

# La neopterina sérica como parámetro bioquímico del rechazo en el trasplante renal

L. M. Ruiz Muñoz, C. de la Fuente \*, M. González, E. Canga, J. A. Zubimendi, A. L. M. de Francisco, J. M. Carril \* y M. Arias

\* Servicios de Nefrología y Medicina Nuclear. Hospital Nacional Marqués de Valdecilla. Santander.

## RESUMEN

Se evaluó la utilización de la neopterina sérica (N), determinada mediante RIA (nmol/l.), como marcador inmunológico del rechazo en 39 pacientes con edades entre diez y sesenta años. Se estudiaron un total de 229 muestras de sueros, almacenados previamente a  $-20$  grados centígrados. Hubo una media de cinco determinaciones secuenciales por sujeto, la mayoría en el primer mes de evolución. Se confrontaron dos grupos controles: 17 pacientes en hemodiálisis periódica y 22 personas sanas. Sus valores promedios fueron, respectivamente,  $113,68 \pm 1,80$  y  $2,57 \pm 1,30$  nmol/l. Quince de los trasplantes evolucionaron sin rechazo, objetivándose en ellos una tendencia a descender la N sérica a valores cercanos a los del grupo control sano ( $23,44 \pm 9,53$  nmol/l. en período estable en función renal). Dieciocho sujetos tuvieron un curso con rechazo agudo tratado con esteroides. En ellos la N sérica tiende a subir en relación con las crisis de rechazo ( $84,61 \pm 36,10$  nmol/l.). Seis pacientes con curso irreversible por rechazo vascular que abocaron a trasplantectomía no experimentaron claro descenso de la N sérica. En las situaciones de NTA existe también persistencia de altos niveles séricos de N. Situaciones inmunopatogénicas ajenas al rechazo (un caso de CMV y otro de TBC en nuestro estudio) provocan respuestas de producción de N que permiten afirmar que esta sustancia medida en suero no es un mero reflejo de la función renal.

Las mediciones diarias de N sérica por RIA pueden ser útiles en la monitorización del trasplante renal, reflejando estados de activación inmunológica y permitiendo constatar efectos beneficiosos del tratamiento antirrechazo. Su valor, con todo, merece matizarse ante situaciones de NTA y ante la coincidencia de posibles infecciones oportunistas.

Palabras claves: **Neopterina. Trasplante renal. Rechazo.**

## SERUM NEOPTERIN AS A BIOCHEMICAL MARKER OF RENAL TRANSPLANT REJECTION

### SUMMARY

We studied the use of serum Neopterin (sN) measured by RIA (nmol/l.) as an immunological marker of rejection in 39 patients (16-60 years old). A total of 229 serum samples previously stored at  $-20^{\circ}$  C were evaluated. There was a mean of 5 serial measurements per patient, most of them during the first month posttransplant. Results were compared with two control groups: 17 haemodialysis patients (mean  $\pm$  SD =  $113.68 \pm 41.80$  nmol/l.) and 22 healthy individuals ( $2.57 \pm 1.30$  nmol/l.). 15 transplant recipients had a postoperative course without rejection showing a progressive drop in sN values near to healthy controls. They showed in a stable period of renal function a mean of  $23.44 \pm 9.53$  nmol/l. Eighteen patients suffered

Correspondencia:  
Dr. D. M. Arias.  
Hospital Nacional Marqués  
de Valdecilla.  
Santander.

Recibido: 27-XI-86.  
Versión definitiva: 23-I-87.  
Aceptado: 23-I-87.

*acute rejection during the immediate posttransplant period and were treated with steroid pulses. In all of them sN increased when rejections occurred to a mean of  $84.61 \pm 36.10$  nmol/l. Finally, 6 transplant recipients who had an irreversible vascular rejection needing graft nephrectomy, did not show a decrease in sN. There were also high sN values when oliguric acute tubular necrosis (ATN) happened. Endogenous N production was also evident when oportunist infections occurred (1 case of CMV and another of TB) so that we could assume that sN was not merely and expression of renal function.*

*We conclude that sN daily measurements can be a useful marker in the monitoring of renal transplantation, showing immunological activation states and successful responses to antirejection therapy. However, its value must be carefully considered when ATN and immunological entities different from rejection could be present.*

**Key words: Neopterin. Renal transplant. Rejection.**

## Introducción

La inducción de una respuesta inmune frente al injerto conlleva la activación de células T-helper. Dichas células liberan diversas linfoquinas e interferones. Se ha demostrado en los sobrenadantes de cultivos de monocitos y macrófagos la presencia de neopterin (N), un metabolito de la guanosina-trifosfato<sup>1, 2</sup>. La secreción de N por estos grupos celulares parece inducirse por el interferón-gamma<sup>3, 4</sup>. La irradiación o la adición de ciclosporina a estos cultivos celulares anula la excreción de N<sup>1, 2</sup>.

