

UNIVERSIDAD DE VALENCIA

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina

Programa de Medicina 3042



Análisis de la sensibilización HLA pretrasplante y postrasplante en pacientes receptores de un injerto renal: factores de riesgo e implicaciones pronósticas.

TESIS DOCTORAL

presentada por:

D^a. Julia Kanter Berga

Directores:

Luis Manuel Pallardó Mateu

Alfonso Miguel Carrasco

Nieves Puig Alcaraz

Valencia, 2015

UNIVERSIDAD DE VALENCIA

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina

Programa de Medicina 3042



Análisis de la sensibilización HLA pretrasplante y postrasplante en pacientes receptores de un injerto renal: factores de riesgo e implicaciones pronósticas.

TESIS DOCTORAL

presentada por:

D^a. Julia Kanter Berga

Directores:

Luis Manuel Pallardó Mateu

Alfonso Miguel Carrasco

Nieves Puig Alcaraz

Valencia, 2015

El Dr. Luis Manuel Pallardó Mateu, Doctor en Medicina y Cirugía y Profesor Titular de Medicina en la Universidad de Valencia.

El Dr. Alfonso Miguel Carrasco, Doctor en Medicina y Cirugía y Profesor Titular de Medicina en la Universidad de Valencia.

La Dra. Nieves Puig Alcaraz, Doctora en Medicina y Cirugía.

CERTIFICAN QUE:

La presente tesis doctoral titulada “Análisis de la sensibilización HLA pretrasplante y postrasplante en pacientes receptores de un injerto renal: factores de riesgo e implicaciones pronósticas”, realizada por la licenciada en Medicina y Cirugía por la Universidad de Tucumán, Dña Julia Kanter Berga, ha sido realizada bajo nuestra supervisión como directores de tesis y cumple todos los requisitos metodológicos y el valor científico adecuados para ser defendidos en un tribunal:

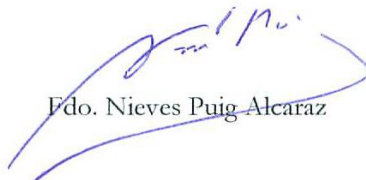
Para que así conste, firman la presente en Valencia, 22 de Junio del 2015.



Fdo. Luis Manuel Pallardó Mateu



Fdo. Alfonso Miguel Carrasco



Fdo. Nieves Puig Alcaraz

“La verdadera ciencia enseña
sobre todo, a dudar y a ser ignorante.”

Miguel de Unamuno

"Como no sabías disimular me di cuenta en seguida de que para verte como yo quería era
necesario empezar por cerrar los ojos."

Rayuela

Julio Cortázar

A Armando,
mi compañero de viaje
mi soporte y mi felicidad.

A Marita,
por ser ejemplo de lucha.

A Frida,
por estar siempre ahí.

A mis hermanas,
por existir.

A mis dos soles,
Joaquín y Sara,
la razón de mis días.

A mi padre.

Al Dr. Pallardó,
por su incansable labor y compromiso.

AGRADECIMIENTOS

A Luis Pallardó por confiar en mí desde el principio y darme alas. Por que sus enseñanzas tan acertadas, han cambiado para siempre mi profesión.

A Asun por su implicación en este proyecto y su ágil colaboración en la escritura de esta tesis. A Eva por enseñarme y darme ánimos siempre que necesitaba.

A Esther Roselló por las horas que me ha dedicado desinteresadamente y su ayuda imprescindible en la interpretación de las biopsias.

A Nieves, por su cercanía y por su tutela en este proyecto.

A mis compañeros de nefrología del Hospital Peset, Sandra, Ana, Asun, Eva, Pablo, Vero, José Luis, Josep, Belén, Cris, Jonay, Dani, Marco, Mercedes, por el extraordinario ambiente que se respira por las mañanas y por su apoyo permanente.

A Lupe y Pilar, por su exquisita labor diaria en la consulta de trasplante que ha sido crucial para el desarrollo de esta tesis y su amistad. A María Jesús, por su energía y su profesionalidad. Y en general a todo el Servicio de Nefrología del Hospital Peset, por hacerme sentir como en casa desde el principio y por su trabajo en equipo.

A los enfermeros y auxiliares del departamento HLA del Centro de Transfusiones de la Comunidad Valenciana, por su amabilidad y paciencia y por su colaboración en las determinaciones analíticas, sin cuyo trabajo diario este estudio no habría podido realizarse.

A Mariola, por ayudarme con dudas estadísticas. A Leda por dedicarme horas, a pesar de no tenerlas.

Al personal del Hospital Gregorio Marañón donde hice mis primeros pasos de nefrología entre el 2002 y 2006, y del cual tengo muy buenos recuerdos, en especial Marta y Mayra.

A mis amigas, mi familia de este lado del océano, por escucharme y darme tanto cariño.

A mis amigos del otro lado del océano, que saben esperar entre viaje y viaje.

A Armando, por enseñarme lo esencial del día a día, lo que es invisible a los ojos.

A mi familia política (los Beroiz), sobre todo a mis suegros, cuyos consejos me acompañan día a día. A María y Carmen por cuidar con responsabilidad y cariño a mis hijos, durante tantas horas que dedique a escribir esta tesis.

A los pacientes que nos enseñan con su vida cada día.

A mi familia, que me ha apoyado en esta travesía, a pesar del dolor.

A mi Argentina querida, que me ha dado casi todo lo que soy.

INDICE

ABREVIATURAS	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 Antecedentes	5
1.2 Inmunología del trasplante renal	8
1.2.1 Sistema HLA y trasplante renal	8
1.2.1.1 Antígenos de clase I	9
1.2.1.2 Antígenos de clase II	10
1.2.1.3 Tipificación HLA	10
1.2.1.3.1 Métodos serológicos	10
1.2.1.3.2 Métodos genómicos	10
1.2.2 Compatibilidad HLA entre donante y receptor	11
1.2.3 Función inmunitaria	11
1.2.3.1 Inmunidad adquirida	13
1.2.3.2 La ‘primera señal’ en la activación de los linfocitos T	14
1.2.3.3 La ‘segunda señal’ de activación o coestimulación	15
1.2.3.4 La ‘tercera señal’ de activación de los linfocitos T	16
1.2.3.5 Diferenciación de los linfocitos T	17
1.2.3.6 Linfocitos B y el rechazo mediado por anticuerpos	18
1.2.3.7 Mecanismos de destrucción del injerto	19
1.2.4 Anticuerpos contra el sistema HLA y contra otros sistemas menores	19
1.2.4.1 Especificidad de los AC anti-HLA	20
1.2.4.2 Anticuerpos contra el sistema ABO	21
1.2.4.3 Anticuerpos No anti-HLA	21
1.3 Técnicas de determinación de Anticuerpos	22
1.3.1 Linfocitotoxicidad dependiente de complemento	22
1.3.2 ELISA	24
1.3.3 Citometría de flujo	25
1.3.4 Ensayos de Fase sólida: Tecnología Luminex	25
1.3.4.1 Punto de corte o “cut off” de la técnica	28
1.3.4.2 Fases de detección de AC por tecnología Luminex	28
1.3.4.3 Interferencias en los ensayos de fase sólida	30
1.4 Prueba cruzada entre donante y receptor	30

1.4.1	Prueba cruzada linfocitaria	30
1.4.2	PC histórica y actual	31
1.4.3	PC por Citometría de flujo	32
1.4.4	Prueba cruzada virtual	33
1.4.5	Comparación entre técnicas	34
1.5	Sensibilización HLA pretrasplante	35
1.5.1	Determinación de AC en lista de espera	39
1.5.2	Técnicas de desensibilización HLA	40
1.6	Sensibilización HLA postrasplante	41
1.6.1	Determinación de anticuerpos en el periodo pos-trasplante	44
1.7	Respuesta inmune mediada por AC sobre el injerto renal	46
1.7.1	Rechazo hiperagudo mediado por AC	46
1.7.2	Rechazo agudo mediado por anticuerpos	46
1.7.3	Rechazo subclínico mediado por AC	48
1.7.4	Rechazo crónico mediado por AC	48
1.7.5	Glomerulopatía del trasplante	49
1.7.6	Rechazo humoral C4d negativo	50
1.7.7	Tratamientos del rechazo mediado por AC	51
1.8	Disfunción crónica del injerto	52
1.9	Supervivencia del injerto y del paciente	54
1.10	Tablas	55
2.	MOTIVACION	59
3.	HIPOTESIS Y OBJETIVOS	63
4.	MATERIAL Y MÉTODOS	67
4.1	Diseño del estudio	69
4.2	Sujetos del estudio	69
4.2.1	Series	69
4.2.1.1	Serie Retrospectiva	69
4.2.1.2	Serie Prospectiva	70
4.3	Tecnología Luminex	71
4.3.1	Sensibilización MICA	71
4.4	Biopsias de seguimiento	71
4.4.1	Tinción con C4d	72
4.5	Variables analizadas	73

4.5.1	Sensibilización HLA	73
4.5.2	Variables dependientes del receptor del injerto renal	74
4.5.3	Variables dependientes del donante	75
4.5.4	Variables relacionadas con el procedimiento y la evolución del trasplante	75
4.5.5	Variables relacionadas con parámetros bioquímicos de función renal	76
4.5.6	Variables relacionadas con el tratamiento inmunosupresor	76
4.5.7	Variables clínicas relacionadas con la existencia de patología concomitante postrasplante	76
4.6	Criterios de selección de donantes y receptores	76
4.6.1	Donantes	77
4.6.2	Receptores	77
4.7	Protocolo de tratamiento en caso de trasplante renal	78
4.7.1	Tratamiento inmunosupresor inicial	78
4.7.2	Tratamiento de episodios de rechazo agudo	80
4.7.3	Profilaxis infecciosa	81
4.7.4	Otros tratamientos	81
4.8	Método estadístico	82
5.	RESULTADOS	85
5.1	Sección I: Serie retrospectiva	87
5.1.1	Análisis de la serie global	87
5.1.1.1	Características de los receptores	87
5.1.1.2	Características de los donantes	89
5.1.1.3	Tratamiento inmunosupresor	90
5.1.1.4	Evolución del trasplante renal	90
5.1.1.5	Biopsias de seguimiento	91
5.1.1.6	Creatinina y Proteinuria	92
5.1.1.7	Supervivencia del injerto y del paciente	93
5.1.1.8	Resumen	93
5.1.1.9	Tablas y Figuras	95
5.1.2	Análisis comparativo de la sensibilización HLA	107
5.1.2.1	Características de receptores y donantes	107
5.1.2.2	Sensibilización HLA pretrasplante	107
5.1.2.3	Tratamiento inmunosupresor	108
5.1.2.4	Evolución del trasplante	108

5.1.2.5	Biopsias de seguimiento	109
5.1.2.6	ADE como factor de riesgo para rechazo humoral	110
5.1.2.7	Supervivencia del injerto	111
5.1.2.8	Supervivencia del paciente	113
5.1.2.9	Permanencia de ADE en el postrasplante	113
5.1.2.10	ADE “de novo”	114
5.1.2.11	Análisis de la sensibilización HLA de baja intensidad	114
5.1.2.12	Análisis de la sensibilización HLA exclusiva por Luminex	115
5.1.2.13	Resumen	117
5.1.2.14	Tablas y Figuras	119
5.2	Sección II: Serie prospectiva	154
5.2.1	Características de los receptores	154
5.2.2	Características de los donantes	155
5.2.3	Tratamiento inmunosupresor	155
5.2.4	Evolución del trasplante renal	156
5.2.5	Monitorización de la sensibilización HLA postrasplante	157
5.2.6	ADE postrasplante	157
5.2.7	Supervivencia del injerto y del paciente	158
5.2.8	Análisis comparativo de la sensibilización postrasplante	158
5.2.9	Resumen	160
5.2.10	Tablas y Figuras	161
6.	DISCUSIÓN	173
6.1	Características generales de ambas series	175
6.2	Supervivencia del injerto y del paciente de ambas series	179
6.3	Sensibilización donante específica medida por Luminex en ambas series	181
6.4	Análisis comparativo de la serie retrospectiva	183
6.4.1	Biopsias de seguimiento	183
6.4.2	ADE pretrasplante como factor de riesgo para RH	186
6.4.3	Supervivencia del injerto	187
6.4.4	Supervivencia del paciente	190
6.4.5	Permanencia de ADE en el postrasplante	191
6.4.6	ADE “de novo”	191
6.4.7	ADE de “baja intensidad” y “exclusivos” por Luminex	192
6.5	Monitorización de ADE postrasplante	195

6.6	Análisis comparativo de la sensibilización postrasplante	197
6.7	Reflexión final	199
6.8	Resumen	200
6.9	Limitaciones del estudio	203
7.	CONCLUSIONES	205
8.	BIBLIOGRAFIA	209
9.	APÉNDICES	237
9.1	Apéndice I	239
9.2	Apéndice II	243
9.3	Apéndice III	244
9.4	Apéndice IV	245

ABREVIATURAS

1. **AC anti-HLA:** anticuerpos anti HLA
2. **AC no-ADE:** anticuerpos anti HLA no donante específicos
3. **AC:** Anticuerpos
4. **ACV:** accidente cerebro-vascular
5. **ADE:** anticuerpos anti-HLA donante específicos
6. **CDC:** Citotoxicidad dependiente de complemento.
7. **CDC-AHG:** Técnica de citotoxicidad dependiente de complemento modificado por la adición de anti-globulina humana.
8. **CF:** Citometría de flujo
9. **CPA:** células presentadoras de antígeno
10. **cPRA:** calculated PRA o PRA virtual
11. **CPT:** capilar peritubular
12. **CREG:** anticuerpos frente a grupos de reactividad serológica cruzada
13. **CTCV:** Centro de transfusiones de la Comunidad Valenciana
14. **DCI:** disfunción crónica del injerto
15. **DS:** Desensibilización
16. **DTT:** Ditiotreititol
17. **EFS:** ensayos de fase sólida
18. **ELISA:** acrónimo del inglés “Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay” o ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
19. **ERC:** enfermedad renal crónica
20. **FIAT:** fibrosis intersticial y atrofia tubular
21. **FRI:** Función retrasada del injerto
22. **GT:** Glomerulopatía del trasplante
23. **HLA:** Human Leukocyte Antigen o Antígenos leucocitarios de histocompatibilidad
24. **HTA:** hipertensión arterial
25. **IAM:** infarto agudo de miocardio
26. **IgIV:** inmunoglobulinas intravenosas
27. **I-mTor:** (Inhibidores de la diana de rapamicina o “mammalian target of Rapamycin”)
28. **INC:** inhibidores de la calcineurina
29. **IMC** índice de masa corporal

30. **LCT:** linfocitotoxicidad
31. **MICA:** antígeno A asociado a la cadena del complejo principal de histocompatibilidad clase I.
32. **MDRD-4:** cálculo estimativo del aclaramiento de creatinina, “Modification of Diet in Renal Disease Study equation for estimating glomerular filtration rate”
33. **MFI:** “Mean fluorescence intensity” o Intensidad de fluorescencia media
34. **NTA:** necrosis tubular aguda
35. **ONT:** Organización Nacional de Trasplantes
36. **OKT3:** Anticuerpo monoclonal comercial (ortho) de ratón, dirigido contra la molécula CD3 humana.
37. **PC:** prueba cruzada
38. **PCR:** reacción en cadena de la polimerasa
39. **PCV:** prueba cruzada virtual
40. **PRA:** Panel reacting antibodies o anticuerpos citotóxicos frente al panel.
41. **r:** rango (máximo-mínimo)
42. **RA:** Rechazo agudo
43. **RAC:** rechazo agudo celular
44. **RHA:** Rechazo humoral agudo
45. **RHA:** rechazo crónico humoral
46. **RH:** rechazo humoral
47. **RI:** rango intercuartílico.
48. **SAB:** “single antigen beads” o técnica de antígeno simple en Luminex
49. **SUH:** síndrome urémico hemolítico
50. **VCH:** Virus de la hepatitis C.

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

El trasplante renal ha demostrado ser el mejor tratamiento de los estadios finales de la enfermedad renal crónica, ya que permite el restablecimiento de la función renal en su globalidad. Los datos de la Organización Nacional de Trasplantes (ONT), correspondiente a la memoria del año 2013 revelan que el trasplante fue el tratamiento de más de la mitad de los pacientes en tratamiento renal sustitutivo en España (2552 trasplantes renales en 2013) Esto ha permitido que España se mantenga a la cabeza del trasplante renal de donante cadáver a nivel mundial, con una tasa nacional de trasplantes renales de 54.9 pmp, siendo de 46.4 pmp en la Comunidad Valenciana (<http://www.ont.es>).

Los avances en el conocimiento de la respuesta inmune y en los protocolos de inmunosupresión, en el manejo quirúrgico y en el tratamiento integral del paciente, han hecho del trasplante renal el tratamiento de elección en los pacientes con enfermedad renal crónica avanzada, ya que mejora, comparativamente con la diálisis, no solo la calidad de vida, sino también la supervivencia del paciente y todo ello a un menor coste (Wolfe RA 1999; Salonen T 2003) En consecuencia, los resultados globales del trasplante renal han dado un giro positivo espectacular en el seguimiento a corto y medio plazo.

A mediados de los años 60 se logró realizar el trasplante renal de forma exitosa gracias a la comprensión de que el rechazo humoral era responsable de la pérdida inmediata del injerto en el momento del trasplante (rechazo hiperagudo). La identificación de anticuerpos contra los antígenos de histocompatibilidad (HLA) del donante presentes en el injerto y el consiguiente desarrollo de una técnica simple y práctica para detectar los anticuerpos específicos contra antígenos del donante (ADE) como la prueba cruzada (PC) mediante linfocitotoxicidad dependiente de complemento (CDC), sentaron las bases inmunológicas para abordar el procedimiento del trasplante renal (Patel, Terasaki, 1969). Los avances en el conocimiento de las reacciones mediadas por anticuerpos, a partir de la década de los 70, permitieron refinar técnicas de laboratorio para predecir el rechazo del injerto. El reconocimiento de anticuerpos (AC) autólogos, AC no HLA, PC mediante CDC con sensibilidad incrementada, el uso de la citometría de flujo y la identificación de AC IgM mediante el uso de ditiotreitol (DTT) posibilitaron una predicción más exquisita acerca de qué trasplantes podrían llevarse a cabo con un margen mayor de seguridad. (Brain 2013)

En el área quirúrgica, se han mejorado las técnicas operatorias, particularmente en la prevención y tratamiento de las complicaciones. Las pérdidas precoces han disminuido relacionándose en la actualidad con problemas de viabilidad del injerto (donantes en asistolia, añosos o marginales); complicaciones técnicas, fundamentalmente relacionadas

con las suturas vasculares y menos frecuentemente, a diferencia de épocas anteriores, debidas a rechazo agudo o fallecimiento del paciente.

Por otro lado, hemos asistido a importantes avances en la inmunosupresión, en la década de los 80 y 90, disponiendo de fármacos centrados en el control de la aloinmunidad mediada por células T, cada vez más eficaces en la prevención del rechazo. La inmunosupresión farmacológica ha permitido con eficacia creciente prevenir y tratar los episodios de rechazo agudo celular (RAC), de modo que la tasa actual de episodios de RAC es inferior al 20%; como consecuencia, las pérdidas precoces por esta causa han disminuido de manera dramática. (Meier-Kriesche HU, 2004), habiéndose señalando la importancia del rol del rechazo humoral tanto agudo como crónico sobre la pérdida del injerto renal (Pascual 2011, Brian 2013, Lechaufeur 2013).

Además, el paciente trasplantado se beneficia en la actualidad de una atención integral dirigida a la prevención, diagnóstico precoz y tratamiento de las complicaciones con mayor impacto pronóstico, especialmente las cardiovasculares, las infecciosas y las neoplásicas. Todo ello ha permitido incrementar las supervivencias del injerto y del paciente, alcanzando en la actualidad porcentajes superiores al 90% y 95%, respectivamente, al año del trasplante (Kanter, 2011). No obstante, a pesar de los citados avances y la mejoría de resultados a corto y medio plazo, la mayoría de las series continúan mostrando unas pérdidas anuales de un 3 a 5% de los injertos (Pascual 2002, Meier-Krieske 2004, Serón 2011). Estas serían debidas fundamentalmente a la disfunción crónica o tardía del injerto (DCI), diagnóstico polivalente que incluiría como entidad prevalente al rechazo crónico (40%); el fallecimiento del paciente con injerto funcionante (40%) y un grupo de misceláneas (20%) como la recidiva de la enfermedad originaria, la nefropatía por virus BK, el rechazo agudo tardío, la pielonefritis del injerto o la HTA no controlada (Maggee 2003; Ojo 2000; Ponticelli 2002; Serón, 2011). Pero no ha sido hasta la última década cuando una literatura creciente ha dado soporte a la hipótesis de la respuesta humoral como causa del deterioro crónico y progresivo de la función del injerto (Terasaki 2012) en contraposición al paradigma clásico de que el rechazo del injerto dependía de manera fundamental de la respuesta inmune celular (Billingham, 1953).

El rechazo mediado por anticuerpos había quedado relegado a un segundo plano, dada la dificultad de establecer una relación de causalidad entre la respuesta humoral y el fracaso del injerto, salvo en circunstancias muy concretas como el rechazo hiperagudo. La reciente introducción de dos técnicas, ha permitido conocer el papel patogénico de la respuesta humoral como causa de fracaso del injerto renal (Haas 2014). En primer lugar la

identificación de la activación del complemento, mediante la detección de la fracción C4d, en la superficie de las células endoteliales de los capilares peritubulares del injerto en las biopsias del injerto renal (Feucht 1993, Collins 1999). En segundo lugar el uso de los inmuno-ensayos de fase sólida (EFS) que han permitido identificar las especificidades de los AC, mas concretamente la presencia de ADE, en el suero de pacientes trasplantados con gran precisión y sensibilidad (Lee 2007). La experiencia derivada de la aplicación creciente de estas dos técnicas diagnósticas en las unidades de trasplante renal y laboratorios de histocompatibilidad ha reforzado la hipótesis de que la respuesta humoral juega un papel importante en la evolución no solo a corto, sino sobre todo a medio y largo plazo de los injertos renales y que dicha respuesta humoral contribuiría de manera fundamental en la patogenia de la disfunción crónica y en el fracaso tardío del injerto debido a rechazo.

Hasta la fecha, el manejo clínico de la inmunosupresión se realiza de forma indirecta mediante la evaluación periódica de la función renal y la monitorización farmacocinética de los fármacos inmunosupresores. No existen en la práctica clínica marcadores inmunológicos específicos que nos informen acerca de la situación del injerto. La biopsia renal se sigue considerando como el “gold standard” para conocer el estado del injerto, incluida la existencia de inmunoactivación. Al tratarse de una prueba invasiva no puede efectuarse en todos los pacientes de manera periódica y las biopsias de protocolo, si bien cada vez más aceptadas, siguen realizándose con criterios restrictivos.

En la última década un número creciente de publicaciones han señalado la importancia de los anticuerpos anti HLA (AC anti-HLA) en el trasplante renal, particularmente si son específicos contra el donante, y su relación con la aparición de episodios de rechazo agudo, rechazo crónico y con una menor supervivencia del injerto (Van Timmeren 2009, Lachmann 2009). La determinación rutinaria de estos anticuerpos se podría aplicar como marcador para predecir el riesgo inmunológico y para ajustar la medicación inmunosupresora; su negatividad persistente también podría servir de marcador indirecto de una menor capacidad de respuesta inmune en receptores potencialmente subsidiarios de disminuir la carga de inmunosupresión sin incrementar el riesgo de rechazo agudo o crónico. Por todo ello, el estudio inmunológico de los pacientes en lista de espera y trasplantados renales es un componente esencial dentro de un programa de trasplante, siendo uno de los objetivos fundamentales, el control de la respuesta inmune alogénica en el paciente trasplantado.

Los antígenos del sistema principal de histocompatibilidad humano juegan un papel fundamental en la génesis de la respuesta inmune, que determinará la evolución del

trasplante y el extenso polimorfismo del sistema HLA constituye una importante barrera para la realización de un trasplante en condiciones de máxima compatibilidad (Takemoto 2004). La incorporación de las nuevas tecnologías para la determinación de AC anti-HLA basadas en EFS, mediante tecnología Luminex, altamente sensible, ha planteado un desafío real, ya que todavía no comprendemos completamente el impacto clínico del amplio espectro de AC detectados por estas técnicas, ya sea en el periodo pretrasplante como en el postrasplante (Brian D, 2013).

La mayor sensibilidad de la tecnología Luminex, ha incrementado el porcentaje de pacientes con sensibilización HLA en la lista de espera, sobre todo aquellos pacientes con antecedentes de embarazos, transfusiones y trasplantes previos, dificultando encontrar donantes compatibles y alargando los tiempos de espera hasta el trasplante (Reinsmoen 2004, Leffell 2005, Jackson 2008). Además los pacientes con AC presentan más episodios de rechazo agudo y peor supervivencia del injerto que los pacientes sin AC (Lee 2002, Michaels 2002, Takemoto 2004). Actualmente sabemos que los pacientes que se trasplantan en presencia de ADE tendrán mayor riesgo de rechazo hiperagudo, RAH acelerado y peor supervivencia del injerto, incluso en ausencia de episodios de rechazo humoral agudo (Lechaufeur 2010). La reciente descripción del RAH “subclínico” ha permitido conocer la progresión del daño inmunológico hacia el rechazo crónico humoral y la pérdida tardía del injerto (Lechaufer 2010).

El fracaso del injerto renal y la necesidad de un nuevo trasplante incrementa tanto el riesgo quirúrgico, como de sensibilización del paciente. Además la vuelta a diálisis supone un incremento de la potencial morbilidad y mortalidad del paciente (Fernández Fresnedo, 2009). En este sentido y para mejorar los resultados del trasplante a largo plazo quedan por conocer mecanismos de la respuesta inmune, disponer de una monitorización inmunológica precisa y a tiempo real con unos biomarcadores adecuados. Desde la implementación de las técnicas más sensibles de detección de anticuerpos, no existen protocolos estandarizados para graduar el riesgo inmunológico en la lista de espera. Aún es necesario estandarizar técnicas entre centros, y unificar criterios sobre los puntos de corte de intensidad de los anticuerpos, que nos permitan precisar todavía más el riesgo del daño inmunológico.

1.2 Inmunología del trasplante renal

1.2.1 Sistema HLA y trasplante renal

El sistema HLA es el complejo mayor de histocompatibilidad en el hombre. Consiste en un grupo de genes que codifican la formación de unas proteínas o antígenos, que tienen una importancia primordial en la respuesta inmunitaria. Estos antígenos se encuentran en la mayoría de las células del organismo, si bien en un principio se creyó que eran específicos de los leucocitos. Fue descrito por primera vez en los leucocitos, de donde le viene el nombre de Human Leucocyte Antigen. En 1954, Jean Dausset observó que algunos sueros precedentes de enfermos politransfundidos, aglutinaban los leucocitos de otros individuos (Dausset, 1954). Mediante estudios familiares descubrió que los antígenos reconocidos por estas leucoaglutininas se heredaban como una característica mendeliana y describió el primer antígeno HLA (antígeno MAC, llamado ahora HLA-A2) (Dausset, 1958). Con el estudio de estos sueros se empezaron a definir los primeros antígenos de este sistema, que hoy en día, es el sistema genético más polimórfico que se conoce.

El complejo mayor de histocompatibilidad en el hombre, ocupa alrededor de 4 millones de pares de bases y se ubica en el cromosoma 6, en la posición 6p21.3. Es un sistema altamente antigénico e inmunogénico, cada individuo posee 6 tipos de moléculas HLA, cada una de estas moléculas tiene decenas de alelos diferentes. Cada alelo difiere de los otros en 10 o 20 aminoácidos que caracterizan su expresión en la membrana y su peculiar función de molécula presentadora de péptidos a los linfocitos. Las moléculas del sistema HLA están codificadas en seis locus diferentes, de los que cada individuo posee dos alelos, uno procedente del padre y otro de la madre. Cada locus se identifica por letras (A, B, C, DR, DP, DQ) y cada alelo se identifica con un número (Hernando L, 2003).

1.2.1.1 Antígenos de clase I

Al menos 17 tipos de genes codifican este tipo de moléculas, pero solo tres, los loci HLA-A, HLA-B, HLA-C, son generalmente expresados y se consideran los clásicos del sistema HLA. Las moléculas de clase I, son estructuras tridimensionales, con superficies irregulares determinadas por la secuencia de sus aminoácidos. Cada molécula tiene muchas regiones diferentes que se llaman determinantes antigénicos o epitopos, y que son las partes que pueden reconocerse como extrañas y ser inmunogénicas. Así una molécula de clase I puede tener diferentes epitopos y provocar la formación de diferentes anticuerpos. Se describen dos tipos de epitopos: los llamados privados, que son específicos de una determinada molécula (por ejemplo HLA-A2), y los públicos, que son comunes a varias moléculas (por ejemplo el HLA-Bw4 y HLA-Bw6). Los HLA clase I se expresan en la membrana de casi todas las células nucleadas del organismo, con una fuerte expresión en los linfocitos y su función fisiológica es presentar antígenos intracelulares a los linfocitos T CD8 citotóxicos.

Los eritrocitos no tienen antígenos HLA, aunque si sus precursores, mientras que las plaquetas expresan HLA-A y HLA-B, pero casi nada de HLA-C (Puig N, 1995).

1.2.1.2 Antígenos de clase II

La distribución de los antígenos de clase II (DR, DP, DQ) es más restringida que la de la clase I. Las moléculas de clase II se encuentran principalmente en las llamadas células presentadoras de antígenos, tales como los monocitos, macrófagos, células endoteliales, linfocitos B y células dendríticas y su función principal es presentar antígenos extracelulares a los linfocitos CD4+ colaboradores (Puig N, 1995).

En la tabla 1 se presentan los antígenos de clase I y II reconocidos actualmente.

1.2.1.3 Tipificación HLA

La determinación de los antígenos HLA en donante y receptor es obligatoria, dada la relación incuestionable entre su compatibilidad y la evolución del injerto: la supervivencia del injerto a largo plazo disminuye cuanto mayor sea el número de incompatibilidades HLA. (Süsal C, 2013). El estudio del sistema HLA se puede realizar a nivel de antígeno (Tipaje serológico) o a nivel de alelo (Tipaje genómico de alta o baja resolución).

1.2.1.3.1 Métodos serológicos

La tipificación por métodos serológicos consiste en la determinación de los antígenos del sistema HLA que se expresan en un individuo. Clásicamente se realizaba mediante la prueba de microlinfocitotoxicidad de Terasaki (ver más adelante), aunque en la actualidad se ha ido sustituyendo progresivamente por los métodos genómicos por carecer de precisión.

1.2.1.3.2 Métodos genómicos

Con la metodología de la reacción en cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction o PCR) se ha hecho posible el tipaje genético de un modo fácil y asequible a todos los laboratorios, obteniendo una información más exacta que con el Tipaje serológico. Las técnicas moleculares se centran en los exones polimórficos 2 y 3 del HLA-I y en el exón 2 del HLA-II. Los métodos moleculares se dividen en tres tipos según se basen en sitios de restricción (secuencias reconocidas por los sitios de restricción), en secuencias específicas o en la conformación de la molécula de ácido desoxirribonucleico (ADN). En el caso del trasplante renal, las técnicas más empleadas actualmente son las basadas en secuencias específicas (PCR-SSP y PCR-SSO). Sus grandes ventajas son su rapidez, sencillez y reproducibilidad. La PCR-SSP (sequence specific priming) utiliza “primers” que tienen secuencias complementarias de secuencias específicas de las especificidades HLA

conocidas. Se pueden emplear múltiples pares de primers de forma independiente con la misma muestra de ADN. La PCR-SSO (sequence specific oligonucleotide) amplifica todo el locus donde se encuentran los exones de HLA-I y HLA-II por PCR. Posteriormente, ese ADN se hibrida con sondas de oligonucleótidos marcadas en un soporte sólido (PCR-SSO directa).

En los últimos años se ha adaptado la tecnología Luminex al tipaje HLA. Las microesferas de látex llevan fijadas las sondas de ADN características, tras la amplificación por PCR, el DNA amplificado se hibrida a una microesfera y queda marcado con un fluorocromo. Dado que cada microesfera del test tiene un color característico, la combinación del color específico de la esfera y del fluorocromo del DNA permite la lectura mediante un microcitómetro de flujo especial para la técnica de Luminex, la cual será interpretada por el programa de tipaje. (Ruiz San Millán, 2010)

1.2.2 Compatibilidad HLA entre donante y receptor

Una vez obtenido el tipaje HLA del donante y del receptor se puede definir el grado de compatibilidad HLA entre ambos. A mayor compatibilidad menor riesgo de respuesta inmune del receptor contra el órgano. El número de incompatibilidades del donante que se introduzcan en el receptor es importante porque definirá el riesgo inmunológico durante el periodo postrasplante (Ruiz San Millán 2010).

Actualmente, en la era de inmunosupresores potentes como el tacrolimus, el hecho de lograr una máxima compatibilidad donante-receptor, es materia de debate. Recientemente la UNOS (United Network for Organ Sharing), entidad que regula la asignación de órganos en EEUU de América, decidió dejar de asignar puntos por el número de antígenos HLA compartidos entre donante y receptor porque consideraron que el beneficio de la compatibilidad era mínimo (Terasaki 2012). Sin embargo, existen autores que sostienen que los beneficios clínicos de la compatibilidad HLA persisten en la actualidad, a pesar de la existencia de nuevos fármacos inmunosupresores, ya que observan un incremento de la vida media en aquellos injertos con mejor compatibilidad HLA (Opelz 2013).

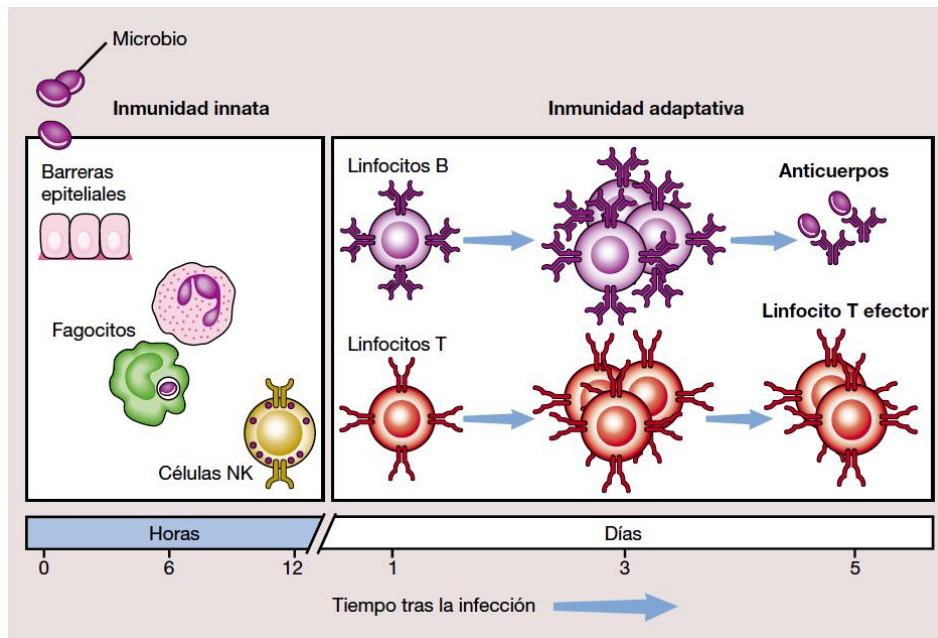
1.2.3 Función inmunitaria

Los humanos, al igual que el resto de los animales vertebrados, estamos programados, gracias a la inmunidad innata y a la inmunidad adquirida, para la aceptación y defensa de lo propio y el rechazo y destrucción de lo ajeno, sea éste un agente microbiano que penetra en el organismo, una neoplasia o, en el caso que nos ocupa, un aloinjerto (Figura 1). En este último, no solo las diferencias genéticas entre donante y receptor, sino también los cambios provocados por las sucesivas manipulaciones del órgano, durante las maniobras de

extracción, mantenimiento en hipotermia, cirugía de banco, reimplante e isquemia-reperusión, contribuyen a la respuesta inmune (Mühlberger 2009; Pallet 2009). En el donante cadáver, en contraposición al donante vivo, estos cambios son todavía más acentuados como consecuencia de la muerte cerebral o la asistolia (Famulski 2007). Todo ello tendrá una influencia decisiva, incrementando la inmunogenicidad del órgano y acentuando la respuesta inmune del receptor, independientemente del grado de compatibilidad HLA existente entre el donante y el receptor.

Las células responsables de la respuesta inmune innata, fundamentalmente neutrófilos y macrófagos, son capaces de reconocer marcadores de lesión tisular y daño celular derivadas de los mencionados insultos de origen isquémico, mecánico o de isquemia-reperusión. Diversas familias de receptores, entre ellos los denominados “toll-like receptors” detectan el daño tisular, generando una activación potente del denominado “inflamósoma”, regulando al alza la expresión de genes de transcripción y producción de micro-RNAs relacionados con los mediadores de la inflamación, incluidas citoquinas, interleuquina 1 (IL-1), IL-6 y factor de necrosis tumoral (TNF), interferon tipo 1, quimioquinas (citoquinas quimioatrayentes) y la expresión de selectina-P por las células endoteliales (Ogura 2007). Todo ello se sigue del reclutamiento de leucocitos polimorfonucleares, la activación del complemento, la migración de las células dendríticas desde el injerto al tejido linfoideo del receptor y, como consecuencia, la estimulación de la inmunidad adquirida. Así pues, la activación de la inmunidad innata acontece en el estadio inicial del trasplante, siendo una respuesta no específica derivada del daño tisular, e independiente por tanto de las diferencias genéticas entre el donante y el receptor (Ruiz San Millán, 2010).

Figura 1. Componentes principales de la inmunidad innata y adaptativa (Abbas, 2000)



1.2.3.1 Inmunidad adquirida

La inmunidad adquirida amplifica la especificidad de la respuesta inmune. Los protagonistas más importantes son las células presentadoras de antígenos (CPA), los linfocitos B y los T. Figura 2. Cada una de estas células tiene una función distinta y pueden identificarse por la expresión de moléculas específicas en su superficie, las cuales se nombran como CD (“cluster of differentiation”), acompañadas de un número. Así, los linfocitos B se identifican por la expresión de CD19 y CD20 y los linfocitos T por la expresión de CD2 y CD3. La respuesta de la inmunidad adquirida tiene dos brazos, el celular, principalmente mediado por linfocitos T citotóxicos o CD8 y el humoral, mediado por AC. En medio de los dos brazos están los linfocitos T “helpers” o CD4. Los linfocitos CD4 solo se activan en presencia de antígenos HLA de clase II. Figura 3. A su vez, los antígenos HLA clase II se expresan en 3 tipos de células, conocidas como CPA: células dendríticas, linfocitos B y macrófagos. Las CPA también proveen señales co-estimuladoras que favorecen una amplificación de la respuesta inmune. Una vez que el linfocito CD4 está activado, ayuda al linfocito B a través de la liberación de citoquinas (principalmente IL-4) y otros mediadores, a iniciar la respuesta humoral. Los linfocitos CD8 solo se activan en presencia de antígenos HLA de clase I, casi todos los tipos de células expresan estos antígenos en su membrana (Clatworthy 2012).

Figura 2. Clases de linfocitos y su papel en las respuestas inmunes (Abbas, 2000).

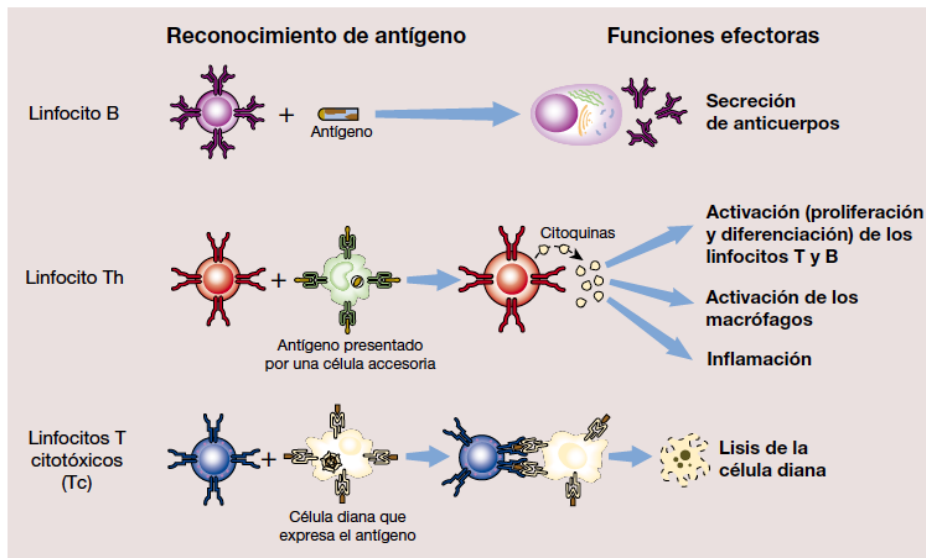
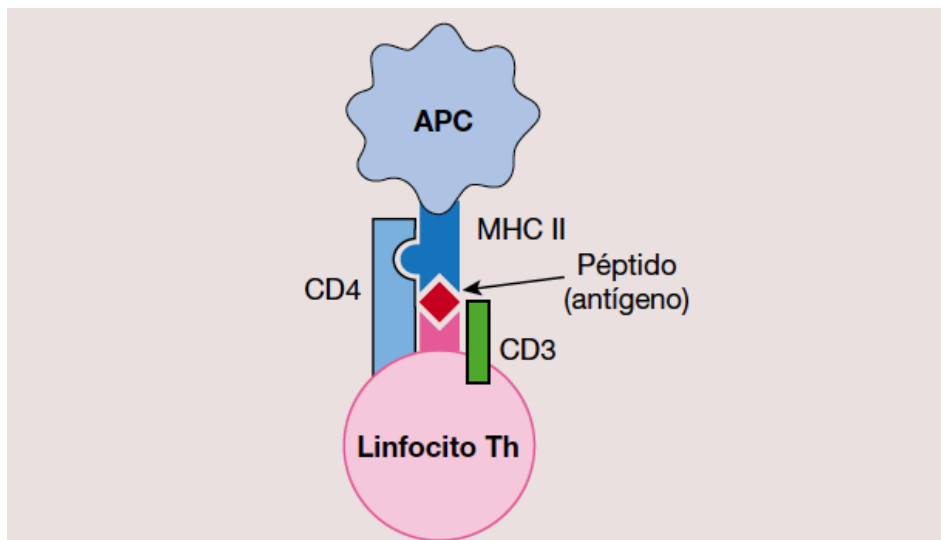


Figura 3. Unión de las células presentadoras de antígeno (CPA) y los linfocitos T. Los linfocitos T se unen a las CPA que expresan moléculas clase II (Abbas, 2000).



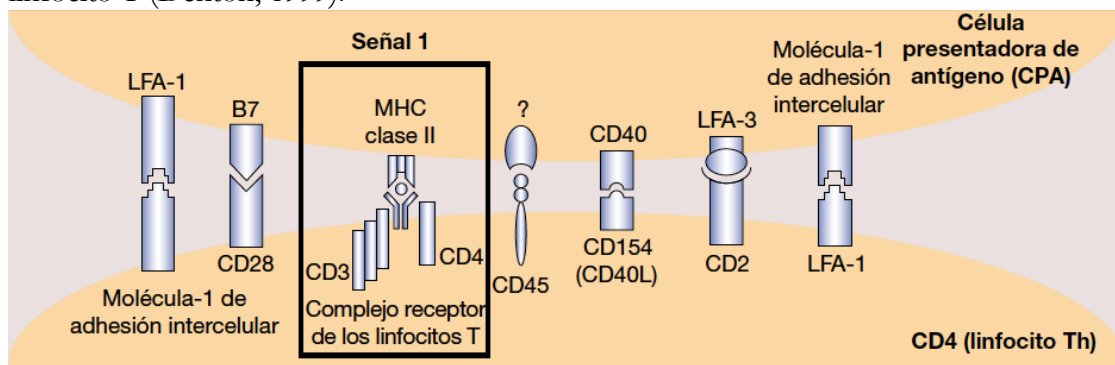
1.2.3.2 La 'primera señal' en la activación de los linfocitos T

La participación de la inmunidad adquirida y, más concretamente, de los linfocitos T deriva de diversas observaciones. Animales que carecen de linfocitos T son incapaces de rechazar aloinjertos; en cambio, dicha propiedad se restablece infundiendo linfocitos T purificados a dichos animales (Hara et al, 2001). De alguna manera, los sueros antilinfocitarios (como por ejemplo Timoglobulina) administrados a los pacientes trasplantados renales, pretenden, a través de una reducción de la población linfocitaria T, disminuir la capacidad de respuesta inmune y, por tanto, incrementar la probabilidad de aceptación del órgano (Cai, 2010). Los linfocitos T del receptor son capaces de ser estimulados y de responder a la presencia de

antígenos HLA presentes en el aloinjerto y ausentes en el receptor, o sea antígenos HLA incompatibles. Menos frecuentemente, como se ha demostrado en trasplantes efectuados entre hermanos HLA idénticos, el rechazo puede verse desencadenado por incompatibilidades en sistemas antigénicos considerados menores (Dierselhuis, 2009).

La activación de los linfocitos T en el paciente trasplantado acontece a través de dos vías fundamentales, directa e indirecta. Por la vía directa, los linfocitos T (CD4 y CD8) reconocerán al complejo HLA clase I o II directamente en la superficie de las CPA del donante; siendo esta la vía predominante en la etapa inicial postrasplante y la responsable principal de los episodios de rechazo agudo celular. Por vía indirecta, los linfocitos T respondedores reconocerán alo péptidos del donante, mediante moléculas propias de HLA, una vez procesadas y presentadas por las CPA del receptor. Esta vía es la que predominará a largo plazo y durante todo el periodo postrasplante, siendo la responsable del rechazo crónico del injerto.

