y una peor supervivencia a corto y medio plazo con tratamiento convencional. En la serie de pacientes diagnosticados prospectivamente en el Hospital Clínico de Barcelona, hasta el 50% desarrollaron oligoanuria con necesidad de diálisis como reflejo de severidad del episodio⁵⁶. Esto implicó una estancia media de aproximadamente 45 días, claramente superior a la de los pacientes sin *rechazo agudo humoral*.

Aunque algunos estudios parecen sugerir que el *rechazo agudo humoral* tiende a presentarse de forma más precoz, ninguna serie ha demostrado que el día de inicio del rechazo sea significativamente diferente al de los rechazos agudos celulares. Dentro del cuadro de rechazo agudo que se presenta durante los tres primeros meses post-trasplante, existen tres formas clínicas de rechazo humoral^{55,56}. Hay un forma de *rechazo agudo humoral*, correspondiente al tradicionalmente denominado rechazo agudo acelerado, que se presenta habitualmente *durante la primera semana* con clínica de oligoanuria tras una inicial recuperación de la función renal después del trasplante renal. Esta forma suele ser consecuencia de la activación de mecanismos humorales puros, tal vez correspondientes a una respuesta anamnésica del receptor del injerto renal. Una segunda forma de presentación clínica prácticamente se confunde con el rechazo agudo clásico, puesto que se presenta a partir de *la primera semana post-trasplante* y suele combinar datos de rechazo agudo celular y *humoral* en la biopsia del injerto. Un pequeño porcentaje de pacientes, que podría oscilar entre el 0 y el 20%, podría presentar *rechazo agudo humoral* en forma de *función retrasada del injerto*, a

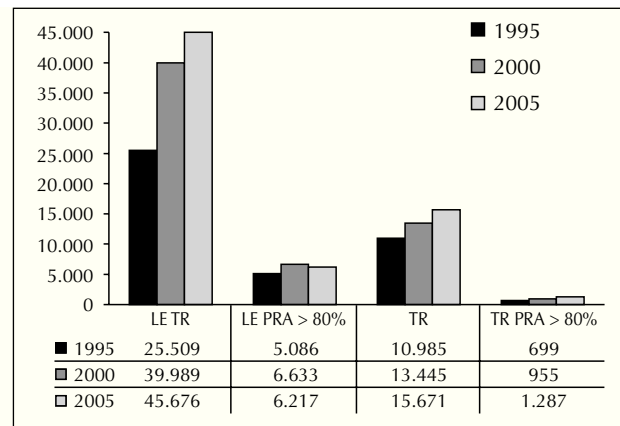


Fig. 4. — Datos del registro de trasplante de Estados Unidos (UNOS, datos de mayo de 2006). Se observa que el porcentaje de pacientes hipersensibilizados en lista de espera de trasplante renal no se traduce en un porcentaje similar de pacientes hipersensibilizados trasplantados. LE TR: Lista de espera trasplante renal. TR: Trasplante renal.

modo de necrosis tubular aguda. Se ha propuesto que esta función retrasada del injerto pudiera estar en relación con la presencia no detectada de ADS preformados pre-trasplante. Es difícil saber en cuáles de esos pacientes el daño humoral contribuye a la función retrasada del injerto, y en cuáles el *rechazo agudo humoral* se ha sumado a una necrosis tubular de otro origen. El análisis de UNOS antes mencionado también demostraba una correlación lineal entre los PRA y la función retrasada del injerto, además de relacionar esta con la vida media del injerto⁵².

La puesta en marcha de protocolos de desensibilización HLA y la consecutiva realización de trasplantes renales con prueba cruzada positiva influye en la presentación clínica del *rechazo agudo humoral*. De hecho, las publicaciones al respecto comunican una incidencia de *rechazo agudo humoral* muy superior a la de la población «general», especialmente durante la primera semana post-trasplante y frecuentemente sin datos de rechazo celular acompañante^{57,58}.

La difusión de los criterios diagnósticos y la sistematización de algunas técnicas, como el estudio de los depósitos de C4d en las biopsias renales post-trasplante, está ampliando el abanico de formas clínicas de presentación del *rechazo agudo humoral* fuera del periodo tradicionalmente considerado. Se han comunicado casos de *rechazo agudo humoral* coincidiendo con etapas de reducción excesiva de la inmunosupresión, en casos de mala adherencia al tratamiento o en protocolos de minimización de inmunosupresión o búsqueda de tolerancia (ensayos con Campath), así como tras el inicio de tratamiento con interferón⁵⁹⁻⁶¹. En la serie del Hospital Clinic de Barcelona, además,

hemos observado dos casos de disfunción aguda tardía (> 3 meses post-trasplante) acompañada de depósitos de C4d, pero sin ADS anti-HLA, que respondieron al tratamiento específico del *rechazo agudo humoral*. Estos casos podrían ser debidos a la participación de otro tipo de ADS, pero ese tema rebasa la intención de esta revisión.

TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

Hoy en día múltiples técnicas permiten estudiar la presencia en el suero del receptor de anticuerpos frente a los antígenos HLA del donante. Fundamentalmente se distingue entre técnicas directas e indirectas. Las primeras detectan anticuerpos capaces de fijar complemento y son variaciones de la técnica básica de linfocitotoxicidad (CDC o citotoxicidad dependiente de complemento)⁶². Se basan en la capacidad del suero del presunto receptor de lisar las células T y/o B del donante con la ayuda de complemento exógeno (de conejo), si contiene anticuerpos específicos frente a los antígenos HLA del donante. Las variaciones implican lavados de las células T y/o B del donante antes de añadir el complemento y/o prolongación de los tiempos de incubación, para mejorar la sensibilidad. Los lavados o el uso de ditiotreitól permiten distinguir si la lisis se debe a anticuerpos de tipo IgG o IgM.

Los métodos indirectos, como algunas variaciones de la linfocitotoxicidad (p. ej., aumentada con antiinmunoglobulina humana), la citometría de flujo o técnicas de enzoinmunoensayo, permiten detectar anticuerpos no fijadores de complemento, niveles bajos de anticuerpos anti-HLA o anticuerpos CDC negativos —absorción positivos (fenómeno CYNAP)⁶³⁻⁶⁴. La citometría de flujo detecta anticuerpos unidos a la membrana de células; usa IgG antiinmunoglobulina humana para detectar anticuerpos (IgG o IgM), y anticuerpos anti-CD3 y anti-CD19 para identificar células T y B respectivamente⁶⁵. Aunque muchos grupos de trabajo sugieren que la citometría de flujo es una técnica más sensible que la CDC, estas dos técnicas no están bien estandarizadas y los resultados varían entre distintos laboratorios⁶⁶. Las técnicas de enzoinmunoensayo (ELISA) también permiten detectar anticuerpos frente a antígenos HLA, pero al igual que la citometría de flujo, anticuerpos no necesariamente citotóxicos. El ELISA pone en evidencia anticuerpos unidos a antígenos HLA⁶⁷.

Si bien clásicamente se utilizaban técnicas de linfocitotoxicidad como método de *screening* de la presencia de anticuerpos anti-HLA pre-trasplante renal frente a un panel general (estudio de PRA), se han introducido también en este campo la citometría de

flujo y técnicas ELISA⁶⁷. El estudio de los PRA (tasa y especificidad) es una herramienta importante en el momento de seleccionar un receptor adecuado para un injerto, pero dada la dificultad para el almacenamiento y conservación de las células de los donantes, muchos equipos realizan estudios de PRA en el seguimiento post-trasplante.