El interferón es una sustancia que sólo puede detectarse en altas concentraciones en sus sitios de producción, mientras que la N puede penetrar fácilmente a los diferentes compartimientos tisulares y líquidos corporales<sup>8</sup>.

Considerando estas bases, diferentes equipos han evaluado el uso de las determinaciones de N (en sangre y/o orina) como marcador bioquímico del rechazo en el trasplante renal<sup>6-12</sup> y como indicador de la reacción injerto contra huésped en el trasplante de médula ósea<sup>5</sup>.

Exponemos aquí nuestra experiencia con un estudio retrospectivo de cuantificaciones de neopterin sérica en el postoperatorio inmediato de 39 trasplantes renales.

## Material y métodos

Se estudiaron los niveles séricos de neopterin (N) mediante un método comercial de radioinmunoensayo en una población de 39 pacientes con trasplante renal de cadáver efectuados en los años 1985-1986, cuyas edades estaban comprendidas entre diez y sesenta años. Se evaluaron retrospectivamente un total de 229 muestras de suero almacenado a -20

grados centígrados. Existió un promedio general de cinco determinaciones secuenciales por cada sujeto, la mayoría de ellas efectuadas dentro del primer mes de evolución del trasplante.

Se confrontaron dos grupos controles de edades similares: 22 personas sanas y 17 pacientes en hemodiálisis periódica, con una estancia media en programa de tres años.

Quince de los pacientes trasplantados no presentaron rechazo (grupo I); otro grupo de 18 pacientes venía definido por la incidencia en ellos de crisis de rechazo agudo, tratados en primera instancia con bolus de esteroides (grupo II). Finalmente, los seis restantes sujetos presentaron un rechazo vascular irreversible, precisando trasplante dentro del primer mes (grupo III).

Se valoraron tres determinaciones de niveles de N fundamentales:

1. Niveles basales (NB): en muestras correspondientes a alguno de los tres primeros días del trasplante.

2. Niveles de rechazo (NR): valores más altos alcanzados durante la evidencia clínica de crisis de rechazo, existiendo en la mayoría de las ocasiones una tendencia previa al descenso de la N sérica.

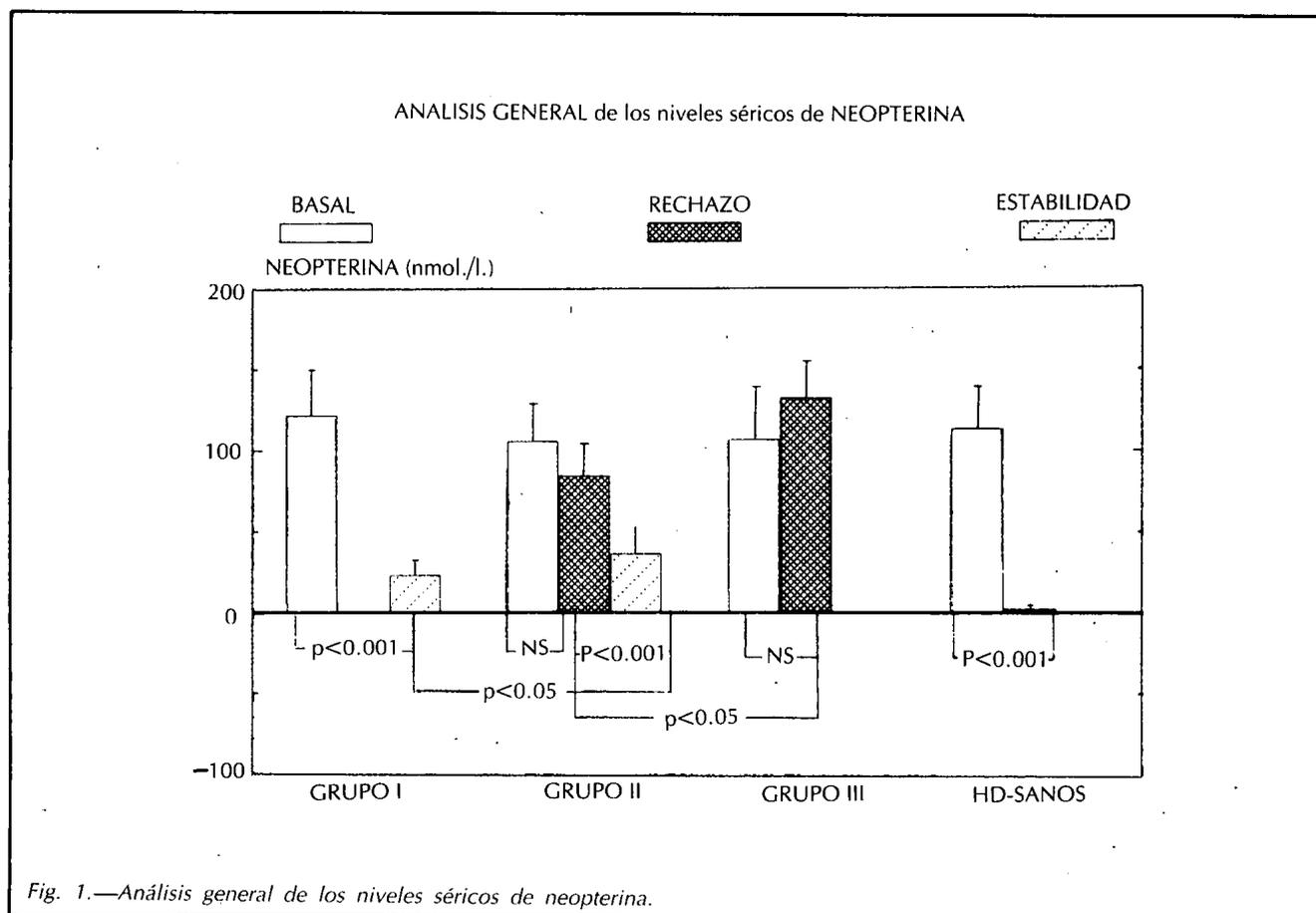
3. Niveles de período estable (NE): los alcanzados con más de un mes de evolución del trasplante con función renal estable y tras cese de los tratamientos eventuales con bolus de esteroides.