Figura 4. La señal 1 es la unión del complejo “MHC péptido” al complejo receptor del linfocito T (Denton, 1999).



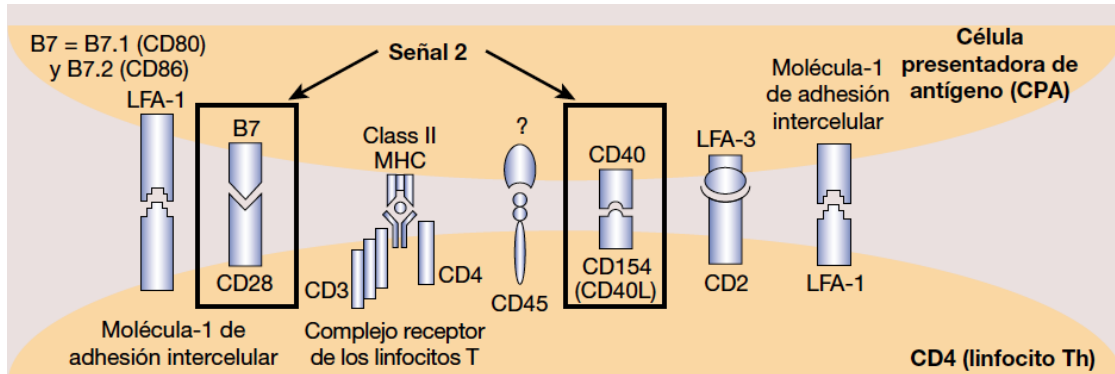
1.2.3.3 La ‘segunda señal’ de activación o coestimulación

La estimulación del linfocito T a través del receptor CD3 (TCR-CD3), no es suficiente por sí sola para una estimulación efectiva de los linfocitos T naive o no activados. Es necesaria una segunda señal derivada de la interacción de las moléculas coestimuladoras, a saber la familia B7, caracterizadas por las moléculas CD28 y CD152 (CTLa-4) del linfocito T, cuyos respectivos ligandos son CD80 y CD86 de las células presentadoras de antígeno, y la familia TNF/TNF receptor cuyo par ligando son CD40 y CD40L. Figura 5.

La señalización a través de CD28 disminuye el umbral necesario para la activación del linfocito T, incrementando la expresión de IL-2 y promoviendo, de esta manera, la proliferación de dichas células. Como consecuencia de la estimulación de los propios linfocitos se potencia la expresión de las moléculas coestimuladoras, multiplicando de esta manera la efectividad de la respuesta inmune. Ensayos en humanos han demostrado que el

bloqueo de la señal coestimuladora mediante belatacept, asociado a otros inmunosupresores, previene eficazmente de la aparición del rechazo (Vincenti 2005).

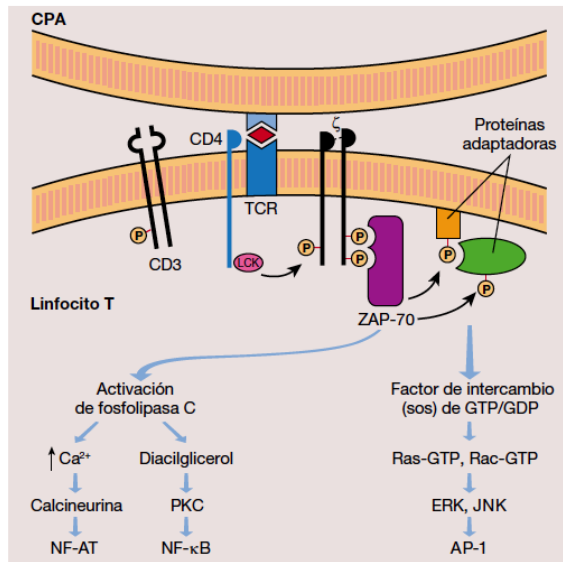
Figura 5. La señal 2 supone la unión de dos moléculas coestimuladoras (Denton, 1999).



1.2.3.4 La 'tercera señal' de activación de los linfocitos T

Durante el reconocimiento antigénico por parte del linfocito T, existen múltiples receptores CD3 ligados al péptido de la molécula HLA sobre la superficie de la célula presentadora de antígenos formando una auténtica sinapsis inmunológica o complejo de activación supramolecular. Ello provoca la reorganización de la membrana celular en la vecindad de estas sinapsis, facilitando la activación de señales de transcripción de genes implicados en la estimulación de la síntesis y liberación de IL-2, así como del receptor de alta afinidad CD25 para la cadena alfa de la IL-2. Como consecuencia de la liberación masiva de IL-2 y otras citoquinas pro-proliferativas, que actúan de modo autocrino y paracrino, se genera la que se ha convenido en llamar la tercera señal. Como consecuencia de dicha señal se genera una expansión clonal y diferenciación de los linfocitos T CD4 activados.

Figura 6. Señalización inicial en la membrana del linfocito T (Abbas AK, 2000).

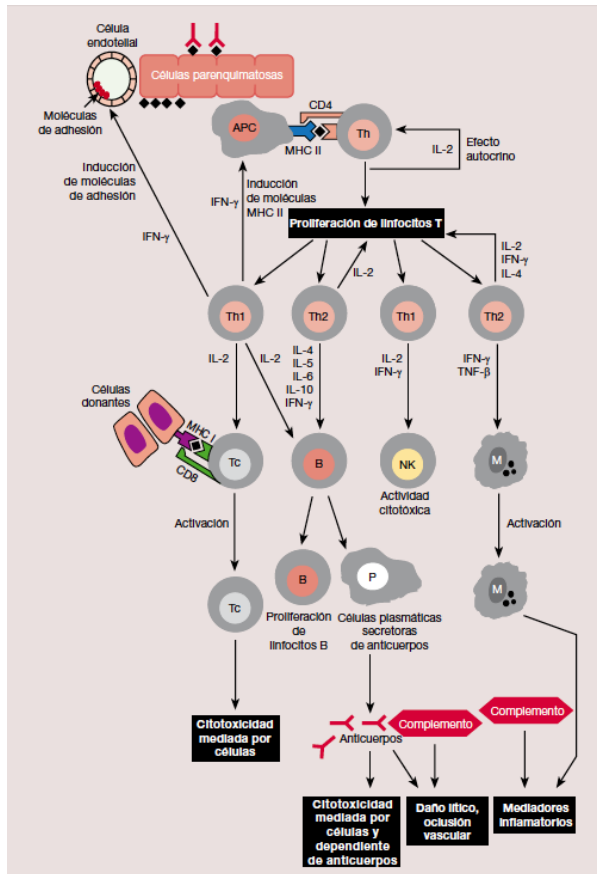


1.2.3.5 Diferenciación de los linfocitos T

Tras la activación de los linfocitos T y dependiendo del microambiente y de señales adicionales se produce un fenómeno de diferenciación de los mismos en diferentes tipos celulares, con diferentes perfiles de secreción de citoquinas y funcionales. Los linfocitos CD4 restrictivos para antígenos de clase II adquieren habitualmente una función colaboradora (Th). Figura 7. A su vez, existen diferentes subtipos de linfocitos Th con factores de transcripción y citoquinas únicos, tales como Th1, Th2, Th3, Th17, Th9 y Thf, con diferentes perfiles funcionales (Burrell, 2010). Por el contrario, linfocitos CD8, restrictivos para antígenos de clase I, son habitualmente citotóxicos.

Existen múltiples factores que influyen en la diferenciación de los linfocitos T después de su activación tales como el estado inmunológico del receptor en el momento del trasplante, el grado de lesión por isquemia-reperfusión, el grado de incompatibilidad HLA con el donante, la carga antigénica, así como el tratamiento inmunosupresor administrado para la prevención del rechazo. Además de los linfocitos T promotores de la respuesta inmune, los linfocitos Th y los linfocitos T citotóxicos, existen otras poblaciones de linfocitos T que regulan o inhiben dicha respuesta efectora, llamadas linfocitos o células T reguladoras (T reg). Estas células son seleccionadas en el timo, pudiendo acontecer de manera natural en el propio timo o bien ser inducidas en la periferia en presencia de un estímulo antigénico. Como dato identificativo exhiben de forma mantenida el factor de transcripción Foxp3 (Wood, 2010).

Figura 7. Diferenciación y proliferación de los linfocitos T (Abbas, 2000).



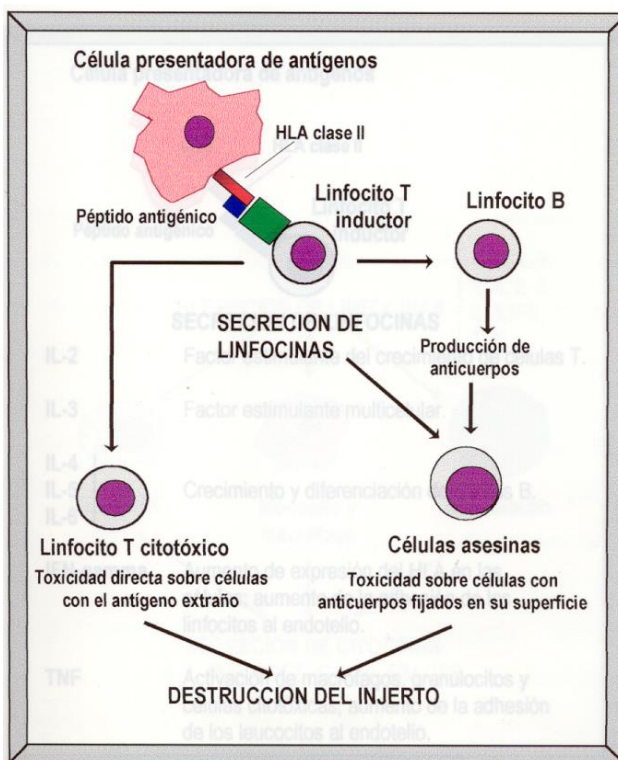
1.2.3.6 Linfocitos B y el rechazo mediado por anticuerpos

Los linfocitos B se consideran células secretoras de anticuerpos, pero pueden actuar también como células presentadoras de antígenos. Interaccionan con los linfocitos T a través del TCR y de las moléculas coestimuladoras, lo que a su vez influyen la activación, diferenciación y en la secreción de anticuerpos. De hecho, la mayoría de linfocitos B dependen de los linfocitos T para la producción de anticuerpos. Los anticuerpos dirigidos contra antígenos HLA específicos del donante son los responsables de los rechazos humorales agudo y crónico, entidades anatomoclínicas con importantes implicaciones terapéuticas y pronósticas (Terasaki, 2008). Los linfocitos B pueden ser activados en respuesta a antígenos HLA incompatibles del donante, así como antígenos de sistemas menores de histocompatibilidad, antígenos endoteliales e incluso autoantígenos, contribuyendo todos ellos al rechazo del injerto (Win, 2010). El mecanismo de acción de los aloanticuerpos es fundamentalmente a través de la activación del complemento. Ello ha permitido que la detección de C4d a nivel de los capilares renales peritubulares de los injertos renales se interprete como expresión de la reacción antígeno anticuerpo a dicho nivel (Feucht, 1993).

1.2.3.7 Mecanismos de destrucción del injerto

Los diversos factores anteriormente mencionados contribuyen a la activación de los linfocitos T, responsables de la iniciación de la respuesta inmune adaptativa cuyo objetivo es la destrucción del órgano o del tejido injertado. Pero la inmunidad innata, a través de los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos, así como la activación del complemento por las distintas vías, generan distintas moléculas efectoras que contribuyen a dañar al injerto facilitando de esta manera la presentación antigénica y la activación de la inmunidad adquirida. La síntesis de anticuerpos por los linfocitos B y las células plasmáticas, la activación de las células natural killer (NK) y de los linfocitos T citotóxicos CD8, estas últimas liberando perforina, granzima y TNF-alfa, entre otros, contribuyen a la destrucción del injerto (Adams, 2003).

Figura 8. Mecanismos de destrucción del injerto (CTCV).



1.2.4 Anticuerpos contra el sistema HLA y contra otros sistemas menores

La primera vez que las células inmunitarias entran en contacto con un antígeno que no reconocen como propio, inducen la formación por parte de las células plasmáticas de anticuerpos específicos frente al antígeno. Estos son inicialmente de tipo IgM y posteriormente IgG, y provocan la llamada respuesta primaria. Los pacientes con enfermedades de tipo autoinmune, como el lupus eritematoso sistémico o procesos

reumatoides, presentan a menudo autoanticuerpos que reaccionan por linfocitotoxicidad. La mayoría de los autoanticuerpos son de tipo IgM y serían inocuos ante un trasplante. Un método simple para inactivar la reactividad de los anticuerpos IgM en los sueros, es el uso de un agente reductor, el ditiotreitól (DTT), que inactiva la citotoxicidad debida a las moléculas de IgM. Ante un segundo contacto con el mismo antígeno, los linfocitos con memoria aceleran el proceso, produciéndose mucha más cantidad de anticuerpos y en mucho menos tiempo. En esta segunda respuesta, respuesta secundaria, los anticuerpos son predominantemente de tipo IgG.

La sensibilización HLA en los pacientes en la lista de espera de trasplante renal, resulta debido a la exposición a antígenos leucocitarios no propios, bien por transfusiones, embarazos y, sobre todo, por trasplantes previos. El riesgo de sensibilización de un paciente está en relación, además, con el propio tipaje del paciente. Así, los pacientes homocigóticos para varios antígenos, o aquéllos cuyos antígenos son poco frecuentes en la población general, tienen más posibilidades de inmunizarse, al tener mayor probabilidad de encontrar antígenos diferentes a los suyos, que aquéllos cuyo fenotipo es frecuente y variado.

1.2.4.1 Especificidad de los AC anti-HLA

La especificidad de los anticuerpos es importante para conocer qué antígenos deben evitarse para el trasplante. Los anticuerpos no se vinculan a la totalidad del antígeno HLA sino a ciertos epítomos de su molécula. Cada antígeno HLA tiene potencialmente muchos sitios o epítomos que pueden enlazar anticuerpos, estos pueden estar dirigidos frente a epítomos privados que son determinantes antigénicos presentes en un solo tipo de alelo (por ejemplo el antígeno A2), frente a epítomos públicos que son determinantes antigénicos comunes a muchas moléculas o alelos (por ejemplo los antígenos Bw4 y Bw6), o frente a grupos de reactividad serológica cruzada (CREG) que son grupos de moléculas HLA con determinantes antigénicos comunes entre si y que frecuentemente provocan la formación de anticuerpos que reaccionan con todos ellos. Tabla 2 y 3.

Hoy en día se piensa que la compatibilidad donante-receptor debe de estar basada más que a nivel antigénico a nivel de los epítomos. Sabiendo hacia que antígeno o epítomos están dirigidos, podemos clasificar a los anticuerpos anti-HLA según estén dirigidos o no contra determinantes presentes en el donantes como “Anticuerpos anti-HLA Donante Específicos” o ADE o como “Anticuerpos anti-HLA no donante específicos” no ADE.

1.2.4.2 Anticuerpos contra el sistema ABO

Los antígenos A y B del sistema ABO se encuentran en casi todos los tejidos del organismo y aunque aparentemente no haya habido un contacto o inmunización previa, los AC contra estos antígenos están siempre presentes. Así todas las personas del grupo O tienen AC circulantes frente a los antígenos A y B, las personas del grupo A tienen AC frente al antígeno B y las personas del grupo B tienen AC frente al antígeno A. Las personas del grupo AB, no tienen AC frente a este sistema. La presencia de los antígenos A y B en las células del endotelio vascular renal puede provocar un rechazo hiperagudo en caso de incompatibilidad ABO y constituye una contraindicación al trasplante. No obstante, mediante protocolos de desensibilización previos al trasplante, se han realizado trasplantes ABO incompatibles con resultados satisfactorios (Oppenheimer, 2010).

1.2.4.3 Anticuerpos No anti-HLA

Existen anticuerpos no linfocitotóxicos que podrían ser nocivos para el injerto, como anticuerpos dirigidos no contra el sistema HLA, sino contra células endoteliales, antígenos MICA, receptor de la angiotensina II, colágeno, K alfa1tubulina, miosina cardíaca, isoaglutininas del sistema ABO y vicentina.

Entre éstos los más importantes son los anticuerpos dirigidos contra el sistema antigénico endotelio-monocítico. No se conoce aun la incidencia y la expresión clínica derivada de la acción de estos AC. Se ha relacionado los AC anti endotelio (AECA: anti-endothelial cell antibodies) con activación celular, apoptosis y daño tisular (Zhang, 2010). Existen publicaciones que demuestran una asociación entre los AC anti endotelio (Jackson, 2011) y AC contra receptores tipo 1 de la angiotensina II (Reinsmoen, 2010; Kerman, 2010) con el rechazo del injerto.

Los anticuerpos anti-MICA son anticuerpos dirigidos contra el antígeno A asociado a la cadena del complejo principal de histocompatibilidad clase I (MICA), una molécula polimórfica codificada en la misma región que el HLA (cromosoma 6) que se expresa en endotelios bajo circunstancias de estrés. Actualmente su relevancia no está claramente establecida, pero se han asociado con una disminución de la supervivencia del injerto. (Sumitran-Holgersson, 2002; Zou, 2007; Solgi, 2012) Su determinación sería de interés en un episodio de rechazo corticorresistente, con depósitos de CD4, no explicable por AC-antiHLA. Mizutani y cols. encontraron un 37% de pacientes con AC MICA positivos sin AC HLA y con un injerto disfuncionante (Mizutani, 2006).

1.3 Técnicas de determinación de Anticuerpos

El estudio de la sensibilización HLA es una herramienta muy importante en el momento de seleccionar un receptor adecuado para un injerto, existiendo múltiples técnicas que permiten estudiar la presencia en el suero del receptor de anticuerpos frente a los antígenos HLA del donante. Los pacientes en lista de espera de trasplante renal deben ser objeto de un estudio periódico para detectar la existencia y, en su caso, los tipos y la evolución de los títulos de anticuerpos anti-HLA. La correcta caracterización de anticuerpos aumenta las posibilidades de éxito del trasplante, sin embargo, cuanto mayor es la sensibilidad de la técnica, se detectan mayor cantidad de anticuerpos, y por consiguiente se reducen las posibilidades de encontrar un donante compatible.

Clásicamente se utilizaban técnicas de linfocitotoxicidad como método de despistaje para la presencia de anticuerpos anti-HLA pre-trasplante renal, con posterioridad se han desarrollado técnicas más sensibles y específicas como la citometría de flujo y técnicas de enzimoanálisis (ELISA) que añadieron complejidad a la interpretación de los resultados (Sumitran, 2001). Sin embargo, han tenido que pasar 40 años desde la introducción de la linfocitotoxicidad, hasta el desarrollo de las técnicas basadas en tecnología Luminex, usando antígenos purificados a partir de líneas recombinantes, que han permitido identificar claramente las especificidades altamente polimórficas contra las cuales reaccionan los anticuerpos HLA y monitorizar los ADE en el periodo postrasplante (Terasaki, 2003).

1.3.1 Linfocitotoxicidad dependiente de complemento

Los primeros estudios que permitieron el inicio del conocimiento del sistema HLA, se realizaron con la técnica de leucoaglutinación, sin embargo esta técnica era poco práctica para estudiar un sistema con tantos polimorfismos. En 1964 Terasaki y McClelland describieron un micrométodo basado en la activación de complemento por ciertos AC, para detectar anticuerpos HLA contra el donante, que permitía utilizar una mínima cantidad de suero del receptor que pronto se impuso como técnica de rutina para los tipajes HLA, los escrutinios de anticuerpos y para las pruebas cruzadas donante-receptor previo a un trasplante (Mahoney 2002). Figura 9. Con posterioridad y tras el estudio de casos de rechazo inmediato del injerto, se realizó el diagnóstico de rechazo hiperagudo mediado por AC, que supuso la primera evidencia formal de que los anticuerpos pueden destruir un injerto en cuestión de minutos. La aplicación de la compatibilidad ABO y la indicación de obtener pruebas cruzadas “negativas” pretrasplante recomendada desde 1969 (Patel 1969) 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.

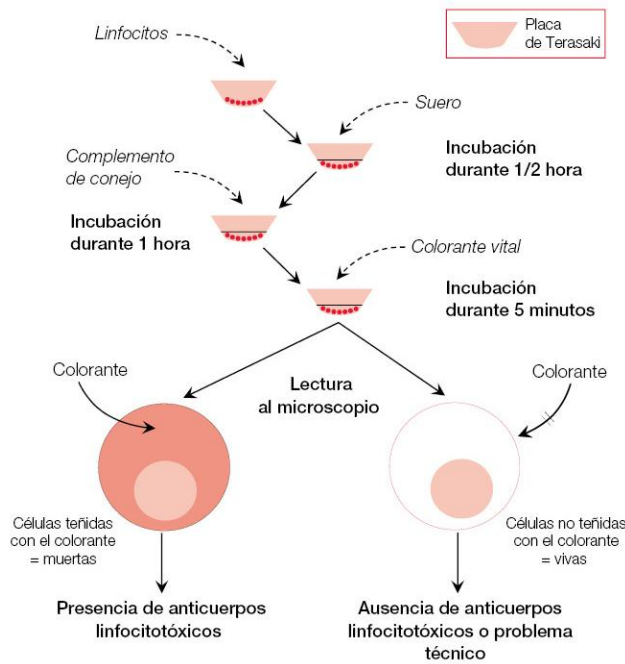
El principio de esta técnica se basa en la capacidad que tienen los complejos antígeno-anticuerpo de activar el complemento. Se puede utilizar tanto para el Tipaje como para el escrutinio de anticuerpos o para la prueba cruzada o Cross-match. La activación del complemento (activación de C1q, paso inicial de la vía clásica del complemento) provoca la permeabilidad inespecífica de la membrana de la célula, que puede ser detectada por la libre entrada de un colorante vital. Las membranas íntegras de las células vivas impiden la entrada del colorante. Así, se pueden distinguir las reacciones positivas (células teñidas), de las negativas (células no teñidas) en un microscopio de contraste de fases (Ruiz Millán, 2010).

Actualmente se ha mejorado la detección de esta activación del complemento utilizando dos fluorocromos, naranja de acridina (color verde) y el bromuro de etidio (color rojo). Primero se añade naranja de acridina que penetra en los linfocitos y si estos mantienen intacta la membrana, el colorante es retenido en su interior y en el microscopio de fluorescencia se ven de color verde. Las células con poros en la membrana producidos por la activación del complemento, no retienen la fluorescencia verde y para visualizarlas se añade un segundo reactivo al final de la incubación, el bromuro de etidio; este colorante penetra en las células muertas y produce una fluorescencia roja (Puig, 1995). Si lo utilizamos para el escrutinio de anticuerpos entonces el suero del paciente tiene que ser enfrentado con un panel de células que contengan los antígenos HLA más representativos de la población general (panel celular equilibrado de al menos 30 células de tipaje conocido). En el caso del tipaje, entonces las células son las del paciente que queremos tipar y los sueros son anticuerpos de especificidad conocida, generalmente utilizándose placas comerciales con antisueros monoclonales.

La técnica CDCAHG (modificación de la técnica clásica), utiliza la adición de la reacción de un anticuerpo anti-cadena ligera humana κ (antiglobulina) para amplificar la reacción de citotoxicidad (Fuller, 1997). Otro método que aumenta la sensibilidad de la técnica es aumentar el tiempo de incubación del suero con las células o utilizar para la prueba cruzada linfocitos B aislados, que tienen mayor representación de los antígenos HLA. Aunque la técnica de Linfocitotoxicidad (LCT) fue el “gold standard” durante muchos años, actualmente su uso se asocia con varias dificultades. Al utilizar linfocitos, no solo las moléculas HLA sino también otras estructuras irrelevantes de la membrana celular pueden interferir con la determinación de AC, como por ejemplo los autoanticuerpos, los complejos inmunes y otras inmunoglobulinas (Ting, 1983) Además, esta técnica basada en

la activación del complemento, no detecta anticuerpos IgG2 e IgG4 ya que estos no fijan complemento.

Figura 9. Prueba de Microlinfocitotoxicidad de Terasaki (Ruiz San Millán, 2010).



1.3.2 ELISA

La detección de anticuerpos por la técnica de ELISA (“Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay” o Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas) utiliza antígenos HLA solubles sintetizados o purificados en el laboratorio. Al igual que en la técnica de citotoxicidad, la mezcla de antígenos debe ser representativa de la población general. El suero se incuba con el HLA pegado a la placa. Si existen anticuerpos que reconozcan moléculas HLA, se unirán a ellas y quedarán fijados en la placa. En caso contrario, todas las inmunoglobulinas se eliminarán con los lavados. En un paso posterior la presencia de los anticuerpos fijados se determinará tras incubación con un anticuerpo dirigido frente a inmunoglobulina G (IgG) humana conjugado a una enzima. En caso de que haya anticuerpos anti-HLA esa enzima producirá una reacción colorimétrica al actuar sobre su sustrato en el último paso de la técnica. Esa reacción se cuantifica en un espectrofotómetro. Mediante ELISA se detectan todos los anticuerpos anti-HLA, tanto fijadores de complemento como no fijadores (Tait, 2009). Una vez que se ha detectado la presencia de anticuerpos anti-HLA (clase I o II), la especificidad frente a la que se dirigen esos anticuerpos se puede determinar también mediante un ELISA con placas de alta definición o de antígenos únicos, con la misma metodología. A pesar de su alta sensibilidad y

especificidad las técnicas de ELISA también están siendo desplazadas por las técnicas que se basan en el uso de la citometría de flujo como la tecnología Luminex.

La técnica de ELISA es capaz de detectar anticuerpos clínicamente relevantes, que pasarían inadvertidos mediante análisis con LCT (Süsal, 2002); sin embargo, falla en atribuir las especificidades HLA precisas por el bajo poder de resolución de la técnica. Lechaufeur et al demostraron que los pacientes con ADE detectados por ELISA presentaban una peor supervivencia del injerto comparado con pacientes sin ADE, especialmente cuando la presencia de ADE estaba relacionada con RAH (Lechaufeur, 2010).

1.3.3 Citometría de flujo

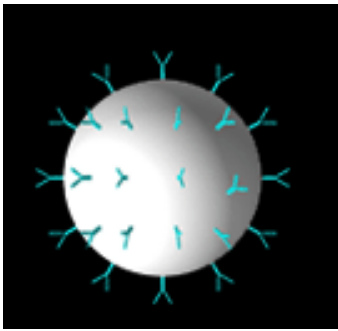
Con el fin de mejorar la sensibilidad en la detección de anticuerpos HLA, Garovoy et al (1983) introdujeron la Citometría de flujo (CF) para la PC previa al trasplante renal. Básicamente la CF es un método analítico que permite analizar las células en un medio líquido una a una y medir la emisión de fluorescencia y la dispersión de la luz, producida por células o partículas biológicas, al pasar a través de un haz luminoso (O'Connor, 1994). Las señales de las células son interceptadas una a una por un haz de luz láser. Detecta de modo simultáneo varias fluorescencias y además las variaciones en el tamaño y granularidad de las células, lo que permite diferenciarlas sin necesidad de aislarlas previamente. Esta técnica detecta la presencia de anticuerpos anti-HLA unidos a la membrana de células. Tras incubar suero y linfocitos, se añade una anti-inmunoglobulina humana marcada con un fluorocromo y el citómetro nos analiza la fluorescencia emitida por las células. El empleo de un haz de láser para medir la fluorescencia hace a esta técnica más sensible que la LCT clásica. En un principio, este método utilizaba un panel de linfocitos T (clase I) y B (clase II). Pero para evitar la dependencia de linfocitos, se han desarrollado sistemas similares al ELISA basados en micropartículas que llevan fijadas en su superficie moléculas HLA de clase I o II (tecnología Luminex).

1.3.4 Ensayos de Fase sólida: Tecnología Luminex

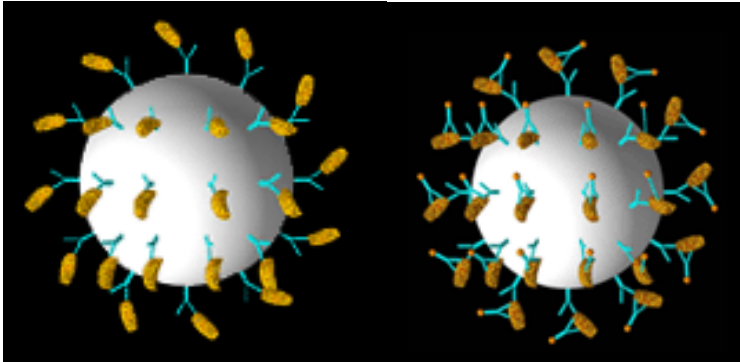
En 1987, Wiley et al, identificaron la estructura molecular de la molécula HLA, de esta forma, fue posible desarrollar líneas recombinantes que representaran solo una identidad HLA (Jeannet, 1970). Así nace la tecnología luminex, añadiendo un único antígeno HLA a cada una de las “bolitas” o microesferas coloreadas para poder conocer la especificidad de cada anticuerpo (Soulillou, 1978). La técnica en fase sólida de Luminex es una modificación de la técnica clásica de citometría de flujo. En vez de células utiliza unas microesferas de látex que llevan adheridas en su superficie moléculas HLA, impregnadas de diferentes

proporciones de dos colorantes fluorescentes (rojo e infrarrojo). Usando diferentes relaciones entre los dos colorantes se diferencian 100 tipos de esferas, cada una única y distinguible de las otras por medio de una luz laser, que las identifica basándose en el código de color que resulta del ratio entre los dos colorantes. Los anticuerpos anti-HLA se fijan a la molécula HLA correspondiente y se ponen de manifiesto mediante el agregado de una inmunoglobulina anti-IgG, marcada con un fluorocromo. A continuación, un citómetro con doble láser “lee” por una parte el fluorocromo (señal positiva) y por otra el color de la microesfera al que está asociado (especificidad). Los resultados se analizan en la plataforma Luminex, mediante un sistema informático asociado, que interpreta estas señales para llegar a un diagnóstico. (Tait, 2013) Los resultados son semiquantitativos y permiten la categorización de los AC mediante la intensidad de fluorescencia media “leída” o MFI (mean fluorescence intensity). Siempre hay que verificar que los controles sean correctos, es decir que el control positivo sea mayor de 1000 MFI y el control negativo sea menor de 500 MFI.

Figura 10. Descripción de la tecnología Luminex (One Lambda®).

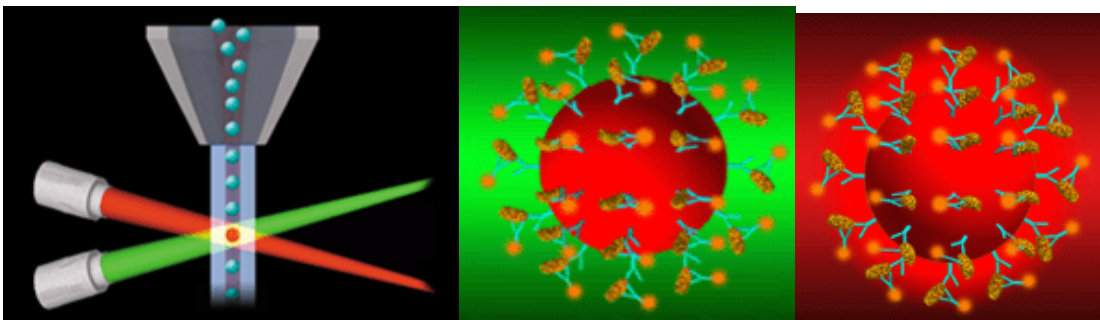


A) La tecnología luminex utiliza unas microesferas de látex, en cada una de las cuales se acopla una determinada molécula. Cada esfera tiene dos colorantes (rojo e infrarojo), la relación entre estos dos colores permite diferenciar 100 tipos de microesferas.

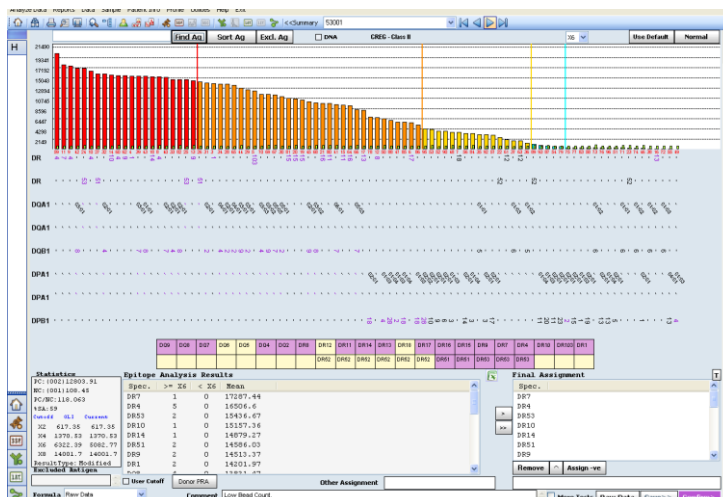


B) los anticuerpos se unen a una molécula específica que esta en una determinada microesfera, luego se usa un detector de anticuerpo con ficoeritrina.

C) Las esferas y el detector del AC se “leen” con el citómetro Luminex LABScan 100, provisto de dos sistemas de láser, uno identifica el código de color de las esferas y el otro el del detector del anticuerpo.



D) Los resultados se analizan mediante un programa informático que los ordena por intensidad creciente o decreciente. La intensidad de los AC se mide mediante “MFI” (Intensidad de fluorescencia media).



1.3.4.1 Punto de corte o “cut off” de la técnica

No existen puntos de corte estandarizados para determinar la positividad de estas pruebas. La valoración del riesgo inmunológico varía entre los distintos centros, algunos informan los “antígenos prohibidos” por encima de un determinado nivel de MFI, otros categorizan según rangos de MFI (riesgo bajo, intermedio o alto) y otros proveen el nivel de MFI de cada AC identificado (Taylor, 2009). El gran problema en la actualidad es que no existe un criterio común entre los diferentes laboratorios para definir qué nivel de anticuerpos (MFI) es relevante y cual no lo es, de forma que cada laboratorio tiene que establecer su punto de corte de MFI (Claas, 2008). En la literatura encontramos un abanico de puntos de corte por encima del cual se interpreta un anticuerpo como representativo o “inaceptable” para trasplantarse con un determinado donante, que puede oscilar entre 500 (Aubert, 2009; Niederhaus, 2011), 1000 (Everly, 2013; Süsal, 2011; Gombos, 2011) y 3000 de MFI (Lobashevsky, 2013). Cuanto más bajo sea el MFI que define el “cut off”, la actitud del centro trasplantador será más conservadora, por el contrario, cuanto más alto sea el MFI, se correrán más riesgos inmunológicos pero se darán más oportunidades a los pacientes sensibilizados en lista de espera. A pesar de que este problema está aún por resolver, el Luminex, que gradualmente fue reemplazando a la técnica de linfocitotoxicidad, se ha convertido hoy en día en el estándar en la mayoría de los laboratorios de histocompatibilidad.

1.3.4.2 Fases de detección de AC por tecnología Luminex

Existen dos casas comerciales que distribuyen los reactivos Luminex, tanto para el escrutinio de anticuerpos, como para el estudio de las especificidades. En el centro de transfusiones de la Comunidad Valenciana se ha trabajado con los reactivos de One Lambda Inc. ®, Canoga Park, CA, desde la implementación de la técnica. Según las recomendaciones de la casa comercial One Lambda®, se utilizan 3 fases consecutivas de especificidad creciente: “Labscreen mixed”, “Labscreen PRA” y “Singel Antigen Beads”.

a) Labscreen Mixed:

Realiza un primer filtro de detección de anticuerpos anti-HLA, informando sobre la existencia o no de éstos, siendo posible diferenciar de que clase son (clase I o II).

Para esta técnica se utilizan 11 microesferas de látex diferentes recubiertas con mezclas de antígenos HLA, de clase I (HLA-A, HLA-B y HLA-C) y de clase II (HLA-DR, HLA-DQ Y HLA-DP), las esferas con antígenos de clase I tienen 3 identidades y las de clase II tienen 5 identidades. Si la prueba es negativa no es necesario avanzar a las siguientes fases. Según

sea la prueba positiva para anticuerpos de clase I y/o II se procede a realizar el Labscreen PRA clase I y/o II. Esta técnica permite también la detección de AC anti-MICA.

Desde la utilización de la técnica en nuestro laboratorio, se han interpretado como positivos los MFI superiores a la cuarta parte del MFI correspondiente al control positivo. Actualmente y con posterioridad a la lectura de las determinaciones realizadas para esta tesis, se consideran MFI positivos por encima de 1500.

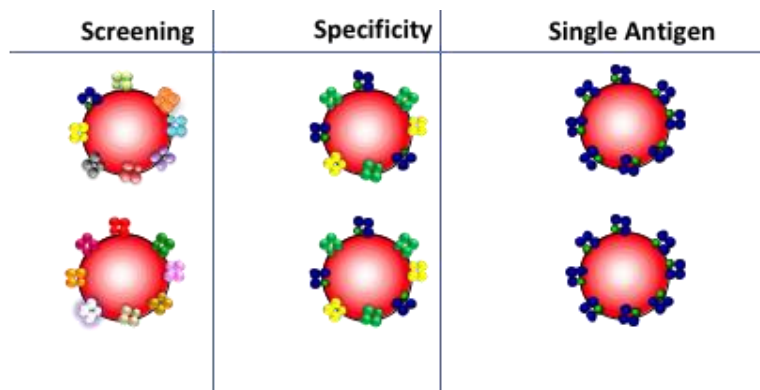
b)Labscreen PRA:

Consiste en una segunda fase que utiliza un panel de 57 microesferas recubiertas con antígenos HLA de clase I y 37 para clase II. Se puede hacer de forma independiente para ambas clases de AC (PRA I y PRA II). Informa del porcentaje de reactividad y de la especificidad de los AC, de forma más sensible que Labscreen mixed. Si el PRA I es positivo se pasa a “Single antigen” de clase I. Si PRA II es positivo se pasa a “Single antigen” de clase II.

c)Single Antigen Beads (SAB):

Es la tercera fase de esta técnica. Permite detectar con gran precisión las identidades HLA. (Pei, 2003) Es útil para determinar si los anticuerpos son específicos contra un donante en particular antes de realizar la prueba cruzada, o para inferir la probabilidad de que el paciente reaccione frente a un donante según la “intensidad” de las especificidades. Esta herramienta es cada día más útil para priorizar los pacientes en la lista de espera, la asignación de los órganos y la valoración del riesgo inmunológico pre o post trasplante. (Schaub, 2008) También permite la detección de AC “débiles” o de baja intensidad. Cada microesfera está recubierta por solo un antígeno de clase I o de clase II, permitiendo identificar los alelos para todos los 11 locus HLA. (A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5, DQA1, DQB1, DPBA1, DPB1) (Pei 2003, Taylor 2009) Algunos de estos no podían ser identificados mediante las pruebas anteriores, de esta forma el SAB ha puesto de manifiesto el rol de los anticuerpos contra epítomos específicos como HLA-Cw, HLA-DQA, HLA-DPA/B en el rechazo contra el injerto (Dunn 2011, Billen 2010). Esta técnica permite conocer de forma muy detallada cuales son las especificidades antigénicas contra las que reacciona el receptor o “ADE” (antígenos prohibidos) y contra las que no reacciona o “no ADE” (antígenos permitidos), definiendo muy claramente qué donantes podrían ser compatibles con el receptor a priori, incluso antes de hacer la prueba cruzada (Amico 2009). Este último sería el concepto de la prueba cruzada virtual que en pacientes altamente sensibilizados permite definir cuáles son las “incompatibilidades aceptables” o antígenos permitidos.

Figura 11. Fases de la Tecnología Luminex (One Lambda®).



*Screening: Labscreen mixed, Specificity: Labscreen PRA.

1.3.4.3 Interferencias en los ensayos de fase sólida

Pueden existir interferencias con la técnica debido a una variedad de sustancias (Waterboer, 2006; Earley, 2002) que podrían ser endógenas (presentes en el suero del paciente) o exógenas como tratamientos dirigidos al rechazo humoral (inmunoglobulinas, timoglobulina, bortezomib, eculizumab (Tait, 2013)). Por lo tanto, es de relevancia reconocer estas interferencias e intentar reducirlas. Para ello existen algunos indicadores como alta reactividad con el control negativo y baja reactividad con el control positivo. También nos permiten detectar estas interferencias la observación de cambios bruscos de reactividad con respecto a sueros anteriores sin mediación de tratamientos específicos.

1.4 Prueba cruzada entre donante y receptor

La prueba cruzada (PC) consiste en el análisis de la sensibilización humoral específica del receptor contra el donante. Si la PC es positiva, el receptor tendría un abanico de posibilidades de rechazar el injerto, según con que técnica se determine la PC.

1.4.1 Prueba cruzada linfocitaria

La PC por linfocitotoxicidad (LCT) actualmente es obligatoria en nuestro centro antes de la realización del trasplante, representando una contraindicación absoluta al mismo si la PC es positiva con linfocitos T en sueros actuales. Sin embargo, desde la implementación de la tecnología Luminex, existen centros que omiten la PC por LCT en pacientes sin historia de sensibilización HLA con buenos resultados (Taylor, 2010).

El primero en introducir la PC linfocitaria específica entre donante y receptor fue Kissmeyer-Nielsen en 1966 (Kissmeyer-Nielsen, 1966). A finales de los años 60 y primeros de los 70, numerosos trabajos demostraron la correlación entre la presencia de anticuerpos en el receptor frente a los linfocitos del donante, y el fracaso inmediato del injerto. Patel y Terasaki

comunicaron en 1969, que el 80% de los riñones trasplantados con una PC positiva no funcionaban, mientras que esto sólo ocurría en el 4% de los trasplantados con PC negativa. Igualmente se identificó un grupo de pacientes de alto riesgo, formado por los que habían perdido antes un injerto renal, mujeres múltíparas, y un porcentaje de los que habían recibido transfusiones de sangre, que habían formado AC anti-HLA antes del trasplante (Puig, 1995).

La PC se basa en la capacidad del suero del receptor de lisar las células T y/o B del donante con la ayuda de complemento exógeno (de conejo). Se incubaba suero del receptor con linfocitos del donante en distintos pocillos, si se produce la lisis celular (tras la incubación con complemento y adición de tinte) se interpreta que existen anticuerpos en el suero del receptor, específicos contra el donante y un riesgo elevado de rechazo hiperagudo. Desde el uso de esta técnica se consiguió reducir la frecuencia de rechazo hiperagudo hasta valores mínimos (Ruiz Millán, 2010). Existen variaciones de la técnica básica o PC linfocitaria, que 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 (Ting, 1983). Los lavados o el uso de ditiotreitól permiten distinguir si la lisis se debe a anticuerpos de tipo IgG o IgM. La presencia de anticuerpos frente a los antígenos HLA de clase I del donante en el suero del receptor, es decir, una PC donante específica positiva pretrasplante con linfocitos T, es una contraindicación para la realización de ese trasplante renal (Patel, 1969). Parece existir un acuerdo en cuanto al significado clínico de la PC positiva con linfocitos T por linfocitotoxicidad, no obstante, el significado de la PC con linfocitos B no está claro. Antiguamente se defendía que una PC positiva pretrasplante con células B era nociva cuando se debía a especificidades de tipo HLA (HLA de clase II) y no a autoanticuerpos (Scornik, 1992). Más recientemente la relevancia clínica de una PC positiva para células B, se ha asociado a la presencia de ADE clase II detectados por Luminex; no obstante, en ausencia de ADE, esta PC no se ha asociado a disminución de la supervivencia del injerto (Couzi, 2011). También existe cierta evidencia del efecto negativo de la presencia de anticuerpos de tipo IgM frente a antígenos HLA del donante en la supervivencia del injerto renal (Stastny, 2009), aunque en la mayoría de las ocasiones estos anticuerpos, sobre todo cuando son de baja afinidad o reaccionan sólo con células B, son autoanticuerpos y por tanto no suponen un obstáculo para el alotrasplante (Crespo, 2002).

1.4.2 PC histórica y actual

Patel y Briggs (1971) sugirieron que los casos de rechazos hiperagudos con PC negativas podían deberse a respuestas anamnésicas, y sugirieron la utilidad de realizar la PC con sueros

viejos históricos, además de con el suero actual del paciente. Debido a que el nivel de anticuerpos en el receptor fluctúa con el tiempo, se estableció la necesidad de estudiar los sueros de los pacientes a intervalos regulares de tiempo y conservar estos sueros para realizar la PC en el momento del trasplante. Cabe la posibilidad de que exista reactividad en sueros recogidos un tiempo atrás, sin que pueda detectarse en sueros más recientes. Esta situación, que se define como PC histórica positiva y actual negativa tiene una especial significación y su interpretación es discutida. La mayoría de los grupos aceptan la realización del trasplante cuando la PC actual es negativa y se detecta reactividad en sueros antiguos de más de un año. (Ruiz Millán, 2010), siempre que se trate de un primer trasplante. Otros grupos sólo trasplantan cuando las PC son negativas con todos los sueros o solo valoran las positividades con los linfocitos T (Mahoney 2002, Gebel 2003, Issa 2008); mientras que otros realizan tratamientos de desensibilización cuando la PC es positiva con linfocitos T (Niederhaus 2011; Haririan 2009, Marfo 2011).

En el CTCV la prueba se lleva a cabo con todos los sueros históricos del último año y aquellos con reactividad máxima. En nuestro Hospital, en el período en que se trasplantaron los pacientes de este estudio, si la PC era negativa se procedía al trasplante. Si la PC con linfocitos B con suero histórico era positiva, pero negativa con el suero actual, se procedía al trasplante. Si la PC con linfocitos T con suero histórico era positiva, pero se trataba de un paciente hipersensibilizado con pocas posibilidades de una nueva oferta, se procedía al trasplante incrementando el tratamiento inmunosupresor. Actualmente si la PC actual es negativa se procede al trasplante, pero si la PC histórica es positiva, ya sea con linfocitos B o T, primero se descarta que este resultado se deba a interferencias de la técnica con tratamientos biológicos previos o bien por la existencia de autoanticuerpos circulantes. Una vez descartadas estas situaciones y descartada a su vez la presencia de ADE a títulos altos mediante tecnología Luminex, nuestra actitud en el caso de un paciente con difícil acceso al trasplante, es incrementar el tratamiento inmunosupresor y proceder al trasplante.