Tanto la citometría de flujo como el ELISA pueden identificar anticuerpos frente a un antígeno antiHLA determinado, merced al uso de bolas portadoras de un antígeno HLA aislado o purificado. A lo largo de estos últimos años se han producido diversas novedades en el campo de la citometría de flujo y actualmente es el Luminex, basado en la técnica de citometría de flujo, el instrumento más utilizado para el estudio de anticuerpos post-trasplante en el periodo inicial o tardío dado que permite realizar múltiples estudios de especificidad de forma paralela con limitada cantidad de suero.

En definitiva, las tres técnicas aquí comentadas permiten realizar pruebas cruzadas donante-específicas y estudios de panel o de especificidad de anticuerpos (contra los antígenos HLA clase I ó II del donante), aunque la rentabilidad de ELISA en la realización de pruebas-cruzadas con células de donantes está aún en estudio. Es relevante saber que los talleres de control de calidad entre laboratorios europeos y americanos detectan leves diferencias entre las técnicas.

DETECCIÓN DE C4d

El marcador por excelencia del rechazo humoral es la fracción C4d del complemento. El C4d es una fracción del complemento que deriva de la activación de la vía clásica. Debido a la presencia de un grupo tioéster en su composición, se une de forma covalente a las membranas basales tubulares, y esto permite que permanezca en el tejido durante más tiempo de lo que permanecen otras fracciones del complemento⁶⁸. El primer estudio del grupo de Boston con técnicas de inmunofluorescencia para la detección de C4d, empleó también Ulex europeus aglutinina I para detectar células endoteliales y anticuerpo monoclonal anti-colágeno tipo IV para la membrana basal vascular. El C4d se distribuía con el colágeno tipo IV, es decir, en la membrana basal capilar de todos los CPT, incluso en zonas que no mostraban reactividad con Ulex europeus aglutinina I, sugiriendo que no todo el C4d se une al endotelio. Es decir, la destrucción del endotelio por daño humoral no elimina los depósitos de C4d y éste persiste si aún existe pared capilar. El fracaso en la detección de C3 o inmunoglobulinas en estos casos podría ser debido a modulación del sistema y/o a la desaparición de las células endoteliales objeto del daño²⁰.

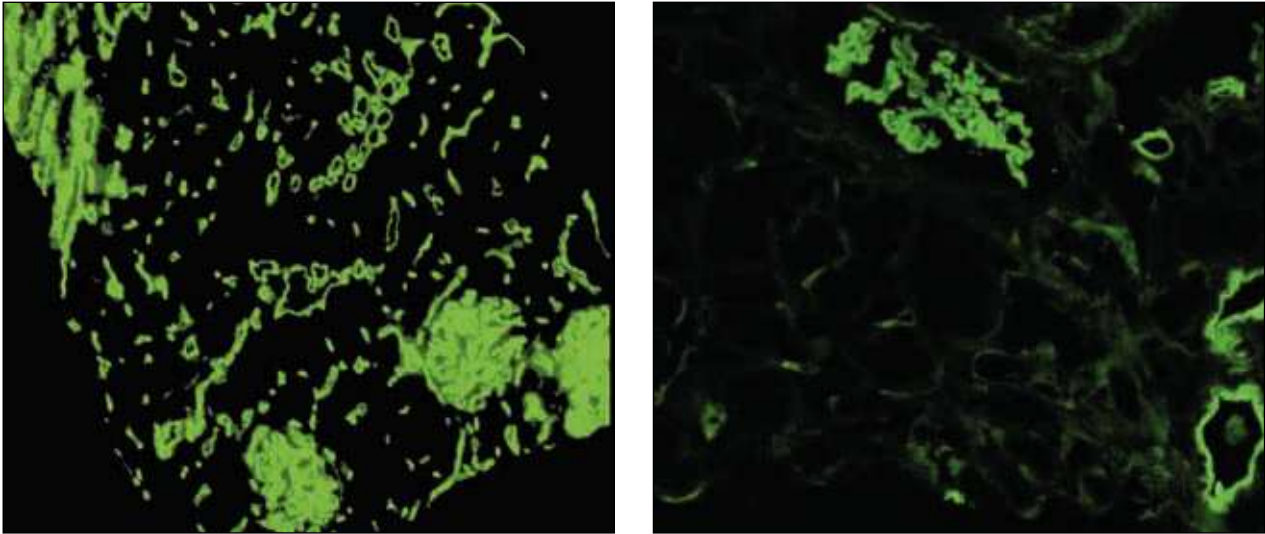


Fig. 5.—Tinción por técnica de inmunofluorescencia indirecta con un anticuerpo monoclonal antiC4d de muestras congeladas de biopsias renales. Muestra C4d positiva: la imagen izquierda muestra la presencia de depósitos difusos de C4d en capilares peritubulares. Muestra C4d negativa: la imagen derecha muestra depósitos inespecíficos de C4d en glomérulos. Imágenes del Dr. Manel Sole, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic de Barcelona.

La detección de C4d en capilares peritubulares de forma difusa y brillante por técnicas de inmunofluorescencia, permite realizar el diagnóstico de *rechazo agudo humoral* con una elevada sensibilidad y especificidad^{23,24,27} (fig. 5). Cuando se emplean anticuerpos monoclonales en estas técnicas, es posible detectar C4d de forma constante en los glomérulos —a nivel mesangial sobre todo, pero también en la membrana basal— y algunos vasos arteriolares de riñones normales, probablemente como vestigio de mecanismos fisiológicos de aclaramiento de inmunocomplejos²⁰.

También se puede realizar el estudio de detección de C4d en tejido renal, utilizando técnicas de inmunohistoquímica^{15-18,24-26}. Las técnicas de inmunohistoquímica pueden realizarse sobre tejido parafinado o muestra congelada. Los estudios realizados hasta el momento demuestran que la presencia de C4d en CPT detectados por inmunohistoquímica se correlaciona bien con el diagnóstico de *rechazo agudo humoral*, pero la presencia de C4d en glomérulos puede tener algún valor diagnóstico o pronóstico, puesto que con esta técnica los depósitos glomerulares no son constantes como ocurre con la inmunofluorescencia. Sólo un estudio del grupo de Regele y cols., de Viena con una serie corta de biopsias ha comparado la eficacia de la detección de C4d con técnica de inmunohistoquímica en muestra congelada y parafinada con anticuerpo policlonal y monoclonal frente a C4d. Este estudio concluyó que se puede emplear cualquiera de los dos tipos de anticuerpos para la detección de C4d por inmunohistoquímica en muestras

congeladas. Sin embargo, la detección de C4d por inmunohistoquímica en muestra parafinada en su experiencia sólo parecía posible utilizando anticuerpos policlonales²⁴. La experiencia reciente del equipo de trasplante renal del Hospital Insular de Las Palmas ha demostrado en varias biopsias renales la detección de C4d con anticuerpo monoclonal en muestra parafinada (datos pendientes de publicación). Son todavía necesarios estudios amplios que comparen ambas técnicas y los dos tipos de anticuerpos para extraer conclusiones definitivas.

En relación con la identificación de depósitos de C4 en biopsias de injertos renales, la sexta reunión de Banff concluyó²⁹:

- Dado su interés diagnóstico y las implicaciones terapéuticas, se debe sistematizar la detección de C4d en todas las biopsias de trasplante renal.
- El criterio de positividad cuando se estudian muestras congeladas con anticuerpos monoclonales con técnicas de inmunofluorescencia es la presencia de depósitos difusos y brillantes en CPT de la corteza o la médula, excluyendo áreas necróticas.
- El criterio de positividad cuando se estudian muestras parafinadas con anticuerpos policlonales es similar, sin embargo no es obligatorio que la tinción sea intensa. En estos casos, la detección de depósitos débiles o focales es sugestiva de *rechazo agudo humoral*, pero no definitiva; a veces, precede a una tinción difusa.