La significación estadística fue determinada mediante el test de la t de Student.

## Resultados

*Valores de neopterin en controles (tabla I) (fig. 1):*

Los 22 pacientes del grupo sano (S) mostraban



**Tabla I.** Valores medios globales de neopterina sérica en los diferentes grupos (NB = niveles basales. NR = niveles en rechazo. NE = niveles en período estable). Las cuantificaciones se valoran en nmol/l.

	NB	NR	NE
Grupo I .....	122,20 ± 45,92		23,44 ± 9,53
Grupo II .....	106,20 ± 40,42	84,61 ± 36,10	36,75 ± 24,42
Grupo III .....	107,31 ± 49,75	132,77 ± 35,95	

	Sanos	HD
Controles .....	2,57 ± 1,30	113,68 ± 41,80

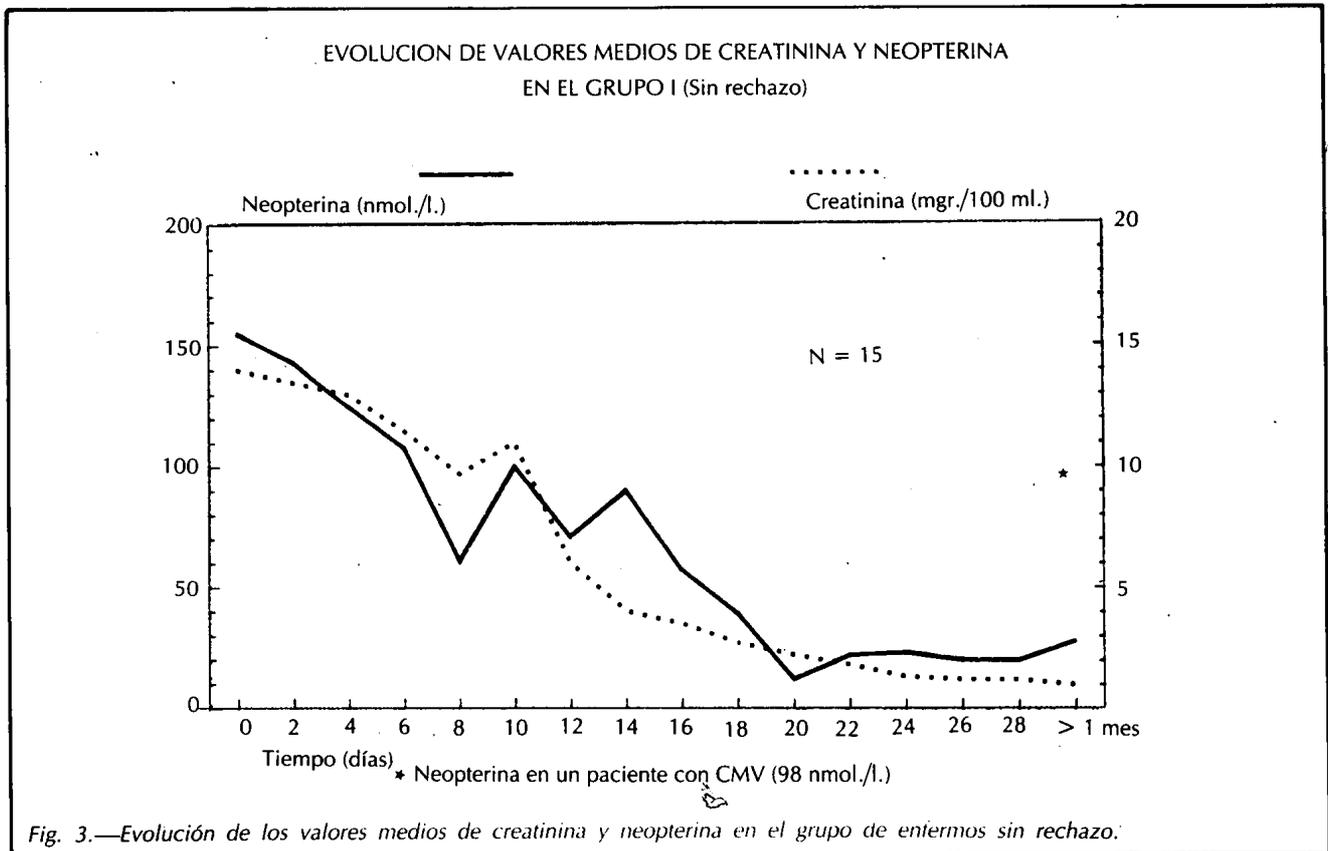
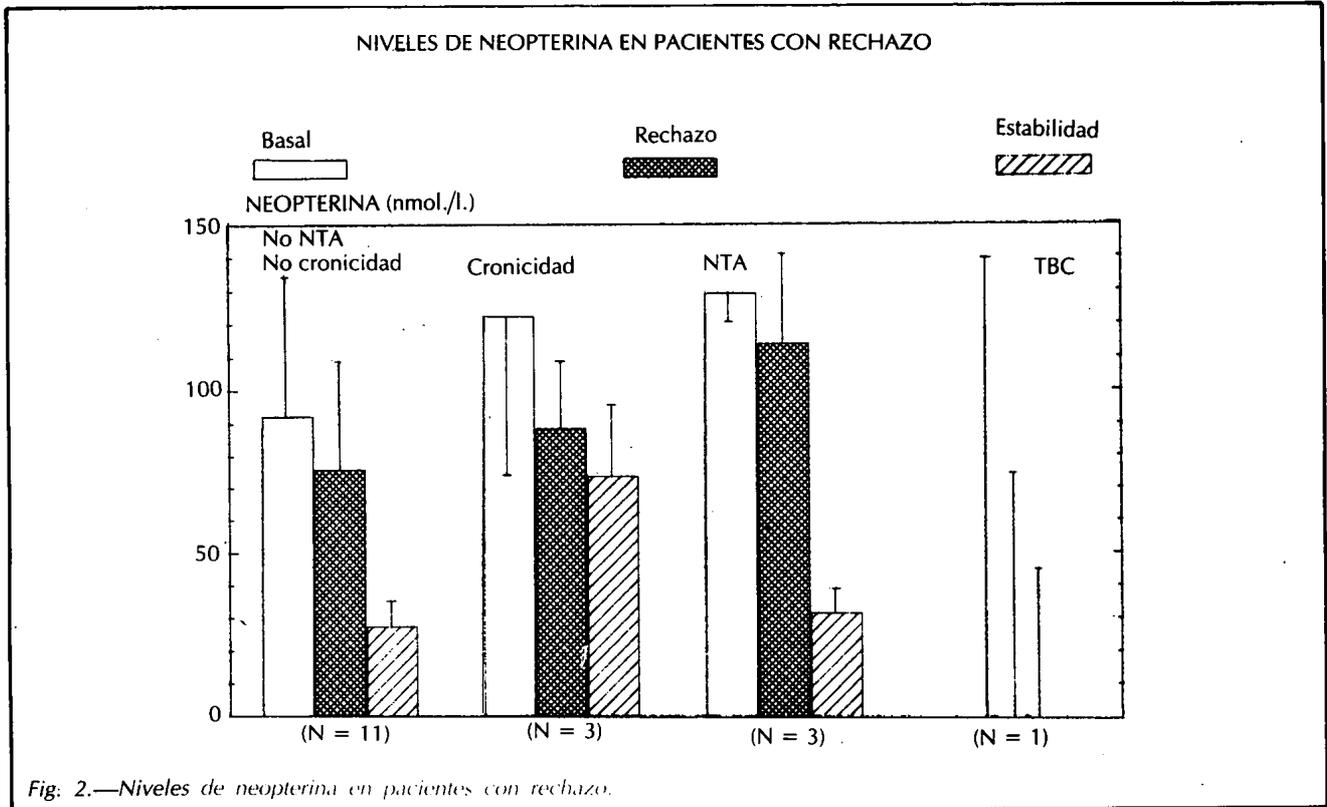
unas determinaciones poco oscilantes ( $\bar{X} = 22,57 \pm 1,30$  nmol/l.). Por contra, los valores de N en los 17 pacientes en hemodiálisis periódica (HD) tenían una mayor variabilidad y eran significativamente mucho más altos ( $\bar{X} = 113,68 \pm 41,80$  nmol/l.) ( $p < 0,001$ ).