1.4.3 PC por Citometría de flujo

Esta técnica es más sensible que la PC por LCT, siendo capaz de detectar anticuerpos en títulos muy bajos y anticuerpos que no activen el complemento, lo cual permite identificar pacientes con riesgo incrementado de RHA y pérdida del injerto (Iwaki, 1987; Couzi, 2011). Aunque no está claro si los anticuerpos detectados con este método son realmente nocivos, de hecho la positividad de la PC por este método no contraindica el trasplante, existiendo centros que reportan trasplantes exitosos tras PC por CF (Citometría de flujo)

positiva (Terasaki 2014). Una de las utilidades más actuales de esta técnica es la de sopesar los riesgos en pacientes con PC por LCT negativa pero con ADE detectados por Luminex, situación en la cual podría aportar más información para la toma de decisiones, permitiendo precisar el riesgo de pérdida de injerto al año del trasplante, especialmente en los retrasplantes (Ercilla 2010). Esta técnica no se ha utilizado para el análisis de los pacientes incluidos en esta tesis, ya que no se utiliza de rutina en nuestro laboratorio de histocompatibilidad.

1.4.4 Prueba cruzada virtual

Un análisis detallado de los anticuerpos presentes en el suero de los receptores mediante técnicas de fase sólida (Luminex) permite predecir si ese suero va a reaccionar contra las células de un determinado donante, una vez conocidos los antígenos HLA del mismo. Si el donante tiene alguno de los antígenos prohibidos definidos en el receptor la prueba cruzada será previsiblemente positiva y esto es lo que se llama Prueba cruzada virtual (PCV). Esta prueba indica un incremento del riesgo de episodios de rechazo mediado por AC del 5 al 55%, pero no contraindica necesariamente el trasplante (Ercilla 2010). Esto permite ganar tiempo y poder tomar la decisión de si un órgano es válido para un receptor que se encuentre en otra ciudad, sin tener que enviar linfocitos del donante ni hacer la prueba cruzada por citotoxicidad.

Debido a la gran sensibilidad de las técnicas de fase sólida es frecuente encontrar casos con PCV positiva en los que luego la PC por CDC sea negativa. Ante esta situación, es casi imposible que se produzca un rechazo hiperagudo, pero es probable que acabe produciéndose un rechazo agudo o crónico mediado por anticuerpos por lo que hay que valorar el riesgo en cada paciente, en función de las características de los anticuerpos responsables de esa PCV positiva (Amico 2009) Un estudio reciente demuestra que los pacientes trasplantados con PCV tienen un riesgo incrementado de presentar RAH en el período postrasplante (Caro-Oleas 2012).

La PC mediante Luminex para la asignación de órganos entre pacientes sensibilizados se utiliza actualmente en el programa de Eurotransplant y en el programa británico “UK Transplant” desde hace varios años (Claas 2004; Fuggle 2004). La predicción de una PCV negativa constituye la base del “acceptable mismatch program” del programa Eurotransplant (Claas 2009), que ha permitido el acceso al trasplante a pacientes altamente sensibilizados y en clara desventaja con respecto a los demás pacientes en las listas de espera locales (Roelen 2012). Durante la redacción de esta tesis, la ONT está trabajando

para cambiar el actual programa de intercambio de sueros para pacientes hiperinmunizados en un futuro cercano, mediante la puesta en marcha de un “software” para trabajar con PCV, y evitar así el intercambio de sueros entre los centros trasplantadores.

1.4.5 Comparación entre técnicas

La sensibilidad de las técnicas va creciendo de forma progresiva de menor a mayor: LCT, ELISA / CF y Luminex. Sin embargo todas ellas presentan ventajas y desventajas. Tabla 4. La técnica de LCT es menos sensible pero su incuestionable ventaja radica en detectar anticuerpos que pueden provocar un rechazo humoral hiperagudo (Patel 1969). Sus desventajas radican en que requiere un número relativamente importante de linfocitos viables y que puede arrojar un resultado positivo secundario a AC no-HLA. Pero su desventaja más importante, es que en pacientes altamente sensibilizados, el “screening” mediante esta técnica no permite conocer todas las especificidades de los anticuerpos. La técnica de LCT es difícil de estandarizar y el porcentaje de AC (PRA) puede estar sesgado por la composición del panel. Un análisis de especificidad detallado con esta técnica requiere acceso a un panel muy amplio de potenciales donantes locales o el uso de bandejas comerciales de células congeladas. Dado que el porcentaje de PRA se basa en la cantidad de células del panel que da una reacción positiva, el PRA del mismo suero puede variar entre diferentes centros con diferentes paneles (Fuggle 2008). Por esta razón, y para evaluar más exactamente la probabilidad que una PC positiva, el término “porcentaje de PRA”, se ha ido gradualmente cambiando a “cPRA” (calculated PRA) o PRA virtual (Cecka 2011) determinado mediante la técnica de Luminex. Aunque en algunos centros se ha excluido la PC por LCT del programa de trasplante renal (Taylor 2010), en nuestro hospital la seguimos utilizando, siendo una PC positiva, contraindicación formal para el trasplante. La CF, más sensible que LCT, puede detectar AC anti-HLA débiles que aumenten el riesgo de RAH y pérdida del injerto; sin embargo sus resultados también pueden verse afectados por la interferencia de AC no HLA (Couzi 2011).

La técnica de Luminex permite la identificación precisa de los ADE, distinguiendo todos los alelos, con lo cual es posible realizar una PCV con el donante. Por otro lado, permite cuantificar objetivamente la concentración de éstos (MFI). Se asume que cuanto más alto sea el MFI de un anticuerpo, mayores posibilidades de que ese anticuerpo sea dañino para el injerto. Dado el papel patogénico de los AC fijadores de complemento en el rechazo humoral, en los últimos años se han desarrollado modificaciones de la técnica para diferenciar anticuerpos que fijen o no complemento como los test de C4d (Bartel 2008) y C1q (Racusen 2013), aunque en la actualidad estas técnicas no forman parte de los

procedimientos de rutina de nuestro centro. Entre las desventajas de esta técnica, cabe resaltar la gran cantidad de información que aporta y que puede complicar la selección de donantes y el acceso de pacientes sensibilizados al trasplante. Se pueden producir falsos positivos secundarios a la presencia de “AC anti-HLA desnaturalizados” (Cai 2009, Tait 2014) y falsos negativos secundarios al llamado efecto de “prozona” o debido a IgM y C1 que podrían “bloquear” los anticuerpos IgG. La falta de estandarización de los reactivos y las variaciones que se pueden producir entre los lotes son otras limitaciones de la técnica, que requieren de una validación de la que no disponemos hasta ahora (Tait 2013).

1.5 Sensibilización HLA pre-trasplante

La preexistencia de AC anti-HLA constituye un obstáculo para la mayoría de los trasplantes de órgano sólido. Estos anticuerpos se generan por el hecho de haber recibido transfusiones, durante los embarazos o trasplantes previos. Los pacientes que presentan títulos altos de anticuerpos (pacientes hipersensibilizados) están en desventaja para lograr un trasplante exitoso, pudiendo ser difícil lograr una PC negativa con el donante. En estas condiciones, el tiempo medio de lista de espera de donante cadáver se alarga pudiendo ser mayor de 4 años (Alkalín 2005, Brodin-Sartorius 2012, Gebel 2010) y en el caso de los pacientes altamente sensibilizados o hipersensibilizados (PRA por LCT mayor a 90%), la identificación de varios antígenos inaceptables generalmente resulta en tiempos en la lista de espera extremadamente largos (Fuggle 2004). La sensibilización HLA ha demostrado ser nociva para el injerto, detectada tanto con las técnicas clásicas como con las más actuales. Un estudio conducido por Süsal et al, que incluye más de 4000 trasplantes de donante cadáver realizados entre 1982-1999, demuestra que la presencia en los sueros pretrasplante de anticuerpos contra antígenos HLA clase I y II detectados mediante LCT se asociaba con una peor supervivencia del injerto (Süsal 2002). Estos mismos autores diseñaron un estudio posterior en 5315 trasplantes de donante cadáver realizados entre 2000-2008, observando que 121 primeros trasplantes con AC anti-HLA positivos para ambas clases detectados por ELISA presentaban peor supervivencia del injerto a los 2 años ($76.5\% \pm 4\%$ vs $87.5\% \pm 0.5\%$; log-rank $p < 0.001$) comparado con 4175 receptores negativos para ambas clases de anticuerpos. En este estudio la supervivencia del injerto mejoraba en aquellos receptores que a pesar de presentar positividad para ambas clases de AC tenían una o ninguna incompatibilidad HLA con el donante, demostrando la importancia de lograr una buena compatibilidad HLA en los pacientes sensibilizados (Süsal 2009). Más recientemente Bentall et al, analizan un grupo de pacientes hipersensibilizados que se trasplanta con PC

por LCT positiva encontrando peor supervivencia del injerto a los 5 años (70.7% vs. 88.0%, $p < 0.01$) comparada con los pacientes trasplantados con PC negativa. Los resultados fueron peores para pacientes con ADE clase II, por lo cual los autores sugieren evitar trasplantar con esta clase de ADE (Bentall 2012).

El desarrollo de las nuevas técnicas de fase sólida de mayor sensibilidad que las técnicas anteriores, son capaces de detectar anticuerpos cuya significación no nos es del todo conocida. Esto ha supuesto un gran impacto en el proceso de toma de decisiones con respecto a la selección de donantes en pacientes sensibilizados. En el pasado la presencia de ADE por LCT era una contraindicación absoluta para el trasplante, pero la interpretación de los ADE en la actualidad es más dificultosa y genera gran discusión y controversia.

Actualmente se entiende que los ADE ya no son una “contraindicación absoluta” para trasplantarse, más bien los ADE deberían considerarse como un “factor de riesgo” para el trasplante que podría oscilar entre muy bajo hasta muy alto riesgo. (Roelen 2011, Ercilla 2010)

Numerosas publicaciones demuestran que el trasplante que se realiza en presencia de ADE presenta un riesgo incrementado de rechazo humoral ya sea agudo o crónico y de pérdida del injerto. (Eng 2008, Amico 2009, Dunn 2011, Caro-Oleas 2012). Los ADE también se han asociado con una disminución de la supervivencia del injerto, incluso sin mediación de RAH (Amico 2009, Wahrman 2009, Lefaucheur 2010); habiéndose reportado un incremento del riesgo de RAH en pacientes con ADE detectados exclusivamente por Luminex (LCT y PC/CF negativos) (Mohan 2012, Otten 2012, Patel 2007).

Un meta-análisis publicado recientemente realiza un análisis “agrupado” de estudios que comparan la tasa de rechazo agudo y supervivencia del injerto entre pacientes con y sin ADE (Mohan JASN 2012). Un primer grupo incluye 7 estudios de cohorte retrospectivos que suman un total de 1119 pacientes, de los cuales 145 (13%) presentan ADE detectados por Luminex pero negativos por LCT y citometría de flujo. La incidencia acumulada de RAH fue significativamente más alta entre los pacientes con ADE pretrasplante (25%, 35/145) que en los pacientes sin ADE (11.2%, 110/974) (RR, 1.98; 95% IC, 1.36-2.89; $p < 0.001$). Igualmente en el análisis agrupado, la supervivencia del injerto fue menor en los pacientes con ADE (RR, 1.76; 95% CI, 1.13-2.74; $p = 0.01$). Un segundo grupo incluye 8 estudios en el que comparaban pacientes con ADE detectados por Luminex y negativos por LCT en los que no se había realizado CF. Este grupo incluía 1967 pacientes, de los cuales 306 (15.6%) presentaban ADE, siendo la incidencia acumulada para RAH, entre los 3 estudios que reportaron esta incidencia, mayor para pacientes con ADE (RR, 7.81; 95%

CI, 5.03-12.12; $p < 0.001$). El fracaso del injerto fue más frecuente para los pacientes con ADE (56/306, 18.3% vs 174/1661, 10.5%; RR 1.74; 95% CI, 1.38-2.21, $p < 0.001$) Los peores resultados para los pacientes con ADE en este grupo podrían explicarse por el hecho de no tener hecha la PC por CF, que podría haber sido positiva en algunos de los pacientes catalogados como ADE+/LCT-, aumentando así su riesgo inmunológico. Este meta-análisis concluye que los pacientes con ADE deberían recibir una monitorización estrecha por el riesgo incrementado de AMR precoz y de peor supervivencia del injerto a corto-medio plazo. En un análisis retrospectivo de 222 pacientes trasplantados en nuestro centro, todos con PC por LCT negativa, objetivamos que los pacientes que se habían trasplantado con ADE presentes en los sueros pretrasplante, presentaron mayor porcentaje de rechazo agudo grave y peor supervivencia del injerto (68.5% versus 82%, $P = 0.006$) que aquellos sin ADE (Kanter 2012).

A pesar de lo comentado hasta ahora, la relevancia clínica de los ADE detectados exclusivamente por Luminex queda todavía por aclarar. Existen en la literatura observaciones contradictorias en las que la presencia de AC detectados de forma aislada por Luminex no se asocian con un riesgo incrementado de pérdida del injerto. En este sentido se argumenta que un número importante de trasplantes exitosos no se habrían realizado en el pasado si se hubiera negado el acceso al trasplante en presencia de identidades HLA detectadas por ensayos de fase sólida de extrema sensibilidad (Süsal 2011). Diversos autores consideran que los ADE detectados por Luminex son irrelevantes en pacientes con PC negativa por LCT (Aubert, 2009; Phelan 2009) o en pacientes con PC negativa por citometría de flujo (Couzi, 2011). Estos estudios coinciden en que la incidencia de rechazo fue similar y no había diferencias en los niveles de creatinina sérica o en la supervivencia del injerto entre pacientes con y sin ADE. Aubert et al, publicó un estudio retrospectivo con 113 pacientes, los cuales se habían trasplantado con una PC negativa por LCT en la era previa al Luminex. El 48.7% de estos pacientes tenían AC anti-HLA, aunque solo un 6% estaba catalogado como sensibilizado ($PRA > 10\%$) por las técnicas antiguas. Del 9.7% de los pacientes que presentaban ADE, solo uno presentó un RAH. La supervivencia al año fue similar en ambos grupos. Estos resultados podrían estar matizados por la utilización de un "cut off" (MFI) para detección de AC más bajo que en otras publicaciones. Alkalin y cols (Alkalin 2008) en un estudio sobre 35 pacientes con ADE pretrasplante concluyeron que no queda claro el valor predictivo positivo de bajos niveles de AC ($MFI < 6000$).

Un estudio realizado en pacientes hipersensibilizados trasplantados con PC negativa por LCT en el marco del “Programa de Eurotransplant” (Claas 2009) demuestra una incidencia elevada de RAH, pero con similar supervivencia del injerto entre pacientes con y sin ADE (Van den Berg-Loonen, 2008). Similares hallazgos fueron publicados recientemente por Tsapepas et al en un grupo de 174 pacientes retrasplantados, encontrando mayor tasa de RAH en aquellos con ADE pero sin diferencias en la supervivencia del injerto a 2 años (Tsapepas 2013). Otro estudio reciente del grupo CTS (Collaborative Transplant Study) compara de forma retrospectiva pacientes que desarrollaron o no fracaso del injerto, no encontrando mayor porcentaje de ADE detectados exclusivamente por luminex (LCT-/Elisa -) en el grupo con fallo del injerto. Esta observación se repite tanto al usar cutoff de 1000, 2000 o de 3000 MFI. No disponían de datos clínicos sobre rechazo agudo del injerto. Los autores sugieren que no debería considerarse como “antígenos inaceptables”, aquellos contra los cuales el paciente presente AC detectados exclusivamente por Luminex (Süsal, 2011).

En un intento de dar una oportunidad a pacientes sensibilizados con acceso restringido al trasplante, Marfo et al, diseñan una estrategia que permite trasplantar con ADE a un grupo de pacientes bajo las siguientes circunstancias: a) ADE <5000 para antígenos A/B/DR y <10.000 para DQ, b) PC por CDC negativa, c) PC por CF menor a 150 para linfocitos T y menor a 250 para linfocitos B. Encuentran mayor porcentaje de RAH (5% vs 1%) no estadísticamente significativo en el grupo de ADE, sin evidenciar diferencias en cuanto a supervivencia del injerto al año del trasplante con un seguimiento medio de 20 (6-50) meses (Marfo 2014).

Existen numerosas razones que alimentan la controversia sobre la relevancia clínica de los ADE detectados por Luminex, como ser el hecho de que no se pueda considerar los resultados como negativos y positivos, que no se pueda estandarizar la interpretación de los resultados y que los niveles de MFI por encima de los cuales deban asumirse resultados significativos, varían entre los diferentes centros. El hecho de que el número de moléculas HLA varíe en cada “bolita” de látex complica la estandarización, así como otros factores que no se suelen reportar, como los títulos de anticuerpos y las distintas subclases de Inmunoglobulinas (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) que causan la reacción positiva, siendo que no todas fijan complemento (Roelen, 2012). De ahí que esta técnica se haya intentado adaptar midiendo el complemento fijado en las bolitas mediante C4d (Wahrman, 2006 y 2009) o C1q (Yabu 2011) o usando anticuerpos secundarios para detectar las diferentes clases de IgG (Arnold 2008; Honger 2011).

Lawerence y cols publica recientemente un estudio donde compara pacientes con DSA según fueran C4d positivos o negativos, encontrando que el 70% de los pacientes DSA/C4d+ presentaron RAH frente al 19% de los pacientes DSA/C4d- (Lawerence 2013). Un estudio francés reciente demuestra que los ADE que fijan C1q son más relevantes que los que no lo hacen (Loupy, 2013), aunque otros estudios no encuentran los mismos resultados (Honger, 2010; Crespo, 2013). Por otro lado se ha publicado que pacientes con ADE pretrasplante que no fijan complemento (IgG2/IgG4) tienen excelente evolución postrasplante. (Lobashevsky 2010), aunque también se han reportado pacientes con rechazo del injerto en presencia de ADE IgG2, IgG4 e IgA (Arnold 2008, Heinemann 2006).

También existen problemas técnicos asociados a los ensayos de fase sólida, un estudio observó anticuerpos HLA de ambas clases, en el suero de hombres sanos sin historia de sensibilización HLA (Morales-Buenrostro 2008), probablemente a causa de moléculas HLA “desnaturalizadas” (Cai 2009). Recientemente las casas comerciales han introducido “bolitas limpias” de estas moléculas desnaturalizadas. También se han reportado falsos negativos con la técnica de Luminex, debido a la interferencia producida por unión de IgM a la molécula de HLA (Kosmoliaptsis 2009) o debido a la unión de C1q a la unión IgG-molécula HLA (Schnaidt 2011). Para sortear estos inconvenientes existen adaptaciones como la dilución del suero (1:10), tratamiento previo con DTT, EDTA o inhibición de C1. Otro factor importante relacionado con la relevancia clínica de los ADE es la habilidad del receptor para producir una respuesta de memoria postrasplante, la cual no se puede predecir (Burns 2008, Kimball 2009), por otro lado, los resultados publicados por diferentes centros son de difícil comparación e interpretación debido a las distintas estrategias de tratamiento inmunosupresor y además las diferencias de reactividad de los anticuerpos entre las dos casas comerciales.

1.5.1 Determinación de AC en lista de espera

Ya que los anticuerpos anti-HLA pueden producir el rechazo de un trasplante, es necesario asegurarse de que no estén dirigidos hacia alguno de los antígenos HLA de un potencial donante, o sea no sean donante-específicos. Sin embargo, debido a que el nivel de los anticuerpos fluctúa a lo largo del tiempo, es necesario estudiar los sueros de estos pacientes a intervalos regulares y sistemáticamente siempre que el paciente se haya expuesto a una situación de riesgo inmunizante. Ahora bien, la frecuencia con la que se debería determinar el grado de sensibilización de los pacientes que se encuentran en lista de espera, dependerá en

parte de la técnica usada en cada caso, y por otro lado de si se trata de un paciente sensibilizado o no.

Desde la introducción de los ensayos de fase sólida (Luminex) es posible una precisa determinación de anticuerpos anti-HLA (Pei, 2003); sin embargo, aun no esta claro cual es la técnica adecuada para realizar el seguimiento de los pacientes en lista de espera y con que nivel de sensibilidad. Tait et al, en las últimas guías de consenso sobre la determinación de AC (Tait 2013), sugieren que:

- se debería realizar al menos una determinación pretrasplante mediante Luminex, para detectar y caracterizar los anticuerpos de clase I y II. También sugieren determinar AC mediante técnicas con linfocitos como LCT, teniendo en cuenta que existen centros que ya no usan esta técnica y citometría de flujo.
- la frecuencia de determinación de AC debe acomodarse a la inminencia de trasplante en cada centro basado en los tiempos de espera locales y el riesgo inmunológico de los pacientes altamente sensibilizados.
- un mínimo de dos muestras se requieren para certificar la presencia o ausencia de sensibilización HLA
- se debería determinar AC después de un evento sensibilizante y a intervalos regulares una vez que el paciente sea incluido en lista de espera.

1.5.2 Técnicas de desensibilización HLA

La escasez de órganos procedentes de donante cadáver, ha impulsado el desarrollo de programas de desensibilización (DS) de anticuerpos, sobre todo cuando se trata de donante vivo. Existen numerosos protocolos que en su mayoría usan combinaciones de inmunosupresores como Inmunoglobulina IV, plasmáfáresis, Rituximab y Bortezomib (Jordan 2006, 2012; Perry 2009, Vo 2010, Alachkar 2012) con resultados heterogéneos. A pesar de resultados similares a corto plazo, entre pacientes desensibilizados y aquellos que se trasplantaron sin ADE, la supervivencia del injerto más allá de 5 años, es significativamente peor en los pacientes desensibilizados (Haririan 2009). Lobashevsky et al publican un fenómeno de rebote de AC después 3 a 6 meses de la desensibilización, en pacientes con un alto porcentaje de AC (PRA $80\% \pm 20\%$) (Lobashevsky 2013). Estos autores sugieren que el mejor perfil de candidatos a DS serian pacientes con sensibilización HLA clase I con MFI iniciales menores a 6000 procedentes de eventos sensibilizantes distintos a trasplante previo. Estudios que realizaron biopsias de protocolo en pacientes desensibilizados demostraron un mayor porcentaje de rechazo subclínico y rechazo crónico mediado por anticuerpos (Gloor 2004, Morath 2011, Marfo 2011)

En nuestro centro, al no disponer del programa de trasplante de vivo durante la redacción de este estudio, y tampoco disponer de un pool de donantes de cadáver que permita trasplantar a los pacientes desensibilizados en poco tiempo, no hemos puesto en marcha, en el momento de esta tesis doctoral, terapias de desensibilización de receptores.

1.6 Sensibilización HLA postrasplante

A lo largo de los últimos 10 años, diversas publicaciones han establecido el rol de los AC anti-HLA postrasplante en la pérdida del injerto (Cooper 2011, Kimball 2011, Worthington 2003, Terasaki AJT 2007, Lachman 2009, Devos 2012) habiéndose demostrado que los ADE pueden llegar a ser la causa de la pérdida crónica del injerto (Terasaki transplantation 2008, Einecke 2009) y de la aparición de ADE “de novo”. Incluso antes de la aparición de la tecnología Luminex, ya se apoyaba la relevancia de los ADE en el postrasplante tanto para Clase I (Halloran 1992) como clase II (Lederer 1996) y su asociación con el RAH (Collins 1999).

Entre los factores de riesgo implicados en el desarrollo de AC anti-HLA en el postrasplante se han descrito factores ligados tanto al receptor como al donante. Entre los primeros, fundamentalmente, la menor edad del receptor, la presencia previa al trasplante de sensibilización HLA, el grado de incompatibilidad HLA, haber recibido trasplantes previos, la mala cumplimentación terapéutica o falta de adherencia al tratamiento, el RAC precoz y el tratamiento inmunosupresor administrado. Recientemente se ha postulado que existiría un riesgo incrementado de aparición de AC anti-HLA en los pacientes tratados con inhibidores del m-Tor (I-m Tor) aunque es un tema de debate en la literatura (Perbos 2014, Ruiz Millan 2014). Entre los factores de riesgo ligados al donante se ha relacionado la inmunogenicidad del órgano, condicionada por las circunstancias del fallecimiento y la manipulación durante la extracción y el implante con la aparición de AC postrasplante (Hourmant 2005, Liefeldt 2012, Moreso 2012, Sellarés 2012).

El grupo de Terasaki ha publicado las series más amplias de estudios multicéntricos de corte transversal publicados en la literatura (Terasaki AJT 2003, Terasaki AJT 2004) sobre el impacto de la presencia de AC anti-HLA a largo plazo en los pacientes trasplantados. Osawa et al demostró que la supervivencia del injerto renal 3 años después de la determinación de AC anti-HLA en un suero aislado era significativamente inferior en aquellos pacientes con anticuerpos comparados con los que no los presentaban (90.6 vs 94.6%), (Osawa 2007). El mismo grupo lideró un estudio multicéntrico internacional que incluía 2231 pacientes, demostrando que el 25 % de los pacientes con injerto normofuncionante tenían AC. A los 4 años del estudio, los pacientes con AC tenían una

supervivencia menor del injerto comparado con aquellos sin AC (Terasaki-Osawa 2007). Los autores concluyen que los AC anti-HLA serían el marcador predictivo más potente del futuro del injerto. Lachman y cols. realizaron un estudio transversal donde determinaron AC anti-HLA en 1014 pacientes trasplantados siguiéndolos por un período de 5 años. Un tercio de estos pacientes tenían AC anti-HLA, siendo la supervivencia de los pacientes con ADE significativamente más baja que los que no los tenían (49% vs. 83%). Los pacientes que presentaban AC anti-HLA también tenían una menor supervivencia que aquellos sin anticuerpos (70% vs. 83%). Los autores concluyen que los ADE son biomarcadores potenciales del rechazo crónico (Lachman 2009).

Ante la evidencia de que los ADE son deletéreos para la supervivencia del injerto, la aparición de ADE “de novo” también se ha asociado con un riesgo de incrementado de pérdida del injerto en la literatura (Li 2008, Hidalgo 2009, Hourmant 2005, Cardarelli 2005, Campos 2006, Wiebe 2012); si bien quedaría por esclarecer la incidencia de aparición de estos anticuerpos. Estudios en la literatura reportan incidencias de ADE “de novo” postrasplante entre un 20 y un 30% (Hidalgo 2009), 27% (Cooper 2011), 18% (Devos 2012) y un 15% (Wiebe 2012). También queda por esclarecer si todos los ADE postrasplante tienen el mismo poder patogénico. Actualmente, los ensayos de fase sólida permiten reconocer más fácilmente los ADE postrasplante mediante la “PC virtual” (Billen 2008). A este respecto, existen estudios que sugieren que la mayoría de los ADE “de novo” son clase II y se asocian con peor pronóstico que los ADE clase I (Hidalgo 2009, Campos 2006).

Everly et al condujeron un estudio que incluía 189 primeros trasplantes consecutivos a quienes determinaron ADE mediante Luminex, en sueros pretrasplante y a los 1, 3, 6, 9, 12 meses postrasplante y posteriormente de forma anual a través de 10 años de seguimiento. El 24.8% (47/189) de los pacientes desarrollaron ADE de novo, siendo la aparición de ADE, más frecuente durante el 1º año postrasplante (11%). En el análisis multivariante, las siguientes variables se comportaron como factores de riesgo para ADE: la edad joven (18-35 años), donante cadáver, la sensibilización HLA pretrasplante (no ADE) e incompatibilidad DQ. Los ADE clase II fueron los más prevalentes (68%) y entre éstos, DQ el subtipo más frecuente (91%). A destacar que la función renal era estable en el momento de la detección de ADE, por lo cual los autores remarcan la importancia de una intervención temprana antes de que lesiones irreversibles se establezcan. El riesgo relativo de pérdida del injerto fue de 6 a 9 veces mayor para los pacientes con ADE comparado con

los que no lo presentaban, observándose una pérdida del injerto a los 3 años desde la aparición de ADE del 24% (Everly 2013).

Existe, sin embargo, alguna controversia en cuanto al papel deletéreo directo que juegan los ADE en el postrasplante, dado que estudios observacionales en población trasplantada demuestran que hasta un 25 % de los pacientes tienen AC anti-HLA sin que presenten deterioro de la función renal del injerto (Piazza 2006, Morales-Buenrostro 2006). Se ha sugerido que la presencia de reactividad inmunológica podría reflejar un estado de acomodación o resistencia adquirida ante la injuria mediada por AC (Haas 2006). Bartel et al analizan en un estudio retrospectivo, 34 pacientes trasplantados con una evolución favorable hasta el primer año postrasplante (excelente función renal y ausencia de rechazo o proteinuria), observando que 9 de ellos (27%) presentaron AC anti-HLA, siendo en 5 de los casos AC frente al donante (Bartel 2008). Es de destacar que la mayoría de estos pacientes presentaban AC clase I. Por lo tanto los autores sugieren que debería hacerse una interpretación cuidadosa de la monitorización de AC en el postrasplante.

Estas observaciones refuerzan la necesidad de mantener una actitud de alerta ante la aparición aislada de ADE, lo cual no justifica la administración de medidas terapéuticas específicas, pero sí justificaría la realización de una biopsia renal, dada la implicación de los ADE en el diagnóstico del RAH, reforzada desde la nueva clasificación de Banff 2013 (Haas 2014). Recientemente, Wiebe et al, demostró que en 10 de 14 biopsias realizadas por la sola presencia de ADE, en pacientes con función renal estable, se observaron criterios diagnósticos de RAH subclínico (Wiebe 2012). Bajo estas evidencias, la detección de ADE, sin clínica renal, se convertiría en un factor de mal pronóstico, siendo desaconsejable, en estas circunstancias una reducción significativa de la inmunosupresión.

Desde otro punto de vista, podría existir aloreactividad dependiente de AC, con niveles indetectables de ADE en suero. En este sentido, se han planteado distintas hipótesis como: que los ADE estuvieran presentes en suero pero por debajo de los niveles detectables para las técnicas, quizás por la presencia de antígenos circulantes que produjeran complejos antígeno-anticuerpo o bien por absorción de los AC en el mismo injerto (Akalin 2006, Adeyi 2005). Se ha demostrado la presencia de ADE detectados por “elución” de injertos disfuncionantes, poniendo en evidencia que los ADE podrían ser “adsorbidos” por el injerto, impidiendo su detección en la circulación (Martín 2003, Heinemann 2007). De hecho, estudios que demuestran un aumento sustancial de ADE tras la trasplantectomía, confirman esta hipótesis (Suberbielle 1996, Adeyi 2005).

1.6.1 Determinación de anticuerpos en el periodo pos-trasplante

Antes de la introducción del Luminex, la monitorización de ADE se realizaba por CDC, CF o ELISA para identificar pacientes con riesgo de presentar RAH (Schönemann 1998, Worthington 1998). Sin embargo, dado que el RAH se presenta sobre todo en receptores hipersensibilizados, era difícil determinar la especificidad de los anticuerpos “de novo”; actualmente, las técnicas de fase sólida permiten obtener los resultados de manera rápida y sensible. Tras el trasplante renal, la aparición de ADE es uno de los criterios, junto a hallazgos histológicos específicos en la biopsia renal, útiles para el diagnóstico del rechazo mediado por anticuerpos (Haas 2013).

Hasta hace poco la recomendación para la determinación de ADE en el postrasplante solo existía para establecer el diagnóstico de RAH (Racusen 2003). Sin embargo esta entidad se diagnostica cada vez con mayor frecuencia, por lo que dichos anticuerpos deben buscarse especialmente en los pacientes con un riesgo incrementado para presentar este diagnóstico (Terasaki 2012) y sobre todo en aquellos pacientes que se trasplantan con PC positiva (Burns 2008). Gill et al, publicaron un estudio en el que incluyen 84 pacientes trasplantados no sensibilizados previamente, a los cuales les realizan determinación de AC anti-HLA por CF a los 0, 10, 20, 30, 60, 90, 180, y 365 días postrasplante. Los autores concluyen que no recomiendan monitorizar AC, en pacientes no sensibilizados, cuando no existan cambios clínicos, ya que en ningún caso la presencia de AC predijo un evento de RA (en todos los casos los AC anti-HLA aparecieron en el mismo momento o después de un RA). Existen algunas limitaciones en este estudio como: la determinación de AC anti-HLA se realiza mediante CF pero no mediante Luminex, las comparaciones se hacen entre pacientes con AC “de novo” y pacientes sin AC (no analizan ADE), se habla de RA pero no de RAH, no se tuvo en cuenta la tipificación DQ y que presentaban un seguimiento medio de sólo 3.7 años.

Recientemente se han publicado unas guías de consenso internacional sobre la determinación de Anticuerpos HLA y no HLA en el trasplante (Haas 2013), en las cuales se recomienda lo siguiente para el periodo postrasplante:

1- Hasta los 12 meses postrasplante:

a. pacientes de muy alto riesgo (desensibilización previa al trasplante) y de alto riesgo (ADE pretrasplante con PC negativa): monitorización estrecha según los protocolos locales durante los 3 primeros meses y realización de biopsias de protocolo.

- Si ADE+/biopsia-, recomiendan repetir la monitorización pero no especifican la temporalidad. Si los ADE y biopsia son negativos, seguir como bajo riesgo.

b. pacientes de riesgo intermedio (AC anti-HLA+/DSA-): monitorización el primer mes postrasplante.

- Si ADE+, recomiendan realizar biopsia. Si la biopsia es negativa, repetir la monitorización al año dentro del primer año postrasplante. Si los ADE son negativos, seguir como bajo riesgo.

c. pacientes de bajo riesgo (ausencia de sensibilización HLA, primer trasplante): monitorizar en las siguientes circunstancias: 1-por lo menos una vez entre el 3º y 12º mes postrasplante, 2-cuando se considere realizar un cambio significativo en la inmunosupresión (retirada, minimización o conversión), 3-sospecha de no adherencia al tratamiento, 4-disfunción del injerto, 5-antes de transferir al paciente a otro centro distinto del centro trasplantador.

- Si ADE+, recomiendan realizar biopsia. Si la biopsia es negativa, repetir la monitorización al año dentro del primer año postrasplante. Si los ADE son negativos, no recomiendan realizar una monitorización adicional dentro del primer año postrasplante.

2- A partir del 12º mes postrasplante recomiendan para todas las categorías:

- guardar una muestra anual de cada paciente.

- monitorizar ADE en las siguientes circunstancias: 1-cuando se considere realizar un cambio significativo en la inmunosupresión (retirada, minimización o conversión), 2-sospecha de no adherencia al tratamiento, 3-disfunción del injerto, 4-antes de transferir al paciente a otro centro distinto del centro trasplantador.

- si aparición de ADE “de novo” o aumento de niveles de MFI de ADE preexistente, realizar biopsia del injerto. Si la biopsia es negativa, recomiendan monitorizar ADE (pero no especifican la temporalidad) y función renal.

En todos los casos, ante la presencia de ADE aislado, recomiendan no reducir la inmunosupresión. No obstante, no existen recomendaciones claras sobre la determinación rutinaria de ADE más allá del año postrasplante, en parte porque es una técnica costosa y además porque no existe consenso clínico sobre la conducta a seguir cuando aparecen los AC sin repercusión clínica añadida. Hay que tener en cuenta que la terapia anti-linfocitaria como tratamiento del RAH, puede interferir en la determinación de AC dado el riesgo de falsos positivos, debiendo recoger las muestras, al menos 15 días antes o después de iniciar el tratamiento (Tait 2013).

1.7 Respuesta inmune mediada por AC sobre el injerto renal

En las últimas dos décadas, se ha dejado de considerar al rechazo como un proceso mayormente mediado por células T, a favor del control insuficiente por parte de los regímenes inmunosupresores, del mecanismo humoral del sistema inmune del receptor. Actualmente se entiende que este último mecanismo es el principal responsable de la disfunción y fracaso de los injertos renales (Einecke 2009, Sellares 2012, Gaston 2010). El rechazo mediado por AC es actualmente considerado como un espectro de entidades frecuentemente asociadas a la presencia de Ac anti-HLA y diferentes hallazgos anatomopatológicos.

1.7.1 Rechazo hiperagudo mediado por AC

Es una situación que tiene lugar inmediatamente postrasplante (minutos a horas), en pacientes que tenían ADE fijadores de complemento previos al trasplante. Después de la perfusión del injerto con sangre del donante, los AC se fijan a células endoteliales, activando complemento y desencadenando trombosis arterial y venosa con consiguiente infarto del injerto. No existe tratamiento para esta situación, perdiéndose el injerto (Clatworthy 2012). Los eluidos del 100% de los injertos con rechazo hiperagudo demostraron anticuerpos HLA (Zou 2006). Es una entidad rara en la actualidad.

1.7.2 Rechazo agudo mediado por anticuerpos

El rechazo humoral del injerto es una complicación inherente a todo trasplante efectuado entre sujetos genéticamente no idénticos. En las últimas dos décadas esta entidad ha sido el tema más estudiado en el área del trasplante. Su incidencia ronda entre el 2-4% de los trasplantes renales (Clatworthy 2012) aunque esta incidencia está probablemente infraestimada, a la luz de los criterios actuales. El diagnóstico de esta entidad ha ido evolucionando en los últimos años, de la mano de un mejor entendimiento de su fisiopatología, habiéndose establecido en la reunión de Banff 2013, los últimos criterios diagnósticos. A principios de la década de los '90 Halloran y cols determinaron que el rechazo del injerto renal asociado a la aparición de AC de novo pos-trasplante era una entidad bien definida que se condicionaba un muy mal pronóstico para la supervivencia a corto plazo del injerto (Halloran 1992); poniendo así de manifiesto el papel patogénico de los AC anti-HLA clase I. A finales de la década de los '90 el grupo de Boston demostró una excelente correlación entre los depósitos de C4d en los CPT de las biopsias renales y la existencia de ADE de novo (Collins 1999). Estos hallazgos llevarían a plantear unos criterios diagnósticos de RAH en el año 2000, que junto a estudios posteriores

convergió en una definición de consenso centrada en el criterio histológico y que fue incorporada como revisión de la clasificación de Banff 1997 en una publicación en 2003 (Racusen 2003). Se observó que el rechazo agudo humoral (RAH) tenía efectos deletéreos en la supervivencia a largo plazo de los injertos, un 44% de los pacientes con RAH previo presentaba glomerulopatía del trasplante en biopsia de protocolo al año (Gloor 2006) y por ende, una disminución en la supervivencia del injerto (Sis 2007, Cosio 2008). En la reunión de grupo de Banff de 2005, se redefine el diagnóstico de RCH en base a la presencia de lesiones histológicas (glomerulopatía del trasplante), el depósito de C4d en los CPT y la presencia de ADE (Solez 2007). Sin embargo, durante los últimos años han aparecido distintos trabajos, como se comenta mas abajo (leer RH C4d negativo), que cuestionaron la validez del C4d como criterio diagnóstico de RH. Actualmente para establecer este diagnóstico es necesario evidencia histológica de daño renal, evidencia de interacción AC-endotelio vascular y presencia de ADE circulante (Haas 2013).

El rechazo humoral en un proceso que puede ocurrir en cualquier período postrasplante. La fisiopatología aún no se conoce completamente. Se ha sugerido que el daño mediado por AC comienza en la unión de los ADE a los antígenos HLA o a otros “targets” del endotelio del injerto. Si los ADE activan complemento (IgG1 o IgG3), se activa la vía clásica del complemento a través de la unión de la IgG y la activación de C1q. Este proceso resulta frecuentemente en pérdida del injerto. De forma alternativa, los ADE pueden unirse a los “targets” de la célula endotelial y estimular la proliferación celular o inducir citotoxicidad dependiente de AC a través de la liberación de interferón γ . Este proceso parece más ligado al desarrollo de rechazo crónico dependiente de células NK (Natural Killers). Los ADE también pueden unirse a antígenos HLA y activar de forma incompleta el sistema del complemento sin acusar daño aparente, sería un proceso de acomodación (Loupy 2012). El grupo de Banff distingue dos “fenotipos” principales de RAH: 1) el RAH en pacientes presensibilizados que ocurre en la etapa temprana postrasplante, y 2) el RAH que ocurre asociado a ADE “de novo” a largo plazo en la evolución postrasplante y estaría más frecuentemente asociado a incumplimiento terapéutico o inadecuada inmunosupresión (Halloran 2010, Gaston 2010). El fenotipo 2 estaría relacionado con peor supervivencia del injerto (Hidalgo 2009). Además los ADE clase I se han relacionado con el fenotipo 1 y los de clase II con el fenotipo 2 (Wiese 2012, Einecke 2009, Djamali 2013, Hidalgo 2009, Bentall 2013).

Los pacientes con ADE tienen un riesgo incrementado de rechazo humoral tanto agudo como crónico y de pérdida del injerto. (Sellares 2012, El-Zoghby 2009), Gaston 2010,

Hidalgo 2009). En un estudio retrospectivo, que incluyó 369 pacientes trasplantados, Caro-Oleas et al. observó que 45 pacientes se habían trasplantado con PC virtual positiva. De éstos últimos, 26 (58%) presentaron algún episodio de rechazo humoral, diferencia estadísticamente significativa comparando con los que tenían una PC negativa pretrasplante. Al hacer un sub-análisis describen que entre 151 pacientes a los que se les practicó una biopsia renal por disfunción del injerto, se diagnosticó de RAH al 100% de los pacientes que tenían ADE “de novo”, al 85% de los pacientes con AC pre y postrasplante y al 79% de los pacientes con ADE pretrasplante pero que habían negativizado AC en el postrasplante (Caro-Oleas 2012).

1.7.3 Rechazo subclínico mediado por AC

Se define ante la evidencia inmunohistológica de rechazo humoral en pacientes con función renal normal. Existe evidencia en la literatura de una relación establecida entre el rechazo subclínico y la disfunción crónica del injerto (Haas 2007, Loupy 2009). Por lo cual se recomienda realizar biopsias de protocolo en aquellos pacientes de mayor riesgo inmunológico (desensibilizados, ADE+/PC negativa) (Djamali 2014).

1.7.4 Rechazo crónico mediado por AC

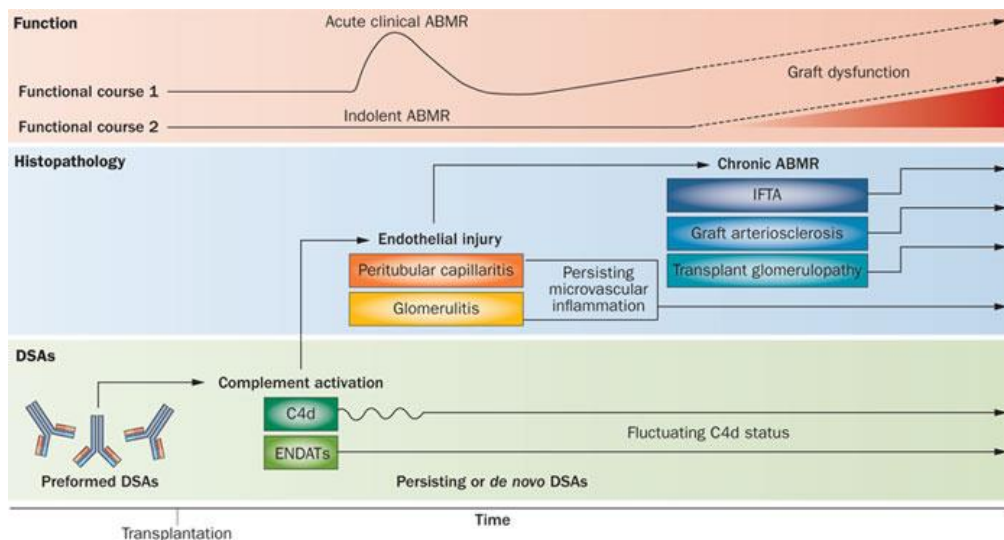
El rechazo crónico mediado por anticuerpos, también denominado rechazo crónico humoral (RCH) muestra en la biopsia hallazgos compatibles con FIAT y cambios obliterativos vasculares y/o glomerulares (Haas 2013). La asociación entre ADE y el desarrollo de la arteriopatía obliterativa del injerto ya fue señalada en los años setenta (Jeannet 1970). Tres décadas más tarde se relacionó la presencia de glomerulopatía del trasplante con la detección de C4d en los capilares peritubulares. Los hallazgos histológicos más sobresalientes son la duplicación de la membrana basal de los capilares glomerulares, la multilaminación de los capilares peritubulares (CPT) y la fibrosis arterial intimal.

Los ADE, ya sea preformados o “de novo” se unen a antígenos en la microvasculatura del injerto, los cuales activan la cascada clásica del complemento iniciando la citotoxicidad celular dependiente de AC. Las lesiones secundarias a este proceso (multilaminación de los CPT y glomerulopatía del trasplante) se van haciendo gradualmente irreversibles y van comprometiendo la función del injerto. El depósito en los CPT de los componentes de la activación del complemento, inactiva la porción C4d, la cual se une a los tejidos (Feucht et al, 1993). Este descubrimiento ha consolidado a la porción C4d como una “huella” del daño humoral en los tejidos; siendo reconocida como un marcador subrogado de RAH activo (Loupy 2012). Según la clasificación de Banff, la presencia de C4d en los capilares peritubulares debe ser evaluada según las siguientes categorías: C4d0: negativa; C4d1:

mínima, afecta al 10%, C4d2 focal, afecta de 10 a 50% y C4d3, difusa afecta más del 50% de los capilares (Haas 2013).