En relación con la sistematización del estudio del C4d, el estudio más amplio publicado hasta el momento es el estudio colaborativo de Mengel y cols.⁶⁹. Este grupo recogió la experiencia en la detección de C4d utilizando técnica de inmunohistoquímica con anticuerpo policlonal en 900 biopsias renales realizadas entre 12 y 77 semanas post-trasplante renal. Quinientos cincuenta y uno de aquellas biopsias eran de protocolo. Este estudio colaborativo multicéntrico detectó la presencia de depósitos difusos de C4d en capilares peritubulares en un 2% de las biopsias de protocolo, frente a un 12,2% de 377 biopsias renales realizadas por indicación clínica. El análisis de los datos demostró que la presencia de C4d era mayor en pacientes retransplantados cuando la biopsia se había realizado por protocolo; y más frecuente en pacientes con PRA > 30% en pacientes con biopsias indicadas por razones clínicas.

CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DEL RECHAZO AGUDO HUMORAL

En 1993, el grupo de Halloran analizó detalladamente las características histológicas del «rechazo mediado por anticuerpos» en la era previa al C4d, basándose en la clasificación de Banff de 1993^{70,71}. De 44 pacientes con rechazo agudo confirmado por biopsia según la clasificación de Banff, 24 habían desarrollado ADS post-trasplante y 20 no presentaban ADS. Encontraron una mayor incidencia de vasculitis severa y glomerulitis en los enfermos con ADS post-trasplante, así como una mayor presencia de trombos de fibrina, necrosis fibrinoide, dilatación de capilares peritubulares, infartos y, sobre todo, polimorfonucleares en CPT. No encontraron diferencias significativas en la detección de IgM, IgG, IgA, I, k, C1q, C3, C4, albúmina o fibrinógeno por inmunofluorescencia, ni en los hallazgos obtenidos con el microscopio electrónico.

El grupo de Boston, cuando estudió la correlación entre la presencia de C4d y de ADS post-trasplante, evaluó las características histológicas que se relacionaban mejor con la presencia de C4d²³. Para ello, seleccionó el subgrupo de 67 pacientes —de los 81 con sufrido rechazo agudo—, con biopsia y sueros contemporáneos. Comparó los 20 pacientes con depósitos C4d y los 47 sin depósitos (fig. 3). Encontró que algunas características histológicas se relacionaban mejor con la presencia de C4d, como la presencia de neutrófilos en CPT, así como la glomerulitis por neutrófilos. De aquel análisis merece la pena destacar el hecho de que hasta un 60% de los pacientes con depósitos con C4d presentaban tubulitis por células mononucleares a pesar de la presencia de C4d; es decir, que hasta en un 60% de los pacientes con

diagnóstico de rechazo agudo humoral en aquella serie presentaban datos de rechazo agudo celular coexistente. Series posteriores, como la nuestra del Hospital Clínico de Barcelona, sugieren una incidencia menor de rechazo agudo celular acompañando al rechazo humoral, probablemente dependiente de la inmunosupresión recibida^{46,54}. De cualquier manera, el diagnóstico de *rechazo agudo humoral* puede coexistir con otros (rechazo, «border-line», rechazo crónico, etc.)²⁸.

La clasificación de Banff reformada en 2001 incluye tres formas histológicas de presentación del rechazo agudo humoral²⁸:

1. Rechazo agudo humoral tipo necrosis tubular aguda con mínima inflamación y depósitos de C4d.
2. Rechazo agudo humoral con afectación capilar con marginación y/o trombosis a nivel capilar y depósitos de C4d.
3. Rechazo agudo humoral con afectación arterial, superponible al rechazo agudo Banff 3 clásico.

Múltiples estudios están progresivamente contribuyendo a un mejor conocimiento de las características histológicas del *rechazo agudo humoral*. Varios grupos proponen que la detección de C4d en CPT podría correlacionarse con el daño, la dilatación y la marginación de células inflamatorias en los capilares, así como con la detección de ADS en sueros^{28,29,72}. A. Magil ha sugerido que la infiltración por macrófagos podría ser útil en el diagnóstico de *rechazo agudo humoral*. La presencia de macrófagos en glomerulos túbulo-intersticio se asocia con los depósitos de C4d por un lado, y con una peor supervivencia del injerto^{29,74}. Los datos de M. Sarwal basados en estudios de rechazo agudo con microarrays apuntan a la importante participación de las células B/células plasmáticas en el rechazo del injerto con escasa correlación con la detección de C4d o ADS⁷⁵. Algunas series cortas apuntan la posibilidad de que la detección de C3d en las biopsias C4d positivas identifiquen casos de *rechazo agudo humoral* más severo. Existen muchas y prometedoras líneas de estudio abiertas.

ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS

La identificación del componente humoral en un episodio de rechazo agudo es muy importante clínicamente, y debe realizarse con agilidad, dado que tiene implicaciones terapéuticas inmediatas. Durante los años 80 y primeros 90, algunos grupos plantearon esquemas diferenciados de tratamiento de los recha-

zos vasculares (aquellos supuestamente mediados por mecanismos humorales), que incluían algunas estrategias actualmente incorporadas progresivamente a los protocolos actuales de tratamiento del *rechazo agudo humoral*. Hoy en día es posible conseguir la depuración los ADS de la circulación y un control efectivo de la producción de anticuerpos con resolución del rechazo^{19,21,45,46,76-81}. El mejor conocimiento de los mecanismos humorales sugiere que el tratamiento debe, por tanto, incluir tres pilares básicos: la eliminación de anticuerpos y otros mediadores del daño humoral, medidas que eviten la síntesis de nuevos anticuerpos y el control de la respuesta inmune (celular y humoral). La combinación de recambios plasmáticos o la inmunoadsorción, la gammaglobulina policlonal y la administración de tacrolimus y micofenolato se han empleado con éxitos en el tratamiento de *rechazos agudos humorales* resistentes al tratamiento esteroideo y antilinfocitario (fig. 2). Con mucha frecuencia, los casos de *rechazo agudo humoral* han recibido algún tipo de tratamiento con anticuerpos antilinfocitarios a modo de inducción post-trasplante dado el perfil de riesgo inmunológico previo⁴⁶. Lógicamente, siempre es importante evitar la pérdida del injerto debida a un rechazo agudo, pero en este contexto, y debido al perfil de riesgo mencionando, es si cabe más importante por las reducidas oportunidades de trasplante que tienen los enfermos sensibilizados con pérdidas de injertos previas (fig. 6).

Se están combinando herramientas poco habituales en trasplante junto con la priorización de algunos de los fármacos inmunosupresores habituales en trasplante.