Valores de neopterina en grupo I (tabla I) (fig. 1):

Los 15 pacientes con trasplante renal que evolu-

cionó favorablemente sin rechazo presentaban unos NB =  $122,20 \pm 45,92$  nmol/l., sin diferencias significativas con los valores del control HD. Cuando alcanzaban un período de estabilidad tendían a aproximarse a las cuantificaciones del control S, si bien no las alcanzaban plenamente en el período de tiempo valorado en este estudio:  $23,44 \pm 9,53$  nmol/l. ( $p < 0,001$  frente a NB).

Este descenso en la N sérica se correlacionaba es-



trechamente con la mejoría de la función renal valorada por el descenso de la creatinina plasmática en el mismo grupo (fig. 3).

Es de destacar que en un paciente aconteció un episodio de infección por citomegalovirus, alcanzando valores de N = 98 nmol/l. con función renal normal (Cr. plasm. = 1,5 mg/100 ml.). El valor de N en este paciente sobrepasa ampliamente el rango de oscilación del resto de las determinaciones en el grupo en período estable.

#### Valores de neopterina en grupo II (figs. 1 y 2) (tabla I):

Se determinaron en los 18 pacientes de este grupo, de manera global, tres determinaciones: NB =  $106,20 \pm 20,42$ ; NR =  $84,61 \pm 31,10$  y NE =  $46,85 \pm 24,32$  nmol/l.). Entre NB y NR no existe diferencia significativa, existiéndola entre NR y NE ( $p < 0,001$ ). No obstante, los valores en estabilidad de este grupo son más elevados que en el grupo I ( $p < 0,05$ ).

En este grupo existían tres pacientes que tras los tratamientos con bolus de corticoides evolucionaron a un funcionalismo renal con rechazo crónico sin condicionar necesidad de diálisis. Las determinaciones de NB y NR no eran significativamente diferentes a las globales del grupo, pero sí lo eran las de NE ( $73,57 \pm 27,92$ ;  $p < 0,05$ ).

Era también destacable que otros tres pacientes habían presentado una situación previa de necrosis tubular aguda oligúrica. En ellos los valores de N tendían a ser un tanto elevados, si bien no significativamente, tanto en situación basal como durante el rechazo.

Existió también un paciente en el que, coincidiendo con un episodio de reactivación de TBC, se constató una respuesta de producción de N elevada en período estable ( $44,87$  nmol/l.).

La correlación global entre la evolución de los valores de N y de creatinina plasmática está reflejada en la figura 4, siendo su trazado diferente, merced a la influencia de las crisis de rechazo, al de correlación existente en el grupo I, expresada en la figura 3, entre las mismas sustancias (en ambos casos  $r = 0,95$ , con  $p < 0,001$ ).

#### Valores de N en grupo III (fig. 1) (tabla I):

En este grupo los NB eran superponibles también a los valores del control HD. Sin embargo, los valores de NR eran muy elevados, más que los equivalentes en el grupo II ( $p < 0,05$ ), y tendían a ser permanentemente altos hasta el día de la trasplantectomía. Dicho acontecimiento se situaba entre cinco-treinta días del trasplante, con un promedio de unos quince días de funcionamiento del injerto. En un paciente se

había producido exitus por perforación intestinal complicada con sepsis en el día 30.

La comparación de la evolución de los valores de N y creatinina plasmática, reflejadas en la figura 5, mostraba la correlación entre la tendencia a la elevación de la N con la mala función renal ( $r = 0,93$ ,  $p < 0,001$ ).

#### Discusión

Nuestro estudio permite evidenciar que en el trasplante renal funcionando los niveles de N sérica medidos por RIA tienden a descender progresivamente en correlación bastante estrecha con la mejoría de la función renal. La valoración secuencial permite, pues, monitorizar una evolución exitosa del trasplante.