Se ha reconocido que pacientes con ADE “de novo” postrasplante y sin repercusión analítica, presentan en biopsias de protocolo hallazgos anatomopatológicos compatibles con lesiones mantenidas y lentamente progresivas en la microvasculatura del injerto, desarrollando lo que podría llamarse un rechazo “indolente” mediado por AC. Un análisis de biopsias de protocolo en pacientes con ADE demuestra que estos pacientes presentaban lesiones oscilantes de daño humoral en el primer año postrasplante, sugiriendo que los ADE aparecen por inadecuada inmunosupresión y representan un proceso dinámico que comienza pronto después del trasplante (Loupy 2012). Se ha postulado que la secuencia temporal comenzaría con la aparición de ADE, seguida de lesión endotelial que podría ser clínicamente manifiesta o de curso subclínico y finalmente el desarrollo de la glomerulopatía del trasplante con el consiguiente deterioro de la función del injerto (Loupy 2012).

Figura 12. Historia natural del daño mediado por AC sobre el injerto (Loupy 2012).



1.7.5 Glomerulopatía del trasplante

La glomerulopatía del trasplante (GT) es una causa importante de pérdida del injerto que se estima ocurre entre un 3-15% de los injertos renales y se cree que es causada por el rechazo humoral crónico (Sis 2007, Wavamunno 2007, Gloor 2007, Issa 2008) Esta entidad fue descrita por primera vez 4 décadas antes (Hood 1970) e históricamente fue clasificada como una variante de la nefropatía crónica del injerto de etiología desconocida. La presencia de AC anti-HLA identificados con las técnicas más sensibles han demostrado ser

un factor de riesgo significativo de desarrollo de GT (Sis 2007, Gloor 2007, Issa 2008). En la reunión de Banff del año 2005, la GT fue clasificada, como un tipo distinto de rechazo crónico. En esta reunión, desaparece la definición de nefropatía crónica del injerto a favor de una definición más precisa de los procesos celulares y humorales que llevan a la fibrosis intersticial y atrofia tubular (Solez 2007).

Actualmente la GT constituye un criterio diagnóstico de rechazo crónico activo mediado por anticuerpos, siendo necesario la presencia de dobles contornos de la membrana basal glomerular, +/- multilaminación de la membrana basal de los CPT. Un estudio australiano que incluye 61 biopsias con diagnóstico de GT, observó que la presencia de ADE era el único factor de riesgo independiente para su aparición. Además, aquellas biopsias que se asociaban a ADE presentaban peor pronóstico que las que no lo estaban (4.4 vs 15 años de supervivencia) (Eng 2011). Los autores concluyen que los ADE serían un marcador sensible y reproducible que podrían ser de utilidad para identificar pacientes en riesgo de desarrollar GT y fallo del injerto. Sin embargo, la GT puede aparecer de forma aislada, sin evidencia de ADE o C4d, en cuyo caso se habla de RCH “sospechoso”. Un estudio reciente compara pacientes con GT diagnosticados de RCH, RCH sospechoso (ADE-/C4d+ o ADE+/C4d-) o GT aislada, encontrando que los dos primeros grupos presentaban peor pronóstico que el tercero de los grupos (Lesage 2014).

1.7.6 Rechazo humoral C4d negativo

A pesar de la amplia utilidad de la tinción con C4d en el diagnóstico del rechazo humoral, actualmente se cree que no es un marcador lo suficientemente específico y sensible para hacer el diagnóstico de este tipo de rechazo (Loupy 2012). Se le ha comparado con la punta del iceberg de la lesión mediada por AC. En los últimos años existen publicaciones concluyentes como el estudio francés (Loupy 2011) y el estudio canadiense (Sis 2009) que demuestran la presencia de inflamación microvascular, en pacientes con ADE pero con depósitos negativos de C4d, que progresan a Glomerulopatía del trasplante. La mayoría de los casos de RH-C4d negativo tienden a ocurrir más allá del año postrasplante y suelen ser un rechazo crónico o agudo sobre crónico (Loupy 2012). Como hipótesis para justificar la ausencia de depósito de complemento en las biopsias se postula la baja sensibilidad y otras cuestiones técnicas relacionadas con la tinción para C4d (Sis 2010). Además algunos ADE podrían presentar una baja capacidad para fijar complemento pero a la vez, serían capaces de activar las células endoteliales. Otros autores sugieren una vía distinta independiente del complemento (Colvin 2009). A la luz de estos resultados, en la última reunión de Banff ya

se acepta el diagnóstico de rechazo humoral tanto agudo como crónico con tinción C4d negativa (Haas 2013).

1.7.7 Tratamientos del rechazo mediado por AC

El objetivo principal del tratamiento del RHA es la remoción de los ADE circulantes y la inhibición de su reaparición; no obstante el manejo del rechazo humoral en general es controvertido, ya que no existen pautas de tratamiento estandarizadas.

Rechazo humoral agudo

Una revisión reciente sobre el tratamiento del RHA encontró 10.388 citas pero solo 5 ensayos clínicos randomizados pequeños que encontraban beneficios en el uso de plasmaféresis e inmunoadsorción (Roberts 2012). Estudios no randomizados demostraron beneficio con el uso de rituximab, bortezomib, plasmaféresis e inmunoglobulinas intravenosas (IgIV) (Lefaucheur 2009, Kaposztas 2009, Macaluso 2011, Lubetzky 2011, Waiser 2010). Eculizumab ha sido citado recientemente como tratamiento del RAH multiresistente pero no existen estudios randomizados al respecto (Locke 2009). A falta de evidencia suficiente, el grupo de trasplante de las guías KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) recomienda el uso de corticoesteroides, plasmaféresis, IgIV, AC anti-CD20 y Ac depletores de linfocitos, solos o en combinación (Guías KDIGO 2009) Acerca del tratamiento del RHA subclínico y del RHA-C4d negativo, no existe tampoco consenso en la literatura, pero existe evidencia que avala un tratamiento similar a la del clásico RHA (Einecke 2009, Loupy 2010).

Rechazo humoral crónico

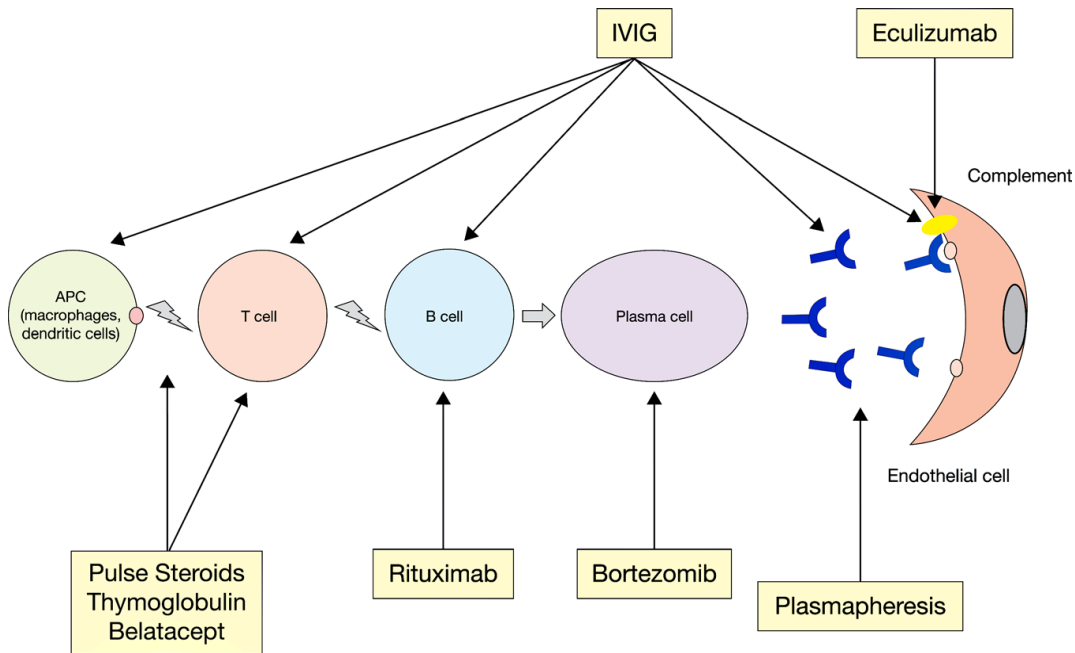
El tratamiento RHC es muy difícil ya que existen lesiones irreversibles sobre el injerto (Fehr 2012). Existe un estudio pequeño con 31 pacientes tratados con Rituximab combinado con terapia de mantenimiento (inhibidores de la calcineurina, micofenolato y esteroides) con resultados prometedores. El grupo tratado presenta respuesta parcial y mejoría de la supervivencia comparado con el grupo control (Smith 2012).

Futuras perspectivas de tratamiento

En el futuro será determinante establecer una estratificación del riesgo inmunológico basado en la presencia de ADE, C4d y los distintos fenotipos histopatológicos de RH. Actualmente se sabe que las células B tienen múltiples efectos negativos sobre la respuesta aloimmune, por lo cual terapias destinadas a disminuir estas células o inhibir su activación pueden jugar un rol importante en el tratamiento del RH. En este sentido existe alguna evidencia para estrategias que utilizan globulina anti-timocítica, alemtuzumab, rituximab,

belatacept, bortezomib, eculizumab y otras drogas en investigación como oftamumumab, ocrelizumab, belimumab y atacicept entre otras (Djamali 2014).

Figura 13. Modalidades terapéuticas en el Rechazo Humoral (Djamali 2014).



1.8 Disfunción crónica del injerto

La disfunción crónica del injerto (DCI) constituye una entidad clínica definida por la pérdida gradual y progresiva de la función renal acompañada de proteinuria e hipertensión arterial (Pascual 2011). Estos hallazgos son por completo inespecíficos y pueden obedecer a causas y mecanismos patogénicos diferentes. Para una adecuada filiación resulta imprescindible realizar una biopsia renal que tipifique la afectación de los distintos compartimentos renales: arterial/arteriolar, glomerular, tubular e intersticial, incluyendo la valoración de los capilares peritubulares. Es necesario el análisis anatomopatológico mediante microscopía óptica e inmunofluorescencia (IF) y eventualmente la microscopía electrónica para una mejor caracterización de los cambios en los capilares peritubulares, así como para el diagnóstico diferencial de las lesiones glomerulares. La detección del genoma del virus BK así como la caracterización de las subpoblaciones linfocitarias que puedan infiltrar el injerto resultan imprescindibles para el diagnóstico de la nefropatía BK o del linfoma renal, respectivamente. Ante un deterioro de la función del injerto es imperativo realizar un ecodoppler renal para descartar obstrucción de la vía urinaria o estenosis arterial.

Para la lectura e interpretación de la histología del injerto renal se ha generalizado la clasificación de Banff, creada por expertos clínicos, inmunólogos y anatomopatólogos en el año 1993 (Solez et al, 1993) y sometida a revisiones periódicas, la última en 2013 (Haas 2013). El objetivo de dicha clasificación es uniformar la interpretación de las biopsias por los distintos grupos, permitiendo el intercambio de las experiencias entre los equipos de trasplante. En la reunión de Banff del año 2001 se reconoció que los anticuerpos anti-HLA jugarían un papel importante como causa del rechazo y que la presencia de C4d en los capilares peritubulares sería un marcador del rechazo mediado por anticuerpos (Racusen 2003). La categoría de rechazo agudo de las clasificaciones previas se renombraba a rechazo agudo celular, en contraposición al RAH. Quedó establecido que el RAH precisaría de un tratamiento inmunosupresor más enérgico que el rechazo celular, destacándose los buenos resultados obtenidos mediante plasmaféresis y la administración gammaglobulinas intravenosas. También se señaló el beneficio potencial derivado de la administración de rituximab.

En la revisión de la clasificación de Banff de 2005 se eliminó, tras doce años de vigencia, el concepto de Nefropatía Crónica del Injerto y fue sustituido por el más descriptivo e inespecífico de fibrosis intersticial y atrofia tubular (FIAT). La razón obedece a que la NCI no es una entidad homogénea, sino el resultado final de diversos procesos que afectando primariamente a los compartimentos glomerular, tubular, intersticial o microvascular resultan en atrofia tubular y fibrosis intersticial. Se pretendía con ello intentar filiar la causa subyacente a dichos cambios histológicos, a saber: rechazo crónico celular, rechazo crónico humoral, nefrotoxicidad por anticalcineurínicos, daño vascular secundario a hipertensión no controlada o nefritis intersticial crónica bacteriana, además de las relativas a nefropatía por virus BK, la recidiva de la nefropatía originaria o la glomerulonefritis 'de novo', fundamentalmente. La nefrotoxicidad crónica por los inhibidores de la calcineurina (ICN), considerada en el pasado como una causa importante de deterioro crónico de la función del injerto, se considera que su contribución actual es escasa como causa de fracaso del injerto (Cosio 2008, Gaston 2009, Matas 2011). Las lesiones atribuidas a daño por ICN representaban atrofia tubular y fibrosis intersticial secundarios a isquemia por vasoconstricción arteriolar. Pero recientemente se ha sugerido que estas lesiones son inespecíficas ya que también pueden encontrarse en pacientes libres de ICN (Snanoudj 2011). Por lo tanto hallazgos patológicos como vasculopatía y fibrosis intersticial, antiguamente asociados a neurotoxicidad por ICN, actualmente se creen característicos de rechazo mediado por AC (Loupy 2012).

1.9 Supervivencia del injerto y del paciente

El uso extensivo de nuevos fármacos inmunosupresores de mayor potencia ha permitido reducir las tasas de rechazo agudo celular y mejorar considerablemente la supervivencia al año del trasplante. Sin embargo, aún no se ha conseguido mejorar la supervivencia del injerto a largo plazo (Meier-Kriesche 2004) Un estudio reciente que incluye mas de 250.000 receptores de trasplante en EEUU, demuestra que a pesar de una modesta mejoría en la supervivencia a largo plazo de los injertos entre 1989 y 2005, persisten en la actualidad altas tasas de pérdida del injerto a largo plazo (Lamb 2011).

Tanto los AC anti-HLA preexistentes (Singh 2010, Lefaucheur 2010) como los “de novo” postrasplante (Wiebe 2012, Hidalgo 2009) han demostrado estar relacionados con una peor supervivencia del injerto. Los pacientes presensibilizados con ADE mostraron peor supervivencia que aquellos presensibilizados sin ADE o los no sensibilizados (Lefaucheur 2010). Pacientes que desarrollaron ADE “de novo” presentaron peor supervivencia a los 10 años que aquellos pacientes sin ADE (Wiebe 2012). A pesar de que los ADE se han consolidado como un factor de riesgo independiente para la pérdida del injerto, la existencia un número elevado de pacientes con ADE que no presentan episodios de rechazo y mantienen una función renal estable, hace necesario establecer el rol patogénico de estos AC (Djamali 2014).

1.10 Tablas

Tabla 1. Antígenos de clase I y II reconocidos actualmente.

(IMGT/HLA sequence database, <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/allele.html>.)

A	B	B	C	DR	DQ	DP
A1	B5	B57(17)	Cw1	DR1	DQ1	DPw1
A2	B7	B58(17)	Cw2	DR103	DQ2	DPw2
A203	B703	B59	Cw3	DR2	DQ3	DPw3
A210	B8	B60(40)	Cw4	DR3	DQ4	DPw4
A3	B12	B61(40)	Cw5	DR4	DQ5(1)	DPw5
A9	B13	B62(15)	Cw6	DR5	DQ6(1)	DPw6
A10	B14	B63(15)	Cw7	DR6	DQ7(3)	
A11	B15	B64(14)	Cw8	DR7	DQ8(3)	
A19	B16	B65(14)	Cw9(w3)	DR8	DQ9(3)	
A23(9)	B17	B67	Cw10(w3)	DR9		
A24(9)	B18	B70		DR10		
A2403	B21	B71(70)		DR11(5)		
A25(10)	B22	B72(70)		DR12(5)		
A26(10)	B27	B73		DR13(6)		
A28	B2708	B75(15)		DR14(6)		
A29(19)	B35	B76(15)		DR1403		
A30(19)	B37	B77(15)		DR1404		
A31(19)	B38(16)	B78		DR15(2)		
A32(19)	B39(16)	B81		DR16(2)		
A33(19)	B3901	B82		DR17(3)		
A34(10)	B3902	Bw4		DR18(3)		
A36	B40	Bw6				
A43	B4005			DR51		
A66(10)	B41			DR52		
A68(28)	B42			DR53		
A69(28)	B44(12)					
A74(19)	B45(12)					
A80	B46					
	B47					
	B48					
	B49(21)					
	B50(21)					
	B51(5)					
	B5102					
	B5103					
	B52(5)					
	B53					
	B54(22)					
	B55(22)					
	B56(22)					

Tabla 2. Epítomos públicos Bw4 and Bw6 y especificidades asociadas.

(Anthony Nolan Research Institute 2013, <http://hla.alleles.org/antigens/index.html>)

Bw4	B5, B5102, B5103, B13, B17, B27, B37, B38(16), B44(12), B47, B49(21), B51(5), B52(5), B53, B57(17), B58(17), B59, B63(15), B77(15) A9, A23(9), A24(9), A2403, A25(10), A32(19)
Bw6	B7, B703, B8, B14, B18, B22, B2708, B35, B39(16), B3901, B3902, B40, B4005, B41, B42, B45(12), B46, B48, B50(21), B54(22), B55(22), B56(22), B60(40), B61(40), B62(15), B64(14), B65(14), B67, B70, B71(70), B72(70), B73, B75(15), B76(15), B78, B81, B82

Tabla 3. Principales grupos de reactividad cruzada de los locus HLA A, B y DR.

(Anthony Nolan Research Institute 2013, <http://hla.alleles.org/antigens/index.html>)

HLA- A	A1, A36, A3, A11 A2, A28 (68,69) A9 (23/24) A10 (25, 26, 34, 66) A30, A31 A34, A33
HLA- B	B5 (51,52), B35, B5 (51), B35 B35, B53 B12 (44,45) B14 (64, 65) B15 (62, 63, 75, 76, 77) B16 (38, 39) B17 (57, 58) B21 (49, 50) B22 (54, 55, 56) B40 (60, 61) B48, B81. B7, B27 B7, B81 B70 (71,72)
HLA- DR	DR2 (15, 16) DR3 (17, 18) DR5 (11, 12) DR6 (13, 14)

Tabla 4. Comparación entre los distintos métodos de detección de anticuerpos.

Método	Escrutinio Pretx	PC Pretx	Observaciones	Escrutinio Postx	Observaciones
LCT/LCT modificado	+++	+++	Prevención del RHH o RHA precoz	-/+	Se requieren células del donante
CF/CF modificada	+++	+++	Prevención del RHH o RHA precoz	+	Se requieren células del donante
ELISA genérico	+++	-	Detección de AC anti-HLA	-/+	Útil solo en pacientes no sensibilizados
ELISA Específico	+++	-	Especificidad de AC anti-HLA	++	Bajo nivel de sensibilidad
Luminex (Labscreen)	+++	-	Detección de AC anti-HLA	-/+	Detección de clase y nivel de AC
Luminex (PRA)	+++	-	Especificidad de AC anti-HLA	++	Bajo nivel de sensibilidad
Luminex SAB	+++	-	Especificidad detallada de AC anti-HLA	+++	Especificidad alélica

Los signos significan: de –poco importante a +mas importante

LCT: Linfocitotoxicidad, PC: prueba cruzada, CF: Citometría de flujo, SAB: “single antigen bead”, RHH: rechazo humoral hiperagudo, RAH rechazo humoral agudo. Pretx: pretrasplante. Postx: postrasplante.

MOTIVACION

La sensibilización HLA es un conocido factor de riesgo que empeora los resultados globales del trasplante renal, habiéndose relacionado sobre todo los ADE con un mayor porcentaje de rechazo humoral y peor supervivencia del injerto e incluso del paciente (Lachman, 2009; Lefaucheur, 2010).

La reciente introducción de técnicas mucho más sensibles para detectar estos AC, como la tecnología Luminex, ha permitido definir claramente las especificidades polimórficas contra las cuales reaccionan estos AC (Terasaki, 2012). La literatura reciente sugiere que tanto los ADE pretrasplante como los “de novo” postrasplante detectados por Luminex se asocian con menor supervivencia del injerto (Djamali, 2013). Sin embargo, a la luz de estos conocimientos, es paradójico el hecho de que a menudo los pacientes con ADE, en las distintas series publicadas, tienen una función renal estable y no presentan rechazo humoral, al menos diagnosticado clínicamente a corto o medio plazo. Además, el nivel de MFI por encima del cual, los ADE deben considerarse como inaceptables no están consensuados ni tampoco el rol que ejercería cada clase de AC. Así, hasta la fecha, el significado clínico de los ADE detectados por Luminex todavía no está bien establecido, pudiendo encontrar resultados heterogéneos en la literatura (Mohan, 2013). Actualmente la sola presencia de ADE previos al trasplante, etiqueta al paciente de “alto riesgo inmunológico”, penalizándole con tiempos de espera más prolongados hasta el trasplante e incluso en algunas ocasiones, impidiéndole el acceso al trasplante.

Este trabajo de investigación surgió de la necesidad de optimizar la interpretación de los resultados, en nuestro programa de trasplante renal, obtenidos con la tecnología Luminex. Ya en un estudio previo observamos que la presencia de ADE en las muestras pretrasplante, se asociaba a una peor supervivencia del injerto a largo plazo (Kanter, 2012). Nos pareció necesario intentar caracterizar la verdadera relevancia clínica de los ADE pretrasplante y la implicación pronóstica de las diferentes clases de AC y de los niveles de MFI, así como conocer el momento de aparición de los ADE “de novo” postrasplante para poder diseñar estrategias coste-eficientes de monitorización.

El estudio incluyó el análisis de dos series, una serie histórica retrospectiva (SR) y otra más reciente prospectiva (SP). En la SR, se analizó la presencia de ADE no detectados en el momento del trasplante por las técnicas de linfocitotoxicidad y su relación con el diagnóstico de rechazo humoral y el pronóstico del injerto y del paciente, para posteriormente analizar los factores de riesgo y el significado pronóstico de los ADE, caracterizados según diferentes criterios. La presencia de ADE se definió como ADE>1500 MFI.

Se efectuó, asimismo, un análisis retrospectivo de las laminillas de las biopsias del injerto previas, para correlacionar los ADE con el daño inmunológico mediado por AC, siguiendo la clasificación de Banff del año 2009, sobre todo en relación con el diagnóstico de rechazo humoral. Analizamos también el impacto pronóstico de los ADE con niveles bajos de MFI y aquellos detectados “exclusivamente” por Luminex, aspectos que han sido escasamente analizados en el ámbito del trasplante renal. Así mismo, en la SP, quisimos estudiar de forma sistemática la aparición de los ADE en el postrasplante precoz, un aspecto que hasta la fecha sigue sin estar definido, a pesar de existir unas recientes guías clínicas de monitorización de ADE (Tait 2013). Esta determinación arrojaría luz sobre la forma de monitorizar nuestros pacientes de forma eficiente y anticipatoria a cualquier evento de rechazo humoral.

No existe consenso en la monitorización de los ADE, ya que los pacientes son estudiados con distintas técnicas, distintos puntos de corte de MFI y asumiendo distintos grados de riesgo previo al trasplante. Estos análisis, a nivel de centro de trasplante, con mayor facilidad de acceso a la información de los pacientes, puede ayudar a la mejor toma de decisiones en nuestra unidad.

Para concluir, el mejor conocimiento de los factores de riesgo de sensibilización HLA y el rol patogénico de las diferentes clases e intensidades de ADE, nos servirá para entender mejor el efecto de los mismos a corto y largo plazo. Además, el impacto pronóstico de los ADE detectados por Luminex sobre la supervivencia del injerto y del paciente nos permitirán diseñar estrategias no sólo para intentar mejorar los resultados a largo plazo, sino también para identificar el riesgo de los pacientes presensibilizados y así disminuir los tiempos de acceso al trasplante en los pacientes en lista de espera. El estudio de los ADE en el postrasplante nos permitirá identificar de forma precoz a los pacientes en riesgo de presentar daño inducido por AC, y así poder instaurar las medidas oportunas.

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

La sensibilización HLA se ha señalado clásicamente como un factor de riesgo para el trasplante renal, asociándose a peor pronóstico tanto a corto como a largo plazo. Los anticuerpos detectados por técnicas basadas en linfocitotoxicidad han demostrado en todas las series publicadas una relación directa con eventos como rechazo humoral y menor supervivencia del injerto. Sin embargo, la aparición más reciente de técnicas basadas en la tecnología Luminex, de mayor sensibilidad, permite la detección de un mayor espectro de AC anti-HLA, cuyo significado aún no está claramente establecido. Las nuevas tecnologías nos han permitido profundizar sobre la causa humoral de un significativo porcentaje de injertos fracasados y así evitar parejas donante-receptor de mal pronóstico. Pero en contrapartida, esta mayor sensibilidad para detectar la presencia de ADE en los pacientes candidatos a trasplante renal, es responsable de tiempos de espera más prolongados hasta el trasplante. Por otra parte, no es infrecuente la presencia de estos AC en pacientes trasplantados con excelente función renal y buena evolución del injerto a largo plazo.

El estudio retrospectivo que nos planteamos podría aportar información sobre qué anticuerpos detectados por Luminex serían “aceptables” para el trasplante, y cuales convendría evitar, de forma que la interpretación de la “prueba cruzada virtual” permita minimizar los riesgos inmunológicos, sin prolongar de forma innecesaria los tiempos en lista de espera. Además, actualmente la determinación de los anticuerpos en el período postrasplante se realiza mediante tecnología Luminex, pero no existe hasta el momento una frecuencia estandarizada para llevar a cabo este seguimiento. El estudio prospectivo podría aportar información relevante sobre la periodicidad con la que hay que realizar las determinaciones, así como su significado pronóstico en un seguimiento a medio plazo.

Así, la hipótesis de nuestro estudio es que la evolución del injerto en aquellos pacientes que se trasplantaron en presencia de ADE será peor, asociándose a mayor incidencia de rechazo humoral, tanto agudo como crónico, que la de aquellos que carecían de ADE.

El reconocimiento de los factores de riesgo para presentar ADE, tanto previos como con posterioridad al trasplante, debería aportar luz sobre la predicción del riesgo inmunológico, la estrategia de inmunosupresión a adoptar y el manejo de dichos pacientes.

Objetivo principal:

- Estudiar el impacto de los ADE con títulos mayores a 1500 MFI presentes previamente al trasplante, detectados de manera retrospectiva por tecnología Luminex, sobre la supervivencia del injerto.

Objetivos secundarios:

- Analizar la supervivencia del paciente en aquellos pacientes con ADE previos al trasplante.
- Reconocer los posibles factores de riesgo asociados a la presencia de ADE, tanto pretrasplante como postrasplante.
- Evaluar la prevalencia del rechazo humoral en presencia de ADE previos al trasplante renal.
- Analizar la relevancia de los ADE pretrasplante con niveles entre 1500 y 3000 de MFI sobre la evolución del injerto renal.
- Analizar la relevancia de los ADE pretrasplante detectados exclusivamente mediante tecnología Luminex sobre la evolución del injerto renal.
- Analizar la patocronia de aparición de ADE mediante tecnología Luminex durante los primeros dos años de evolución del trasplante renal.

MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Diseño del estudio

Con el fin de conseguir los objetivos propuestos y anteriormente descritos, se diseñó un estudio mixto retrospectivo y prospectivo observacional, con una muestra de pacientes trasplantados en el Servicio de Nefrología del Hospital Universitario Dr. Peset.

El estudio incluyó dos estudios o series:

1. Un *estudio retrospectivo de cohortes* en el cual se realizó determinación de AC anti-HLA mediante técnicas basadas en tecnología Luminex en muestras congeladas.
2. Un *estudio prospectivo observacional* que incluyó pacientes trasplantados de forma consecutiva, en una etapa más actual del programa, a los cuales se les realizó determinación de AC anti-HLA mediante técnicas basadas en Tecnología Luminex, de manera protocolizada a los 3, 6, 12 y 24 meses postrasplante.

4.2 Sujetos del estudio

4.2.1 Series

4.2.1.1 Serie Retrospectiva

La serie analizada la constituyen 411 (402 pacientes) trasplantes renales consecutivos realizados entre el 1 de Noviembre del año 1996 hasta el 20 de Noviembre del año 2006 en el Hospital Universitario Dr. Peset, Valencia. Desde el comienzo de nuestro programa de trasplantes, se almacenan muestras congeladas (alícuotas de 0.5 ml a -40°C), en el departamento de HLA del Centro de Transfusiones de la Comunidad Valenciana (CTCV). Los sueros de esta serie pertenecen en su totalidad, a un período previo a la utilización de la tecnología Luminex en nuestra práctica clínica, en el cual las muestras solo se analizaban mediante LCT (linfocitotoxicidad) o ELISA.

Se excluyeron 13 pacientes que perdieron el injerto por trombosis vascular inmediata y 78 pacientes que no tenían muestras sanguíneas almacenadas en el CTCV, ya que las mismas se habían eliminado antes del comienzo de este estudio, por lo que se incluyeron finalmente 320 trasplantes renales. A los efectos del estudio cada trasplante se contempló como un paciente distinto. En los 320 pacientes estudiados se analizó mediante tecnología Luminex, una muestra de suero obtenida antes del trasplante, eligiéndose la más cercana a la fecha del trasplante. Este análisis permitió determinar la existencia de AC específicos frente al donante o ADE, existentes antes del trasplante y que no habían sido identificados mediante la técnica de LCT. Según la existencia de ADE en estos sueros, se realizó un análisis comparativo entre los pacientes sin ADE y los pacientes con $\text{ADE} > 1500$ MFI

pretrasplante. Además se realizó un análisis comparativo entre los pacientes sin ADE y dos subgrupos de pacientes con ADE, pacientes con ADE entre 1500-3000 MFI pretrasplante o ADE de “baja intensidad” y pacientes con ADE >1500 MFI pretrasplante detectados por Luminex pero no por otras técnicas como LCT o ELISA, los cuales se denominaron como “exclusivos” por Luminex.

Se comparó las características de la sensibilización HLA mediante Luminex entre los pacientes con ADE>1500 MFI y aquellos pacientes con AC no ADE.

En doscientos sesenta pacientes del estudio retrospectivo, se obtuvieron muestras del período postrasplante analizadas mediante tecnología Luminex a partir del año 2006, cuando ya disponíamos de la mencionada tecnología para la detección de AC en la práctica clínica diaria. Las muestras postrasplante fueron analizadas en distintos momentos evolutivos en cada paciente incluido en el estudio. Este análisis permitió determinar la existencia de ADE “de novo” postrasplante en aquellos pacientes que no presentaban ADE en las muestras pretrasplante. Según la existencia de ADE en estos sueros, se realizó un análisis comparativo entre los pacientes con ADE “de novo” postrasplante y los pacientes sin ADE.

Teniendo en cuenta sólo el grupo de los pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante, se comparó aquellos que seguían funcionando al final del seguimiento frente a los que ya no funcionaban. En esta misma población, se realizó un análisis comparativo entre los pacientes con ADE, según siguieran presentando los ADE en las muestras postrasplante, o bien los hubieran negativizado en este período.

4.2.1.2 Serie Prospectiva

Se incluyeron noventa y ocho trasplantes renales (noventa y ocho pacientes) consecutivos realizados entre septiembre del año 2009 hasta diciembre del año 2011 en el Hospital Universitario Dr. Peset, Valencia. Se excluyó del análisis estadístico a diez pacientes por disfunción primaria del injerto (cuatro pacientes por trombosis vascular, tres por injerto no viable, dos por necrosis cortical y un paciente por ruptura del injerto). En los ochenta y ocho pacientes restantes se realizó detección de AC anti-HLA mediante tecnología Luminex en muestras de suero pretrasplante y a los 3, 6, 12 y 24 meses postrasplante. Según la existencia de ADE>1500 MFI en estas muestras, se realizó un análisis comparativo entre los pacientes con y sin ADE en el período postrasplante.

4.3 Tecnología Luminex

Para las determinaciones de AC anti-HLA de este estudio, se contó con la colaboración de la doctora Nieves Puig (Jefa de Sección del Servicio de Tipificación Celular del CTCV) y de los técnicos (DUE/TEL) del mismo servicio. Tanto las muestras de la serie retrospectiva como prospectiva se analizaron mediante tecnología Luminex, cuya metodología se muestra de forma detallada en

http://www.onelambda.com/Source/pdffiles/productinserts/labtype_pi_ES.pdf. Además la descripción de la técnica se explica en el apartado de introducción.

Para cada muestra se realizó una primera fase de detección de AC anti-HLA clase I y II, utilizando kits de “Labscreen Mixed”, One Lambda@. En los casos en que se detectaba AC anti-HLA, se determinó la especificidad e intensidad de los mismos utilizando kits de “Labscreen Single Antigen” para AC clase I y/o II, de la misma casa comercial.

Las esferas y el detector del AC fueron leídos con el citómetro Luminex LABScan™100, provisto de dos sistemas láser, uno identifica el código de color de las esferas y el otro el del detector del anticuerpo. Los resultados fueron analizados usando el programa informático HLA fusión de One Lambda. La intensidad de los AC se midió mediante “MFI” (mean fluorescence intensity o intensidad de fluorescencia media), utilizándose un punto de corte de 1500 MFI para considerar como relevante a cualquier AC como donante específico, es decir dirigido contra los antígenos del donante.

4.3.1 Sensibilización MICA

No se analizó la sensibilización por AC anti-MICA dado que no disponíamos de los Kits de laboratorio adecuados para su estudio.

4.4 Biopsias de seguimiento

Se analizaron las biopsias del injerto renal realizadas por indicación clínica durante el período de seguimiento en ambas series, con el fin de establecer su relación con la presencia de ADE pre y postrasplante. Se revisaron los diagnósticos de 199 biopsias de 165 pacientes incluidos en la serie retrospectiva, con la colaboración de la Dra. Esther Roselló, patóloga, jefe de sección del servicio de anatomía patológica del Hospital Dr. Peset, en el momento de este análisis. El procesamiento de las biopsias renales se hizo mediante técnicas habituales de rutina en nuestro Hospital (Fijación en formol, inclusión en parafina,

tinción con hematoxilina-eosina, tricrómico de masson y plata-metamina y estudio de inmunofluorescencia). Si existía más de una biopsia procedente del mismo paciente en un período menor a 30 días o con un período mayor pero con resultados similares, se interpretaron los resultados como una biopsia única con el fin de simplificar el análisis de los datos. Se analizaron por separado las biopsias precoces, entendidas como aquellas realizadas antes de los 6 meses postrasplante y las tardías o realizadas más allá de los 6 meses postrasplante. El diagnóstico de rechazo mediado por AC, se realizó según la clasificación de Banff revisada en el año 2009 (Sis 2009). El protocolo diagnóstico utilizado en el servicio de Anatomía patológica del Hospital Dr. Peset se muestra en el Apéndice I.

4.4.1 Tinción con C4d

La tinción con C4d constituye una herramienta para el diagnóstico de rechazo mediado por AC. C4d es un producto de degradación de la vía clásica del complemento que se considera como una “huella” de activación de Complemento y un marcador de actividad humoral en el injerto renal. En condiciones normales se deposita en el mesangio glomerular y en el polo vascular, pero cuando el complemento se activa asociado a rechazo humoral, se deposita en los capilares peritubulares (CPT). En los CPT la protección “anti complemento” es más débil. Existen dos técnicas mayoritariamente usadas para determinación de la fracción C4d, una técnica basada en la Inmunofluorescencia (IF) que utiliza tejidos congelados y otra basada en la Inmunohistoquímica (IHQ) que trabaja con tejidos fijados con formol y parafina. Ambas difieren en la sensibilidad para la tinción en la región probablemente por alteraciones durante la fijación. La IHQ, método que se utiliza actualmente en nuestro Hospital, es menos sensible en un 25% aproximadamente que la IF. La lectura de la tinción se realiza en base a la cantidad de C4d observado en los CPT de la muestra: C4d: negativo: 0%, C4d: mínimo: 1-10%, C4d focal: 10-50% y C4d difuso: >50% del CPT circunferencial (Solez 2008).

La técnica de detección de C4d mediante inmunofluorescencia se introdujo en nuestro centro en el año 2002, por lo que muchos de los casos de nuestra serie carecían de este estudio. Por ello, se realizó un estudio inmunohistoquímico sobre cilindro parafinado de la fracción C4d, en las biopsias realizadas en los pacientes de la serie retrospectiva. Los resultados no fueron buenos, de las 199 biopsias analizadas, sólo se pudo valorar la tinción con C4d en 28 de las mismas, bien porque no existía material suficiente o bien por falta de resultados por problemas técnicos (la técnica está optimizada para la fijación actual, 24

horas con formol comercial tamponado, y previamente al análisis se utilizaba formol de fabricación propia, con tiempos más cortos). Se consideró válida la técnica en todos aquellos casos en los que se obtuvo tinción del glomérulo como control interno. Por estas razones, no fue posible analizar de forma retrospectiva la tinción con C4d en las biopsias antiguas de los pacientes incluidos en la serie retrospectiva. En las biopsias más recientes de estos pacientes y en la totalidad de las biopsias realizadas en los pacientes incluidos en la serie prospectiva, esta tinción formo parte de la práctica clínica habitual.

4.5 Variables analizadas

Los datos clínicos y analíticos se obtuvieron de la historia clínica del paciente. La recogida de datos finalizó el 31 de Agosto de 2014.

4.5.1 Sensibilización HLA

El objetivo del estudio fue el análisis de la sensibilización HLA donante específica, que fue la variable principal. Se hablará de paciente “presensibilizado” cuando el paciente presente AC anti-HLA previos al trasplante para diferenciarlo del paciente que desarrolla AC en el postrasplante. La sensibilización HLA se ha clasificado en las siguientes sub-variables:

a)-Pre-sensibilización HLA mediante LCT: (si vs no) presencia o no de AC anti-HLA previos al trasplante determinados por esta técnica.

-Tasa máxima de pre-sensibilización HLA (%PRA) medida mediante LCT en aquellos pacientes con AC anti-HLA positivos con esta técnica.

b)-Pre-sensibilización HLA mediante tecnología Luminex: (si vs no) presencia o no de AC anti-HLA previos al trasplante determinados por esta técnica.

-Sensibilización HLA donante específica o “ADE”: (si vs no) pacientes con AC dirigidos contra los antígenos HLA presentes en el donante, tanto pre como postrasplante.

-Sensibilización HLA no donante específica o AC “no-ADE”: (si vs no) cuando la especificidad de los AC anti-HLA del receptor no estaba dirigida contra los antígenos del donante, tanto pre como postrasplante.

-Caracterización de los AC pretrasplante: se distinguen los AC según pertenezcan a clase I (A, B), clase II (DR, DQ) o ambas.

-Porcentaje de pre-sensibilización HLA mediante la técnica de Single Antigen (%SA) medida mediante Luminex en aquellos pacientes con AC anti-HLA positivos, ya sea de clase I o de clase II.

-“ADE de baja intensidad”: (si vs no) pacientes con AC dirigidos contra los antígenos HLA presentes en el donante con MFI comprendidos entre 1500 y 3000 MFI.

-“ADE exclusivos”: (si vs no) pacientes con AC dirigidos contra los antígenos HLA presentes en el donante detectados mediante Luminex pero con reactividad negativa mediante LCT o ELISA.

c)-Sensibilización HLA pos-trasplante mediante tecnología Luminex: (si vs no) presencia de AC anti-HLA medida a los 3, 6, 12 y 24 meses pos-trasplante.

-Caracterización de los AC pos-trasplante: se distinguen los AC según pertenezcan a clase I (A, B), clase II (DR, DQ) o ambas.

-Porcentaje de sensibilización HLA en técnica de Single antigen (%SA) medida mediante Luminex en aquellos pacientes con AC anti-HLA positivos en el período postrasplante con esta técnica, ya sea de clase I o de clase II.

- AC anti-HLA “de novo” postrasplante (si vs no): AC anti-HLA que aparecen en el período pos-trasplante y que no existían previos al trasplante.

d)-MFI máximo de AC mediante Luminex: (MFI) índice de fluorescencia media del AC, ADE o no ADE, pre o postrasplante, más intenso.

4.5.2 Variables dependientes del receptor del injerto renal

-Características antropométricas: edad (años), edad \geq 60 años (si vs no), sexo (varón /mujer), peso (kg), talla (cm), índice de masa corporal [IMC].

-Etiología de la insuficiencia renal: glomerulonefritis, enfermedad intersticial, enfermedad vascular (fundamentalmente nefroangiosclerosis), poliquistosis renal, nefropatía diabética, enfermedad sistémica, miscelánea y no filiada.

-Tipo de diálisis: hemodiálisis y diálisis peritoneal. En caso de que hubiesen recibido ambos tipos de tratamiento se consideró la técnica previa al momento del trasplante actual.

-Tiempo en tratamiento sustitutivo renal: meses desde el inicio de la terapia sustitutiva hasta el trasplante actual.

-Grupo sanguíneo: A, B, O, AB

- Eventos sensibilizantes: Transfusiones previas al trasplante (sí/no) y número de transfusiones, retrasplante (sí/no), número de trasplantes previos y número de embarazos.
- Factores de riesgo cardiovascular pre-trasplante: HTA (sí vs no), hipertrofia ventricular izquierda (sí vs no), tabaquismo (sí vs no), dislipemia (sí vs no), cardiopatía (sí vs no), accidente cerebrovascular (sí vs no), presencia de diabetes mellitus pretrasplante (sí vs no), infección previa por VHC (sí vs no) o VHB (sí vs no).
- Número de compatibilidades e incompatibilidades HLA con el donante.

4.5.3 Variables dependientes del donante

- Características antropométricas: edad (años), edad \geq 60 años (sí vs no) y sexo (varón /mujer).
- Causa de la muerte: traumatismo craneoencefálico (TCE), accidente cerebrovascular (ACV) u otras (sí vs no).
- Donante con criterios expandidos: (sí vs no) Donantes mayores de 60 años o de 50-59 años de edad con al menos 2 de los siguientes 3 criterios médicos: historia de hipertensión, accidente cerebrovascular como causa de fallecimiento y creatinina $>1,5$ mg/dL (Metzger 2003).

4.5.4 Variables relacionadas con el procedimiento y la evolución del trasplante

- Tiempo de isquemia fría (horas)
- Función retrasada del injerto (sí vs no), considerando FRI como la existencia de función renal inicial inadecuada con necesidad de al menos una sesión de hemodiálisis durante la primera semana postrasplante.
- Tiempo hasta la mejoría de la función renal del injerto (días), el necesario hasta que se produjo un descenso mantenido de las cifras de creatinina.
- Diagnóstico de rechazo agudo celular (sí vs no), se efectuó en la mayoría de pacientes por criterios histológicos. El grado histológico del RA se aplicó según los criterios de Banff vigentes en cada momento (Solez K, 1999; Racusen LC, 1999; Solez K, 2007, Sis 2010).
- Diagnóstico de rechazo humoral (agudo o crónico), en los pacientes de la serie retrospectiva se realizó re-clasificación de los hallazgos de las biopsias históricas según criterios de Banff del año 2009 (Sis 2010). En los pacientes de la serie prospectiva se utilizó la clasificación de Banff vigente en el momento de la realización de las biopsias (Banff 2009).
- Tiempo desde el trasplante hasta la biopsia: Se consideraron los diagnósticos histológicos resultantes de la realización de biopsias del injerto renal en los primeros 6 meses y a partir de los 6 meses postrasplante.

-Función del injerto (sí vs no), fecha y causa de disfunción del injerto (rechazo agudo o crónico, recidiva de glomerulonefritis, nefropatía por BK, exitus, otros).

-Muerte del receptor (sí vs no), fecha y causa de la muerte.

4.5.5 Variables relacionadas con parámetros bioquímicos de función renal

- Creatinina sérica (mg/dl) y proteinuria (g/24h) a los 3 y 6 meses y anualmente hasta el fin del seguimiento.

-Valores de creatinina sérica al año $\geq 1,5$ mg/dl (sí vs no).

-Valores de proteinuria $\geq 0,5$ g/24 hs al año (sí vs no).

-Valores de proteinuria $\geq 0,5$ g/24 hs mantenida durante al menos 3 meses (sí vs no).

4.5.6 Variables relacionadas con el tratamiento inmunosupresor

-Tratamiento de inducción (sí vs no).

-Tipo de Inducción (Timoglobulina o anticuerpos anti-CD25).

-Inmunosupresor principal (ISP): ISP inicial (tacrolimus, ciclosporina microemulsionada o inhibidores m-Tor).

-Niveles de ISP (ng/ml) a los 3, 6, 12, 18 y 24 meses en los pacientes de la fase prospectiva.

-Cambio de ISP a lo largo de la evolución del trasplante renal (sí vs no) y fármaco al que se cambia (tacrolimus, inhibidor m-Tor, ciclosporina microemulsionada).

-Suspensión de esteroides o micofenolato mofetilo (sí vs no), tiempo en meses desde el trasplante.

-Tratamiento para el rechazo agudo: (sí vs no): Timoglobulina OKT3, ATGAM, plasmaféresis, Rituximab, Bolos de esteroides, IgIV.

4.5.7 Variables clínicas relacionadas con la existencia de patología concomitante postrasplante

-Diabetes mellitus postrasplante “de novo” (sí vs no).

-Patología cardiovascular grave postrasplante (ACV, IAM, cardiopatía isquémica distinta de IAM, isquemia vascular periférica grave)

-Enfermedad por citomegalovirus (sí vs no).

-Necesidad de reingresar (sí vs no) por cualquier motivo.

-Diagnóstico de Neoplasia postrasplante: tipo de neoplasia y tiempo desde el trasplante hasta el diagnóstico.