Técnicas y productos menos comunes en la terapéutica del trasplante

En este apartado se incluirían los recambios plasmáticos, la inmunoadsorción, la gammaglobulina policlonal y el anticuerpo monoclonal rituximab. Los recambios plasmáticos para esta indicación se realizan sin o con mínima infusión de plasma fresco congelado, para poder disminuir en suero los componentes del sistema del complemento, además de reducir el título de anticuerpos. Algunos grupos han aplicado esta técnica o la inmunoadsorción, generalmente junto con la administración de ciclofosfamida, en enfermos hipersensibilizados pre-trasplante con algunos resultados positivos⁸²⁻⁸³. Cada vez más experiencias demuestran la eficacia del recambio plasmático o la inmunoadsorción en casos de *rechazo agudo humoral*^{19,22,45,84-87}. No existen estudios que hayan comparado la eficacia de la inmunoadsorción y los recambios plasmáticos en la eliminación de anticuerpos, si

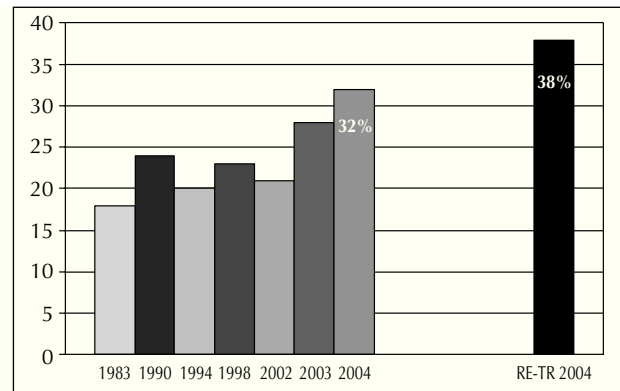


Fig. 6.—Evolución del porcentaje de pacientes con PRA máximos > 50% en la lista de espera del Hospital Clínic de Barcelona. Pacientes en espera de un trasplante en la época de nuestros estudios en rechazo agudo humoral.

bien esta última técnica aportaría la ventaja de aclarar otro tipo de proteínas y la desventaja de implicar la administración de albúmina, producto biológico de elevado coste.

La gammaglobulina policlonal tiene propiedades inmunomoduladoras, como bloqueo del sistema retículo-endotelial, inhibición del complemento y de la síntesis de anticuerpos. Diversos grupos han empleado dosis altas (1 ó 2 g/kg) de gammaglobulina aislada para tratar el *rechazo agudo humoral* con buenos resultados⁸⁸⁻⁹⁰. Un ensayo de desensibilización pre-trasplante multicéntrico doble ciego y randomizado demostró la capacidad de dosis altas de gammaglobulina frente a placebo de disminuir la tasa de PRA e incrementar las posibilidades de trasplante en pacientes hipersensibilizados⁹¹. Algunos grupos emplean dosis bajas de gammaglobulina en tratamiento de *rechazo agudo humoral* y lo hacen en combinación con recambios plasmáticos con objeto de evitar el rebote en la síntesis de anticuerpos y como medida de profilaxis antimicrobiana^{19,22,45}. Una publicación del grupo de trasplante de Mayo Clinic comparó la eficacia de los recambios plasmáticos vs la administración de gammaglobulina, pero en protocolos de desensibilización pre-trasplante realizados en el centro de forma secuencial desde 2000⁹². Encontraron una mayor eficacia de varias sesiones de recambios frente a una dosis alta pero única de gammaglobulina, pero ni los grupos de pacientes ni probablemente la frecuencia de aplicación de cada una de estas dos herramientas son comparables.

Más reciente ha sido la incorporación del rituximab en este campo. Este anticuerpo monoclonal quimérico anti-CD20, dirigido contra un antígeno presente en la mayoría de los linfocitos B, se introdujo en la clínica para el tratamiento de linfomas no Hodgkin de células

B. Se ha abierto un interrogante importante en relación con su utilidad en el campo de la inmunosupresión en el trasplante de órgano sólido. En trasplante renal, se ha aplicado en algunos protocolos de desensibilización; así como en la profilaxis del rechazo humoral en trasplantes ABO incompatibles o con prueba cruzada positiva pretrasplante⁹³⁻⁹⁵. Habitualmente se ha administrado en combinación con gamaglobulina, recambios plasmáticos o fármacos inmunosupresores con potencial inhibidor de la síntesis de anticuerpos. Por tanto, es difícil evaluar su papel. Algo semejante ha ocurrido con su uso en el tratamiento del rechazo agudo humoral. Se ha recurrido al rituximab como terapia de rescate en casos de rechazos agudos refractarios^{46, 95-98}. Nuestra experiencia en el Hospital Clínic de Barcelona recoge los beneficios potenciales de este anticuerpo en la resolución de episodios de *rechazo agudo humoral* resistentes al tratamiento con recambios plasmáticos. Entre 2002 y 2005, diagnosticamos 18 casos de *rechazo agudo humoral* (incidencia del 3,4%) durante los tres primeros meses post-trasplante. Diez casos de once respondieron a nuestro protocolo estándar de tratamiento del rechazo humoral con una mediana de 7 recambios plasmáticos. Los otros siete pacientes, refractarios al tratamiento, recibieron rituximab (2-4 dosis semanales de 375 mg/m²) con resolución del episodio⁴⁶.

Se desconoce el mecanismo o mecanismos por los que rituximab es eficaz en el tratamiento de diversas patologías mediadas por anticuerpos. La mayoría de las células plasmáticas directamente implicadas en la producción de anticuerpos carecen de antígeno CD20 y parecen disfrutar de una vida media larga, de manera que el efecto podría ser debido a la interacción de la expresión de los receptores de la membrana implicados en la activación de estos mecanismos⁹⁹. Existen estudios que muestran su eficacia en la inhibición de la producción de anticuerpos frente a antígenos nuevos, así como el cambio de isotipo¹⁰⁰. A pesar de los resultados prometedores, faltan ensayos clínicos controlados que justifiquen esta indicación y evalúen su seguridad en el campo del trasplante.

Algunos autores sugieren que distintos tipos de rechazo agudo humoral —en orden al tipo de células B involucradas en la lesión histológica— podrían beneficiarse de forma diferenciada de recambios plasmáticos/gamaglobulina policlonal o de rituximab. Es decir, que tal vez no debieran ser tratamientos complementarios, sino alternativos.

Fármacos inmunosupresores

Las medidas comentadas en el apartado anterior, orientadas a disminuir los niveles de anticuerpos por

debajo del umbral de actuación del complemento, podrían aumentar la citotoxicidad anticuerpo-dependiente, que es posible controlar con inmunosupresión convencional. Los fármacos inmunosupresores convencionales tienen por tanto dos objetivos en el tratamiento del *rechazo agudo humoral*: contribuir al control de los mecanismos humorales, pero también al control de las respuestas celulares.

Tradicionalmente en el contexto de patologías mediadas por anticuerpos se ha empleado la ciclofosfamida, pero actualmente ha sido sustituida por el micofenolato con un perfil de seguridad y eficacia más atractivo. Además de la significativa reducción en la incidencia de rechazo agudo demostrada en los grandes ensayos clínicos¹⁹, diversas experiencias han observado la capacidad de micofenolato mofetil de inhibir la producción de anticuerpos *in vivo* en comparación con placebo en receptores de trasplante renal tras vacunaciones o en receptores de trasplante que recibieron tratamiento con ATGAM o con OKT3^{102, 103}. Un estudio cooperativo internacional, que incluyó sueros obtenidos más de seis meses post-trasplante de 1.369 receptores de injertos renales, encontró una prevalencia inferior de anticuerpos antiHLA post-trasplante en pacientes en tratamiento con micofenolato en comparación con aquellos en tratamiento con azatioprina¹⁰⁴.