El acontecimiento de crisis de rechazo agudo conlleva una nueva elevación o una persistencia de niveles elevados de N sérica que tan sólo tiende de nuevo a su resolución cuando el tratamiento intensivo antirrechazo surte efecto y no evoluciona el paciente a un deterioro crónico de la viabilidad del trasplante. Estudios previos al nuestro han valorado la asociación de la producción endógena de N con la incidencia de crisis de rechazo<sup>6-12</sup>.

Por experiencias «in vitro» se conoce que la N es un metabolito pirimidínico, derivado de la GTP, producido por monocitos y macrófagos en asociación con un estímulo inmunológico y bajo control de linfoquinas, particularmente del interferón-gamma<sup>3, 4, 8</sup>. El interferón es una sustancia que difícilmente se detecta fuera de sus lugares de producción. Por contra, la N penetra fácilmente en los diferentes compartimentos tisulares y líquidos corporales. Además, es filtrada a nivel glomerular y excretada por el riñón<sup>10</sup>. La valoración de los niveles en sangre de N ha de tener en cuenta, pues, esta consideración. De hecho, las situaciones de NTA posttrasplante condicionan presumiblemente una persistencia de valores elevados de N sérica hasta que se vislumbre la resolución de aquélla. Una situación de rechazo sobreimpuesto a la NTA sería, pues, difícil de adivinar con la determinación de esta sustancia.

Según nuestro estudio, el mantenimiento de unos valores altos de N en los primeros días de trasplante puede también reflejar una evolución irreversible del injerto por un rechazo de componente vascular que aboque a trasplantectomía. Nuevamente hay que decir qué estímulo inmunológico y disminución del filtrado glomerular pueden ser causas coincidentes. La distinción entre NTA y rechazo vascular temprano sólo podría hacerse a base de analizar otros datos clínicos y complementarios (por ejemplo, la valoración con isótopos).

Una producción incrementada de N se ha demostrado en diferentes situaciones en las que el sistema

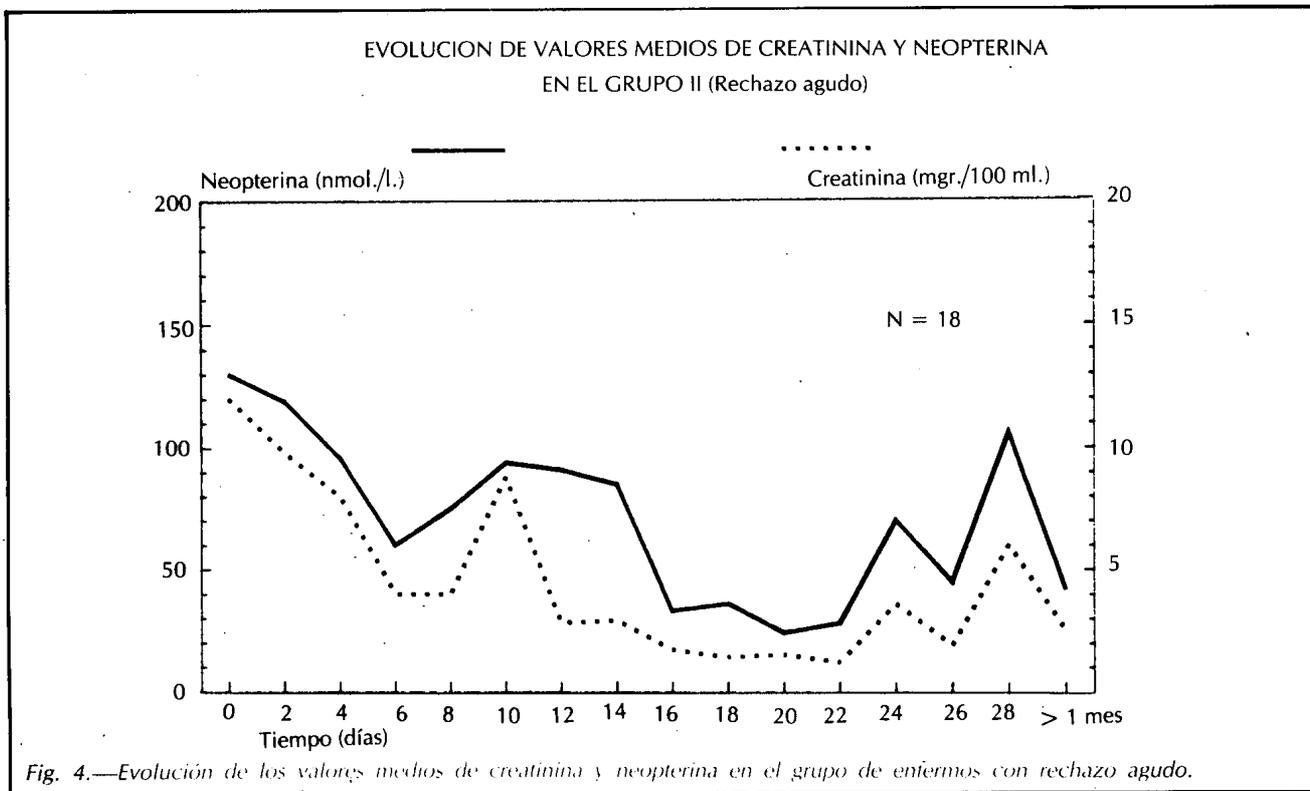


Fig. 4.—Evolución de los valores medios de creatinina y neopterin en el grupo de enfermos con rechazo agudo.