4.6 Criterios de selección de donantes y receptores.

Se siguieron los siguientes criterios de selección:

4.6.1 Donantes

- Edad del donante superior a 1 año. Si la edad es inferior a 5 años (la mediana de peso y talla de niños españoles de 5 años son 19 kg y 1,08 cm, respectivamente) se realizó el implante de ambos injertos renales en bloque.
- En los donantes con más de 60 años o con criterios expandidos la presencia de antecedentes de riesgo vascular, como la hipertensión arterial o diabetes mellitus de larga evolución o con repercusión a nivel clínico (IMA, ACV, etc.) disminuye la probabilidad de que los injertos renales sean válidos para su posterior implante. El cálculo estimativo del aclaramiento de creatinina por la fórmula de MDRD se empleó para la toma de decisiones, si el aclaramiento era inferior a 60 ml/min se desaconsejó el implante, entre 60 y 80 ml/min se consideró adecuado para el trasplante y si era superior a 80 ml/min fue aceptado como donante óptimo.
- En aquellos donantes en que por edad, causa de muerte, factores de riesgo cardiovascular o estimación del filtrado glomerular existieran dudas acerca de la idoneidad del injerto renal, se realizó una biopsia en cuña preoperatoria que permitió evaluar el estado de cada uno de los compartimentos renales (glomerular, vascular, intersticial y tubular). Mediante un sistema de puntuación los injertos quedaron clasificados en diferentes categorías que permitieron o contraindicaron el trasplante (Apéndice II).

4.6.2 Receptores

a) Inmunológicos:

- La presencia de una PC positiva realizada mediante la técnica de LCT con linfocitos T con sueros actuales (menos de un año de antigüedad) fue contraindicación absoluta para trasplante.
- La presencia de una PC positiva con linfocitos T con sueros históricos (más de un año) o con linfocitos B con sueros históricos o actuales no fue contraindicación para el trasplante (excepto si dichos anticuerpos acontecieran en un paciente con pérdida de injerto previa en los primeros 12 meses de causa inmune).
- En la elección de receptores se contempló el mayor grado de histocompatibilidad HLA, con prioridad para las identidades HLA-DR sobre las del HLA-A y B.
- A mayor grado de sensibilización HLA se intentó optimizar, en lo posible, el número de identidades HLA, especialmente a nivel HLA-DR.

- En caso de igualdad de compatibilidad HLA en diferentes receptores potenciales, se priorizó en función del tiempo en diálisis, la compatibilidad de sexo y/o masa corporal.

b) No inmunológicos:

- Se intentó compatibilizar en lo posible la edad entre el donante y el receptor, como en los donantes añosos evitar una diferencia mayor de 10 a 15 años entre donante y receptor.

- Se intentó evitar desajustes excesivos entre el peso corporal de donante y receptor.

- Se procuró compatibilizar en lo posible el sexo de donante y receptor, intentando evitar el trasplante de mujer a receptor varón, sobre todo si la diferencia de peso era desproporcionada.

- Se consideró el tiempo en hemodiálisis o diálisis peritoneal, problemática de accesos vasculares y otros criterios de prioridad en base a enfermedad de base, comorbilidad, etc.

4.7 Protocolo de tratamiento en caso de trasplante renal

A pesar de que los pacientes de este estudio, según pertenezcan a la serie retrospectiva o a la prospectiva, pertenecen a dos épocas diferentes en el ámbito del trasplante renal; las pautas de tratamiento inmunosupresor no han cambiado de forma significativa. Donde sí ha habido cambios sustanciales fue en el diagnóstico y tratamiento del rechazo agudo humoral, como se puede leer en el apartado correspondiente.

4.7.1 Tratamiento inmunosupresor inicial

Los pacientes recibieron tratamiento con triple inmunosupresión, consistente en un anticalcineurínico (ciclosporina microemulsionada [Sandimmun Neoral®, Novartis], preferentemente en las primeras etapas del programa de trasplante, o tacrolimus [Prograf®, Advagraf®, Astellas Pharma] más recientemente. Como segundo fármaco inmunosupresor se utilizó fundamentalmente el micofenolato mofetil (Cell-Sept®, Roche) o el micofenolato sódico (Myfortic®, Novartis) y 8 pacientes recibieron tratamiento con rapamicina (Rapamune®, Wyeth) en protocolos que contemplaban su uso junto a ciclosporina microemulsionada como fármaco principal. Como tercer fármaco se empleó la prednisona en pautas descendentes en función del riesgo inmunológico y la comorbilidad del paciente. El protocolo de inmunosupresión utilizado en el centro, considera tres tipos de pacientes en función del riesgo inmunológico y el riesgo de FRI:

Pacientes de riesgo inmunológico estándar

Incluye primeros trasplantes, retrasplantes por pérdida tardía o precoz de causa no inmunológica sin sensibilización HLA (trombosis vascular). El protocolo incluye la administración de 250 o 500 mg de 6-metilprednisolona (según el peso del paciente) preoperatoriamente y 125 mg el primer día de trasplante. Se sigue de 20 mg vo de prednisona el segundo día postrasplante, en pauta descendente con el objetivo de llegar a 10mg/d al mes del trasplante, 7,5 mg/d entre el segundo y tercer mes y 5mg/d entre el tercero y el sexto mes; posteriormente reducción lenta e individualizada para suspender en el primer o segundo año postrasplante. En relación a los anticalcineurínicos, la dosis inicial de ciclosporina es de 10 mg/kg/d o de 0.15-0,20 mg/kg/d en el caso de tacrolimus. Posteriormente el ajuste de dosis se realiza en función de niveles plasmáticos; los niveles plasmáticos objetivo en el caso de la ciclosporina son 250-300 ng/ml en el primer mes y 125-175 ng/ml al año; en el caso del tacrolimus los niveles objetivo planteados son de 10-15 ng/ml al mes, 8-12 ng/ml hasta el sexto mes y disminución gradual posterior. En caso de usar rapamicina, los niveles objetivos al mes son de 8 a 12 ng/ml para llegar a 5-8 ng/ml al año. En casos de triple terapia con ciclosporina la dosis de micofenolato mofetil es de 2 g/día, pudiendo reducirse a 1,5 g/día, según tolerancia, o su equivalente en micofenolato sódico (1440 mg al día); en caso de triple terapia con tacrolimus la dosis de micofenolato mofetil inicial es de 2 g/día el primer mes y de 1 g/día con posterioridad. En caso de intolerancia o aparición de efectos secundarios derivados del uso de micofenolato mofetil se considera su sustitución por micofenolato sódico a dosis consideradas equivalentes. La retirada del micofenolato mofetil o del micofenolato sódico o de los esteroides ha sido posible en casos seleccionados (ausencia de episodios de RA, bajo riesgo inmunológico, patología concomitante).

Pacientes de alto riesgo inmunológico

Incluye pacientes con sensibilización HLA, especialmente si superaba el 50% de PRA máximo por linfocitotoxicidad, amplia sensibilización medida por Luminex o retrasplantes, ante todo si el fracaso del injerto previo fue precoz o se debió a causas inmunológicas (RA). El tratamiento incluye el esquema anterior de triple terapia con tratamiento de inducción de inicio. La inducción se realizó con Timoglobulina 2-1.25 mg/kd/d (Thymoglobuline®, Sangstat y Timoglobulina®, Genzyme), hasta un total de 5-7 dosis en días consecutivos, salvo contraindicación por leucopenia inferior a 2500/mm³ o plaquetopenia inferior a 50.000/mm³, u otros efectos secundarios graves. El anticalcineurínico se introduce en los días previo a la última dosis de timoglobulina, según evolución de la función renal del injerto. La introducción del esteroide y el micofenolato mofetil se realiza según la pauta

comentada anteriormente, no obstante, no se produce una reducción tan rápida de la dosis de esteroides ni se plantea la suspensión de los mismos.

Pacientes de alto riesgo de FRI

Incluye pacientes que reciben injertos de donantes de edad avanzada, donantes con criterios expandidos o aquellos con deterioro previo de función renal. El tratamiento incluye el esquema general de pacientes de riesgo estándar asociando tratamiento previo de inducción. En este caso la inducción se realiza con Basiliximab (Simulect®, Novartis) a dosis de 20 mg iv pretrasplante que se repite el cuarto día postrasplante, o Timoglobulina a dosis de 1,25 mg/kg prequirófano, con un total de 2-3 dosis administradas a días alternos. En estos casos, el anticalcineurínico se introduce el día antes o el mismo día en que finaliza la Timoglobulina. La prednisona y el micofenolato mofetil se administran según la pauta comentada para los pacientes de riesgo estándar.

4.7.2 Tratamiento de episodios de rechazo agudo

En aquellos casos en que no se dispone de biopsia del injerto renal o la biopsia muestra rechazo grado Ia, Ib o IIa de Banff, el tratamiento incluye bolos de 500 mg de 6-metilprednisolona intravenosa durante 3 días consecutivos. Con respecto a la medicación oral, los anticalcineurínicos se mantienen dentro del ámbito terapéutico aconsejado para el momento evolutivo, incrementando ligeramente la dosis oral de esteroides y enlenteciendo la reducción. Si el inmunosupresor principal es Ciclosporina o inhibidor m-Tor suele plantearse la conversión a tacrolimus.

En caso de RA grave, grado IIb o III de Banff, se administraba Timoglobulina (como tratamiento de rescate) a dosis inicial de 2mg/kg, para seguir con 1,5mg/kg/d a administrar entre 7 y 10 días consecutivos. En caso de rechazo agudo con componente humoral, en los pacientes incluidos en la serie retrospectiva, se realizaba plasmaféresis en número no inferior a 5 sesiones acompañada de gammaglobulina intravenosa a dosis de 2 g/kg y Thymoglobulina. En casos resistentes se consideraba el uso de Rituximab intravenoso. En los pacientes incluidos en la fase prospectiva diagnosticados de rechazo agudo humoral, los cuales corresponden a una etapa más reciente, el tratamiento incluye bolos de 500 mg de 6-metilprednisolona intravenosa durante 3 días consecutivos, 6 sesiones de plasmaféresis los días +1,+2, +4, +6, +8 y +11, acompañada de gammaglobulina intravenosa a dosis de 0.2 g/kg después de cada 2 recambios (+2, +6, +11) y Rituximab 375 mg/m² el día +3 (segunda dosis el día +12 según evolución clínico/analítica del paciente y si CD19 >5) Según la gravedad del componente celular del rechazo se valora la indicación de

Timoglobulina (1,25mg/kg de 5-7 dosis). En los casos de rechazo crónico no se administro ningún tratamiento. Si la evolución no fuera satisfactoria, en todos los casos, se plantea una nueva biopsia del injerto.

4.7.3 Profilaxis infecciosa

Los pacientes trasplantados recibieron tratamiento profiláctico con el fin de evitar complicaciones infecciosas en el postoperatorio inmediato y en los primeros meses del trasplante. Todos ellos se ajustaron diariamente al grado de función renal. Se utilizó:

- Cefotaxima, o ciprofloxacino en caso de alergia a betalactámicos, como antimicrobianos en el postrasplante inmediato durante las primeras 72h postrasplante.
- Ganciclovir durante dos semanas, como profilaxis frente a la infección por herpes simple y el citomegalovirus. En pacientes con serología negativa para citomegalovirus con donantes citomegalovirus positivo o tratados con Timoglobulina la profilaxis se prolongó vía oral hasta completar los 3 meses, inicialmente con ganciclovir y más recientemente con valganciclovir oral.
- Trimetropin-sulfametoxazol en administración oral a días alternos, como profilaxis frente al *Pneumocistis carinii* y las infecciones urinarias, durante los primeros 6 meses postrasplante.
- Nistatina en forma de enjuagues orales, durante el primer mes como profilaxis de la candidiasis oral.

4.7.4 Otros tratamientos

En nuestro centro se sigue otra serie de tratamientos con diferentes fines:

- Desmopresina a dosis única preoperatoria (0,3 microgramos/kg iv, dosis máxima 20 microgramos) con el fin de mejorar la agregabilidad plaquetar y disminuir así el riesgo de sangrado durante el postoperatorio inmediato.
- Dopamina en infusión, a dosis diuréticas especialmente en casos de necrosis tubular aguda oligoanúricas.
- Eritropoyetina subcutánea, con el fin de mantener el hematocrito.
- Suplementos de calcio orales (con o sin vitamina D) de forma precoz, con el fin de disminuir el riesgo de la osteopenia derivada del uso de esteroides de forma crónica. En pacientes con marcada osteopenia se administra bifosfonatos.

- Heparina de bajo peso molecular, profiláctica para disminuir el riesgo de trombosis venosas profundas en pacientes de alto riesgo de trombosis, estimulándose en todos los pacientes una movilización precoz y fisioterapia si fuese necesario.
- Betabloqueantes en pacientes afectos de cardiopatía isquémica.
- La hemodiálisis se realizó con criterios restrictivos a fin de no interferir con la recuperación de la función renal.

4.8 Método estadístico

El seguimiento fue caracterizado mediante la mediana del tiempo transcurrido entre la fecha del implante y el fin de seguimiento en los pacientes con injerto funcionante y hasta la fecha de pérdida del injerto en los no funcionantes.

Los resultados de las variables se muestran en forma de frecuencia absoluta y relativa para las variables cualitativas o categóricas, o como media \pm desviación estándar en las variables cuantitativas o mediana y percentil 25 y 75 si la distribución de la variable no es simétrica.

Las variables categóricas se compararon mediante el *test de chi cuadrado*, utilizando la *prueba exacta de Fisher* en caso de que las frecuencias esperadas fueran pequeñas. Las variables no categóricas se compararon mediante el *t de Student* o el *Mann-Whitney* si la distribución de la variable no era normal. Para el estudio del valor predictivo de la linfocitotoxicidad se realizó un estudio de sensibilidad y especificidad (Altman DG 1994) enfrentando esta técnica a la tecnología Luminex. Se calculó además el valor predictivo positivo y negativo (Altman DG 1994), junto con sus intervalos de confianza al 95% (IC 95%). Se utilizó el test de correlación de Pearson o Spearman, según la distribución de las variables, para valorar la existencia de relación entre parámetros cuantitativos.

La supervivencia del injerto y paciente se analizó mediante la realización de *curvas de Kaplan-Meier*, censurando para la muerte del paciente con injerto funcionante, comparando los resultados mediante el test de Log-rank y exponiendo las tablas de individuos en riesgo. El tiempo hasta injerto no funcionante se calculó desde el momento del trasplante hasta la fecha de fracaso del injerto o muerte del paciente.

Se utilizó el *análisis de regresión de Cox (modelo estimativo)* para estimar el efecto de la variable de interés (sensibilización HLA donante específica o ADE) sobre la supervivencia del injerto y del paciente. Se establecieron dos modelos máximos, uno para la supervivencia del injerto y otro para la supervivencia del paciente, en los que incluimos variables presentes antes del trasplante relacionadas tanto con el donante como con el receptor, que pudieran

tener un efecto de riesgo o protector sobre la variable resultado (supervivencia del injerto o del paciente). Las variables seleccionadas tienen una relación con sentido clínico con el evento de estudio y cumplen la asunción de riesgo proporcional que se evalúa mediante las gráficas que representan el logaritmo de tiempo para distintos valores de cada una de las variables. No incluimos en el modelo variables intermedias que pudieran interferir en la relación causal de nuestra variable con el resultado. El modelo máximo en cada caso, incluyó un número de variables, junto a sus posibles interacciones, que no superarán el 10% del número de fracasos, o de éxitos (en caso de analizar la supervivencia del paciente). Se ajustaron los resultados a las variables de confusión. El criterio para evaluar la confusión fue un cambio en más del 10% de la exponencial del coeficiente (HR) de la variable de interés (ADE) al comparar un modelo ajustado por el posible confusor y uno sin ajustar. La interacción o variación de la relación entre una variable y la supervivencia según los diferentes niveles de otra variable, se calculó en función del siguiente modelo:

$\text{Ln}(h/h_0) = \alpha_1 X_1 + \alpha_2 X_2 + \alpha_3 X_1 X_2$ donde $\text{Ln}(h/h_0)$ es el logaritmo del HR, los alfa son los coeficientes de regresión estimados, X_1 y X_2 , son las variables con sus determinados valores (1 ó 0).

Se utilizó el *análisis de regresión de Cox (modelo predictivo)* para valorar la capacidad de la variable de estudio (ADE) de predecir el riesgo de fracaso del injerto. El modelo máximo incluyó cuatro variables correspondientes a la estratificación de ADE según clases y niveles de MFI (ADE 1500-3000 MFI de ambas clases, ADE >3000 MFI de ambas clases, ADE Clase I >3000 MFI y ADE Clase II >3000 MFI).

El test de regresión logística binaria “paso a paso” se utilizó para analizar aquellos factores que pudieran influir en las variables cualitativas o dicotómicas y su riesgo relativo (RR), incluyendo un número de variables equivalente, como máximo, al 10% de la serie de menor tamaño. Para valorar la función renal subóptima al año se utilizó el valor $\geq 1,5$ mg/dl de la creatinina sérica, variable ampliamente conocida como factor de riesgo de fracaso del injerto (Hariharan S, 2002; First RM, 2003; Siddiqi N, 2004). Se consideraron significativos aquellos valores de P menor a 0.05. Se utilizó el paquete estadístico de SPSS 20.0 para Windows.

RESULTADOS

5.1 Sección I: Serie retrospectiva

5.1.1 Análisis de la serie global

Se incluyeron en la serie retrospectiva 320 (en 315 pacientes) trasplantes renales con una media de seguimiento de 119 ± 50 meses (rango (r): 1 día-208 meses). La distribución de los pacientes finalmente incluidos, en función del año de trasplante, se recoge en la figura 14. De ellos, el número promedio de trasplantes efectuados desde el año 1998 al año 2006 fue de 33,7 trasplantes al año; los años 1996 y 1997, coincidiendo con el inicio del programa de trasplante renal, la actividad trasplantadora fue menor. En el año 2006 se incluyeron únicamente los trasplantes efectuados hasta el 20 de Noviembre, momento a partir del cual se comenzó a utilizar la tecnología Luminex de forma rutinaria.

5.1.1.1. Características de los receptores

Las características demográficas de los receptores figuran en la tabla 5. Se trataba de 186 (58%) varones y 134 (42%) mujeres, con una edad media de 49 ± 13 años (r: 20 - 71 años). La distribución por edades de los receptores se observan en la figura 15. Cabe destacar que 85 (27%) pacientes superaban la edad de los 60 años.

Características clínicas en el momento del trasplante renal

Factores de riesgo cardiovascular como el antecedente de hipertensión arterial, afectaba a 278 pacientes (87%), la hipertrofia ventricular izquierda a 151 pacientes (47%), la dislipemia a 145 pacientes (45%) y el antecedente de tabaquismo a un 39% (127 pacientes) de los receptores. El 9% de los pacientes presentaba algún tipo de cardiopatía y cuatro pacientes (1%) habían presentado algún episodio de accidente cerebrovascular previo al trasplante. La existencia de algún grado de valvulopatía (según criterios ecocardiográficos) se produjo en 92 pacientes (29%), y solamente 13 (4%) presentaban signos de miocardiopatía dilatada. Dieciséis pacientes presentaban diabetes mellitus (5%). El índice de masa corporal medio de los pacientes era de 25 ± 4 (r: 13 - 42). Diecinueve pacientes (6%) presentaban anticuerpos frente al virus de la hepatitis C y sólo 5 (1%) pacientes presentaban antígeno de superficie de la hepatitis B positivo .

Causa de insuficiencia renal y tipo de tratamiento sustitutivo renal

La glomerulonefritis fue la causa más frecuente de insuficiencia renal terminal en los pacientes trasplantados, presente en 90 pacientes (28%), seguida de la poliquistosis en 48 pacientes (15%), nefropatía intersticial en 42 pacientes (13%), nefroangiosclerosis en 32 pacientes (10%), enfermedades sistémicas (vasculitis, lupus eritematoso sistémico, síndrome

hemolítico-urémico, amiloidosis) en 11 (3%) pacientes nefropatía diabética, en 9 (3%) pacientes y 3 (1%) casos con hipoplasia o agenesia renal. En el 27% de la serie (85 pacientes) no se había filiado la causa de la insuficiencia renal. El tipo de terapia sustitutiva renal en el momento del trasplante fue la hemodiálisis en 277 pacientes (87%) y la diálisis peritoneal en los 43 restantes (13%). El tiempo medio en diálisis fue de 45 ± 42 meses (r: 5 - 307).

Características inmunológicas

Factores de riesgo para desarrollar sensibilización HLA como haber recibido alguna transfusión previamente al trasplante estaba presente en 131 (44%) pacientes, siendo el número medio de transfusiones de 5 ± 5 (r: 1 - 30). Veinte (6%) pacientes habían recibido con anterioridad algún trasplante renal. En 15 pacientes el trasplante actual era el segundo y en 5 pacientes el tercero. El número medio de embarazos en las pacientes mujeres fue de $2 \pm 1,5$ (r: 1 - 6). La distribución del grupo sanguíneo (ABO) fue: 134 (42%) pacientes del grupo A, 33 (11%) del grupo B, 136 (43%) del grupo O y 15 (5%) pacientes del grupo AB. El número medio de compatibilidades HLA fue de $2,3 \pm 1,1$ (r: 0 - 6) y el de incompatibilidades fue de $3,3 \pm 1,4$ (r: 0 - 6), siendo el porcentaje de incompatibilidades para el antígeno DR, cero incompatibilidad en 26 (9%) pacientes, una incompatibilidad DR en 221 (74%) pacientes y dos incompatibilidades en 53 (18%) pacientes.

Sensibilización HLA

En cuanto a la presencia de sensibilización HLA frente al panel, 20 (6,3%) pacientes fueron diagnosticados de “pre-sensibilizados” mediante la técnica de LCT, siendo la tasa máxima (media) de sensibilización de éstos del 61 ± 32 % (r: 13 - 100). Dos pacientes presentaban sensibilización negativa mediante LCT, pero determinación positiva mediante ELISA previa al trasplante. Todos los pacientes se trasplantaron con una PC para linfocitos T con suero actual negativa, sin embargo 3 (0,9%) pacientes se trasplantaron con una PC para linfocitos T con suero histórico positiva; 4 (1,3%) pacientes se trasplantaron con PC para linfocitos B con suero actual positiva y 7 (2,2%) pacientes con una PC para linfocitos B histórica positiva.

Al analizar la sensibilización HLA pretrasplante medida por tecnología Luminex, 55 (17,2%) pacientes presentaron un escrutinio positivo, tratándose en 19 (6%) casos de AC clase I, en 12 (3,9%) casos de AC clase II y en 24 (7,7%) casos de AC de ambas clases. La sensibilidad media en el “single Antigen” fue de 15% (rango intercuartílico (RI): 8-30, min 2 - máx 99) para los AC de Clase I y de 20,5% (RI: 13 - 29, r: 3 - 99) para los AC de Clase II. El MFI medio de los pacientes sensibilizados por Luminex fue de 13000 (RI: 6600 -

20400, r: 1500 - 24500) para la Clase I y de 9500 (RI: 5100 - 21300, r: 1500 - 24000) para la Clase II. Tabla 6. Todos los pacientes sensibilizados por LCT, eran positivos con la tecnología Luminex, sin embargo 35 pacientes positivos mediante esta última técnica eran negativos por LCT. Así, el valor predictivo positivo de la LCT para diagnosticar los casos positivos por Luminex fue del 100%, pero el valor predictivo negativo era del 88,3% (IC al 95%, 84%-91%). La técnica de LCT presentó una especificidad del 100% y una sensibilidad del 36,3% (IC 95%: 23%-49%).

Sensibilización HLA donante específica

Treinta y cinco (10,9%) pacientes presentaron ADE mayor a 1500 MFI, de los cuales nueve (25,7%) eran de clase I, siete (20%) pacientes de clase II y diecinueve (54,3%) de ambas clases. Se detectaron seis pacientes con niveles de MFI por debajo de 1500 que se consideraron como pacientes sin ADE. Los pacientes con ADE presentaron una mediana de 5080 MFI (RI: 2900 - 11400, r: 1500 - 21500) para los AC de clase I y de 4900 MFI (RI: 2400 - 13900, r: 1500 - 23500) para los AC de clase II. El MFI de los pacientes con antecedentes de trasplante previo era significativamente más alto que el de los pacientes con primer trasplante, para los AC de Clase I la mediana fue de 6630 MFI (RI 3250-13800, r: 1500 - 18500) vs 2800 (RI 1600 - 4260, r: 1500 - 21500), $p=0,039$ y para los AC de Clase II la mediana fue de 15330 MFI (RI 13500 - 21300, r: 13000 - 23500) vs 2700 (RI 1600-6450, r: 1500 - 15200) ($p=0,000$). Los pacientes con ADE, positivos para ambas técnicas (Luminex y LCT) presentaban títulos más altos de MFI que aquellos que sólo eran sensibilizados mediante Luminex. La mediana de los AC de Clase I fue de 6800 (RI 3300 - 13000) vs 2360 MFI (RI 1600 - 5800), y la mediana de los AC de Clase II fue de 10.000 (RI 4700- 14800) vs 2500 (RI 1600 - 8000), para los pacientes detectados con ambas técnicas y los exclusivamente detectados por Luminex, respectivamente ($p<0,005$). Tabla 7. Los pacientes con ADE>1500 MFI presentaron AC contra los siguientes antígenos del donante: DR en cuatro (11%) pacientes, DQ en cinco (14%) pacientes, B en nueve (25%) pacientes, A en doce (33%) pacientes, AC Clase I más DQ en dos (5%) pacientes, AC Clase I más DR en tres (8%) pacientes, sólo un (2,8%) paciente presentó ADE contra antígenos DR y DQ de forma conjunta.

5.1.1.2 Características de los donantes

El 100% de los trasplantes se realizaron con injertos procedentes de donantes cadáver. Se trataba de 145 mujeres (45%) y 175 varones (64%). La edad media fue de 48 ± 17 años (r: 3 -80), siendo el 29% de ellos (92 pacientes) de edad mayor o igual a 60 años, de esta forma el

porcentaje de donantes con criterios expandidos ascendía al 30% (94), (Tabla 8). La causa de la muerte fue el accidente cerebrovascular en 199 pacientes (62 %), traumatismo craneoencefálico en 99 casos (31%) y miscelánea en 21 casos (7%), que incluyen encefalopatías postanóxicas de diferentes orígenes, tumores cerebrales, intoxicaciones por metanol, etc. Ochenta y dos donantes presentaban antecedentes de hipertensión arterial (27%). La cifra promedio de creatinina sérica fue de $0,96 \pm 0,48$ mg/dl (r: 0,3-4,9). En el caso de disponer de varias cifras de creatinina sérica se utilizó la que coincidía con el momento del ingreso, al estar supuestamente menos interferida por el tratamiento de mantenimiento posterior del donante. El tiempo promedio de isquemia fría fue de 19 ± 6 horas (r: 6-34) y el de sutura vascular fue de 47 ± 18 minutos (r: 18-120).

Se intentó adecuar al máximo la edad de donante y receptor. En la figura 16 se observa la correlación entre ambas variables que resulta significativa ($P=0,000$), con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,568.

5.1.1.3 Tratamiento inmunosupresor

Inmunosupresión principal: la totalidad de los pacientes recibieron tratamiento con prednisona oral en pautas descendentes. La mayor parte de ellos recibieron tratamiento inicial con un anticalcineurínico, 161 trasplantados (50%) se trataron con ciclosporina microemulsionada y 151 pacientes (47%) recibieron tacrolimus (Tabla 9). La casi totalidad de los trasplantes (98%) recibieron micofenolato mofetil como segundo fármaco inmunosupresor. En caso de secundarismos derivados del uso de micofenolato mofetil se cambió a los pacientes a micofenolato sódico por su mejor tolerancia gastrointestinal. Ocho receptores (2,5%) recibieron inhibidores m-Tor como segundo fármaco.

Tratamiento de Inducción: 125 (39%) pacientes recibieron tratamiento con inducción: 44 (14%) pacientes con anti-CD25, 81 (25%) pacientes con Timoglobulina, 17 (5%) pacientes con ATGAM y en 5 (1,6%) casos se utilizó OKT3. En 15 pacientes la indicación de la terapia de inducción fue la existencia de un elevado riesgo inmunológico por sensibilización HLA y retrasplante (10 timoglobulina, 4 ATGAM, 1 OKT3).

5.1.1.4 Evolución del trasplante renal

Las variables evolutivas del injerto renal se muestran en la tabla 10. Ciento quince (36%) pacientes presentaron FRI, necesitando al menos una sesión de hemodiálisis dentro de la primera semana postrasplante. Dichos pacientes necesitaron $15,5 \pm 12,6$ días (r: 3 - 90) para conseguir un descenso mantenido de creatinina sérica.

Doscientos cuarenta y cuatro pacientes (76%) requirieron algún reingreso, siendo la media de los mismos de $2,9 \pm 2,1$ (r: 1 - 13) ingresos por paciente. En 179 (57%) de los casos la causa fue debida a complicaciones infecciosas. Entre estas, la enfermedad por Citomegalovirus estuvo presente en el 11,6% (37) de los pacientes de la serie. Setenta y tres (25%) pacientes presentaron diabetes mellitus postrasplante, habiéndose hecho el diagnóstico a los 0,9 (RI 0,03-40; r: 0,1-144) meses postrasplante. Treinta y dos (10%) pacientes fueron diagnosticados de alguna patología cardiovascular grave en la evolución postrasplante.

Noventa (28%) pacientes fueron diagnosticados de algún tipo de neoplasia durante la evolución postrasplante, siendo en 49 (15%) de los casos diagnosticados de neoplasia cutánea no melanómica. Se diagnosticaron 41 (12,8%) neoplasias sólidas encontrando 6 linfomas, 5 neoplasias intestinales y 5 carcinomas renales (Tabla 11). El tiempo medio de diagnóstico de la neoplasia, desde el trasplante, fue de 72 ± 47 meses (r: 2 - 181).

5.1.1.5 Biopsias de seguimiento

Se analizaron 199 biopsias en 165 pacientes, que en la casi totalidad de los casos habían sido biopsiados por indicación clínica (2 casos biopsiados por condición de ensayo clínico en el que estaban incluidos). Ciento sesenta y cinco (51,5%) pacientes fueron biopsiados al menos una vez. A cuarenta y cinco (14%) pacientes se les practicaron dos biopsias, a ocho (2,5%) pacientes tres biopsias y a tres (0,9%) pacientes se les practicó cuatro biopsias en el período de seguimiento.

Se consideraron los diagnósticos histológicos resultantes de la realización de biopsias del injerto renal en los primeros 6 meses (precoces) y a partir de los 6 meses postrasplante (tardías). El tiempo transcurrido entre la fecha del trasplante y la realización de la biopsia fue de 18 ± 24 (r: 4 - 176) días en las biopsias precoces y de 45 ± 44 (r: 6 - 176) meses para las biopsias tardías. Ocho pacientes tenían dos biopsias tardías y diez pacientes tenían dos biopsias precoces, pero se consideraron como biopsias únicas por ser los resultados similares. Treinta y un pacientes presentaron una biopsia precoz y una tardía.

-Biopsias precoces:

Ciento diez (34%) pacientes fueron biopsiados en los primeros 6 meses.

Se diagnosticó de RA en el momento de la realización de las biopsias a 53 (47%) pacientes, con una mediana de 9 días (RI 6 - 13) desde el trasplante. El tratamiento incluyó además de los bolos de esteroides intravenosos, el uso de Timoglobulina (7 pacientes) y OKT3 (4 pacientes) en los RA corticorresistentes o con criterios de gravedad histológica. La

plasmaféresis se utilizó en un caso por sospecha de RAH. En los casos de RA, el resultado de la biopsia según la clasificación de Banff fue grado I en 19 (17%) casos, grado II en 15 (13%) casos y grado III en 10 (19%) casos; RA border-line en 6 (5,4%) casos y 2 (1,8%) casos mostraron afectación predominantemente de origen humoral.

Los diagnósticos histológicos tras revisión retrospectiva de las laminillas arrojó los siguientes resultados: sin lesiones histológicas en 5 (4,5%) pacientes, NTA en 63 pacientes (56%), RAC en 53 pacientes (47%), RAH en 12 pacientes (11,6%), SUH en tres pacientes (12,7%), recidiva de glomerulonefritis de base en un paciente (0,9%) y otras causas como nefropatía por virus BK en un caso y embolismo por colesterol en dos casos (1,8%).

-Biopsias tardías:

Ochenta y nueve (27,8%) pacientes fueron biopsiados a partir los primeros seis meses postrasplante. Tras la revisión de las laminillas se observaron los siguientes diagnósticos: sin lesiones histológicas dos casos (2,2%), RAC tardío en 25 pacientes (28%), RAH en seis casos (6,7%), RCH en 15 casos (17%), nefropatía por virus BK en cuatro casos (5%), IFTA en 60 casos (67%), SUH en un caso, recidiva de glomerulonefritis en diez casos (11%), en dos casos (2%) NTA y miscelánea en tres casos. En este grupo se incluyó un caso de hialinosis vascular leve, otro de hiper celularidad mesangial y un caso de arterioesclerosis del donante. En ocho pacientes se realizaron dos biopsias tardías, repitiendo el diagnóstico inicial en cinco de ellos. Entre los tres pacientes restantes, uno fue diagnosticado en la primera biopsia de nefropatía por virus BK y en la segunda biopsia se objetivó un RAH, otro paciente se diagnosticó de RAH en la primera biopsia y de IFTA en la segunda, y el tercer paciente se diagnosticó de IFTA en la primera y de recurrencia de glomerulonefritis en la segunda. Los diagnósticos antiguos de nefropatía crónica del injerto y nefrotoxicidad por anticalcineurínicos se reclasificaron con criterios actuales.

5.1.1.6 Creatinina y Proteinuria

El valor promedio de la creatinina sérica a lo largo del seguimiento se expone en la figura 17, siendo en 175 (57%) pacientes mayor o igual a 1,5 mg/dl al año. Los valores promedio de la proteinuria aparecen en la figura 18, siendo ésta mayor o igual a 0,5 gr/24 hs en 38 pacientes (12,5%) al año del trasplante. 104 (33%) pacientes presentaron proteinuria mayor a 0,5 g/24 hs de forma mantenida durante al menos 3 meses a lo largo del seguimiento.

5.1.1.7 Supervivencia del injerto y del paciente

La supervivencia del injerto de la serie analizada fue del 95% al año, 87% a los 5 años, 75,3% a los 10 años y 66% al final del seguimiento (Figura 19). La supervivencia del injerto censurada por muerte fue del 96% al año, 90% a los 5 años y 84% a los 10 años (Figura 20). El análisis de riesgos proporcionales de Cox para valorar qué variables se relacionaban con el fracaso del injerto (Tabla 12) incluyó en su modelo máximo variables categóricas consideradas como factores de riesgo de fracaso del injerto, como la presencia de ADE>1500 MFI pretrasplante, la edad del donante ≥ 60 años (si vs no), la FRI (si vs no), el RAH (si vs no) y la creatinina sérica $\geq 1,5$ mg/dl al año (si vs no). La presencia de ADE>1500 MFI (HR: 3,176, IC 95%: 1,932- 5,221, $p=0,000$) y la creatinina sérica $\geq 1,5$ mg/dl al año (HR: 2,714, IC 95%: 1,648 - 4,470, $p=0,000$) fueron las variables que se relacionaron de forma independiente con la peor supervivencia del injerto. En un modelo estimativo ajustado por la creatinina sérica $\geq 1,5$ mg/dl al año del trasplante, observamos que la presencia de ADE>1500 MFI pretrasplante presentaba un HR de 3,196 (IC 95% 1,95- 5,23) para la pérdida del injerto ($p<0,001$).

Las causas más frecuentes de fracaso del injerto fueron la DCI (44 casos, 43%) y el éxito con injerto funcionando (35 casos, 34%) (Tabla 13).

La supervivencia del paciente fue de 98,4% al año, 95,7% a los 5 años, 90,6% a los 10 años y 79% al final del seguimiento (Figura 21). En el análisis de Cox sobre la supervivencia del paciente, el modelo máximo incluyó las siguientes variables: edad del receptor ≥ 60 años (si vs no), FRI (si vs no), creatinina sérica $\geq 1,5$ mg/dl a los 12 meses (si vs no), RAH (si vs no) y la presencia de sensibilización HLA donante específica entendida como ADE>1500 MFI previa al trasplante (si vs no). De ellas, la edad del receptor ≥ 60 años (HR: 7,44, IC 95%: 3,43-16,11, $P=0,000$) y los ADE>1500 MFI pretrasplante (HR: 2,26, IC 95%: 0,99- 5,12, $p=0,050$) se relacionaron con la peor supervivencia del paciente (Tabla 14). En un modelo estimativo ajustado para la edad del receptor ≥ 60 años, la presencia de ADE>1500 MFI presentaba un HR de 2,462 (IC 95%: 0,872- 4,323, $p=0,104$) para la muerte del receptor. Las causas de exitus más frecuentes fueron la tumoral (14 casos, 38,8%), la cardiovascular (9 casos, 25%) y la infecciosa (5 casos, 13,8%) (Tabla 15).

5.1.1.8 Resumen

La serie analizada estuvo compuesta de forma preferente por receptores de edad media elevada, afectados en casi su totalidad de HTA y con sobrepeso en más de la mitad de los

mismos. Casi la mitad de los pacientes habían recibido alguna transfusión antes del trasplante. El 17% de la muestra resultó positiva para la técnica de Luminex, trasplantándose un 11% de los pacientes con ADE>1500 MFI. Los donantes presentaron una edad media elevada y el fallecimiento se debió a patología cerebrovascular en dos tercios de los mismos. Casi un 40% de la población estudiada recibió tratamiento de inducción (anti-CD25 o dosis reducidas de timoglobulina), utilizándose de igual forma tanto la ciclosporina como el tacrolimus. La FRI afectó a más de un tercio de la población. La mitad de la población fue biopsiada al menos una vez, siendo la mayoría de las biopsias realizadas dentro de los primeros seis meses.

El RAH se produjo en algo más del 5% y el RCH en casi el 10% de los casos. Un cuarto de la población fue diagnosticada de diabetes mellitus postrasplante y casi un tercio presentó alguna neoplasia durante el seguimiento. Los factores que se relacionaron de forma independiente con la supervivencia del injerto fueron la presencia de ADE>1500 MFI y la función renal al año. Las causas más frecuentes de pérdida del injerto fueron la DCI y la muerte con injerto funcionante. Las variables que se asociaron con el fallecimiento del paciente fueron la edad del receptor ≥ 60 años y la presencia de ADE>1500 MFI. Las causas más frecuentes de muerte del paciente fueron las tumorales seguidas de las cardiovasculares e infecciosas.

5.1.1.9 Tablas y Figuras

Tabla 5. Características demográficas de los receptores de la serie retrospectiva en el momento del trasplante renal (n=320).

	320 pacientes x ± DS, n (%)
Edad receptor (años)	49 ± 13 (r: 20-71)
Sexo (Mujer/Varón)	134/186 (42/58)
Índice de masa corporal	25 ± 4 (r: 13-42)
Hipertensión arterial	278 (87)
Hipertrofia ventricular izquierda	151 (47)
Dislipemia	145 (45)
Tabaquismo	127 (39)
Cardiopatía	29 (9)
Accidente cerebrovascular	4 (1)
Valvulopatía	92 (29)
Miocardopatía dilatada	13 (4)
Diabetes Mellitus previa	16 (5)
Anticuerpos VHC positivos	19 (6)
Antigenemia HBs positiva	5 (1)
Etiología de la insuficiencia renal:	
Glomerulonefritis	90 (28)
Poliquistosis	48 (15)
Intersticial	42 (13)
Vascular	32 (10)
Sistémica	11 (3)
Diabetes mellitus	9 (3)
Hipoplasia o agenesia renal	3 (1)
No filiadas	88 (27)
Tipo de tratamiento sustitutivo renal:	
Hemodiálisis	277 (87)
Diálisis peritoneal	43 (13)
Tiempo en diálisis (meses)	45 ± 42 (r: 5-307)
Transfundido	131 (44)
Nº de transfusiones*	5 ± 5 (r: 1-30)
Embarazos	2 ± 1,5 (r: 1-5)
Retrasplantes	20 (6%)
Nº de trasplantes previos (1º/2º/3º)	300/15/5 (94/5/2)
Sensibilización frente al panel	20 (6,3)
Tasa máxima de sensibilización**	61 ± 32 (r: 13-100)
Nº de incompatibilidad DR (0/1/2)	26/221/53 (9/74/18)
Nº de compatibilidades	2,3 ± 1,1 (r: 0-6)
Nº de incompatibilidades	3,3 ± 1,4 (r: 0-6)
Grupo sanguíneo (A/B/O/AB)	134/33/136/15 (42/11/43/5)

* los que han recibido alguna transfusión.

** en aquellos pacientes con sensibilización frente al panel > 0%.

Tabla 6. Características inmunológicas de los pacientes con sensibilización HLA de la serie retrospectiva.

Pacientes sensibilizados	x ± DS, n (%)
Linfocitotoxicidad	20 (6,3)
PRA % máximo por linfocitotoxicidad	61 ± 32 (r: 13 - 100)
ELISA	2 (0,62)
Luminex	55 (17,2)
SAB % de sensibilidad medio	15 (RI 8-30)
MFI Clase I Luminex	13000 (RI 6600 – 20400)
MFI Clase II Luminex	9500 (RI 5100 – 21300)
PCTA +	0 (0)
PCTH +	3 (0,9)
PCBA +	4 (1,3)
PCBH +	7 (2,2)

*SAB: “single antigen beads”, MFI: “mean fluorescein intensity” o intensidad de fluorescencia media, PCTA: prueba cruzada con linfocitos T en suero actual, PCTH: prueba cruzada con linfocitos T en suero histórico, PCBA: prueba cruzada con linfocitos B en suero actual, PCBH: prueba cruzada con linfocitos B en suero histórico.

Tabla 7. Características de los pacientes con ADE detectados mediante tecnología Luminex en la serie retrospectiva (n=35).

Pacientes con ADE	x, RI; n, (%)
Clase I	9 (25,7)
Clase II	7 (20)
Ambas clases	19 (54,3)
MFI Clase I (n=35)	5080 (RI 2900 – 11400)
MFI Clase II (n=35)	4900 (RI 2400 – 13900)
MFI Clase I (n=22) 1º trasplante	2800 (RI 1600 – 4260)
MFI Clase II (n=22) 1º trasplante	2700 (RI 1600-6450)
MFI Clase I (n=13) retrasplante	6630 (RI 3250-13800)
MFI Clase II (n=13) retrasplante	15330 (RI 13500 – 21300)
MFI Clase I Luminex +/- LCT + (n=14)	8300 (RI 4300 - 14000)
MFI Clase II Luminex +/- LCT + (n=14)	10000 (RI 4700- 14800)
MFI Clase I Luminex +/- LCT - (n=21)	2360 (RI 1600 – 5800)
MFI Clase II Luminex +/- LCT - (n=21)	2500 (RI 1600 - 8000)

*LCT: linfocitotoxicidad

Tabla 8. Características demográficas de los donantes de la serie retrospectiva y tiempos de isquemia.

	320 donantes x ± DS, n (%)
Edad (años)	48 ± 17 (r: 3-80)
Edad ≥ 60 años	92 (29)
Donantes con criterios expandidos	94 (30)
Sexo (Mujer/Varón)	145/175 (45/64)
Causa muerte:	
Traumatismo craneoencefálico	123 (30,7)
Accidente cerebrovascular	251 (62,6)
Otras	27 (6,7)
Hipertensión arterial	82 (27)
Creatinina sérica (mg/dl)	0,9 ± 0,4 (r: 0,3-4,9)
Tiempo isquemia fría (horas)	19 ± 6 (r: 6-34)
Tiempo de sutura vascular (minutos)	47 ± 18 (r: 18-120)

Tabla 9. Tratamiento inmunosupresor inicial de los pacientes incluidos en la serie retrospectiva.

	320 pacientes x ± DS, n (%)
Ciclosporina microemulsionada	161 (50)
Tacrolimus	141 (47)
Micofenolato mofetil/Micofenolato sódico	313 (98)
Sirolimus	8 (2,5)
Esteroides orales	320 (100)
Anti-CD25	44 (14)
Timoglobulina	81 (25)
OKT3	5 (1,3)
ATGAM	17 (5)

Tabla 10. Características en relación a la evolución posterior del trasplante de los pacientes incluidos en la serie retrospectiva.

	320 pacientes, x ± DS, n (%)
Función retrasada injerto	115 (36)
Tiempo de recuperación función renal (días)*	15,5 ± 12,6 (r: 3-90)
Rechazo agudo	72 (23)
Creatinina sérica ≥ 1,5mg/dl a los 12meses	215 (57,0)
Proteinuria ≥ 0,5g/24h mantenida mínimo 3 meses	128 (31,9)
Diabetes mellitus postrasplante	73 (25)
Patología cardiovascular grave	32 (10)
Infarto de miocardio (IAM)	9 (3,3)
Cardiopatía isquémica distinta de IAM	16 (5,8)
Accidente cerebrovascular	4 (1,4)
Isquemia vascular periférica	3 (1,1)
Reingresos	244 (76)
Numero de reingresos	2,9 ± 2,1 (r: 1-13)
Cambio de protocolo inmunosupresor:	
No cambio	212 (66)
A Tacrolimus	58 (18)
A Inhibidor m-Tor	38 (12)
A Ciclosporina microemulsionada	11 (3,4)

*aquellos que presentaron función retrasada del injerto.

Tabla 11. Diagnóstico de neoplasias en el período postrasplante en los pacientes incluidos en la serie retrospectiva.

Neoplasias	Frecuencia	Porcentaje
Cutánea no melanómica	49	15,3
Linfoma	6	1,9
Intestinal	5	1,6
Próstata	5	1,6
Renal	5	1,6
Vesical	4	1,3
Mama	4	1,3
Pulmonar	3	0,9
Carcinoma de Merkel / Útero	2 / 2	0,6 / 0,6
Carcinoide / Melanoma	1 / 1	0,3 / 0,3
Hepatobiliar / Sarcoma de Kaposi	1 / 1	0,3 / 0,3
Vulva	1	0,3
Ninguna neoplasia	230	71,9
Total	320	100,0

Tabla 12. Análisis de Cox de supervivencia del injerto de la serie global del estudio retrospectivo.