Tacrolimus podría jugar un papel en el control de las respuestas humorales, además del control de las celulares. Ha demostrado una mayor potencia inmunosupresora y significativa eficacia en el tratamiento de rechazos agudos córtico-resistentes y «rechazos vasculares»¹⁰⁵⁻¹⁰⁷. Existen algunas evidencias que atribuyen un mayor efecto sobre la producción de anticuerpos a tacrolimus en comparación con ciclosporina. Ambos fármacos pueden inhibir *in vivo* la producción de anticuerpos linfocitos T-dependiente, pero estudios *in vitro* revelan que la proliferación y producción de inmunoglobulinas por parte de células B son resistentes a estos fármacos^{108, 109}. Sin embargo, los efectos *in vivo* podrían ser diferentes. Algunas comunicaciones han mostrado una menor producción de anticuerpos anti-endotelio en receptores de un trasplante cardíaco que recibían tacrolimus frente a los que recibían ciclosporina¹¹⁰. También se ha objetivado una menor producción de anticuerpos anti-HLA *de novo* en receptores renales y cardíacos tratados con tacrolimus frente a ciclosporina^{111, 112}. Un estudio reciente demuestra una menor incidencia de ADS durante los primeros 6 meses post-trasplante en receptores de trasplante renal que reciben tacrolimus frente a aquellos sin el fármaco (7 vs 18%)⁵¹.

Existen estudios controvertidos en cuanto a la participación de los anticuerpos antilinfocitarios en el tratamiento o el desencadenamiento del *rechazo agudo*

humoral. El papel de otros anticuerpos monoclonales, otros fármacos inmunosupresores o de medidas orientadas al control de la activación del complemento exceden los objetivos de esta revisión.

REFLEXIONES AL HILO

Un mejor conocimiento y comprensión de los mecanismos humorales de rechazo del injerto, así como de su control, han estimulado la realización de trasplantes ABO incompatibles y de trasplantes con *crossmatch* o prueba cruzada positiva en el contexto de protocolos de desensibilización. En estos casos el incremento del título de hemaglutininas o de anticuerpos anti-HLA donante-específicos durante las primeras semanas después del trasplante pueden producir un cuadro clínico típico de rechazo agudo humoral con C4d en capilares peritubulares^{113,114}. Estos programas van a disparar la incidencia de *rechazo agudo humoral*, y el conocimiento del mismo.

Además, en algunas ocasiones la presencia de niveles bajos de hemaglutininas después de un trasplante ABO incompatible junto con la presencia de C4d en la biopsia pueden ocurrir sin alteración de la función del injerto renal, sugiriendo un posible estado de «acomodación», es decir un estado de tolerancia humoral, que junto con la tolerancia celular son los objetivos de la investigación en trasplante. Sin embargo, la presencia de C4d en injertos renales implantados con prueba cruzada positiva suele indicar la existencia de rechazo, haciendo más difícil la hipótesis de posibles estados de tolerancia o acomodación en caso de anticuerpos anti-HLA donante-específicos circulantes¹¹³. Estos datos sugieren una implicación clínica y pronóstica diferenciada según los anticuerpos implicados en la activación de mecanismos humorales de rechazo.

A pesar de que algunas de las primeras publicaciones sobre estrategias de tratamiento del rechazo agudo humoral sugerían una supervivencia de estos injertos similar a la general¹⁹, los estudios actuales sugieren con mayor frecuencia el desarrollo de rechazo crónico en estos casos¹¹⁴.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA, Taranto SE, McIntosh MJ, Stablein D: Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med* 342: 605-612, 2000.
2. Porter KA, Thomson WB, Owen K, Kenyon JR, Mowbray JF, Peart WS: Obliterative vascular changes in four human kidney homotransplants. *Br Med J* 5358: 639-45, 1963.
3. Kissmeyer-Nielsen F, Olsen S, Posborg Petersen V, Fjeldborg O: Hyperacute rejection of kidney allografts, associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells. *The Lancet* 1: 662, 1966.
4. Williams GM, Hume DM, Hudson RP Jr, Morris PJ, Kano K, Milgrom F: «Hyperacute» renal-homograft rejection in man. *N Engl J Med* 279 (12): 611-18, 1968.
5. Starzl TE, Lerner RA, Dixon FJ, Groth CG, Brettschneider L, Terasaki PI: Shwartzman reaction after human renal homotransplantation. *N Engl J Med* 278: 642-8, 1968.
6. Patel R, Terasaki PI: Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med* 280: 735, 1969.
7. Jeannot M, Pinn VW, Flax MH, Winn HJ, Russell PS: Humoral antibodies in renal allotransplantation in man. *N Engl J Med* 282: 111, 1970.
8. Martin S, Dyer PA, Mallick NP, Gokal R, Harris R, Johnson RWG: Post-transplant antibody production in relation to graft outcome. *Transplantation* 44 (1): 50, 1987.
9. Sumitran S, Forsberg I, Lindholm A, Lungren G, Moller E: Recipient sensitization against donor cells in pre- and/or post-transplantation sera is inversely correlated with graft survival. *Transplant Proc* 19: 1566, 1987.
10. Marcen R, Ting A, Taylor CJ, Miach PJ, Chapman JR, Morris PJ: Immunoglobulin class and specificity of lymphocytotoxic antibodies after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 3 (6): 809-13, 1988.
11. Greger B, Büsing M, Hebart H, Mellert J, Hopt UT, Luchard W: The development of a positive-specific cross-match after kidney transplantation is detrimental for the graft. *Transplant Proc* 21 (1): 750, 1989.
12. Scornik JC, Salomon DR, Lim PB, Howard RJ, Pfaff WW: Post-transplant antidonor antibodies and graft rejection. Evaluation by two-color flow cytometry. *Transplantation* 47 (2): 287, 1989.
13. Halloran PF, Wadgymar A, Ritchie S, Falk J, Solez K, Srinivasa NS: The significance of anti-class I antibody response. I. Clinical and pathologic features of anti-class I mediated rejection. *Transplantation* 49: 85, 1990.
14. Halloran PF, Schlaut J, Solez K, Srinivasa NS: The significance of anti-class I antibody response. II. Clinical and pathologic features of renal transplants with anti-class I-like antibody. *Transplantation* 53: 550, 1992.
15. Feucht HE, Felber E, Gokel MJ, Hillebrand G, Nattermann U, Brockmeyer C, Held E, Riethmüller G, Land W, Albert E: Vascular deposition of complement-split products in kidney allografts with cell-mediated rejection. *Clin Exp Immunol* 86 (3): 464-70, 1991.
16. Feucht HE, Schneeberger H, Hillebrand G, Burkhardt K, Weiss M, Riethmüller G, Land W, Albert E: Capillary deposition of C4d complement fragment and early graft loss. *Kidney Int* 43: 1333, 1993.
17. Lederer SR, Schneeberger H, Albert E, Johnson JP, Gruber R, Land W, Burkhardt K, Hillebrand G, Feucht HE: Early renal graft dysfunction. The role of preformed antibodies to DR- typed lymphoblastoid cell lines. *Transplantation* 61 (2): 313-9, 1996.
18. Feucht HE, Lederer SR, Kluth B: Humoral alloreactivity in recipients of renal allografts as a risk factor for development of delay graft function. *Transplantation* 65 (5): 757, 1998.
19. Pascual M, Saidman S, Tolkoff-Rubin N, Williams WW, Mauiyedi S, Ming Duan J, Farrell ML, Colvin RB, Cosimi AB, Delmonico FL: Plasma exchange and tacrolimus-mycophenolate rescue for acute humoral rejection in kidney transplantation. *Transplantation* 66 (11): 1460-1464, 1998.
20. Collins AB, Schneeberger EE, Pascual M, Saidman S, Williams WW, Tolkoff-Rubin N, Cosimi AB, Colvin RB: Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* 10: 2208-14, 1999.
21. Crespo M, Pascual M, Tolkoff-Rubin N, Duan JM, Fitzpatrick D, Collins AB, Cosimi AB, Colvin RB, Saidman S: De novo production of donor specific antibodies during acute renal allograft rejection. *Transplantation* 67 (7): S87(A), 1999.