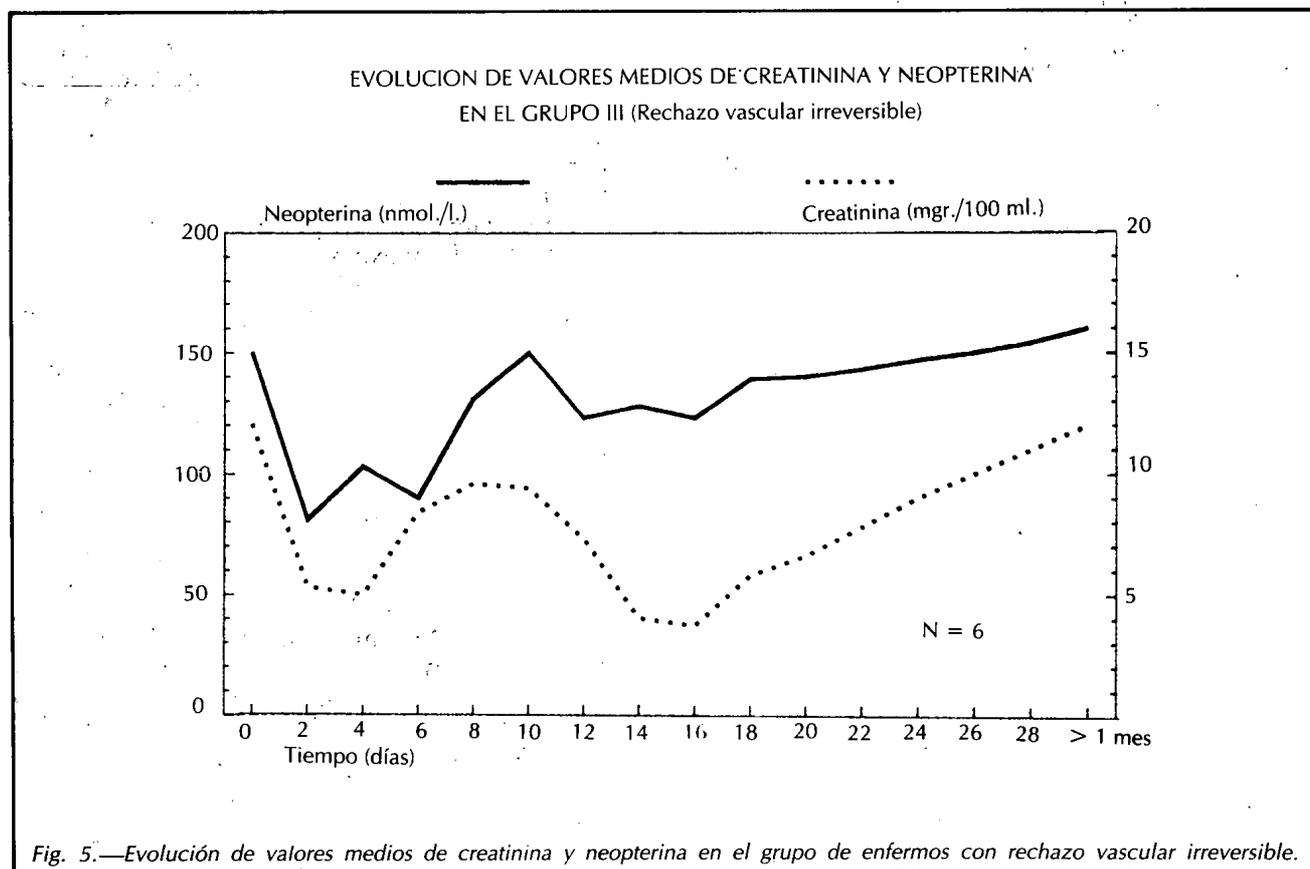


Fig. 5.—Evolución de valores medios de creatinina y neopterin en el grupo de enfermos con rechazo vascular irreversible.

inmune está activado: neoplasias, enfermedades autoinmunes, infecciones virales, SIDA, trasplante de médula ósea con reacción injerto contra huésped, etcétera<sup>10</sup>. Nosotros hemos comprobado también, si bien en número reducido (un caso de CMV y otro de TBC), cómo entidades patológicas con estímulo inmunológico no relacionado con el rechazo provocan elevaciones de la N sérica que no reflejan meramente el filtrado glomerular.