	Significación	Exp (B)	IC del 95% Inferior-Superior
ADE > 1500 MFI	0,000	3,176	1,932 – 5,221
Cr \geq 1,5 mg/dl a los 12m	0,000	2,714	1,648 - 4,470
Función retrasada injerto	0,222	1,308	0,850 – 2,014
Edad donante \geq 60 años	0,217	1,329	0,846 – 2,088

Variables incluidas:

Presencia de ADE (anticuerpos donante específico) >1500 MFI antes del trasplante (si vs no), Creatinina sérica \geq 1,5 mg/dl a los 12 meses (si vs no), función retrasada del injerto (si vs no) y edad del donante \geq 60 años (si vs no).

Tabla 13. Causas de fracaso del injerto de los pacientes incluidos en la serie retrospectiva (n=320).

	Frecuencia	Porcentaje
Disfunción crónica del injerto	44	43
Exitus con injerto funcionante	35	34,4
Recidiva enfermedad base	7	6,8
Riñón no viable	6	5,8
Rechazo agudo	2	1,9
Nefropatía BK	2	1,9
Complicación de la vía urinaria	1	0,9
Pérdida de seguimiento	5	4,9
Total	102	100,0

Tabla 14. Análisis de Cox de supervivencia del paciente de la serie global del estudio retrospectivo.

	Significación	Exp (B)	IC del 95% Inferior - Superior
Edad receptor \geq 60 años	0,000	7,444	3,438- 16,118
ADE > 1500 MFI	0,050	2,263	0,999- 5,125
Función retrasada injerto	0,290	1,479	0,716 – 3,051
Cr \geq 1,5 mg/dl al año	0,813	1,094	0,518- 2,309

Variables incluidas:

Edad del receptor \geq 60 años (si vs no), presencia de ADE (anticuerpos donante específico) >1500 MFI previos al trasplante (si vs no), función retrasada del injerto (si vs no) y creatinina sérica \geq 1,5 mg/dl a los 12 meses (si vs no).

Tabla 15. Causas de exitus de los pacientes incluidos en la serie retrospectiva.

	Frecuencia	Porcentaje
Tumoral	14	38,8
Cardiovascular	9	25
Infecciosa	5	13,8
Hepática	3	8,3
Digestiva	1	2,7
Otras	4	11,1
Total	36	100,0

Figura 14. Distribución de los pacientes incluidos en la serie retrospectiva en función del año del trasplante.

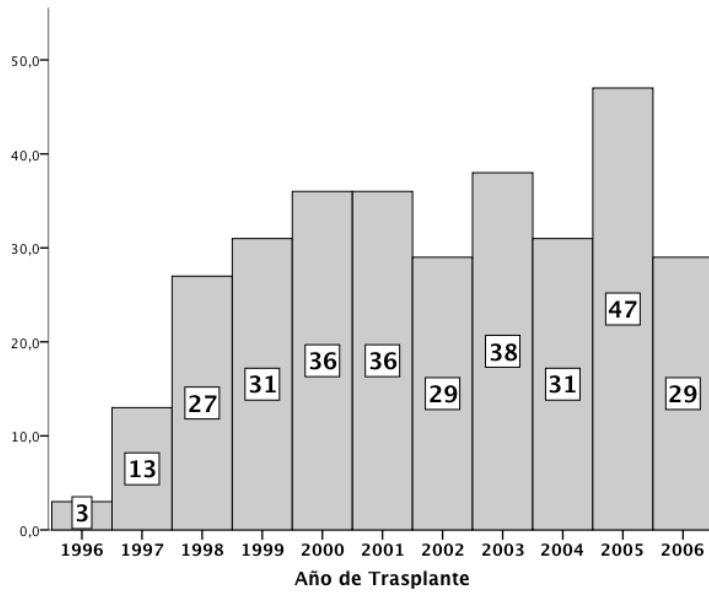


Figura 15. Distribución por edad de los pacientes incluidos en la serie retrospectiva.

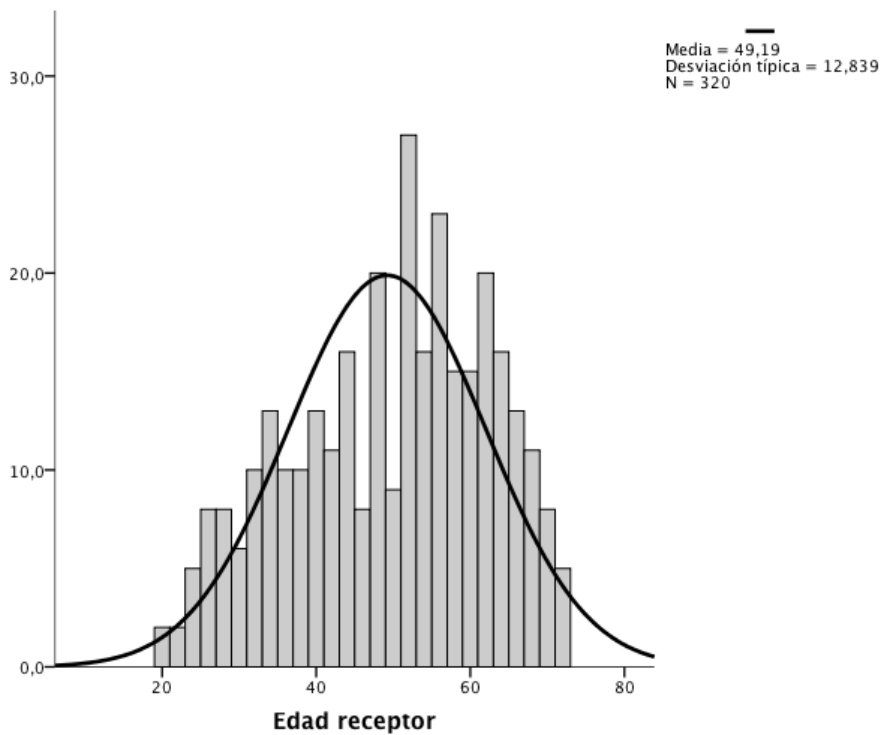


Figura 16. Correlación entre la edad del donante y receptor incluidos en la serie retrospectiva (coeficiente de correlación = 0,568, P = 0,000).

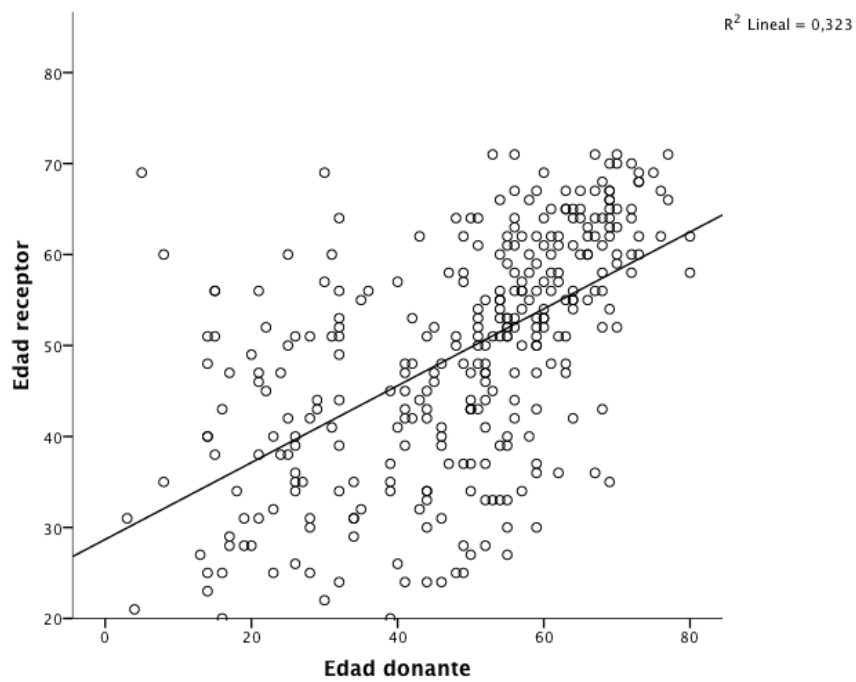


Figura 17. Cifras de creatinina sérica (mg/dl) (IC del 95% de la media) en la serie global retrospectiva.

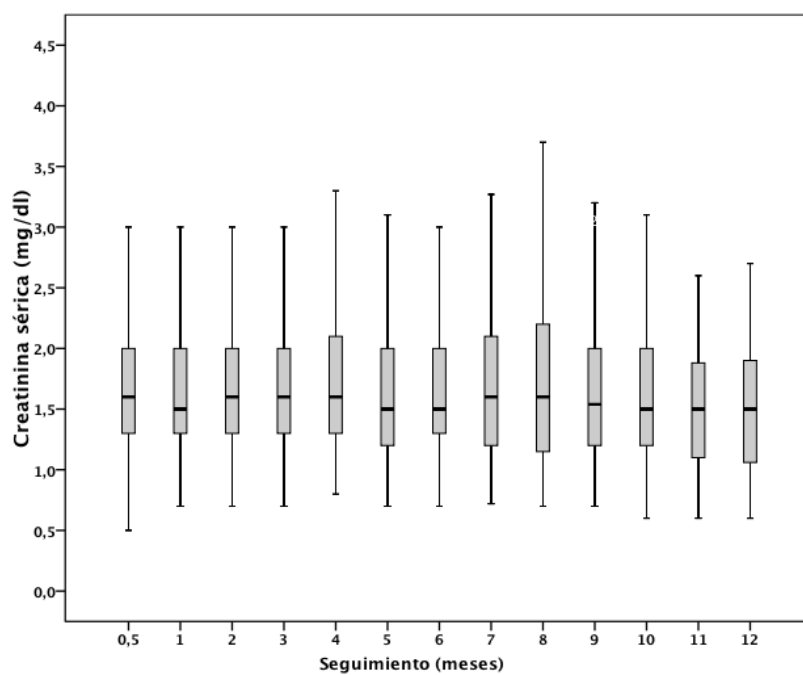


Figura 18. Evolución de los valores promedio de proteinuria (g/24h) a lo largo del seguimiento (IC del 95% de la media), en la serie global retrospectiva

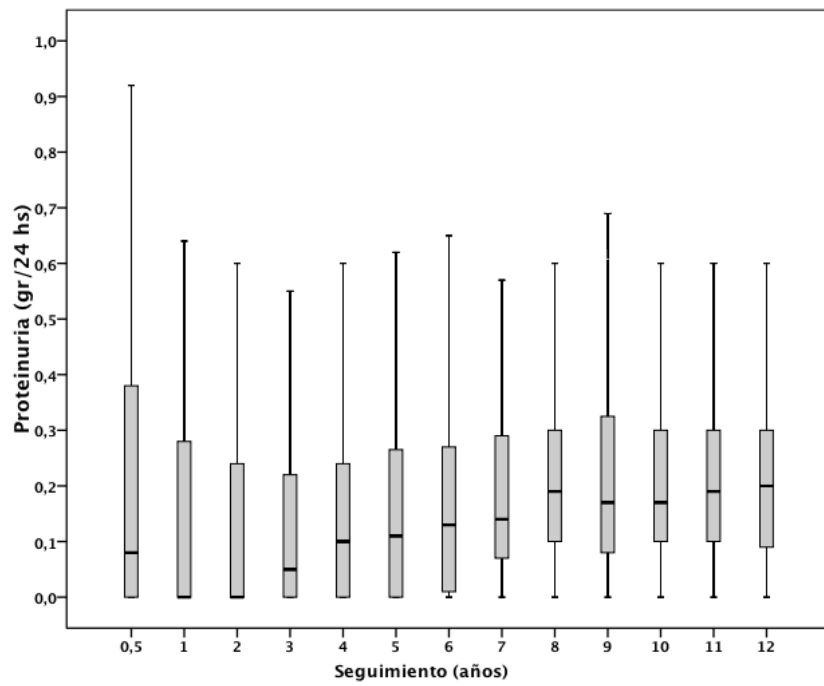
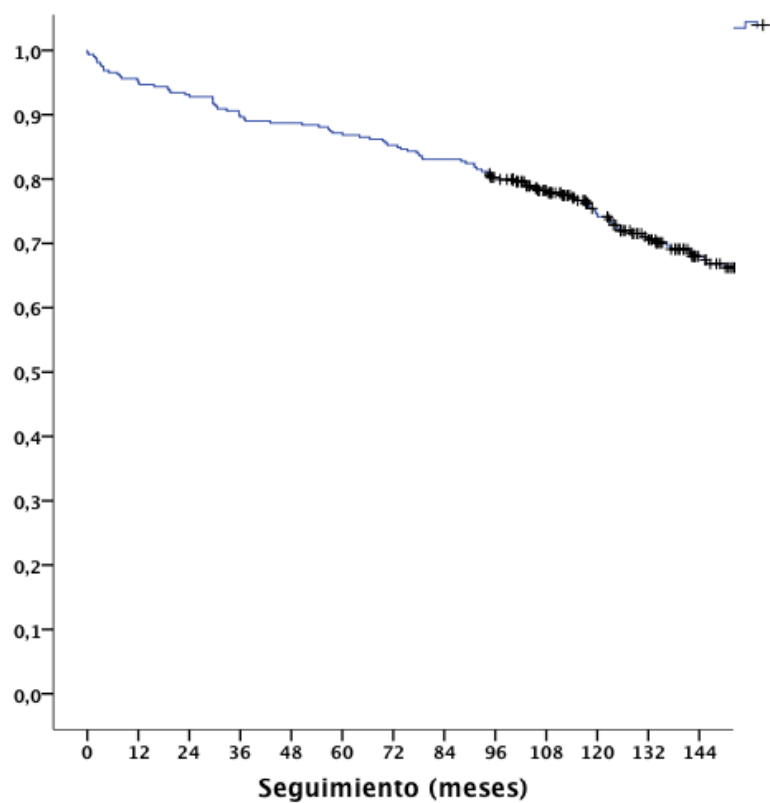
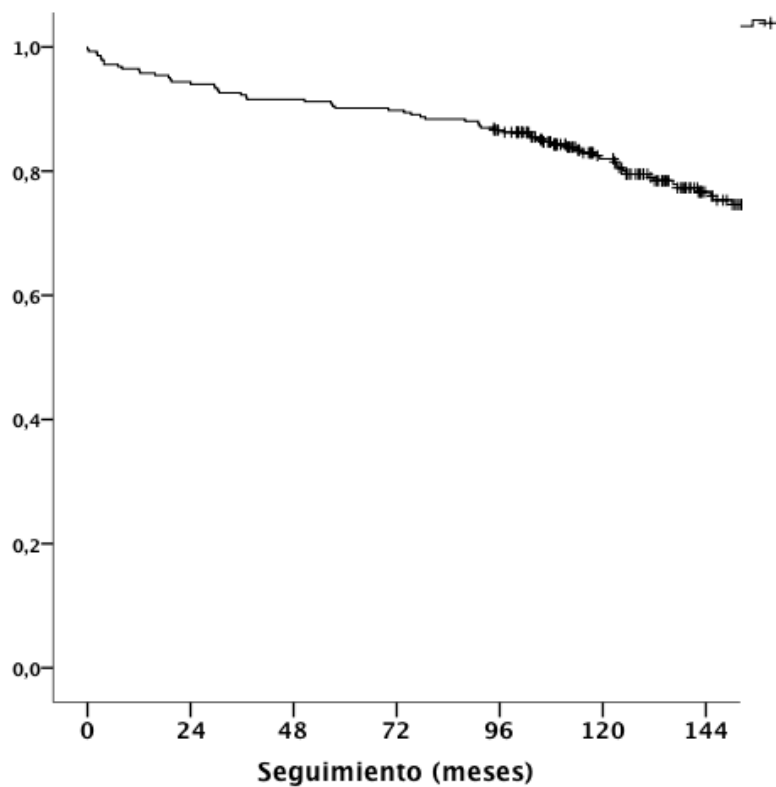


Figura 19. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto, sin censurar por la muerte del paciente, en la serie global retrospectiva (n=320).



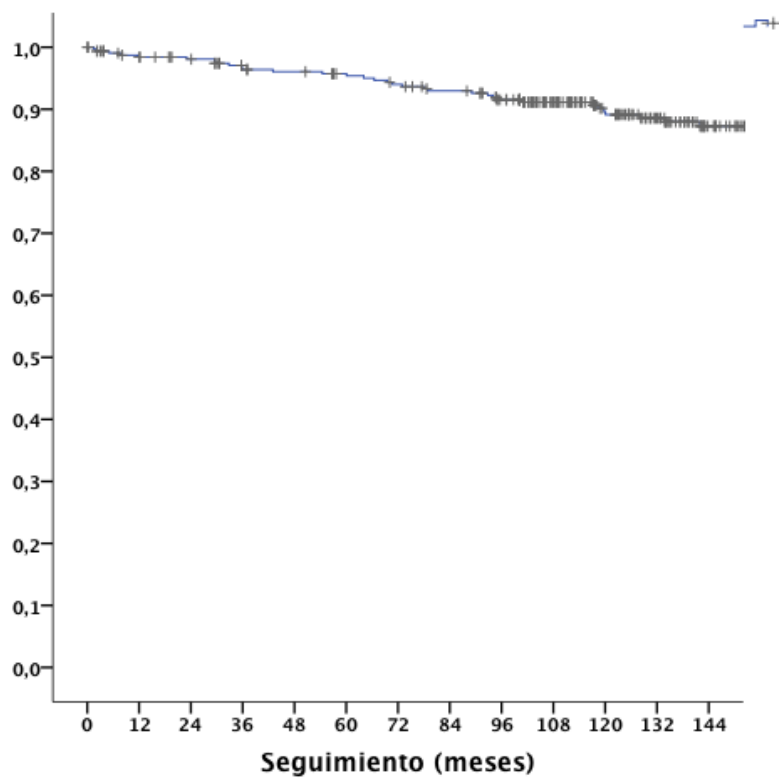
Meses	0	24	48	72	96	120	144
n	320	296	284	272	257	241	227
(%)	(100,0)	(92,5)	(88,8)	(85,0)	(80,3)	(75,3)	(70,9)

Figura 20. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto, censurada por la muerte del receptor, en la serie global retrospectiva (n=284).



Meses	0	24	48	72	96	120	144
n	320	303	281	277	275	271	261
(%)	(100,0)	(94,6)	(87,8)	(86,5)	(85,9)	(84,6)	(82,5)

Figura 21. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del paciente en la serie global retrospectiva (n=320).



Meses	0	24	48	72	96	120	144
n	320	314	308	301	295	290	290
(%)	(100,0)	(98,1)	(96,2)	(94,1)	(92,2)	(90,6)	(90,6)

5.1.2 Análisis comparativo de la sensibilización HLA

Se realizó un análisis comparativo entre los 35 (10,9%) pacientes que presentaron ADE>1500 MFI en las muestras pretrasplante frente a los 285 (89,1%) que no los presentaron. El seguimiento entre ambos grupos fue similar ($113,7 \pm 55$ vs $128,6 \pm 49$ meses, $p=0,102$)

5.1.2.1 Características de receptores y donantes

Las características demográficas de los receptores figuran en la tabla 16. En el grupo de pacientes con ADE había un mayor porcentaje de mujeres (73,3% vs 38,2%, $p=0,000$), pacientes con serología positiva para VHC+ (23,5% vs 4%, $p=0,000$), el tiempo en terapia renal sustitutiva fue mayor (86 ± 83 vs 39 ± 30 meses, $p=0,002$), presentaron mayor porcentaje de trasplantes previos (35,3% vs 2,5%, $p=0,000$) y mayor porcentaje de transfusiones (76,5% vs 40,1%, $p=0,000$). No hubo diferencias en cuanto a factores de riesgo cardiovascular como dislipemia, tabaquismo, obesidad, tampoco en cuanto a cardiopatía isquémica, ACV o etiología de la ERC. Las características demográficas de los donantes figuran en la tabla 17. No hubo diferencias entre los grupos analizados en cuanto a causa de muerte, edad, porcentaje de donantes con criterios expandidos, creatinina sérica, tiempo de isquemia fría, sutura vascular o factores de riesgo cardiovascular en el donante como la HTA y la diabetes mellitus.

En el análisis multivariante para el estudio de los factores de riesgo de desarrollar ADE >1500 MFI, se incluyeron en el modelo máximo aquellas variables clínica y/o estadísticamente significativas en el análisis univariante como la edad del receptor ≥ 60 años, sexo del receptor (hombre vs mujer), retrasplante (sí vs no) y las transfusiones (sí vs no). El sexo femenino (OR: 8,21, IC 95%: 2,71-24,85, $p=0,000$) y el retrasplante (OR: 29,50, IC 95%: 7,64-113,9, $p=0,000$) fueron las variables relacionadas con la presencia de ADE >1500 MFI de forma independiente (Tabla 18).

5.1.2.2 Sensibilización HLA pretrasplante

Catorce (37,1%) pacientes con ADE presentaron sensibilización HLA medida por LCT, mientras que 21 (60%) pacientes eran negativos por esta técnica. Sólo un 2,5% (7) de pacientes sin ADE presentaron sensibilización HLA medida por LCT, $p=0,000$. La tasa máxima (mediana) de sensibilización por LCT entre los pacientes con ADE fue del 80 % (r: 60 - 100) frente al 37,5 % (r: 22-55) de los pacientes sin ADE ($p=0,001$). En la serie

general 14 (4,3%) pacientes se habían trasplantado con alguna PC por LCT positiva pretrasplante, entre estos todos menos uno presentaban ADE >1500 MFI.

Se comparó a los pacientes con ADE frente a aquellos pacientes con AC no ADE mediante tecnología Luminex. Los pacientes con ADE presentaban AC clase I en un 77% de los casos frente al 65% de los pacientes con AC no ADE ($p=0,253$). El 54% de los pacientes con ADE presentaban AC clase II frente al 50% de los pacientes con AC no ADE ($p=0,141$). El porcentaje de pacientes con ambas clases de AC fue de 48,6% en el grupo de pacientes con ADE vs 20% en los que tenían AC no ADE ($p=0,033$). La sensibilidad media en la técnica de Luminex “Single Antigen” fue similar para ambos grupos de pacientes tanto para los AC de Clase I, como para los de Clase II. Tabla 19.

5.1.2.3 Tratamiento inmunosupresor

Dieciséis (45,7%) pacientes con ADE comparado con 58 (20,4%) pacientes sin ADE recibieron tratamiento de inducción con Timoglobulina ($p=0,001$). El 68,6% (24) de los pacientes con ADE habían recibido tratamiento inicial con tacrolimus comparado con el 44,6% (127) de los pacientes sin ADE ($p=0,006$); mientras que 11 (31,4%) pacientes trasplantados con ADE habían recibido tratamiento inicial con ciclosporina microemulsionada comparado con 150 (52,6%) pacientes sin ADE ($p=0,014$). Tabla 20.

5.1.2.4 Evolución del trasplante

La FRI, definida como la necesidad de al menos una sesión de hemodiálisis dentro de la primera semana postrasplante, estuvo presente en el 45,7% (16) de los pacientes con ADE vs el 34,9% (99) de los que no los tenían ($p=0,141$). No se encontraron diferencias al comparar el tiempo de recuperación de la FRI, rechazo agudo, creatinina $\geq 1,5$ mg/dl al año del trasplante o proteinuria $\geq 0,5$ g/día al año del trasplante. Tampoco había diferencias en cuanto a cambios en el protocolo inmunosupresor. Tabla 21. Las cifras de creatinina sérica (mg/dl) y las cifras de proteinuria (g/24 hs) a lo largo de la evolución de los injertos no fueron diferentes entre ambos grupos (Figura 22 y 23, respectivamente). Tampoco hubo diferencias en las cifras de creatinina o de proteinuria entre los 24 pacientes con niveles de ADE mayor a 3000 MFI o los 19 pacientes con ADE mayor a 5000 MFI comparados con los pacientes sin ADE. Complicaciones en la evolución postrasplante como la aparición de diabetes mellitus de novo postrasplante, eventos cardiovasculares graves (cardiopatía isquémica, ACV o isquemia vascular periférica), enfermedad por Citomegalovirus o número de reingresos fueron similares en ambos grupos. El diagnóstico

de neoplasias y el tiempo hasta su diagnóstico también fue similar para los dos grupos de pacientes (Tabla 22).

5.1.2.5 Biopsias de seguimiento

Los pacientes con ADE>1500 MFI presentaron un número medio de biopsias de seguimiento de 2, RI 1-2 (r: 1 - 4) mientras que en los pacientes sin ADE fue de 1 biopsia RI 1-2 (r: 1 - 3, $p<0,001$). En el grupo de pacientes con ADE, catorce (40%) pacientes no fueron biopsiados, siete (20%) tenían una biopsia, once (31,4%) presentaban dos biopsias, uno (2,9%) paciente fue biopsiado tres veces y dos (5,7%) pacientes cuatro veces. Ciento treinta y seis (48%) pacientes sin ADE no fueron biopsiados, 106 (37%) tenían una biopsia, 34 (12%) dos biopsias y 7 (2,5%) pacientes tres biopsias.

a) Biopsias precoces:

Diecinueve (54,3%) pacientes con ADE>1500 MFI y 93 (32,6%) pacientes sin ADE fueron biopsiados en los primeros 6 meses ($p=0,011$). El tiempo medio entre el trasplante y la realización de la biopsia precoz fue similar entre ambos grupos, siendo de 12,5 días (RI: 6-17,5, r: 4- 82) vs 10 días (RI: 7-16, r: 1- 180), para los pacientes con y sin ADE, respectivamente ($p=0,755$).

Los diagnósticos histológicos tras revisión retrospectiva de las laminillas se muestran en la tabla 23. Destaca la mayor prevalencia del diagnóstico de RAH en el grupo de pacientes con ADE>1500 MFI (33,3% vs 4,1 %, $p<0,001$), sin diferencias en otros diagnósticos como la FRI o el RAC. Entre los pacientes con ADE>1500 MFI que presentaron RAH, no había diferencias en los subtipos de AC: 4 (57%) pacientes con AC clase I, 1 (14%) paciente con AC de clase II y 2 (28%) pacientes con ambas clases de AC presentaron RAH, $p=0,077$. El análisis por compartimientos de las biopsias precoces se muestra en la 24; destaca el mayor porcentaje de glomerulitis ($g>1$: 47% vs 6%, $p=0,001$) y afectación de los capilares peritubulares ($ptc>0$: 64% vs 40%, $p=0,124$) para el grupo de pacientes con ADE>1500 MFI. No había diferencias con respecto a lesiones de tubulitis ($t>1$: 33% vs 29%, $p=0,481$), inflamación intersticial ($i>1$: 32% vs 33%, $p=0,317$), arteritis intimal ($v>1$: 33% vs 17%, $p=0,385$), hialinosis arteriolar ($ah>1$: 25% vs 30%, $p=0,617$) o presencia de dobles contornos ($cg>1$: 7% vs 5,5%, $p=0,541$). Las lesiones correspondientes a aumento de matriz mesangial, IFTA y cambios vasculares crónicos (mm, fi, at, fv) no fueron valorados en estas biopsias.

b) Biopsias tardías:

Doce (34,3%) pacientes con ADE>1500 MFI y 77 (27,0%) pacientes sin ADE fueron biopsiados más allá de los primeros 6 meses postrasplante ($p=0,237$). El tiempo medio entre el trasplante y la realización de la biopsia tardía fue similar entre ambos grupos, siendo de 61,7 meses (RI: 18-101, r: 8 - 110) vs 29,3 meses (RI: 13-79, r: 6- 176), $p=0,364$, para los pacientes con y sin ADE, respectivamente.

Los diagnósticos histológicos tras revisión retrospectiva de las laminillas antiguas se muestran en la tabla 24. En el grupo de pacientes sin ADE, un paciente presentó ausencia de lesiones histológicas en la biopsia, dos pacientes hallazgos compatibles con síndrome urémico hemolítico y cuatro pacientes presentaron nefropatía por virus BK; ninguna de estas entidades estuvo presente en el grupo de pacientes con ADE. En el grupo de pacientes con ADE>1500 MFI existió mayor prevalencia de RCH (41,6% vs 14,5 %, $p=0,038$), sin diferencias en otros diagnósticos como el RAC, RAH o presencia de IFTA. Al analizar el diagnóstico de RCH sospechoso entendido como la presencia de IFTA moderada acompañada de ADE, el porcentaje de pacientes con RCH se elevaba a un 91,6% en el grupo de los pacientes con ADE>1500 MFI. No se observaron diferencias en cuanto a los subtipos de AC y el diagnóstico de RHC. El análisis por compartimientos de las biopsias tardías se muestra en la figura 25, donde destaca para el grupo de pacientes con ADE>1500 MFI un mayor porcentaje de glomerulitis ($g>1$, 30% vs 5%, $p=0,039$) y de lesiones histológicas de orden crónico, como un mayor porcentaje de dobles contornos ($cg>1$, 80% vs 14%, $p=0,001$), hialinosis arteriolar ($ah>2$, 89% vs 39%, $p=0,006$) y aumento de la matriz mesangial ($mm>1$, 75% vs 21%, $p=0,005$). No había diferencias con respecto a las lesiones de tubulitis ($t>1$, 10% vs 22%, $p=0,267$), inflamación intersticial ($i>1$, 11% vs 36%, $p=0,06$), capilaritis ($ptc>0$, 28% vs 36%, $p=0,255$), arteritis intimal ($v>1$, 10% vs 4,6%, $p=0,590$), fibrosis intersticial ($fi>1$, 27% vs 45%, $p=0,189$) y atrofia tubular ($at>1$, 43% vs 36%, $p=0,539$) o presencia de fibrosis vascular intimal ($fv>1$, 100% vs 77%, $p=0,293$) entre ambos grupos. Entre los catorce pacientes con ADE>1500 MFI que no se biopsiaron, uno presentó disfunción del injerto diagnosticado de rechazo crónico, cuatro pacientes (31%) fueron éxitos con injerto funcionante y ocho (61 %) pacientes seguían siendo funcionantes al finalizar el seguimiento de este estudio.

5.1.2.6 ADE como factor de riesgo para rechazo humoral

Se realizó un análisis multivariante para estudiar si los ADE eran un factor de riesgo independiente para RAH, diagnosticado en cualquier momento de la evolución postrasplante. En el modelo máximo incluimos como variables independientes: edad del

receptor ≥ 60 años (sí vs no), ADE >1500 pretrasplante (sí vs no) y retrasplante (sí vs no). La presencia de ADE >1500 pretrasplante (OR: 6,12, IC 95%: 2,01-18,59, $p=0,005$) fue la única variable relacionada con el diagnóstico de RAH. Tabla 25. Se realizó un análisis de tiempo libre de RAH según los diferentes niveles de ADE, objetivando que los pacientes con ADE >3000 MFI eran los que presentaban con mayor frecuencia este diagnóstico. La supervivencia sin RAH a los 10 años postrasplante fue del 78,9% para los pacientes con ADE >3000 MFI, mientras que esta era del 100% para los pacientes con ADE entre 1500 y 3000 MFI y del 97,5% para los pacientes sin ADE ($p<0,001$). Figura 26.

También se realizó un análisis multivariante para estudiar los factores de riesgo para RCH, diagnosticado en cualquier momento de la evolución postrasplante. En el modelo máximo incluimos como variables independientes: edad del receptor ≥ 60 años (sí vs no), ADE >1500 pretrasplante (sí vs no), el retrasplante (sí vs no) y el diagnóstico de RAH (sí vs no). El retrasplante (OR: 5,10, IC 95%: 1,25-20,7; $p=0,023$) fue la única variable relacionada con este diagnóstico. Tabla 26. No encontramos relación entre los ADE > 1500 MFI o mayores de 3000 MFI o 5000 MFI y el RCH, tampoco había relación entre las clases de ADE (I o II) y el RCH.

5.1.2.7 Supervivencia del injerto

Se analizó la asociación de los ADE con el riesgo de fallo del injerto según los diferentes niveles de MFI. Tabla 27. La presencia de ADE >3000 presentó un riesgo incrementado de pérdida del injerto (HR 3,18, IC 95%: 1,80-5,63, $p<0,001$). Este riesgo fue más bajo cuando se analizaron las clases de ADE >3000 MFI por separado (clase I: HR 2,27, IC 95%: 1,21-4,25, $p<0,001$; clase II: HR 2,58, IC 95%: 1,25-5,32, $p<0,001$). La presencia de ADE de baja intensidad (1500-3000 MFI) presentó un riesgo incrementado pero no estadísticamente significativo de pérdida del injerto (HR 1,88, IC 95%: 0.90 - 3.89, $p=0,089$).

Al final del seguimiento, el 63% (22) de pacientes con ADE >1500 MFI vs el 28% (82) de pacientes sin ADE eran no funcionantes sin censurar las muertes ($p<0,001$) y el 52% (14) vs 21% (54) de pacientes respectivamente, eran no funcionantes censurando por los exitus ($p=0,001$). Las causas de pérdida del injerto para ambos grupos se muestran en la tabla 28. El 31,4% (11) de los pacientes con ADE >1500 MFI perdieron el injerto por “rechazo crónico” frente al 11,6% (33) de los pacientes sin ADE ($p=0,005$). Ocho (22,9%) pacientes con ADE fallecieron frente a 27 (9,5%) pacientes sin ADE.

Los datos tanto pre como postrasplante más destacables de los 35 pacientes con ADE>1500 MFI se describen en la tabla 29. Se realizó un análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500, según siguieran funcionando (13) o no (22). No existían diferencias significativas en cuanto a la edad del receptor, sexo del receptor, serología positiva para VHC, porcentaje de retrasplante, presensibilización HLA medida por LCT (Tabla 30). Existió una tendencia a mayores tasas de MFI tanto para AC de Clase I como de Clase II en los injertos que fracasaron. Los pacientes con ADE>1500 no funcionantes fueron diagnosticados más frecuentemente de RHC (18% vs 0%, $p=0,140$) y presentaron peores cifras de proteinuria>0,5 g/dl al año del trasplante (22,7% vs 0%, $p=0,065$). Los pacientes con ADE>1500 funcionantes habían negativizado los AC en las determinaciones postrasplante con más frecuencia que los que no funcionaban (38% vs 9%, $p=0,050$). Tabla 31. Seis pacientes con una tasa mayor a 10.000 MFI en las muestras pretrasplante presentaron una prueba cruzada negativa para linfocitos T, tanto actual como histórica, con el donante.

La supervivencia del injerto a los 5 años fue de 76,5% en los pacientes con ADE>1500 MFI y de 90% en los pacientes sin ADE; siendo a los 10 años de 60% y 79,3%, en los pacientes con y sin ADE>1500, respectivamente ($p<0,001$). Figura 27. Al censurar las muertes con injerto funcionante, la supervivencia del injerto a los 5 y 10 años seguía siendo significativamente diferente, siendo de 74% y 65% en los pacientes con ADE>1500 MFI y de 91,8% y 83,8% en los pacientes sin ADE, respectivamente ($p<0,001$) (Figura 28).

La supervivencia del injerto, sin censurar por la muerte del paciente, según las clases de ADE se muestra en la figura 29; esta fue a los 5 y 10 años de 75% y 50% para los pacientes con ADE clase I, 55% y 44% para los de Clase II y 80% y 64% para los de ambas clases, respectivamente, $p<0,001$.

La supervivencia del injerto según los niveles de MFI de los pacientes con ADE fue a los 5 y 10 años de 81% y 62,5% para los receptores con ADE entre 1500-3000 MFI y 68% y 52,6% para los receptores con ADE>3000 MFI, respectivamente ($p<0,001$). Figura 30.

La supervivencia del injerto según las clases de ADE, analizando solo los pacientes con ADE>3000, se muestra en la figura 31; ésta fue a los 5 y 10 años de 67% y 44% para los pacientes con ADE clase I, 75% y 50% para los de Clase II y 67% y 67% para los de ambas clases, respectivamente, $p<0,001$.

5.1.2.8 Supervivencia del paciente

La figura 32 muestra las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier del paciente en función de la presencia o no de ADE>1500 MFI. La presencia de ADE>1500 MFI se relacionó con una peor supervivencia del paciente a largo plazo. A los 5 años, ésta fue del 96% en los pacientes con ADE>1500 MFI y 95,6% en los que no tenían ADE, sin embargo a partir de los 6 años aproximadamente, las curvas se separan, siendo la supervivencia a los 10 años del 83% y 91%, respectivamente, $p=0,009$. Las causas de muerte entre ambos grupos fueron similares (Tabla 32).

5.1.2.9 Permanencia de ADE en el postrasplante

En 260 (81%) pacientes de la serie general se realizó determinación de AC anti-HLA mediante tecnología Luminex en el período postrasplante. El 75,4% (25) de los pacientes con ADE>1500 MFI, tenían al menos una determinación de AC anti-HLA comparado con el 82,8% (236) de los pacientes sin ADE ($p=0,101$). El tiempo medio transcurrido desde la fecha de trasplante hasta la determinación de AC anti-HLA fue de $87,2 \pm 40$ meses ($r: 0,7-163$), sin existir diferencias entre ambos grupos (87 ± 39 meses vs 85 ± 49 meses, $p=0,77$).

Entre los veinticinco pacientes con ADE>1500 MFI, sólo siete (28%) seguían presentando ADE postrasplante y los dieciocho (72%) restantes habían negativizado estos AC. La mediana de MFI de los pacientes que negativizaron los ADE pretrasplante en las muestras postrasplante fue de 2700 (RI 1400 – 4500) para clase I y 1900 (RI 1300 - 2500) para Clase II frente a 6300 (RI 2900 – 12000) para clase I y 4900 (RI 200 - 1400) para Clase II en los pacientes que teniendo ADE previos no los negativizaron en el postrasplante, ($p=0,004$ y $p=0,002$, respectivamente).

Los pacientes con ADE>1500 pretrasplante que negativizaron los ADE en el período postrasplante presentaron una mejor supervivencia del injerto a los 5 (94% vs 85%) y 10 años (74% vs 68%), $p=0,034$, que los que no lo hicieron. Figura 33. No había diferencias entre estos dos grupos con respecto a suspensión de prednisona (44% vs 33%, $p=0,506$) o suspensión de micofenolato mofetilo (50% vs 17%, $p=0,171$) en algún momento de la evolución postrasplante. La supervivencia del paciente a los 10 años fue del 92% para los pacientes que negativizaron ADE y de 68% en los pacientes que no los habían negativizado, $p=0,167$. Figura 34.

5.1.2.10 ADE “de novo”

Entre los 236 pacientes sin ADE con muestras disponibles postrasplante, 13 (5,5%) presentaron ADE postrasplante “de novo”. Se realizó un análisis comparativo entre éstos y los 223 pacientes sin ADE tanto en las muestras pre como postrasplante. Tabla 33. No existían diferencias en cuanto a la edad del receptor, sexo, tiempo previo en diálisis, número de compatibilidades HLA, disfunción inicial del injerto o rechazo agudo. Existió un mayor porcentaje de RAH entre los pacientes con ADE postrasplante (15% vs 3%, $p=0,066$).

La supervivencia del injerto a 10 años en los pacientes con ADE “de novo” fue de 76% frente al 90,7% de los pacientes sin ADE, ($p=0,121$) Figura 35. Al censurar por la muerte del paciente, la supervivencia del injerto a 10 años fue de 77% vs 94%, respectivamente ($p=0,022$). Figura 36. No existían diferencias en cuanto a la supervivencia del paciente.

5.1.2.11 Análisis de la sensibilización HLA de baja intensidad

Entre los treinta y cinco pacientes con ADE > 1500 MFI, once de ellos presentaban tasas de MFI por debajo de 3000 o sea, entre 1500 y 3000 MFI, lo que denominamos como sensibilización de “baja intensidad”. Se realizó un análisis comparativo entre éstos y los pacientes sin ADE. En nueve (82%) de los once pacientes la sensibilización era exclusivamente detectada por tecnología Luminex. Las características epidemiológicas se muestran en la tabla 34, los pacientes con ADE siguen siendo en su mayoría mujeres, pero ya no se encuentran diferencias en cuanto a transfusiones o retrasplante. Sólo 5 (45%) pacientes con ADE de baja intensidad fueron biopsiados, todos presentaban una biopsia precoz y 2 (18%) pacientes también se biopsiaron de forma tardía. Entre los 285 pacientes sin ADE, 148 (52%) fueron biopsiados, 92 (32%) pacientes de forma precoz y 77 (27%) de forma tardía. Al comparar los resultados de las biopsias realizadas en los dos grupos, observamos que el diagnóstico de RH (tanto agudo como crónico) no era diferente entre ambos, un (9%) paciente con ADE de baja intensidad vs 10 (3,5%) pacientes sin ADE, lo presentaron ($p=0,341$). Tampoco había diferencias en otros diagnósticos como RAC (dos (40%) pacientes con ADE vs 43 (29%) sin ADE, $p=0,461$) o FRI (dos (40%) pacientes con ADE vs 55 (37%) sin ADE, $p=0,617$). Además se realizó el diagnóstico de recurrencia de glomerulonefritis de base en un paciente, SUH en dos pacientes, IFTA en cinco pacientes, todos ellos sin ADE. En el análisis por compartimientos de las biopsias precoces se observaba un mayor porcentaje de glomerulitis ($g>0$: 100% vs 13% $p=0,000$), capilaritis peritubular ($ptc>0$: 80% vs 34%, $p=0,062$) y arteritis ($v>0$: 60% vs 19%, $p=0,052$) en los

pacientes con ADE de “baja intensidad” vs los pacientes sin ADE, sin diferencias en otros compartimientos como tubulitis ($t > 0$: 60% vs 38%, $p = 0,341$) o inflamación intersticial ($i > 0$: 40% vs 51%, $p = 0,930$).

La supervivencia del injerto fue peor en los pacientes con ADE, siendo a los 5 y 10 años del 82% y 54,5% para los pacientes con ADE de baja intensidad y del 88% y 79% en los pacientes sin ADE, respectivamente ($p = 0,015$). Figura 37. Sin embargo, al censurar por la muerte del receptor, esta diferencia dejaba de ser estadísticamente significativa, siendo la supervivencia del injerto a los 10 años del 62% en los pacientes con ADE y del 83% en los que no tenían ADE ($p = 0,383$). Figura 38. En cuanto a las causas de pérdida del injerto no existían diferencias significativas entre ambos grupos. Tabla 35. El diagnóstico clínico de pérdida del injerto por rechazo crónico estuvo presente en dos (18,2%) vs 33 (11,6%) pacientes con y sin ADE, respectivamente, $p = 0,143$. Cinco (45%) pacientes con ADE de baja intensidad fueron exitus con injerto funcionante. La supervivencia del paciente fue peor en los pacientes con ADE de baja intensidad, tanto a los 5 (90% vs 95%) como a los 10 años (64% vs 92%) comparada con los pacientes sin ADE ($p < 0,001$). Figura 39. Las causas de muerte del receptor se muestran en la tabla 36.

5.1.2.12 Análisis de la sensibilización HLA exclusiva por Luminex

Veintiún pacientes (6,5%) presentaron ADE > 1500 MFI exclusivos mediante Luminex, de estos nueve (43%) casos eran ADE de “baja intensidad”. Se descartó del análisis a 22 pacientes diagnosticados de pre-sensibilización HLA, 20 mediante la técnica de LCT y 2 mediante ELISA. Se realizó un análisis comparativo entre los pacientes con ADE exclusivos y aquellos sin ADE, ambos grupos presentaron una mediana de seguimiento similar (107 meses, RI 58-171 en los sensibilizados y 129 meses RI 102-165 en los pacientes sin ADE, $p = 0,314$). Los receptores con ADE exclusivos por Luminex eran más mayores (58 años, RI 56 - 65 vs 51 años, RI 40- 60, $p = 0,007$), con mayor porcentaje de mujeres (86% vs 38%, $p = 0,005$), infección por VHC previa al trasplante (19% vs 3%, $p = 0,007$), transfusiones (67% vs 40%, $p = 0,011$) y retrasplantes (24% vs 2,2%, $p = 0,000$). El tiempo previo en diálisis no fue diferente entre ambos grupos, siendo la mediana de 35,8 (RI 21-53) meses en los pacientes con ADE y de 30,8 (RI 20-48) meses en los pacientes sin ADE ($p = 0,354$); tampoco había diferencias significativas en las cifras de creatinina y proteinuria al año y a los 3 años postrasplante (Tabla 37). Nueve (43%) pacientes con ADE exclusivos fueron biopsiados, todos éstos presentaban una biopsia precoz. Entre los pacientes sin ADE se biopsiaron 144 (52%), tratándose en 90 (32%) pacientes de una biopsia precoz.

No había diferencias significativas en el número de biopsias realizadas entre los grupos.

Al comparar los diagnósticos de las biopsias en los dos grupos, el rechazo humoral diagnosticado en cualquier momento del seguimiento estuvo presente en cinco (23,8%) de los pacientes con ADE exclusivos y en diez (3,6%) pacientes no sensibilizados ($p < 0,001$). No había diferencias con respecto a otros diagnósticos como RAC (5 (24%) pacientes con ADE vs 43 (16%) sin ADE, $p = 0,319$) o NTA en 5 (24%) pacientes con ADE y 52 (19%) sin ADE, $p = 0,571$.

En el análisis por compartimientos de las biopsias precoces, se observó un mayor porcentaje de glomerulitis ($g > 0$, 56% vs 13% $p = 0,000$), capilaritis peritubular ($ptc > 0$, 66,7% vs 13,2%, $p = 0,029$) y arteritis ($v > 0$, 44% vs 19%, $p = 0,133$) en los pacientes con ADE exclusivos comparado con los pacientes sin ADE, sin diferencias en otros compartimientos como tubulitis ($t > 0$, 66% vs 38%, $p = 0,564$) o inflamación intersticial ($i > 0$, 55% vs 58%, $p = 0,743$). Cuatro (19%) pacientes con ADE “exclusivos” presentaban una biopsia tardía frente a 75 (27%) de los pacientes no sensibilizados ($p = 0,422$). Entre los pacientes con ADE, dos (9,5%) fueron diagnosticados de RCH y dos (9,5%) de IFTA. Entre los pacientes sin ADE, 21 (27%) se diagnosticó de RAC, cinco (6 %) de RAH, siete (9%) de recurrencia de glomerulonefritis de base, 51 (67%) de IFTA y once (14%) pacientes presentaron RCH.