22. Crespo M, Pascual M, Tolkoff-Rubin N, Mauiyyedi S, Collins AB, Fitzpatrick D, Delmonico FL, Cosimi AB, Colvin RB, Saidman S: Acute humoral rejection in renal allograft recipients: incidence, serology and clinical characteristics. *Transplantation* 71: 652-658, 2001.
23. S Mauiyyedi, M Crespo, AB Collins, EE Schneeberger, MA. Pascual, SL Saidman, NE Tolkoff-Rubin, WW. Williams, FL Delmonico A B Cosimi, RB Colvin: Acute Humoral Rejection in Kidney Transplantation: II. Morphology, Immunopathology and Pathologic Classification. *J Am Soc Nephrol* 13: 779-787, 2002.
24. Regele H, Exner M, Watschinger B, Wenter C, Wahrmann M, Osterreicher C, Saemann MD, Mersich N, Horl WH, Zlabinger GJ, Bohmig GA: Endothelial C4d deposition is associated with inferior kidney allograft outcome independently of cellular rejection. *Nephrol Dial Transplant* 16 (10): 2058-66, 2001.
25. Bohmig GA, Exner M, Habicht A y cols.: Capillary C4d deposition in kidney allografts: a specific marker of alloantibody-dependent graft injury. *J Am Soc Nephrol* 13: 1091-1099, 2002.
26. Herzenberg AM, Gill JS, Djurdjev O, Magil AB: C4d deposition in acute rejection: an independent long-term prognostic factor. *J Am Soc Nephrol* 13: 234-241, 2002.
27. Volker Nickeleit, Matthias Zeiler, Fred Gudat, Gilbert Thiel, Mihatsch MJ: Detection of the Complement Degradation Product C4d in Renal Allografts: diagnostic and Therapeutic Implications. *J Am Soc Nephrol* 13: 242-251, 2002.
28. Racusen LC, Colvin RB, Solez K y cols.: Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 3: 708-714, 2003.
29. Racusen, Lorraine C, Halloran, Philip F & Solez, Kim (2004) Banff 2003 Meeting Report: new Diagnostic Insights and Standards. *American Journal of Transplantation* 4 (10): 1562-1566.
30. Medawar PB: The behavior and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. *J Anat* 78: 176, 1944.
31. Billingham RE, Brent L, Medawar PB: Quantitative studies in tissue transplantation immunity: II. The origin, strength and duration of actively and adoptively acquired immunity. *Proc R Soc Lond (Biol)* 143: 58, 1954.
32. Miller JFAP: Role of the thymus in transplantation tolerance and immunity. En: Wolstenholme GEW, Cameron MP, eds. *Transplantation*. London: Churchill, 397, 1962.
33. Corley RB, Kindred B: *In vivo* responses of alloreactive lymphocytes stimulated *in vitro*: helper cell activity of MLR-primed lymphocytes. *Scand J Immunol* 6: 923, 1977.
34. Austen KF, Russell PS: Detection of renal allograft rejection in man by demonstration of a reduction in the serum concentration of the second component of complement. *Ann N Y Acad Sci* 129: 657-672, 1966.
35. Immunobiology of allograft rejection. En: Principles and practice of renal transplantation. BD Kahan and C Ponticelli. Ed: Martin Dunitz, pp. 41-89, 2000.
36. Roddy M, Clemente M, Poggio ED, Bukowski R, Thakkar S, Waxenecker G, Loibner H, Himmler G, Hricik DE, Heeger PS: Heterogeneous alterations in human alloimmunity associated with immunization. *Transplantation* 80 (3): 297-302, 2005.
37. Baldwin III WM, Sanfilippo F: Antibodies and graft rejection. *Transplantation Proc* 21: 605, 1989.
38. The complement system in humoral immunity. En: Immunobiology: the immune system in health and disease, 4th ed, edited by ChA. Janeway, P. Travers, M. Walport, with the assistance of JD. Capra, pp. 309-358, 1999.
39. Winn HJ, Baldamus CA, Jooste SV and Russell PS: Acute destruction by humoral antibody of rat skin grafted to mice. The role of complement and polymorphonuclear leukocytes. *J Exp Med* 137: 893-910, 1973.
40. Baldwin WM, Qian Z, Wasoska B, Sanfilippo F: Complement causes allograft injury by cell activation rather than lysis. *Transplantation* 67(11): 1498, 1999.
41. Pratt JR, Abe K, Miyazaki M, Zhou W, Sacks SH: *In situ* localization of C3 synthesis in experimental acute renal allograft rejection. *Am J Pathol* 157: 825-831, 2000.
42. Pratt JR, Basheer SA, Sacks SH: Local synthesis of complement component C3 regulates acute renal transplant rejection. *Nat Med* 8: 582-587, 2002.
43. Fuller TC, Fuller AA, Golden M, Rodey GE: HLA alloantibodies and the mechanism of the antiglobulin-augmented lymphocytotoxicity procedure. *Hum Immunol* 56 (1-2): 94-105, 1997.
44. Crespo M, Delmonico F, Saidman S, Tolkoff-Rubin N, Williams W, Colvin RB, Cosimi AB, Pascual M: Acute humoral rejection in kidney transplantation. *Graft* 3: 12-7, 2000.
45. Crespo M, Lozano M, Solé M, Milá J, Esforzado N, Martorell J, Oppenheimer F: Diagnosis and Treatment of Acute Humoral Rejection after Kidney Transplantation (AHR): a Preliminary Experience. *Transplant Proc* 35 (5): 1677-8, 2003.
46. Crespo M, Lozano M, Esforzado N y cols.: Risk factors to determine the need of rituximab for refractory acute humoral rejection after kidney transplantation. World Transplant Congress, Boston, July 2006.
47. Scornik JC, LeFor WM, Ciccirelli JC, Brunson ME, Bogaard T, Howard RJ Ackermann JR, Méndez R, Shires DL Jr, Pfaff WW: Hyperacute and acute kidney graft rejection due to antibodies against B cells. *Transplantation* 54 (1): 61-4, 1992.
48. Fuggle SV, Errasti P, Daar AS, Fabre JW, Ting A, Morris PJ: Localization of major histocompatibility complex (HLA-ABC and DR) antigens in 46 kidneys. Differences in HLA-DR staining of tubules among kidneys. *Transplantation* 35 (4): 385, 1983.
49. Jabs WJ, Sedelmeyer A, Ramassar V y cols.: Heterogeneity in the evolution and mechanisms of the lesions of kidney allograft rejection in mice. *Am J Transplant* 3: 1501-1509, 2003.
50. Shimizu A, Colvin RB: Pathological features of antibody-mediated rejection. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord* 5 (3): 199-214, 2005.
51. Rosenberger SL, Ellis TM, Zhu YR, Johnson CP: A low incidence of post-transplant donor-specific HLA antibody using modern immunosuppression and flow cytometry crossmatching. World Transplant Congress, Boston, July 2006.
52. Gjertson DW: Determinants of long-term survival of adult kidney transplants: a 1999 UNOS update. En: Cecka JM, Terasaki PI, eds. *Clinical Transplant 1999*. Los Angeles: UCLA Immunogenetics Center, pp. 341-352, 2000.
53. Crespo M, Sole M, Aróstegui JL, Milá J, Martorell J, Oppenheimer F. Diagnostic value of C4d in renal allograft biopsies in different clinical settings: absence of C4d in grafts from non-heart-beating-donors. *Transplantation Proceedings* 37 (9): 3688-9, 2005.
54. Crespo M, Oppenheimer F, Venetz JP, Pascual M: Treatment of humoral rejection in kidney transplantation. *Transplantation Reviews* 20 (2): 95-103, April 2006.
55. Baldwin WM, Halloran PF: Clinical syndromes associated with antibody in allografts. En: Racusen LC, Solez K, Burdick JF, eds. *Kidney transplant rejection*, 3rd Ed. New York: Marcel Dekker, 127, 1998.
56. Crespo M, Delmonico F, Saidman S, Tolkoff-Rubin N, Williams W, Colvin RB, Cosimi AB, Pascual M: Acute humoral rejection in kidney transplantation. *Graft* 3: 12-17, 2000.
57. Stegall MD, Gloor J, Winters JL, Moore SB, DeGoey S: A comparison of plasmapheresis versus high-dose IVIG desensitization in renal allograft recipients with high levels of donor specific alloantibody. *Am J Transplant* 6 (2): 346-51, 2006.
58. Gloor JM, DeGoey S, Ploeger N, Gebel H, Bray R, Moore SB, Dean PG, Stegall MD: Persistence of Low Levels of Alloantibody after Desensitization in Crossmatch-Positive Living-Donor Kidney Transplantation. *Transplantation* 78 (2): 221-227, July 27, 2004.