Otros grupos han valorado la N mediante técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en orina<sup>5, 7, 11</sup>. Las ventajas de la determinación por RIA en sangre radican en una metodología más simple (no se requiere pretratamiento de la muestra y basta con una cantidad de sangre tan pequeña como 0,5 ml., pudiéndose cuantificar varias muestras a la vez). El empleo de la determinación urinaria por HPLC se ve menoscabado cuando existe NTA con oliguria en el trasplante, habiéndose de tener presente que puede existir una variación fisiológica en el volumen y concentración de la orina, siendo obligado relacionar la N con la creatinina urinaria de veinticuatro horas. El empleo de HPLC, tanto para sangre como orina, tiene, por supuesto, el inconveniente añadido de su mayor laboriosidad técnica y consiguiente baja practicidad<sup>12</sup>.

Concluimos que las mediciones diarias de N sérica por RIA pueden ser útiles en la monitorización del trasplante renal, reflejando estados de activación inmunológica y permitiendo controlar los efectos exitosos de las terapéuticas sobre el rechazo. Sin embargo, su valor ha de matizarse ante situaciones de NTA, dada la influencia del filtrado glomerular en la tasa de N sérica y ante incidencias de posibles infecciones oportunistas como activadoras de la respuesta inmune fuera del contexto del rechazo.

### Bibliografía

1. Huber Ch, Fuchs D, Hausen A, Margreiter R, Reibnegger G,

- Spielberger M y Wachter H: Pteridines as a new marker to detect human T cells activated by allogeneic or modified self major histocompatibility complex (MHC) determinants. *J Immunol* 130:1047-1050, 1983.
2. Margreiter R, Fuchs D, Hausen A, Huber Ch, Reibnegger G, Spielberger M y Wachter H: Neopterin as a new biochemical marker for diagnosis of allograft rejection. *Transplantation* 36:650-653, 1983.
3. Huber Ch, Bächter JR, Fuchs D, Hausen A, Lang A, Niederwieser D, Reibnegger G, Swetly P, Troppmair J y Watcher H: Immune response-associated production of neopterin. *J Exp Med* 160:310-316, 1984.
4. Huber Ch, Troppmair J, Fuchs D, Hausen A, Lang A, Niederwieser D, Reibnegger G, Swetly P, Watcher H y Margreiter R: Immune response-associated production of neopterin: release from macrophages under control of lymphokines. *Transplant Proc* 17:582-585, 1985.
5. Niederwieser D, Huber Ch, Gratwohl A, Bannest P, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Speck B y Watcher H: Neopterin as a new biochemical marker in the clinical monitoring of bone marrow transplants recipients. *Transplantation* 38:497-500, 1984.
6. Pohanka E, Schwarz M, Mayer G, Woloszczuk W, Kovarit J y Stummvoll HK: Serum neopterin after kidney transplantation. A useful tool for graft monitoring. *Proc EDTA-ERA* 22:665-671, 1985.
7. Noel C, Dhondt JL, Dracon M, Lelievre G y Tacquet A: Neopterin in urine and serum after kidney transplantation. *Proc EDTA-ERA* 22:672-676, 1985.
8. Huber Ch, Troppmair J, Tilg H, Woloszczuk W, Niederwieser H, Rokos H y Margreiter R: Assessment of endogenous interferon release by evaluation of neopterin levels: a new concept for monitoring of human allograft recipients. *Transplant Proc* 17:2513-2515, 1985.
9. Schäfer AJ, Daniel V, Dreikorn K y Opelz G: Relevance of plasma neopterin determination in kidney transplantation. *Transplant Proc* 17:2516-2517, 1985.
10. Giraud P, Tafani JAM, Colot M, Durand D y Bovisson F: Serum neopterin radioimmunoassay for kidney transplant monitoring: relationship with renal function and acute allograft rejection. *Transplant Proc* 17:2518-2520, 1985.
11. Magalini SC, Sancho A, Luciani G, Agnes I, Pozzeto A, Giannattasio B, Flamini G, Castagneto M y Cittadini A.: Urinary neopterin excretion after kidney transplantation. *Transplant Proc* 2521-2523, 1985.
12. Schäfer AJ, Daniel V, Dreikorn K y Opelz G: Assessment of plasma neopterin in clinical kidney transplantation. *Transplantation* 41:454-459, 1986.