La supervivencia del injerto fue significativamente peor en los pacientes con ADE exclusivos: 81% vs 91% a los tres años, 71% vs 89% a los cinco años y 52% vs 79% a los diez años, respectivamente ($p = 0,006$). Figura 40. Al censurar por la muerte del receptor la supervivencia del injerto fue de 80% vs 94% a los tres años, 73% vs 92% a los cinco años y 67% vs 84% a los diez años, para los pacientes con ADE “exclusivos” y sin ADE, respectivamente ($p = 0,067$). Figura 41. En el análisis de riesgos proporcionales de Cox para valorar el impacto de los ADE “exclusivos” sobre el fracaso del injerto, que incluyó en su modelo máximo variables categóricas como la presencia de ADE “exclusivos”, la edad del receptor mayor o igual a 60 años y la creatinina mayor o igual a 1,5 mg/dl al año del trasplante, observamos que las tres variables presentaban un impacto negativo sobre la evolución del injerto (ADE: HR 2,26, IC 95% 1,19-4,30, $p = 0,012$; edad del receptor: HR 2,67, IC 95% 1,64-4,33, $p < 0,001$; y creatinina: HR 3,4, IC 95% 1,92-5,95, $p < 0,001$). Sin embargo en un modelo estimativo, ajustado por la edad del receptor mayor o igual a 60 años, la presencia de ADE “exclusivos” perdía relevancia como factor de riesgo para la pérdida del injerto (HR 1,65, IC 95% 0,88-3,08, $p = 0,112$). Al analizar la supervivencia del injerto a 10 años, según la edad del receptor, observamos que ésta no era diferente entre

ambos grupos cuando los receptores tenían una edad igual o superior a los 60 años (ADE 38% vs no ADE 49%, $p=0,516$). Sin embargo, cuando los receptores tenían una edad inferior a los 60 años, la supervivencia era significativamente peor en el grupo de ADE (ADE 64% vs no ADE 86%, $p=0,041$). Figura 42.

Las causas de pérdida del injerto se muestran en la tabla 38. Existió una mayor frecuencia de pérdidas por diagnóstico clínico de rechazo crónico (6 (28%) vs 32 (11,6%)) y pérdidas debidas a exitus (6 (28%) vs 26 (9,4%)) en los pacientes sensibilizados ($p=0,062$). La supervivencia del paciente fue peor en los pacientes con ADE exclusivos, a los 5 (94% vs 96%) y 10 años (76% vs 92%), $p=0,004$. Figura 43. Las causas de muerte del receptor se muestran en la tabla 39 .

5.1.2.13 Resumen

La presencia de ADE>1500 MFI se relacionó con el sexo femenino, número de transfusiones, retrasplantes, VCH+ y mayor tiempo en diálisis del receptor. Se asoció así mismo con el uso de tacrolimus de inicio y con el uso de terapia de inducción con timoglobulina. Más de la mitad de los pacientes con ADE>1500 MFI no fueron identificados mediante la técnica clásica de LCT y todos menos uno de los pacientes que se trasplantaron con PC3 positiva por LCT tenían ADE>1500 MFI. No se demostró relación entre la presencia de ADE>1500 MFI y las características del donante. Más de la mitad de los pacientes con ADE>1500 MFI analizados, negativizaron estos AC en el período postrasplante y fueron los que presentaron mejor supervivencia del injerto. Los pacientes con ADE>1500 MFI se biopsiaron con mayor frecuencia durante el seguimiento. Los diagnósticos de RAH y RCH fueron más prevalentes en este grupo, así mismo fueron más frecuentes las lesiones de glomeurilitis, capilaritis y presencia de dobles contornos de las asas capilares periféricas en estos pacientes. El RAH se asoció a niveles más altos de MFI. No se demostró relación entre la presencia de ADE>1500 MFI y parámetros de función renal como las cifras de creatinina sérica o proteinuria durante el seguimiento postrasplante. La presencia de ADE>1500 MFI pretrasplante se acompañó de peor supervivencia del injerto renal caracterizándose como un factor de riesgo independiente para el diagnóstico de RAH y de fracaso del injerto. La supervivencia del injerto fue peor en los pacientes con ADE de Clase II y aquellos con títulos de MFI más altos (>3000 MFI). Las curvas de supervivencia del receptor se separaban a partir de los 6 años postrasplante, siendo peores en los pacientes con ADE>1500 MFI. En cuanto a los ADE detectados exclusivamente por Luminex, se observó que los niveles de éstos no presentaban correlación con la

positividad de la PC. Los ADE exclusivos y los ADE de “baja intensidad” se asociaron con peores resultados en la supervivencia del injerto, aunque este resultado dejaba de ser significativo al censurar por la muerte del receptor.

5.1.2.14 Tablas y Figuras

Tabla 16. Características demográficas de los receptores de la serie retrospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante (n=35) y los pacientes sin ADE (285).

	ADE (n=35) x ± DS, n (%)	No ADE (n=285) x ± DS, n (%)	P
Edad (años)	50,9 ± 13,7	48,9 ± 12,7	0,412
Sexo (varón)	10 (26,5)	176 (61,8)	0,000
HTA	32 (94,1)	246 (89,1)	0,282
Diabetes Mellitus previa	3 (8,8)	13 (4,7)	0,253
VHC+	8 (23,5)	11 (4)	0,000
VHB+	0 (0)	5 (1,8)	0,567
Tipo de diálisis			0,282
Hemodiálisis	32 (91,2)	245 (85,7)	
Diálisis peritoneal	3 (14,3)	40 (8,8)	
Meses en diálisis	86,4 ± 83,3	39,6 ± 30	0,002
Transfundido	26 (76,5)	105 (40,1)	0,000
Nº de Transfusiones	8,3 ± 6	4,3 ± 5	0,001
Retrasplante	13 (35,3)	7 (2,5)	0,000
Nº de trasplantes previos (1º/2º/3º)	22/9/4 (64,7/23,5/11,8)	278/6/1 (97,5/2,1/0,4)	0,001
Nº incompatibilidades HLA	3,4 ± 0,8	3,4 ± 1	0,731
Nº compatibilidades HLA	2,2 ± 0,7	2,2 ± 0,9	0,832
Nº incompatibilidad DR (0/1/2)	2/30/3 (6/88/6)	24/191/51 (9/71/19)	0,271
Grupo Sanguíneo (A/B/O/AB)	18/3/12/2 (50/8,8/35,3/5,9)	118/30/122/13 (41,6/10,8/43/4,7)	0,769

*ADE: Anticuerpos donante específicos, HTA: hipertensión arterial, VHC+: serología positiva para hepatitis C, VHB+: serología positiva para hepatitis B.

Tabla 17. Características demográficas de los donantes en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante (n=35) y los pacientes sin ADE (285).

	ADE (35) x±DS, n(%)	No ADE (285) x±DS, n(%)	P
Edad (años)	45,97 ± 19	48,86 ± 17	0,351
Donantes con criterios expandidos	9 (25,7)	85 (29,8)	0,387
Sexo (Varón)	14 (40)	161 (56,5)	0,048
Causa muerte:			
TCE	11 (31,4)	88 (31)	0,954
Accidente cerebrovascular	22 (62,9)	177 (62,3)	0,554
Otras	2 (5,7)	19 (6,7)	0,628
Diabetes mellitus	18 (7,1)	2 (7,1)	0,616
Hipertensión arterial	7 (21,2)	75 (27,4)	0,299
Creatinina sérica (mg/dl)	1,02±0,85	0,96±0,41	0,661
Tiempo isquemia fría (horas)	19,8±4,1	19,4±6,6	0,721
Tiempo de sutura vascular (minutos)	50,1±16,1	47,0±18,4	0,489

*TCE: traumatismo craneo encefálico.

Tabla 18. Análisis multivariante de los factores de riesgo asociados a la presencia de ADE > 1500 MFI en los receptores de la serie retrospectiva.

	Significación	Exp (B)	IC del 95% Inferior-Superior
Edad receptor ≥ 60 años	0,123	2,05	0,82-5,14
Sexo (femenino)	0,000	8,21	2,71-24,8
Retrasplante	0,000	29,5	7,64-113,92
Transfusiones	0,072	2,35	0,98-5,99

Variables incluidas:

Edad del receptor ≥ (si vs no), Sexo (femenino vs masculino), Retrasplante (si vs no), Transfusiones (si vs no).

Tabla 19. Características de la sensibilización HLA medida por Luminex en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante (n=35) y los pacientes con AC anti-HLA no ADE (n=20)

	ADE (n=35) n (%), X (RI)	AC no ADE (n=20) n (%), X (RI)	P
Clase I	27 (77)	13 (65)	0,253
Clase II	24 (68)	10 (50)	0,141
Ambas clases	17 (48,6)	4 (20)	0,033
Clase I sensibilidad single	15 (RI: 9-34)	18 (RI: 6,5-26)	0,272
Clase II sensibilidad single	22 (RI:13-30)	19 (RI: 7,7-36,5)	0,208

Tabla 20. Tratamiento inmunosupresor inicial en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante (n=35) y los pacientes sin ADE (285).

	ADE (35) n (%)	No ADE (285) n (%)	P
Ciclosporina microemulsionada	11 (31,4)	150 (52,6)	0,014
Tacrolimus	24 (68,6)	127 (44,6)	0,006
MMF/MMS	35 (100)	250 (87,7)	0,014
Sirolimus	0 (0)	8 (2,5)	0,134
Sin inducción	23 (67,6)	184 (64,6)	0,673
Anti-CD25	2 (5,9)	42 (14,7)	0,120
Timoglobulina	16 (45,7)	58 (20,4)	0,001
OKT3	2 (5,7)	3 (1,1)	0,094
ATGAM	5 (18,5)	12 (12,8)	0,317

*MMF: Micofenolato mofetil, MMS: Micofenolato sódico, Anti-CD25: anticuerpos antiCD25, OKT3: anticuerpo monoclonal dirigido contra el receptor CD3 de las células T, ATGAM: inmunoglobulina antitímocítica de origen equino.

Tabla 21. Evolución del trasplante en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante (n=35) y los pacientes sin ADE (285).

	ADE (35) x (RI), n (%)	NO ADE (285) x (RI), n (%)	P
FRI	16 (45,7)	99 (34,9)	0,141
Días de recuperación FRI	10 (8-16)	14 (10-19)	0,260
Rechazo agudo	11 (31,4)	61 (21,5)	0,134
Creatinina \geq 1,5mg/dl	20 (58,8)	155 (57,2)	0,504
Proteinuria \geq 0,5g/24h	5 (15,2)	33 (12,2)	0,397
Cambio de inmunosupresión			
No cambio	25 (71,4)	187 (65,8)	0,202
A Tacrolimus	9 (25,7)	49 (17,3)	0,202
A Inhibidor m-Tor	1 (2,9)	37 (13)	0,202
A Ciclosporina	0 (0)	11 (3,9)	0,202

*FRI: función retrasada del injerto, Proteinuria \geq 0,5g/24h a los 12 meses. Creatinina \geq 1,5mg/dl a los 12 meses postrasplante.

Tabla 22. Eventos adversos postrasplante en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante (n=35) y los pacientes sin ADE (285).

	ADE (35) X \pm DS, n (%)	NO ADE (285) X \pm DS, n (%)	P
Enfermedad por CMV	5 (14,7)	32 (11,7)	0,609
DM postrasplante	5 (17,2)	68 (26,2)	0,208
Patología CV grave:			0,125
-IAM	0	9 (3,6)	
-Cardiopatía isquémica**	0	16 (6,4)	
-ACV	1 (3,7)	3 (1,2)	
Isquemia vascular periférica	1 (3,7)	2 (0,8)	
Reingresos	30 (88,2)	214 (76,4)	0,132
Nº de reingresos	3,46 \pm 2,1	2,82 \pm 2,1	0,152
Neoplasias	6 (17,1)	83 (29,1)	0,095
Meses entre Trasplante y el diagnóstico de neoplasia	75,5 \pm 41,7	71,8 \pm 48,5	0,872

*CMV: Citomegalovirus, DM: diabetes mellitus, IAM: infarto agudo de miocardio, **Cardiopatía isquémica distinta del IAM, ACV: accidente cerebrovascular.

Tabla 23. Revisión retrospectiva de los diagnósticos de las biopsias precoces, análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante (n=21) y los pacientes sin ADE (147).

	ADE (21) n (%)	NO ADE (147) n (%)	P
NTA	9 (42,9)	54 (36,7)	0,377
RAC	7 (33,3)	43 (29,3)	0,799
RAH	6 (33,3)	7 (4,1)	0,000
SUH	1 (4,7)	2 (1,36)	0,128
Recurrencia de GNF de base	0	1 (0,7)	0,957
RCH	0	4 (2,7)	

* NTA: necrosis tubular aguda, RAC: rechazo agudo celular, RAH: rechazo agudo humoral, SUH: síndrome urémico hemolítico, GNF: glomerulonefritis, RCH: rechazo crónico humoral.

Tabla 24. Revisión retrospectiva de los diagnósticos de las biopsias tardías, análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante (n=12) y los pacientes sin ADE (77).

	ADE (12) n (%)	NO ADE (77) n (%)	P
RAC	4 (33)	21 (27,6)	0,461
RAH	1 (8,3)	5 (6,6)	0,597
Recurrencia de GNF de base	3 (25)	7 (9,2)	0,134
IFTA	8 (66,7)	51 (67)	0,607
RCH	5 (41,6)	11 (14,5)	0,038
RCH+ RCH sospechoso	11 (91,6)	11 (14,5)	0,000

* RAC: rechazo agudo celular, RAH: rechazo agudo humoral, SUH: síndrome urémico hemolítico, GNF: glomerulonefritis, IFTA: fibrosis intersticial y atrofia tubular, RCH: rechazo crónico humoral, RCH sospechoso: presencia de IFTA mayor al 25% más ADE.

Tabla 25. Análisis multivariante de los factores de riesgo asociados a la presencia de RAH en cualquier momento de la evolución postrasplante, en la serie retrospectivo.

	Significación	Exp (B)	IC del 95%
Edad receptor \geq 60 años	0,447	1,81	0,38-8,49
ADE>1500	0,005	6,12	2,01-18,59
Retrasplante	0,650	1,57	0,22-11,08

Variables incluidas:

Edad del receptor \geq 60 años (si vs no), presencia de ADE>1500 (si vs no) y Retrasplante (si vs no).

Tabla 26. Análisis multivariante de los factores de riesgo asociados a la presencia de RCH en cualquier momento de la evolución postrasplante, en la serie retrospectiva (n=320).

	Significación	Exp (B)	IC del 95%
Edad receptor \geq 60 años	0,916	1,07	0,30-3,80
ADE>1500	0,916	1,09	0,19-6,27
Retrasplante	0,023	5,10	1,25-20,7
RAH	0,483	0,46	0,05-3,89

Variables incluidas:

Edad del receptor \geq 60 años (si vs no), presencia de ADE>1500 (si vs no), Retrasplante (si vs no) y RAH: Rechazo agudo humoral (si vs no).

Tabla 27. Análisis multivariante de la presencia de ADE como factor de riesgo de pérdida del injerto en la serie retrospectiva.

Situación	Significación	Exp (B)	IC del 95%
ADE 1500-3000 MFI (ambas clases)	0.089	1.88	0.90 - 3.89
ADE >3000 (ambas clases)	0.000	3.18	1.80 - 5.63
ADE Clase I >3000	0.010	2.27	1.21 - 4.25
ADE Clase II >3000	0.010	2.58	1.25 - 5.32

Tabla 28. Causa de fracaso del injerto en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante (n=22) y los pacientes sin ADE (80) (p=0,05).

	ADE (22) n (%)	NO ADE (80) n (%)
Rechazo agudo	2 (0,7)	0
Rechazo crónico	11 (31,4)	33 (11,6)
Complicaciones de la vía urinaria	0	1 (0,4)
Riñón no viable	1 (2,9)	5 (1,8)
Recidiva de enfermedad de base	1 (2,9)	6 (2,1)
BKN	1 (2,9)	1 (0,4)
Exitus	8 (22,9)	27 (9,5)
Otras	0	5 (6,2)
Injerto funcionante	13 (37,1)	203 (71,5)

* BKN: nefropatía por virus BK.

Tabla 29. Características pre y postrasplante de los pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante en la serie retrospectiva.

Nº	Edad Recep	Sexo	Meses en diálisis	Retx	Clase ADE	MFI Clase I Máx	MFI Clase II Máx	Tipo ADE	PCLB histórico	ADE POST	Nº Bx	RH	Meses Postx	Injerto funciona	Causa fracaso injerto
1	71	F	50		Ambas	717	1500		-	No	0		161	Si	-
2	70	F	55		Ambas	500	3000	Clase I+ DQ	-	Si	0		107	Si	-
3	69	F	190		I	8300		A	positivo	No	0		118	No	Exitus
4	65	F	48		II		1730	DQ	-		1		78	No	Exitus
5	65	M	31		I	1600		A	-	Si	0		60	No	Exitus
6	64	F	17		I	11800		B	-		2	SI	57	No	DCI
7	64	F	35	Si	I	7500			-		2	SI	119	No	DCI
8	64	F	23		II		3550		-		0		35	No	Exitus
9	64	F	165	Si	I	18500		A	-	Si	1	SI	128	No	Exitus
10	63	F	75		I	2400		B	-		0		205	No	Exitus
11	62	M	51	Si	II		23500	DR	-		2	SI	19	No	DCI
12	61	F	19		I	1670		B	-		1	SI	152	Si	-
13	58	F	17		II		2370	DR	-		4		30	No	DCI
14	58	F	39		Ambas	21500	8000	Clase I+ DR	-		2	SI	29	No	DCI
15	56	F	67		II		2500	DR	-	No	2		129	Si	-
16	56	M	296	Si	I	1550		A	-		0		94	No	Exitus
17	56	F	73		I	1470		B	-		1		78	No	Exitus
18	56	F	245		Ambas	10000	4700	Clase I+ DR	-		0		185	Si	-
19	53	F	5		II		15240	DQ	-	Si	0		171	No	DCI

Nº	Edad Recep	Sexo	Meses en diálisis	Retx	Clase ADE	MFI Clase I Máx	MFI Clase II Máx	Tipo ADE	PCLB histórico	ADE POST	Nº Bx	RH	Meses postx	Injerto funciona	Causa fracaso injerto
20	52	F	28		Ambas	2850	1240		-	No	0		103	Si	-
21	51	F	10		II		10200	DQ	-	No	0		186	Si	-
22	51	F	30		I	3700		A	-		0		171	Si	-
23	45	M	131	Si	I	6780		A	positivo		4		0	No	No viable
24	42	M	158	Si	I	5780		A	-	No	3	SI	24	No	GNBK
25	40	F	25		II		1500	DR	-	No	2		122	No	RC
26	39	M	20		II		4900	DR+DQ	-	No	2	SI	108	No	GNR
27	38	M	30	Si	I	3040		B	-	No	0		199	Si	-
28	35	M	307	Si	Ambas	3170	14700	Clase I+ DQ	-	No	1		114	SI	-
29	33	M	235	Si	Ambas	3460	15800		-	Si	2		150	No	DCI
30	33	F	57	Si	I	14300		A	positivo	Si	2	SI	131	No	DCI
31	33	F	61		I	3900			-		1	SI	167	Si	-
32	31	F	115		Ambas	4300	10100		-		2		15	No	DCI
33	31	M	40	Si	I	6400		A	-		0		177	Si	-
34	29	F	101	Si	Ambas	16080	13060	Clase I+ DR	-	Si	2		136	No	DCI
35	25	F	161	Si	I	12100		A	-	No	1		95	Si	-

* Recep: receptor, Retx: retrasplante, ADE: anticuerpo donante específico, PCLB histórico: Prueba cruzada con linfocitos B histórica, ADE pos: Ade presentes en las muestras postrasplante, Nº Bx: número de biopsia, RH: rechazo humoral, Meses postx: meses postrasplante, GNF: glomerulonefritis

Tabla 30. Características demográficas de los pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante de la fase retrospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE con injerto funcionante (n=13) y los pacientes con ADE con injerto no funcionante (n=22) al final del seguimiento.

	ADE funcionantes (13) X (RI), n (%)	ADE no funcionantes (22) X (RI), n (%)	P
Edad donante (años)	48 (17-57)	52 (32-65)	0,273
Edad receptor (años)	51 (34-58)	57 (39-64)	0,225
Sexo receptor (varón)	3 (23)	7 (31,8)	0,440
VHC+	3 (23,1)	5 (23,8)	0,648
Meses en diálisis	50,4 (29-114)	54,4 (25-138)	0,897
Retrasplante	4 (30,8)	9 (40,9)	0,409
MFI ADE clase I	3180 (1670-6480)	6888 (2400-14000)	0,111
MFI ADE clase II	2750 (1250-8800)	8000 (2370-15200)	0,170
Linfocitotoxicidad pretrasplante +	38,5 (5)	45,5 (10)	0,482

*VHC+: anticuerpos positivos contra el virus de la hepatitis C.

Tabla 31. Características evolutivas de los pacientes con ADE >1500 MFI pretrasplante, análisis comparativo entre los pacientes con ADE con injerto funcionante (n=13) y los pacientes con ADE con injerto no funcionante (n=22) al final del seguimiento.

	ADE funcionantes (13) n (%)	ADE no funcionantes (22) n (%)	p
Creat \geq 1,5 mg/dl	7 (53,8)	13 (61,9)	0,643
Prot >0.5g/24hs	0	5 (22,7)	0,065
RHA	2 (15,4)	5 (22,7)	0,475
RHC	0	4 (18)	0,140
Negativización de ADE postrasplante	5 (38)	2 (9)	0,050

*Creat \geq 1,5 mg/dl: creatinina mayor o igual a 1,5 mg/dl al año del trasplante, Prot >0.5g/24hs: proteinuria mayor o igual a 0,5 g/24 hs al año del trasplante, RHA: rechazo agudo humoral, RHC: rechazo crónico humoral.

Tabla 32. Causa de muerte del receptor en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante (n=35) y los pacientes sin ADE (285) (p=0,345).

	ADE (35) n (%)	No ADE (285) n (%)
Vivo	27 (77,1)	256 (90,1)
Tumoral	2 (5,7)	12 (4,2)
Causa infecciosa	1 (2,9)	4 (1,4)
Causa cardíaca	1 (2,9)	6 (2,1)
Causa vascular	1 (2,9)	1 (0,4)
Causa hepática	1 (2,9)	2 (0,7)
Causa digestiva	0 (0)	1 (0,4)
Otras	2 (5,7)	2 (0,7)

Tabla 33. Características demográficas de los receptores en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500 MFI “de novo” postrasplante (n=13) y los pacientes sin ADE pretrasplante o postrasplante (223).

	ADE “de novo” (13) n (%), x (RI)	No ADE (223) n (%), x (RI)	P
Edad (años)	43 (33-62)	50 (40-68)	0,134
Sexo (varón)	9 (70)	135 (61)	0,545
Hemodiálisis previa	10 (77)	187 (84)	
Meses en diálisis	24 (18-39)	32 (19-49)	0,488
Retrasplante	0 (0)	7 (3)	0,537
Nº incompatibilidades HLA	4 (3-4)	3 (3-4)	0,379
Nº compatibilidades HLA	2 (1,5-2,5)	2 (2-3)	0,199
Biopsia postrasplante (sí)	7 (54)	106 (48)	0,899
FRI	2 (15)	74 (33)	0,149
Rechazo agudo	5 (38)	48 (22)	0,143
RAH	2 (15)	6 (2,7)	0,066
RCH	1 (8)	19 (9)	0,913

*ADE “de novo”: Anticuerpos donante específico de nueva aparición postrasplante, FRI: disfunción inicial del injerto, RAH: rechazo agudo humoral en cualquier momento postrasplante, RCH: rechazo crónico humoral en cualquier momento postrasplante.

Tabla 34. Características demográficas de los receptores en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE entre 1500-3000 MFI pretrasplante (n=11) y los pacientes sin ADE pretrasplante (285).

	ADE 1500-3000 (11) n (%), x (RI)	No ADE (285) n (%), x (RI)	P
Edad (años)	58 (56-65)	51 (40-60)	0,015
Sexo (varón)	2 (18,2)	176 (61,8)	0,005
VHC+	0 (0)	11 (4)	0,501
Hemodiálisis	10 (91)	245 (86)	0,534
Meses en diálisis	48 (25-73)	32 (20-49)	0,287
Transfundido	6 (54,5)	105 (40,1)	0,257
Nº de Transfusiones	4 (3-13)	2 (2-5)	0,221
Retrasplante	1 (9)	7 (2,5)	0,264
Nº incompatibilidades HLA	1 (1-1)	3 (3-4)	0,277
Nº compatibilidades HLA	2 (1-3)	2 (2-3)	0,384
1 incompatibilidad DR	11 (100)	191 (72)	0,119

ADE: Anticuerpos donante específico, VHC+: anticuerpos positivos contra el virus de la hepatitis C.

Tabla 35. Causa de fracaso del injerto, análisis comparativo entre los pacientes con ADE entre 1500-3000 MFI pretrasplante (n=11) y los pacientes sin ADE pretrasplante (285) (p=0,043).

	ADE 1500-3000 (11) n (%), x (RI)	No ADE (285) n (%), x (RI)
Rechazo agudo	0 (0)	2 (0,7)
Rechazo crónico	2 (18,2)	33 (11,6)
Complicaciones de la vía urinaria	0 (0)	1 (0,4)
Riñón no viable	0 (0)	5 (1,8)
Exitus	5 (45,5)	27 (9,5)
Recidiva de GNF de base	0 (0)	6 (2,1)
BKN	0 (0)	2 (0,7)
Otras	0 (0)	5 (1,8)
Injerto funcionante	4 (36,4)	204 (71,5)

*GNF: glomerulonefritis, BKN: nefropatía por virus BK.

Tabla 36. Causa de muerte del receptor en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE entre 1500-3000 MFI pretrasplante (n=11) y los pacientes sin ADE pretrasplante (285) (p<0,001).

	ADE 1500-3000 (11) n (%)	No ADE (285) n (%)
Vivo	6 (54,5)	258 (90,1)
Causa infecciosa	0 (0)	4 (1,4)
Causa cardíaca	1 (9,1)	6 (2,1)
Causa vascular	0 (0)	1 (0,4)
Tumoral	2 (18,2)	12 (4,2)
Causa hepática	0 (0)	2 (0,7)
Causa digestiva	1 (9,1)	0 (0)
Otras	2 (18,2)	2 (0,7)

Tabla 37. Características demográficas de los receptores, análisis comparativo entre los pacientes con ADE “exclusivos” pretrasplante (n=21) y los pacientes sin ADE pretrasplante (285).

	ADE “exclusivos” (21) n (%), x (RI)	No ADE (285) n (%), x (RI)	P
Edad (años)	58 (56-65)	51 (40-60)	0,007
Sexo (varón)	5 (24)	174 (62)	0,005
VHC+	4 (19)	8 (3)	0,007
Hemodiálisis previa	18 (86)	245 (86)	0,534
Meses en diálisis	35,8 (21-53)	30,8 (20-48)	0,354
Transfundido	14 (67)	105 (40,1)	0,011
Nº de Transfusiones	4 (2-13)	2 (2-4)	0,064
Retrasplante	6 (24)	6 (2,2)	0,000
Nº incompatibilidades HLA	4 (3-4,5)	3 (3-4)	0,201
Nº compatibilidades HLA	2 (1-3)	2 (2-3)	0,606
1 incompatibilidad DR	20 (95)	186 (72)	0,220
Biopsia postrasplante (si)	9 (43)	144 (52)	0,642
NTA en biopsia precoz	5 (24)	52 (19)	0,571
RAH en cualquier biopsia	5 (23,8)	10 (3,6)	0,000
Creatinina 1º año	1,5 (1,1-2,2)	1,5 (1,3-2)	0,719
Creatinina 3º año	1,3 (1,1-1,8)	1,6 (1,3-2)	0,126
Proteinuria 1º año	0,0 (0-0,31)	0,0 (0-0,28)	0,704
Proteinuria 3º año	0,04 (0-0,41)	0,07 (0-0,22)	0,208

*ADE “exclusivos”: Anticuerpos donante específico solo detectados por Luminex, VHC+: anticuerpos positivos contra el virus de la hepatitis C, NTA: necrosis tubular aguda, RAH: rechazo agudo humoral, Creatinina sérica (mg/dl) al primer y tercer año postrasplante, Proteinuria de 24 horas (gr/24 hs) al primer y tercer año postrasplante.

Tabla 38. Causa de fracaso del injerto en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE “exclusivos” pretrasplante (n=21) y los pacientes sin ADE pretrasplante (285) (p=0,062).

	ADE (21) n (%)	NO ADE (285) n (%)
Rechazo agudo	0	2 (0,7)
Rechazo crónico	6 (28)	32 (11,6)
Complicaciones de la vía	0	1 (0,3)
Riñón no viable	0	5 (1,8)
Recidiva de enfermedad de base	0	5 (1,8)
BKN	0	2 (0,7)
Exitus	6 (28)	26 (9,4)
Otras	0	4 (1,4)
Injerto funcionante	9 (43)	209 (73)

*BKN: nefropatía por virus BK.

Tabla 39. Causa de muerte del receptor, análisis comparativo entre los pacientes con ADE “exclusivos” pretrasplante (n=21) y los pacientes sin ADE pretrasplante (285) (p=0,137).

	ADE exclusivos (21) n (%)	No ADE (285) n (%)
Vivo	15 (71)	258 (90,5)
Causa infecciosa	0 (0)	4 (1)
Causa cardíaca	1 (5)	6 (2)
Causa vascular	0 (0)	1 (0,4)
Tumoral	2 (9)	12 (4,2)
Causa hepática	1 (5)	1 (0,4)
Causa digestiva	0 (0)	1 (0,4)
Otras	2 (9)	2 (0,7)

Figura 22. Valores promedio de creatinina sérica (mg/dl) a lo largo del seguimiento (IC 95% de la media), análisis comparativo entre pacientes con ADE>1500 MFI (n = 35, gris oscuro) vs pacientes sin ADE (n = 285, gris claro), ($p>0,05$).

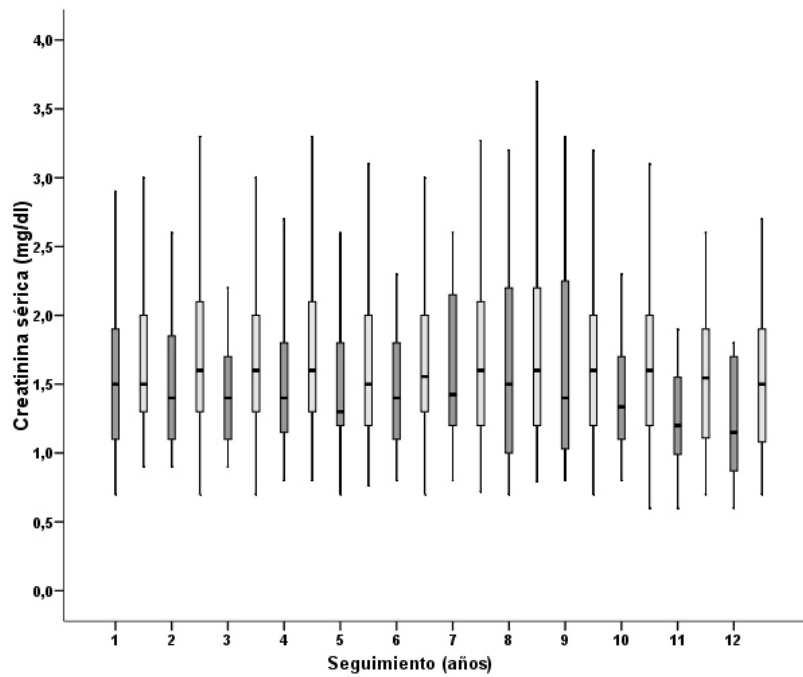


Figura 23. Valores promedio de proteinuria (g/24h) a lo largo del seguimiento (IC 95% de la media), análisis comparativo entre pacientes con ADE>1500 MFI (n = 35, gris oscuro) vs pacientes sin ADE (n = 285, gris claro), ($p>0,05$).

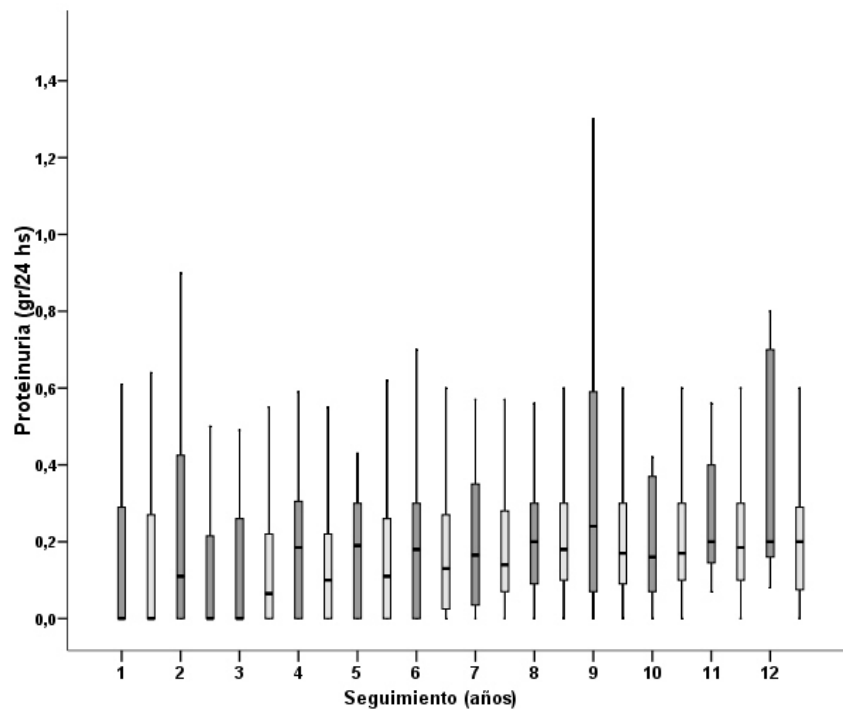
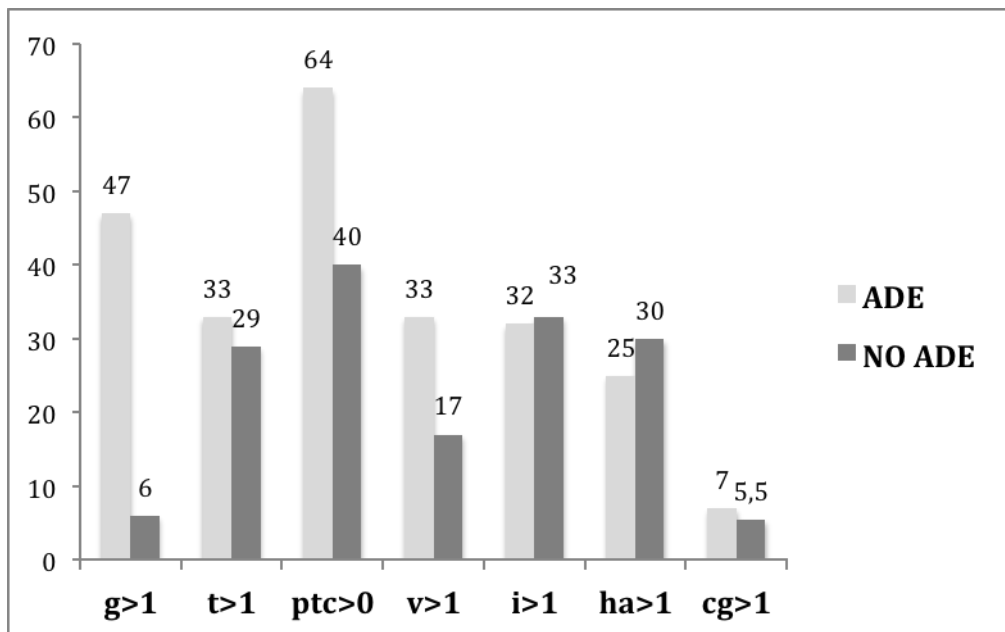


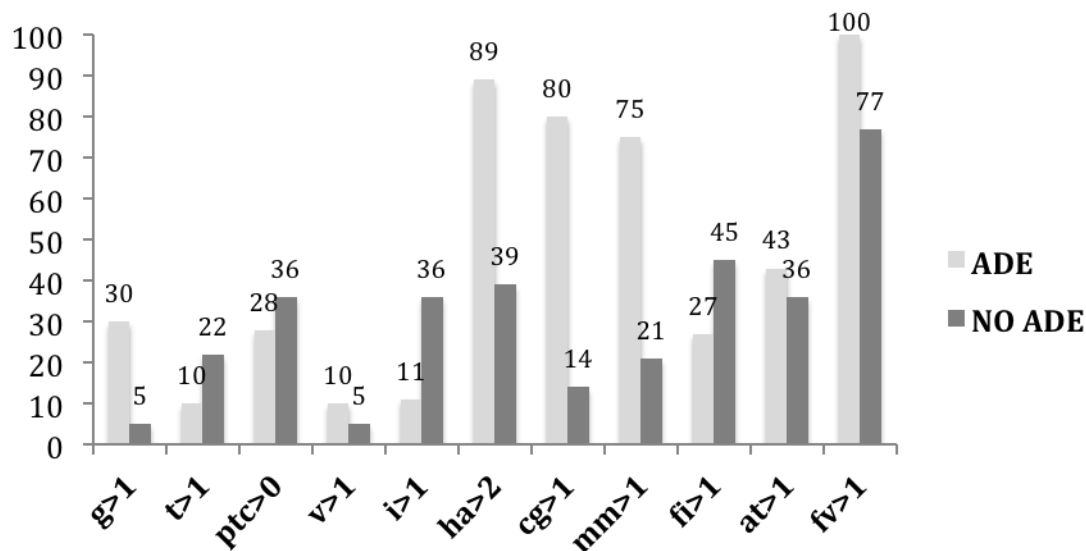
Figura 24. Lesiones por compartimientos histológicos de las biopsias precoces (<6 meses) realizadas en los pacientes incluidos en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre pacientes con ADE>1500 MFI (n = 19) vs pacientes sin ADE (n = 93) (los datos se muestran en porcentajes)



**g>1, p=0,001; t>2, p=0,481; ptc>0, p=0,124; v>1, p=0,385; i>1, p=0,317; ha>1, p=0,617; cg>1, p=0,754.

g>1: glomerulitis presente en 25% o más de los glómerulos, t>1: afectación de los capilares peritubulares mayor al 10% (>5 células por sección tubular), ptc>0: capilaritis en más del 10% de los capilares peritubulares y más de 4 células inflamatorias por capilar, i>1: inflamación intersticial mayor al 25% del parénquima, v>1: arteritis intimal con al menos el 25% de pérdida del área luminal en al menos la sección de una arteria y/o arteritis transmural, ha>1: engrosamiento hialino no circunferencial en más de una arteriola y/o afectación circunferencial, cg>1: presencia de dobles contornos afectando a más del 25% de las asas capilares periféricas en la mayor parte de los glomérulos.

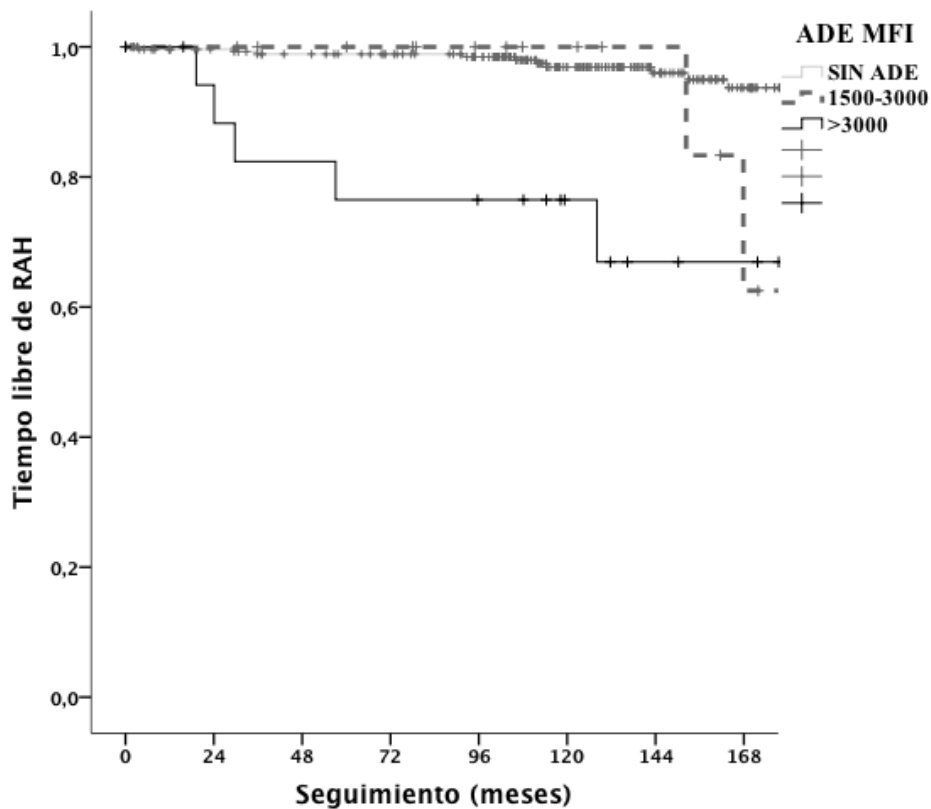
Figura 25. Lesiones histológicas por compartimientos de las biopsias tardías (>6 meses) realizadas en los pacientes de la serie retrospectiva, análisis comparativo entre pacientes con ADE>1500 MFI (n =12) vs pacientes sin ADE (n =77) (los datos se muestran en porcentajes)



**g>1, p=0,039; t>1, p=0,354; ptc>0, p=0,255; v>1, p=0,590; i>2, p=0,06; **ha>2, p=0,006; **cg>2, p=0,001, **mm>1, p=0,005, fi>1, p=0,189, at>1, p=0,539, fv>1, p=0,293.

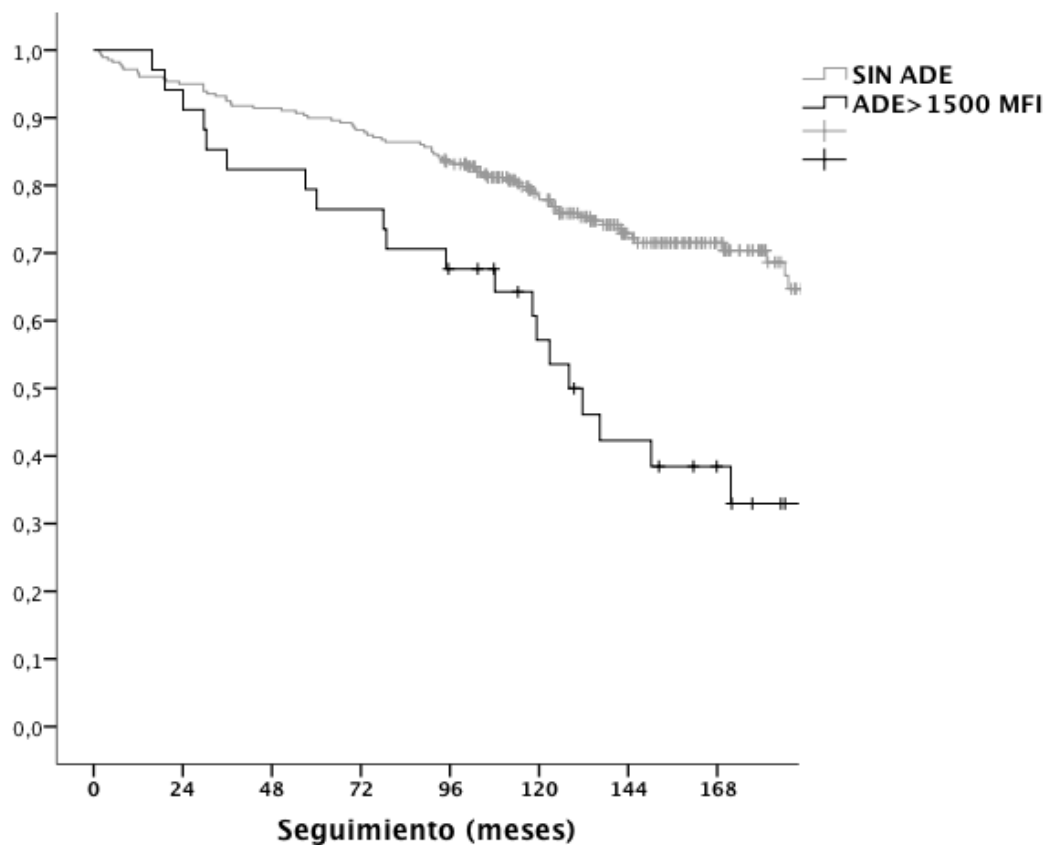
g>1: glomerulitis presente en más del 25% de los glómerulos, t>1: afectación de los capilares peritubulares mayor al 10% (>5 células por sección tubular), ptc>0: capilaritis en más del 10% de los capilares peritubulares y más de 4 células inflamatorias por capilar, i>2: inflamación intersticial mayor al 25% del parénquima, v>1: arteritis intimal con al menos el 25% de pérdida del área luminal en al menos la sección de una arteria y/o arteritis transmural, ha>2: engrosamiento hialino con afectación circunferencial, cg>1 presencia de dobles contornos afectando a más del 25% de las asas capilares periféricas en la mayor parte de los glomérulos, mm>1: aumento de la matriz mesangial en más del 25% de los glomérulos no escleróticos, fi>1: presencia de fibrosis intersticial mayor al 25% del área cortical, at>1: atrofia tubular afectando más del 25% del área cortical de los túbulos, fv>1: presencia de estenosis vascular por engrosamiento fibrointimal de arterias +/- rotura de la elástica.