M. CRESPO y cols.

59. Hill P, Gagliardini E, Ruggenti P y cols.: Severe early acute humoral rejection resulting in allograft loss in a renal transplant recipient with Campath-1H induction therapy. *Nephrol Dial Transplant* 20: 1741-1744, 2005.
60. Weinstein D, Braun WE, Cook D y cols.: Ultra-late antibody-mediated rejection 30 years after a living-related renal allograft. *Am J Transplant* 5: 2576-2581, 2005.
61. Baid S, Tolkoff-Rubin N, Saidman S y cols.: Acute Humoral Rejection in Hepatitis C-Infected Renal Transplant Recipients Receiving Antiviral Therapy. *Am J of Transplantation* 3: 74-78, 2003.
62. Ting A: The lymphocytotoxic crossmatch test in clinical renal transplantation. *Transplantation* 35: 403-7, 1983.
63. Johnson AH, Rossen RD, Butler WT: Detection of alloantibodies using a sensitive antiglobulin microcytotoxicity test: identification of low levels of pre-formed antibodies in accelerated allograft rejection. *Tissue Antigens* 2 (3): 215-26, 1972.
64. Fuller TC, Phelan D, Gebel HM, Rodey GE: Antigenic specificity of antibody reactive in the antiglobulin-augmented lymphocytotoxicity test. *Transplantation* 34 (1): 24, 1982.
65. Iwaki Y, Cook DJ, Terasaki PI, Lau M, Terashita GY, Danovitch G, Fine R Ettenger R, Méndez R, Kavalich A y cols.: Flow cytometry crossmatching in human cadaver kidney transplantation. *Transplant Proc* 19 (1 Pt 1): 764-6, 1987.
66. Scornik JC, Bray RA, Pollack MS, Cook DJ, Marrari M, Duquesnoy R, Langley JW: Multicenter evaluation of the flow cytometry T-cell crossmatch: results from the American Society of Histocompatibility and Immunogenetics-College of American Pathologists proficiency testing program. *Transplantation* 63 (10): 1440-5, 1997.
67. Sumitran-Holgersson S: HLA-specific alloantibodies and renal graft outcome. *Nephrol Dial Transplant* 16 (5): 897-904, 2001 May.
68. Chakravarti DN, Campbell RD, Porter RR: The chemical structure of the C4d fragment of the human complement component C4. *Molecular Immunology* 24: 1187-1197, 1987.
69. Mengel M, Bogers J, Bosmans JL, Seron D, Moreso F, Carreira M, Gwinner W, Schwarz A, De Broe M, Kreipe H, Haller H, ESPRIT group: incidence of C4d stain in protocol biopsies from renal allografts: results from a multicenter trial. *Am J Transplant* 5 (5): 1050-6, 2005 May.
70. Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB Croker BP, Droz D, Dunnill MS, Halloran PF y cols.: International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 44 (2): 411, 1993.
71. Trpkov K, Campbell T, Pazderka F, Cockfield, Solez K, Halloran PF: Pathologic features of acute renal allograft rejection associated with donor-specific antibody. *Transplantation* 61 (11): 1586, 1996.
72. Michaels PJ, Fishbein MC, Colvin RB: Humoral rejection of human organ transplants. *Springer Semin Immunopathol* 25(2): 119-40, 2003 Sep.
73. Rotman S, Collins AB, Colvin RB: C4d deposition in allografts: current concepts and interpretation. *Transplant Rev* 19: 65-77, 2005.
74. Tinckam KJ, Djurdjev O, Magil AB: Glomerular monocytes predict worse outcomes after acute renal allograft rejection independent of C4d status. *Kidney Int* 68 (4): 1866-74, 2005.
75. Sarwal M, Chua MS, Kambham N, Hsieh SC, Satterwhite T, Masek M, Salvatierra O Jr: Molecular heterogeneity in acute renal allograft rejection identified by DNA microarray profiling. *N Engl J Med* 349 (2): 125-38, 2003.
76. Moll S, Pascual M: Humoral rejection of organ allografts. *Am J Transplant* 5: 2611-2618, 2005.
77. Montgomery RA, Zachary AA, Racusen LC y cols.: Plasmapheresis and intravenous immune globulin provides effective rescue therapy for refractory humoral rejection and allows kidneys to be successfully transplanted into cross-match positive recipients. *Transplantation* 70: 887-895, 2000.
78. Jordan SC, Quartel AW, Czer LSC y cols.: Posttransplant therapy using high-dose human immunoglobulin (intravenous gammaglobulin) to control acute humoral rejection in renal and cardiac allograft recipients and potential mechanism of action. *Transplantation* 66: 800-805, 1988.
79. Rocha PN, Butterly DW, Greenberg A y cols.: Beneficial effect of plasmapheresis and intravenous immunoglobulin on renal allograft survival of patients with acute humoral rejection. *Transplantation* 75: 1490-1495, 2003.
80. White NB, Greenstein SM, Cantafio AW y cols.: Successful rescue therapy with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin for acute humoral renal transplant rejection. *Transplantation* 78: 772-774, 2004.
81. Bohmig GA, Regele H, Exner M y cols.: C4d-Positive Acute Humoral Renal Allograft Rejection: Effective Treatment by Immunoabsorption. *J Am Soc Nephrol* 12: 2482-2489, 2001.
82. Higgins RM, Bevan DJ, Carey BS, Lea CK, Fallon M, Buhler R, Vaughan RW, O'Donnell PJ, Snowden SA, Bewick M, Hendry BM: Prevention of hyperacute rejection by removal of antibodies to HLA immediately before renal transplantation. *Lancet* 348: 1208, 1996.
83. Malik STA, Churcher P, Sweny Varghese, Fernando ON, Moorhead JF: Renal transplantation after removal of anti-HLA antibodies. *Lancet* 26: 185, 1984.
84. Pretagostini R, Berloco P, Poli L, Cinti P, Di Nicuolo A, De Simone P, Colonnello M, Salerno A, Alfani D, Cortesini R: Immunoabsorption with protein A in humoral rejection of kidney transplants. *ASAIO Journal* 42 (5): M645, 1996.
85. Madan AK: Slakey DP. Becker A. Gill JI. Heneghan JL. Sullivan KA. Cheng S. Treatment of antibody-mediated accelerated rejection using plasmapheresis. *Journal of Clinical Apheresis* 15(3): 180-3, 2000.
86. Bohmig GA, Regele H, Saemann MD, Exner M, Druml W, Kovarik J, Horl WH, Zlabinger GJ, Watschinger: Role of humoral immune reactions as target for antirejection therapy in recipients of a spousal-donor kidney graft. *Am J Kidney Dis* 35 (4): 667-73, 2000.
87. Bohmig GA, Regele H, Exner M, Derhartunian V, Kletzmayer J, Saemann MD, Horl WH, Druml W, Watschinger B: C4d-Positive Acute Humoral Renal Allograft Rejection: Effective Treatment by Immunoabsorption. *J Am Soc Nephrol* 12: 2482-2489, 2001.
88. Jordan SC, Quartel AW, Czer LSC, Admon D, Chen G, Fishbein M, Schwiager J, Steiner RW, Davies C, Tyan DB: Posttransplant therapy using high-dose human immunoglobulin (intravenous gammaglobulin) to control acute humoral rejection in renal and cardiac allograft recipients and potential mechanism of action. *Transplantation* 66 (6): 800-5, 1998.
89. Montgomery RA, Zachary AA, Racusen LC, Leffell MS, King KE, Burdick J, Maley WR and Ratner LE: Plasmapheresis And Intravenous Immune Globulin Provides Effective Rescue Therapy For Refractory Humoral Rejection And Allows Kidneys To Be Successfully Transplanted Into Cross-Match-Positive Recipients. *Transplantation* 70 (6): 887-895, 2000.
90. Casadei DH, Rial MC, Opelz G, Golberg JC, Argento JA, Greco G, Guardia OE, Haas E, Raimondi EH: A Randomized And Prospective Study Comparing Treatment With High-Dose Intravenous Immunoglobulin With Monoclonal Antibodies For Rescue Of Kidney Grafts With Steroid-Resistant Rejection. *Transplantation* 71 (1), 2001.
91. Jordan SC, Tyan D, Stablein D, McIntosh M, Rose S, Vo A y cols.: Evaluation of intravenous immunoglobulin as an agent to lower allosensitization and improve transplantation in highly-HLA sensitized adult patients with end stage renal disease: report of the NIH IG02 trial. *J Am Soc Nephrol* 15: 3256-3262, 2004.
92. Stegall M, Gloor J, Winters J, Moore S, DeGoey S: A comparison of plasmapheresis versus high-dose IVIG desensitization in renal allograft recipients with high levels of donor specific antibody. *Am J Transplant* 6: 346-351, 2006.

93. Vieira CA, Agarwal A, Book BK y cols.: Rituximab for reduction of anti-HLA antibodies in patients awaiting renal transplantation: 1. Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics. *Transplantation* 77: 542-548, 2004.
94. Tyden G, Kumlien G, Fehrman I: Successful ABO-incompatible kidney transplantations without splenectomy using antigen-specific immunoadsorption and rituximab. *Transplantation* 76: 730-731, 2003.
95. Gloor JM, DeGoey SR, Pineda AA y cols.: Overcoming a positive crossmatch in living-donor kidney transplantation. *Am J Transplant* 3: 1017-1023, 2003.
96. Aranda JM Jr, Scornik JC, Normann SJ y cols.: Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) therapy for acute cardiac humoral rejection: a case report. *Transplantation* 73: 907-10, 2002.
97. Garret HE, Groshart K, Duval-Searman D y cols.: Treatment of acute humoral rejection with rituximab. *Annals Th Surg* 74: 1240-1242, 2002.
98. Crespo M, Arostegui JJ, Esforzado N y cols.: A liver graft does not always protect a kidney graft from acute humoral rejection in combined transplantation. *Transplant Int* 18 (Supl. 1): 44, 2005.
99. Tokunaga M, Fujii K, Saito K, Nakayamada S, Tsujimura S, Nawata M, Tanaka Y: Down-regulation of CD40 and CD80 on B cells in patients with life-threatening systemic lupus erythematosus after successful treatment with rituximab. *Rheumatology* 44 (2): 176-82, 2005.
100. Bearden CM, Agarwal A, Book BK y cols.: Rituximab inhibits the *in vivo* primary and secondary antibody response to a neoantigen, bacteriophage phiX174. *Am J Transplant* 5: 50-57, 2005.
101. The Mycophenolate Mofetil Renal Refractory Rejection Study Group. Mycophenolate mofetil for the treatment of refractory, acute, cellular renal transplant rejection. *Transplantation* 61 (5): 722, 1996.
102. Kimball JA, Pescovitz MD, Book BK, Norman DJ: Reduced human IgG anti-ATGAM antibody formation in renal transplant recipients receiving mycophenolate mofetil. *Transplantation* 60: 1379, 1995.
103. Broeders N, Martin Wissing K, Crusiaux A, Kinnaert P, Vereerstraten P, Abramovicz D: Mycophenolate mofetil, together with Cyclosporine A, prevents anti-OKT3 antibody response in kidney transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 9: 1521, 1998.
104. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant* 4 (3): 438-43, 2004 Mar.
105. Jordan ML, Naraghi R, Shapiro R, Smith D, Vivas CA, Scantlebury VP, Gritsch HA, McCauley J, Randhawa P, Demetris AJ, McMichael J, Fung JJ, Starzl TE: Tacrolimus rescue therapy for renal allograft rejection-five-year experience. *Transplantation* 63 (2): 223-8, 1997.
106. Ahsan N, Holman MJ, Katz DA, Abendroth CS, Yang HC: Successful reversal of acute vascular rejection in a renal allograft with combined mycophenolate mofetil and tacrolimus as primary immunotherapy. *Clinical Transplantation* 11 (2): 94, 1997.
107. Behr TM, Richter K, Fischer P, Spes CH, Meiser B, Reichart B, Pongratz D, Feucht H, Theisen K, Angermann CE: Incidence of humoral rejection in heart transplant recipients treated with tacrolimus or cyclosporine A. *Transplant Proc* 30 (5): 1920-1, 1998 Aug.
108. Propper DJ y cols.: FK-506 - its influence on anti-class I MHC alloantibody response to blood transfusions. *Transplantation* 50: 267-71, 1990.
109. Stevens C y cols.: The effects of immunosuppressive agents on *in vitro* production of human immunoglobulins. *Transplantation* 51: 1240-4, 1991.
110. Jurcevic S, Dunn MJ, Crisp S, Busing K, Rinaldi M, Pellegrini C, Yacoub MH, Vigano M, Banner NL, Rose ML: A new enzyme-linked immunosorbent assay to measure anti-endothelial antibodies after cardiac transplantation demonstrates greater inhibition of antibody formation by tacrolimus compared with cyclosporine. *Transplantation* 65 (9): 1197-202, 1998.
111. Langton A y cols.: Anti-HLA antibodies after renal transplantation: a comparison of tacrolimus and cyclosporine monotherapy. Presented at the British Transplant Society 2nd Annual Congress, Edinburgh, 1999.
112. Kobashigawa JA y cols.: First year results of a randomized trial of tacrolimus vs Neoral cyclosporine in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 19(1) (abstract 37), 2000.
113. Haas M, Rahman MH, Racusen LH y cols.: C4d and C3d staining in biopsies of ABO and HLA-incompatible renal allografts: correlation with histologic findings. *Am J Transplant* 6: 1829-1840, 2006.
114. Gloor JM, Cosio FG, Rea DJ y cols.: Histologic findings one year after positive crossmatch or ABO blood group incompatible living donor kidney transplantation. *Am J Transplant* 6: 1841-1847, 2006.