Figura 26. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del tiempo libre de RAH, análisis comparativo entre pacientes con ADE>3000 MFI (n =19, línea negra) vs pacientes con ADE 1500-3000 MFI (n =16, línea entrecortada) vs pacientes sin ADE (n =285, línea gris) (Log Rank, p < 0,001).



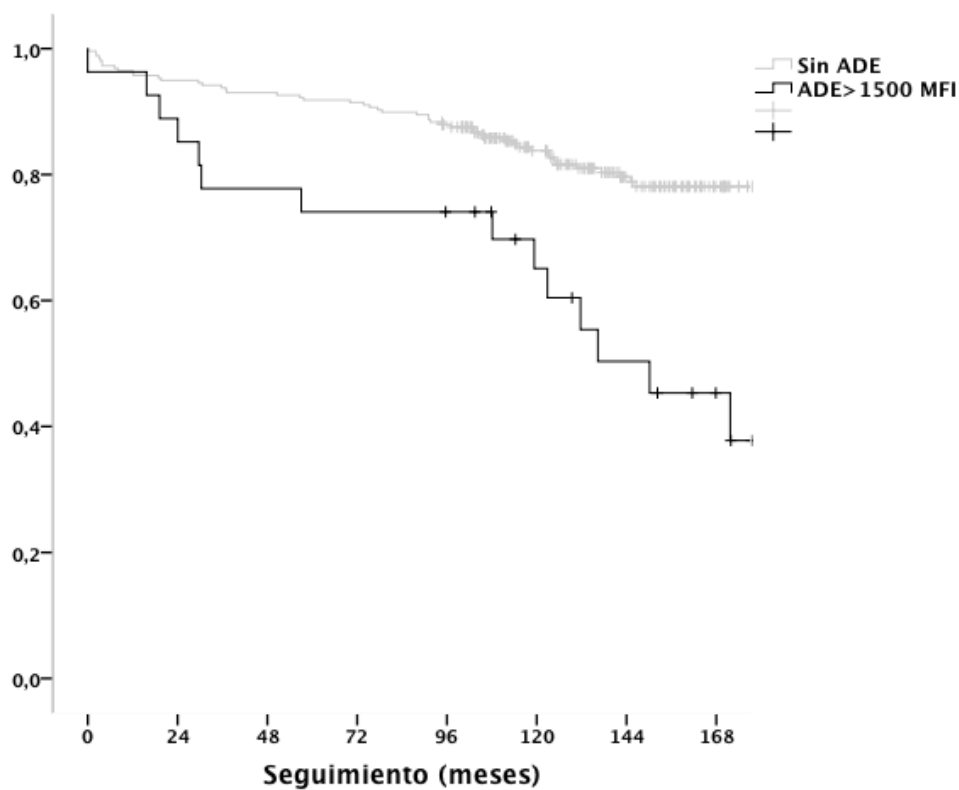
Meses	0	24	48	72	96	120	144	168
SIN ADE	285	284	282	282	281	278	277	275
n (%)	(100)	(99,6)	(98,9)	(98,9)	(98,6)	(97,5)	(97,2)	(96,5)
ADE 1500-3000	16	16	16	16	16	16	16	14
n (%)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(87,5)
ADE >3000	19	17	16	15	15	15	14	14
n (%)	(100)	(89,5)	(84,2)	(78,9)	(78,9)	(78,9)	(73,7)	(73,7)

Figura 27. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto, sin censurar por la muerte del paciente en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre pacientes con ADE>1500 MFI (n=35, línea negra) vs pacientes sin ADE (n=285, línea gris) (Log Rank, p < 0,001).



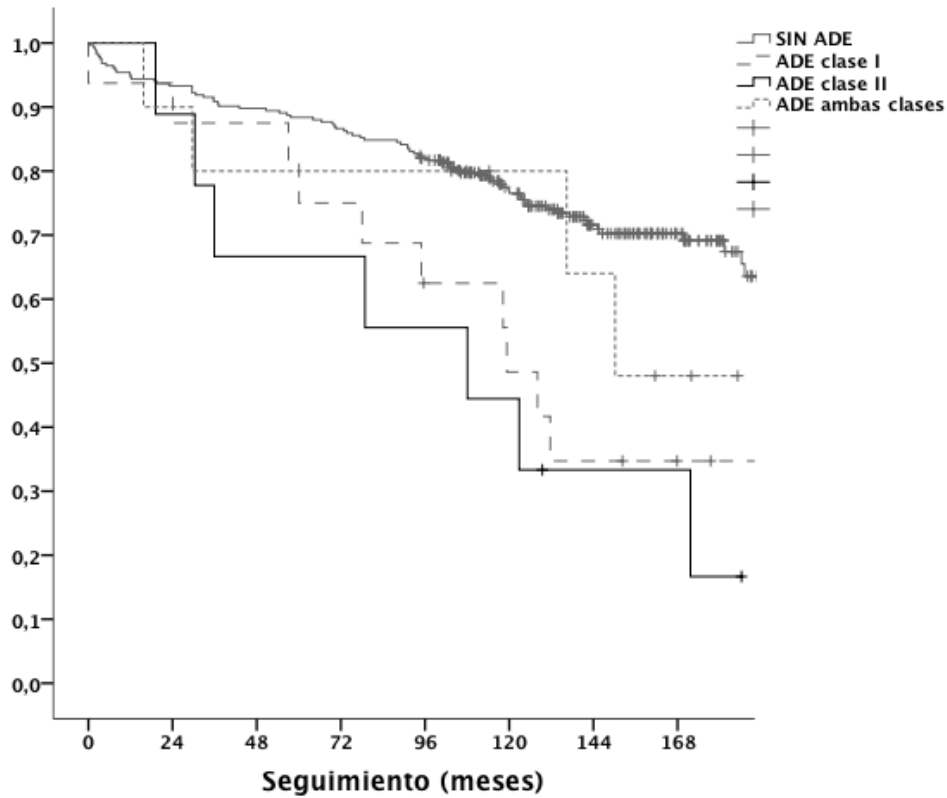
Meses	0	24	48	72	96	120	144	168
SIN ADE	285	271	261	251	239	226	217	215
n (%)	(100)	(95,1)	(91,6)	(88,1)	(83,9)	(79,3)	(76,1)	(75,4)
ADE >1500	35	32	29	27	24	21	17	16
n (%)	(100)	(91,4)	(82,9)	(77,1)	(68,6)	(60,0)	(48,6)	(45,7)

Figura 28. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto, censurando por la muerte del paciente en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre pacientes con ADE>1500 MFI (n=27, línea negra) vs pacientes sin ADE (n=257, línea gris) (Log Rank, p < 0,001).



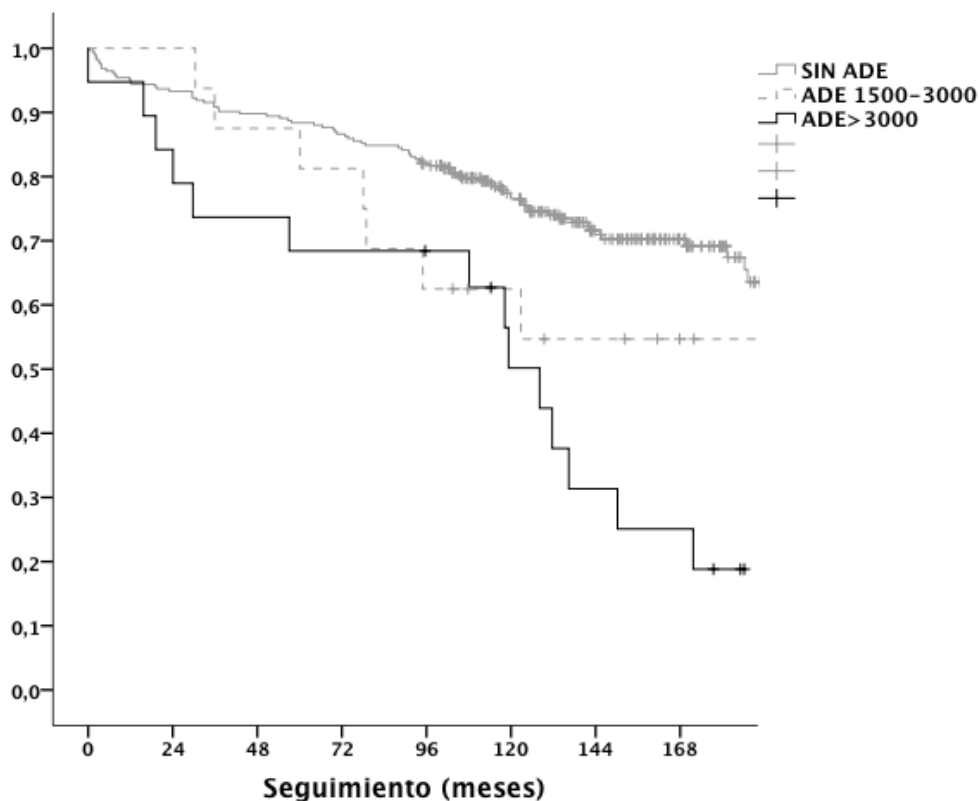
Meses	0	24	48	72	96	120	144	168
SIN ADE	257	244	239	235	226	217	211	208
n (%)	(100)	(94,4)	(92,9)	(91,4)	(87,9)	(84,4)	(82,1)	(80,9)
ADE >1500	27	23	21	20	20	18	15	14
n (%)	(100)	(85,1)	(77,7)	(74)	(74)	(66,6)	(55,5)	(51,8)

Figura 29. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto sin censurar por la muerte del paciente, análisis comparativo entre pacientes sin ADE (n=285, línea gris continua), pacientes con ADE>1500 MFI clase I (n=16, línea gris entrecortada grueso), ADE>1500 MFI clase II (n=9, línea negra) y ADE>1500 MFI de ambas clases (n=10), línea gris entrecortada gruesa) (Log Rank, p < 0,001).



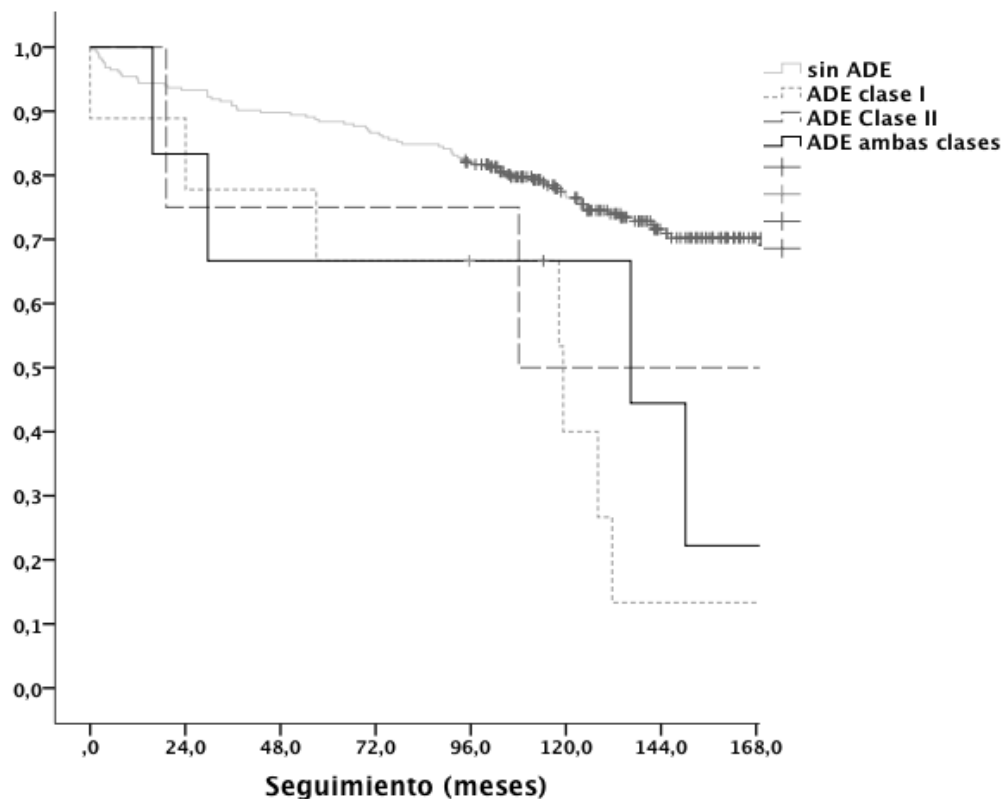
Meses	0	24	48	72	96	120	144	168
No ADE n (%)	285 (100)	266 (93,3)	256 (89,8)	246 (86,3)	234 (82,1)	226 (79,3)	212 (74,4)	210 (73,7)
ADE clase I n (%)	16 (100)	14 (87,5)	14 (87,5)	12 (75,0)	10 (62,5)	8 (50,0)	6 (37,5)	6 (37,5)
ADE clase II n (%)	9 (100)	7 (77,8)	6 (66,7)	6 (66,7)	5 (55,6)	4 (44,4)	3 (33,3)	3 (33,3)
Ambas clases n (%)	10 (100)	8 (80)	8 (80)	8 (80)	8 (80)	8 (80)	7 (70)	6 (60)

Figura 30. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto sin censurar por la muerte del paciente en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre pacientes sin ADE (n=285, línea gris continua), pacientes con ADE entre 1500 y 3000 MFI (n=16, línea gris entrecortada) y ADE>3000 MFI (n=19, línea negra) (Log Rank, p < 0,001).



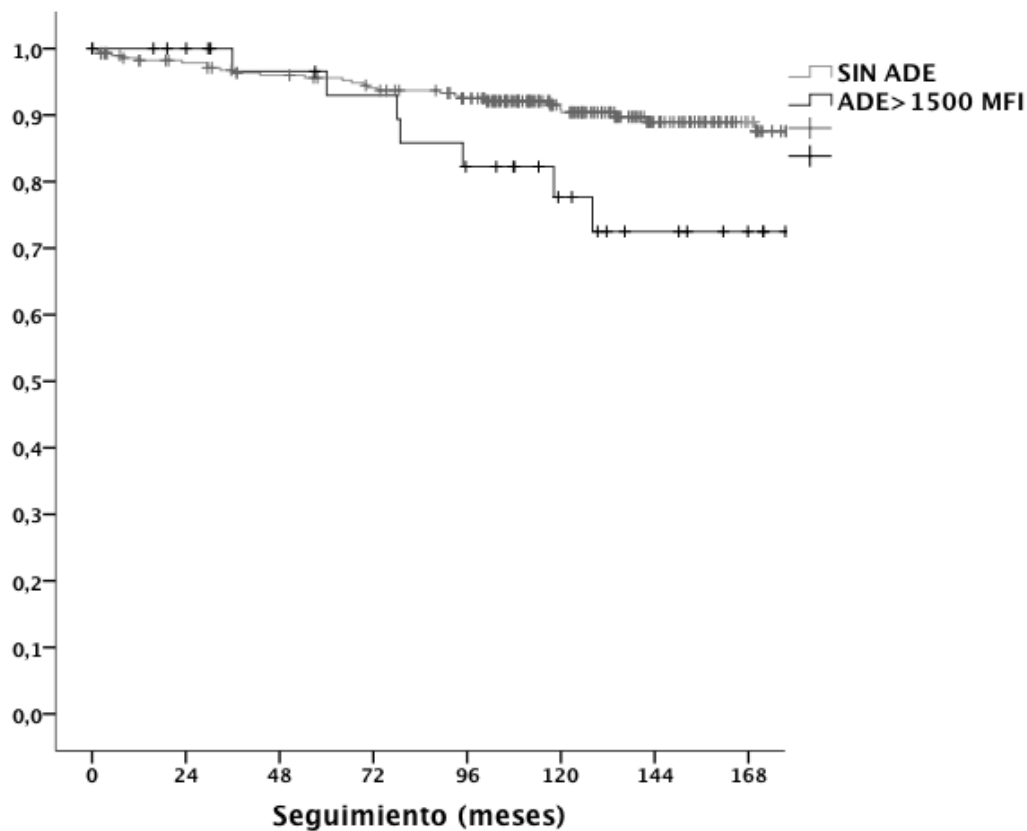
Meses	0	24	48	72	96	120	144	168
SIN ADE	285	266	256	246	234	226	212	210
n (%)	(100,0)	(93,3)	(89,8)	(86,3)	(82,1)	(79,3)	(74,4)	(73,7)
ADE 1500-3000	16	15	14	13	10	10	9	9
n (%)	(100)	(93,8)	(87,5)	(81,3)	(62,5)	(62,5)	(56,3)	(56,3)
ADE >3000	19	15	15	13	13	10	7	6
n (%)	(100)	(78,9)	(78,9)	(68,4)	(68,4)	(52,6)	(36,8)	(31,6)

Figura 31. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto sin censurar por la muerte del paciente, análisis comparativo entre pacientes sin ADE (n=285, línea gris continua), pacientes con ADE>3000 MFI clase I (n=9, línea gris entrecortada fino), ADE>3000 MFI clase II (n=4, línea entrecortada gruesa) y ADE>3000 MFI de ambas clases (n=6, línea negra) (Log Rank, p < 0,001).



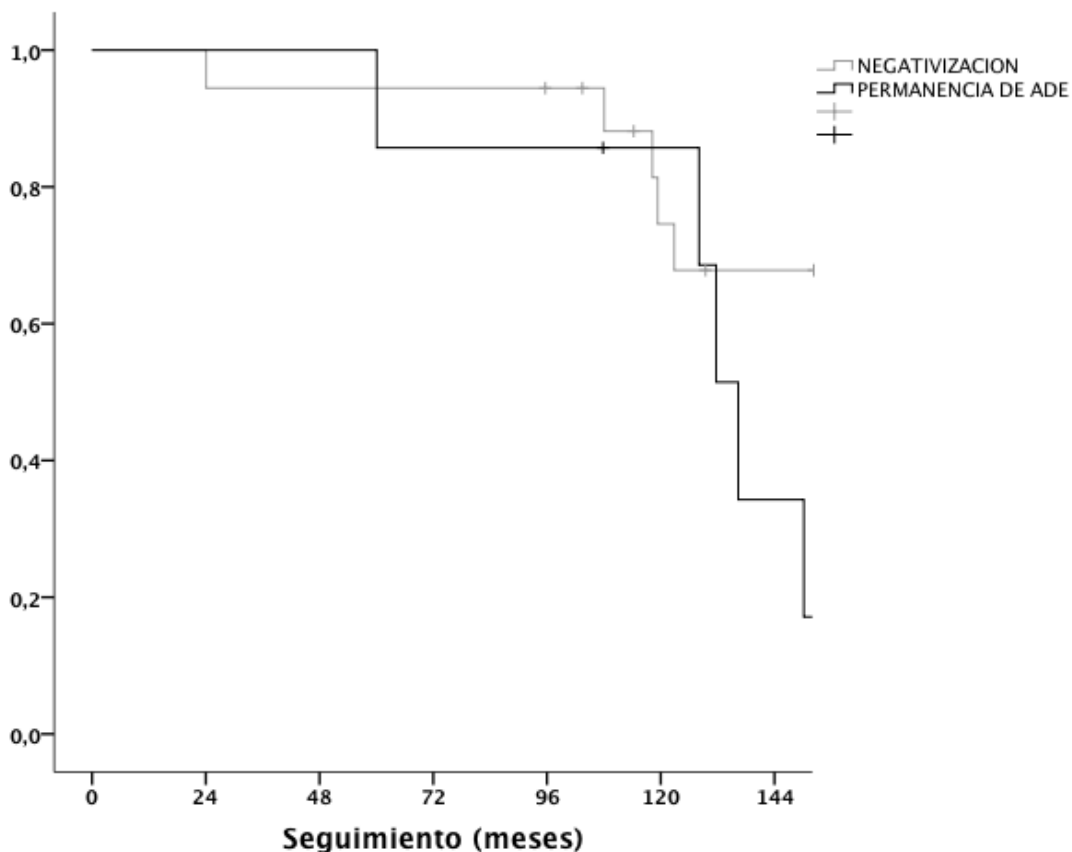
Meses	0	24	48	72	96	120	144	168
No ADE n (%)	285 (100,0)	266 (93,3)	256 (89,8)	246 (86,3)	234 (82,1)	226 (79,3)	212 (74,4)	210 (73,7)
ADE clase I n (%)	9 (100,0)	7 (77,8)	7 (77,8)	6 (66,7)	6 (66,7)	4 (44,4)	2 (22,2)	2 (22,2)
ADE clase II n (%)	4 (100,0)	2 (50,0)	2 (50,0)	2 (50,0)	2 (50,0)	2 (50,0)	2 (50,0)	1 (25,0)
ADE ambas clases n (%)	6 (100,0)	4 (66,7)	4 (66,7)	4 (66,7)	4 (66,7)	4 (66,7)	3 (50,0)	2 (33,3)

Figura 32. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del paciente en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre pacientes sin ADE (n=285, línea gris) y pacientes con ADE>1500 MFI (n=35, línea negra) (Log Rank, p =0,009).



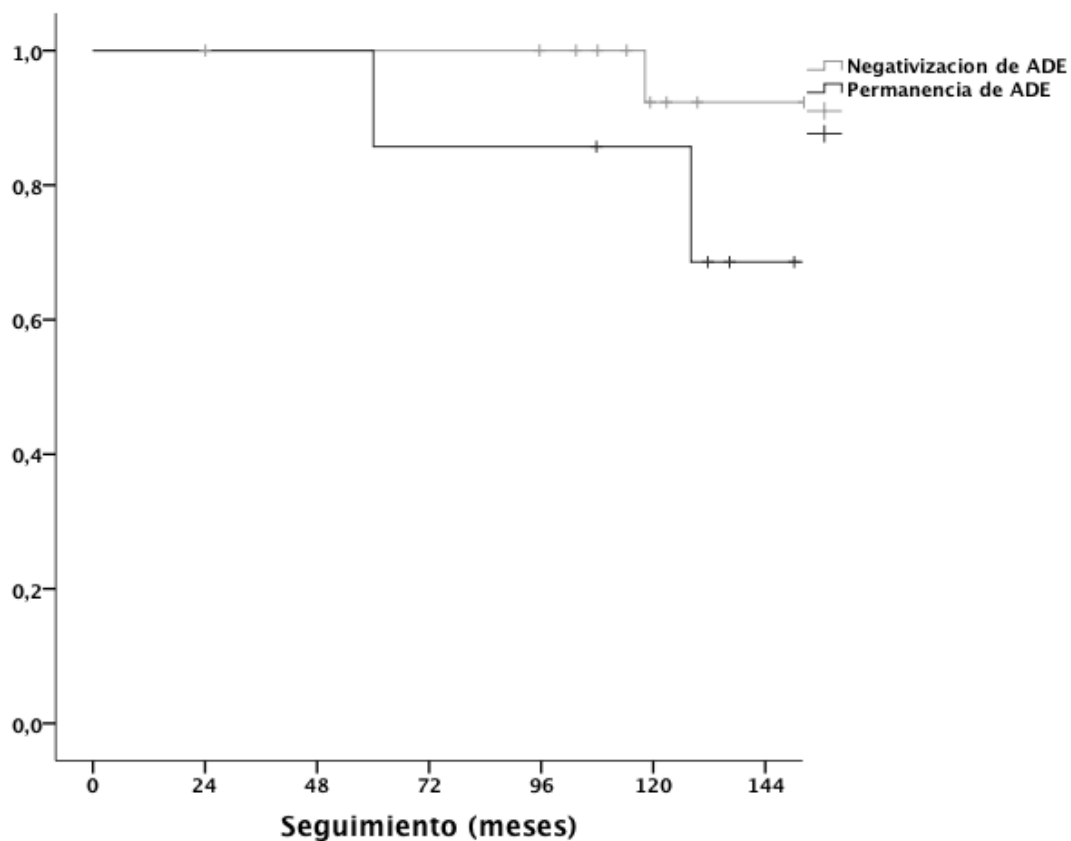
Meses	0	24	48	72	96	120	144	168
No ADE n (%)	285 (100,0)	279 (97,9)	274 (96,1)	268 (94,0)	265 (93,0)	261 (91,6)	259 (90,9)	259 (90,9)
ADE >1500 n (%)	35 (100,0)	35 (100,0)	34 (97,1)	32 (91,4)	30 (85,7)	29 (82,9)	28 (80,0)	28 (80,0)

Figura 33. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto de los trasplantes con ADE>1500 MFI pretrasplante, análisis comparativo entre los que negativizaron estos ADE en el postrasplante (n=18, línea gris) y los que no lo hicieron (n=7, línea negra) (Log Rank, p =0,034).



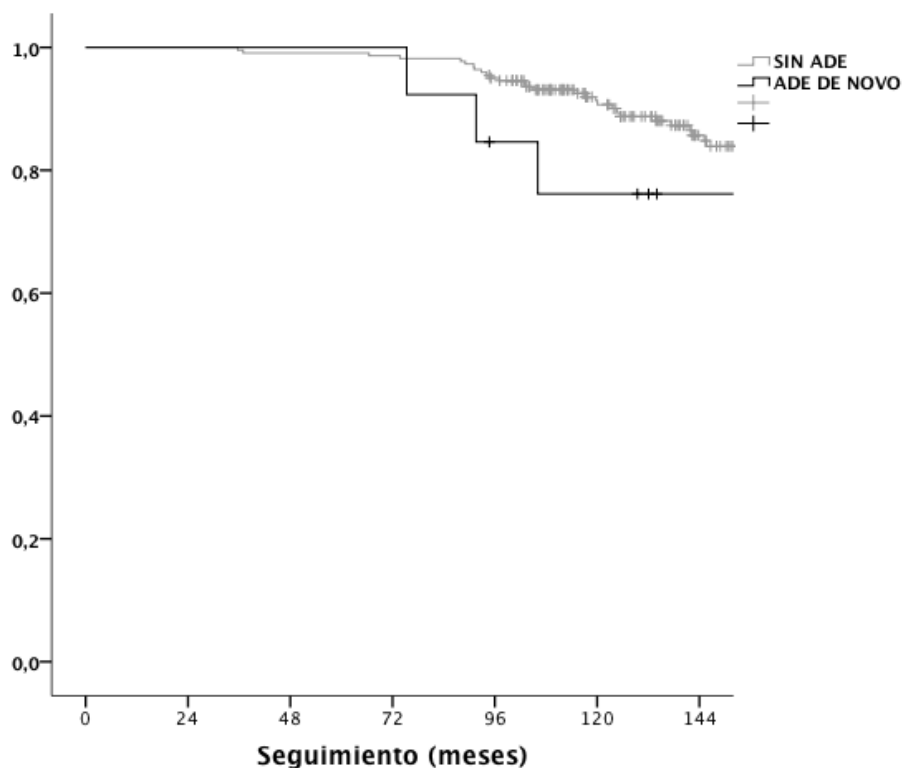
Meses	0	24	48	72	96	120	144
SIN ADE n (%)	18 (100)	17 (94,4)	17 (94,4)	17 (94,4)	17 (94,4)	14 (77,7)	14 (77,7)
Permanencia de ADE n (%)	7 (100)	7 (100)	7 (100)	6 (85,7)	6 (85,7)	5 (71,4)	3 (42,8)

Figura 34. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del paciente en los trasplantes con ADE>1500 MFI pretrasplante, análisis comparativo entre los que negativizaron estos ADE en el postrasplante (n=18, línea gris) y los que no lo hicieron (n=7, línea negra) (Log Rank, p =0,167).



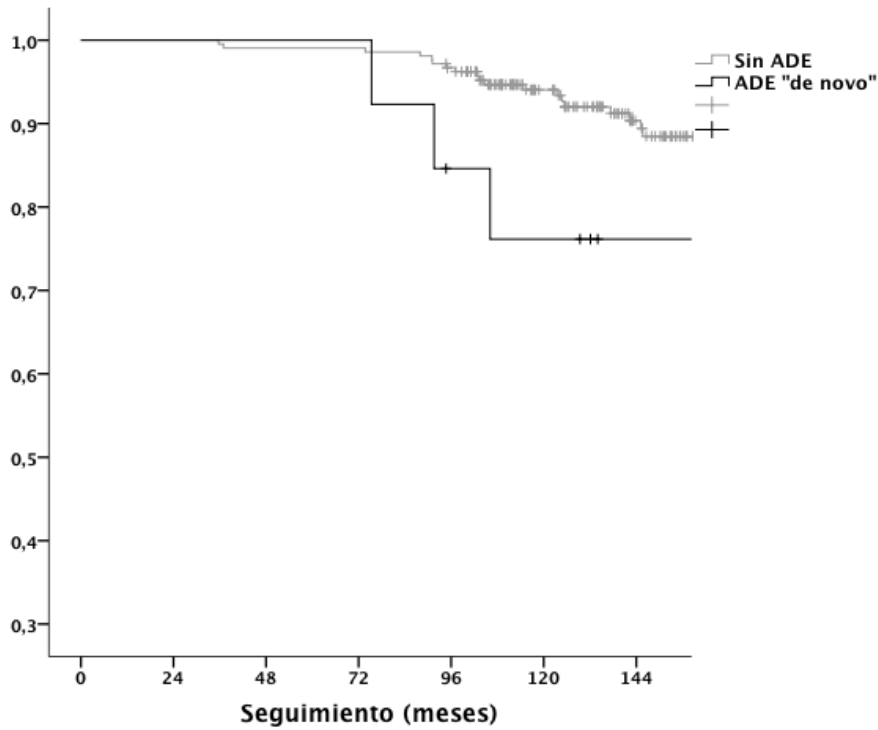
Meses	0	24	48	72	96	120	144
SIN ADE n (%)	18 (100)	18 (100)	18 (100)	18 (100)	18 (100)	17 (94,4)	17 (94,4)
Permanencia de ADE n (%)	7 (100)	7 (100)	7 (100)	6 (85,7)	6 (85,7)	6 (85,7)	5 (71,4)

Figura 35. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto, sin censurar por la muerte del paciente, análisis comparativo entre pacientes sin ADE (n=236, línea gris) pretrasplante ni postrasplante y pacientes con ADE>1500 MFI “de novo” postrasplante (n=13, línea negra) (Log Rank, p=0,121).



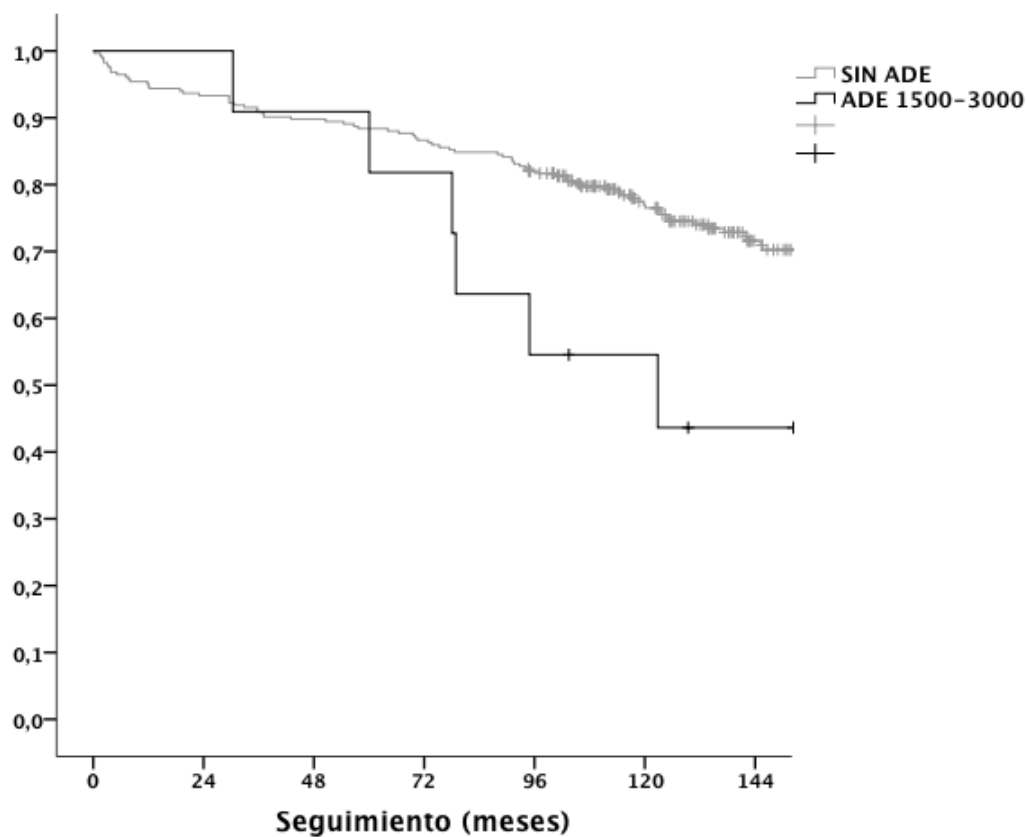
Meses	0	24	48	72	96	120	144
SIN ADE	236	236	234	230	219	217	210
n (%)	(100)	(100)	(99,1)	(97,4)	(92,7)	(91,1)	(88,9)
ADE	13	13	13	13	11	10	10
“de novo”	(100,0)	(100,0)	(100,0)	(100,0)	(84,6)	(76,9)	(76,9)

Figura 36. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto, censurando por la muerte del paciente, análisis comparativo entre pacientes sin ADE (n=212, línea gris) pretrasplante ni postrasplante y pacientes con ADE>1500 MFI “de novo” postrasplante (n=13, línea negra) (Log Rank, p < 0,022).



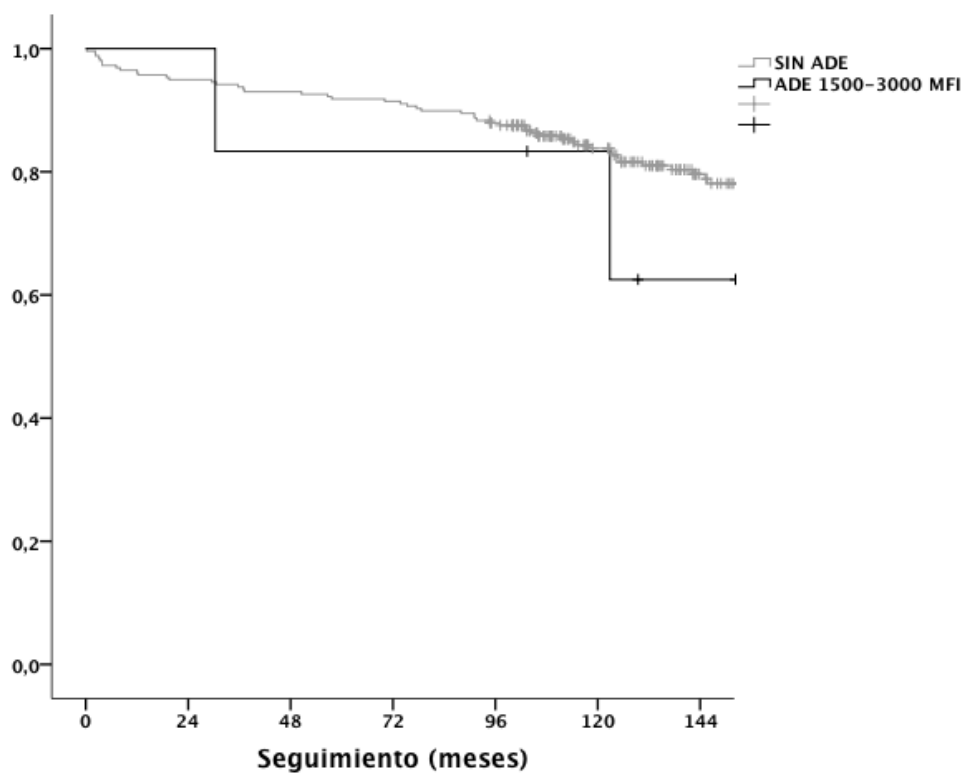
Meses	0	24	48	72	96	120	144
SIN ADE n (%)	212 (100,0)	211 (99,5)	210 (99,1)	210 (99,1)	205 (96,7)	200 (94,3)	195 (92,0)
ADE “de novo” n (%)	13 (100,0)	13 (100,0)	13 (100,0)	13 (100,0)	11 (84,6)	10 (76,9)	10 (76,9)

Figura 37. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto, sin censurar por la muerte del paciente, análisis comparativo entre pacientes sin ADE (n=285, línea gris) y pacientes con ADE entre 1500 y 3000 MFI (n=11, línea negra) (Log Rank, p = 0,015).



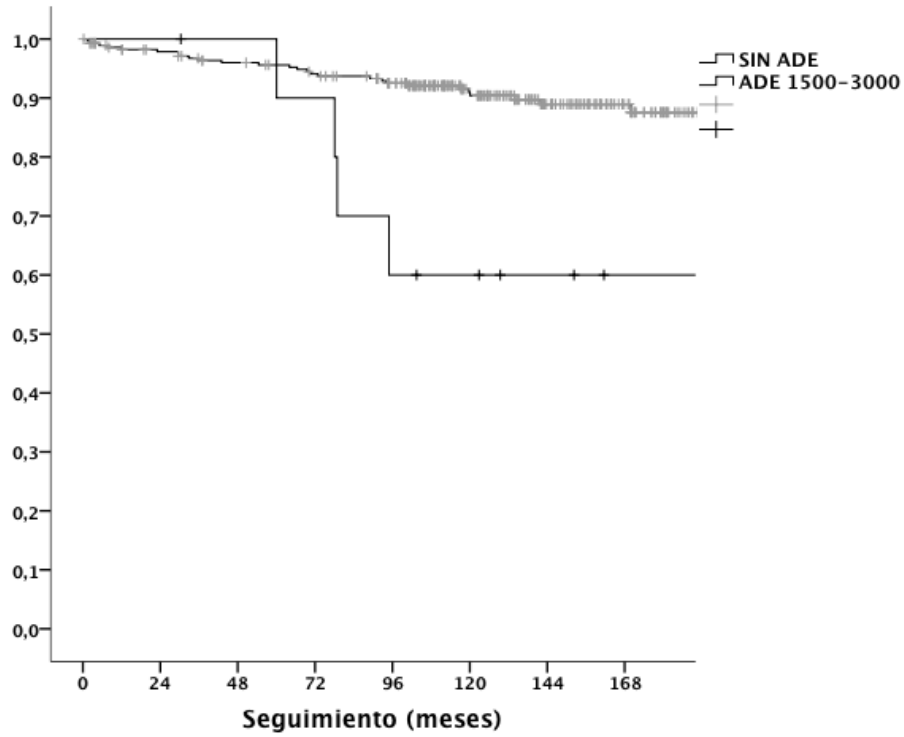
Meses	0	24	48	72	96	120	144
SIN ADE n (%)	285 (100,0)	266 (93,3)	256 (89,8)	246 (86,3)	234 (82,1)	226 (79,3)	212 (74,4)
ADE 1500-3000 n (%)	11 (100,0)	11 (100,0)	10 (90,9)	9 (81,8)	6 (54,5)	6 (54,5)	5 (45,5)

Figura 38. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto, censurando por la muerte del paciente, análisis comparativo entre pacientes sin ADE (n=257, línea gris) y pacientes con ADE entre 1500 y 3000 MFI (n=6, línea negra) (Log Rank, p = 0,383).



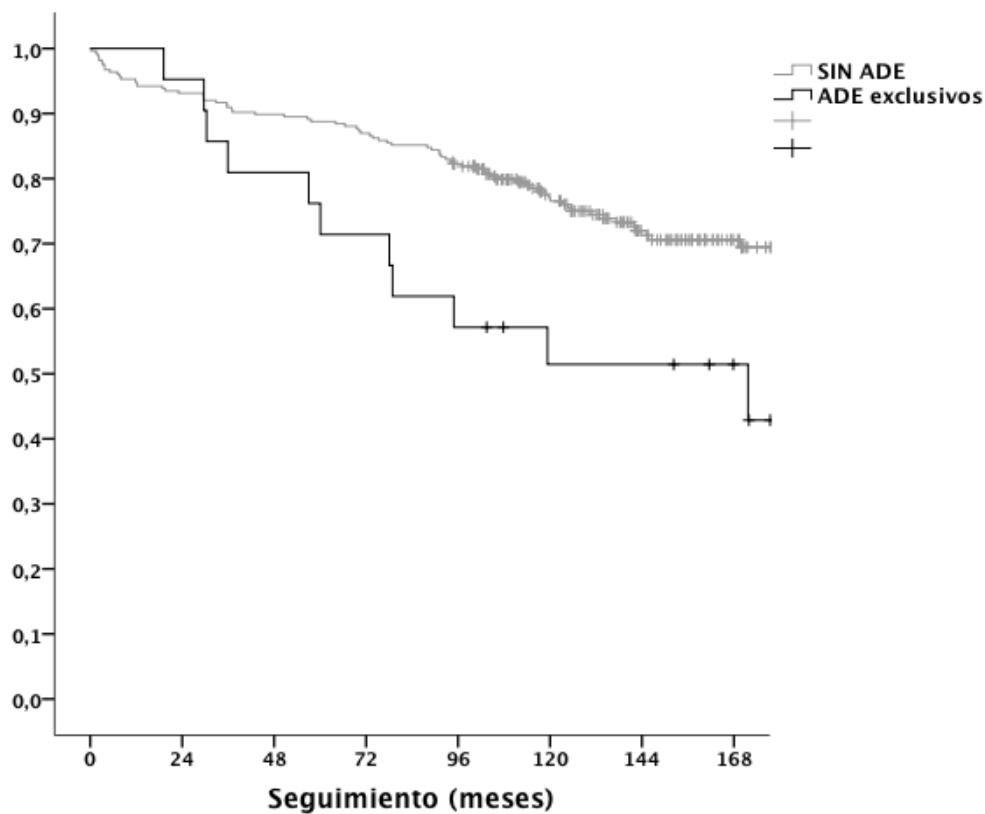
Meses	0	24	48	72	96	120	144
SIN ADE							
n (%)	257 (100)	244 (94,4)	239 (92,9)	235 (91,4)	226 (87,9)	217 (84,4)	211 (82,1)
ADE 1500-3000							
n (%)	6 (100)	5 (83,3)	5 (83,3)	5 (83,3)	5 (83,3)	4 (66,6)	4 (66,6)

Figura 39. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del paciente en la serie retrospectiva, análisis comparativo entre pacientes sin ADE (n=285, línea gris) y pacientes con ADE entre 1500 y 3000 MFI (n=11, línea negra) (Log Rank, p <0,001).



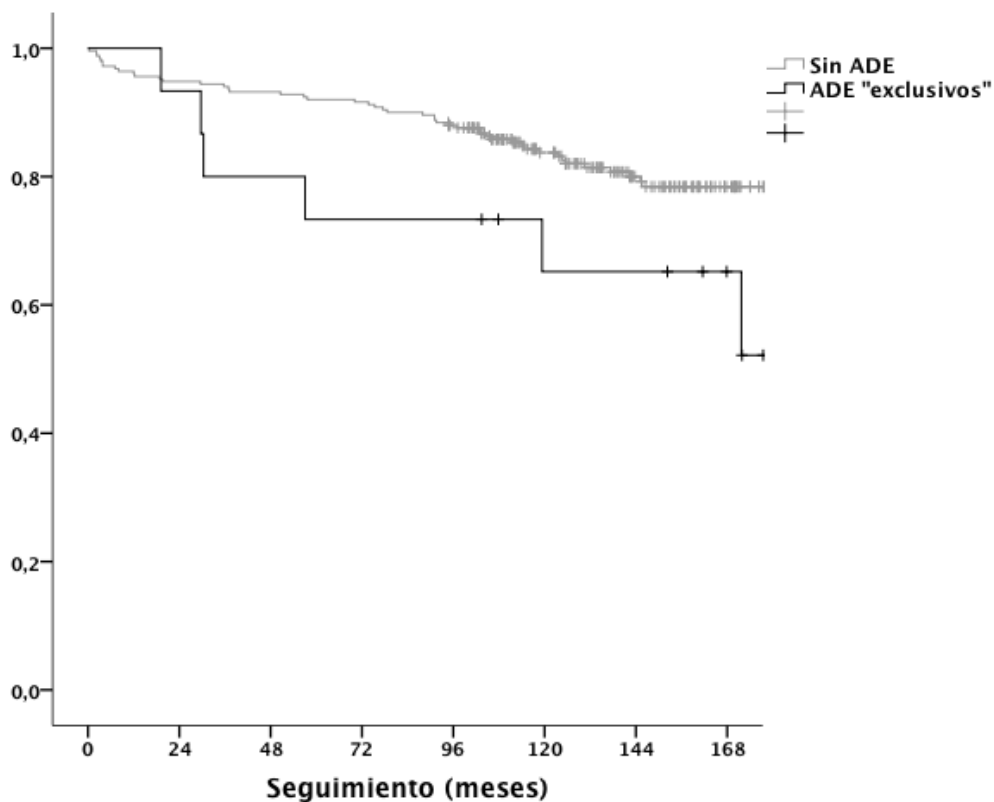
Meses	0	24	48	72	96	120	144
SIN ADE n (%)	285 (100,0)	279 (97,9)	274 (96,1)	268 (94,0)	265 (93,0)	261 (91,6)	259 (90,9)
ADE 1500-3000 n (%)	11 (100,0)	11 (100,0)	11 (100,0)	10 (90,9)	10 (90,9)	7 (63,6)	7 (63,6)

Figura 40. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto, sin censurar por la muerte del paciente, análisis comparativo entre pacientes sin ADE (n=285, línea gris) y pacientes con ADE >1500 MFI determinados exclusivamente por Luminex (n=21, línea negra) (Log Rank, p = 0,006).



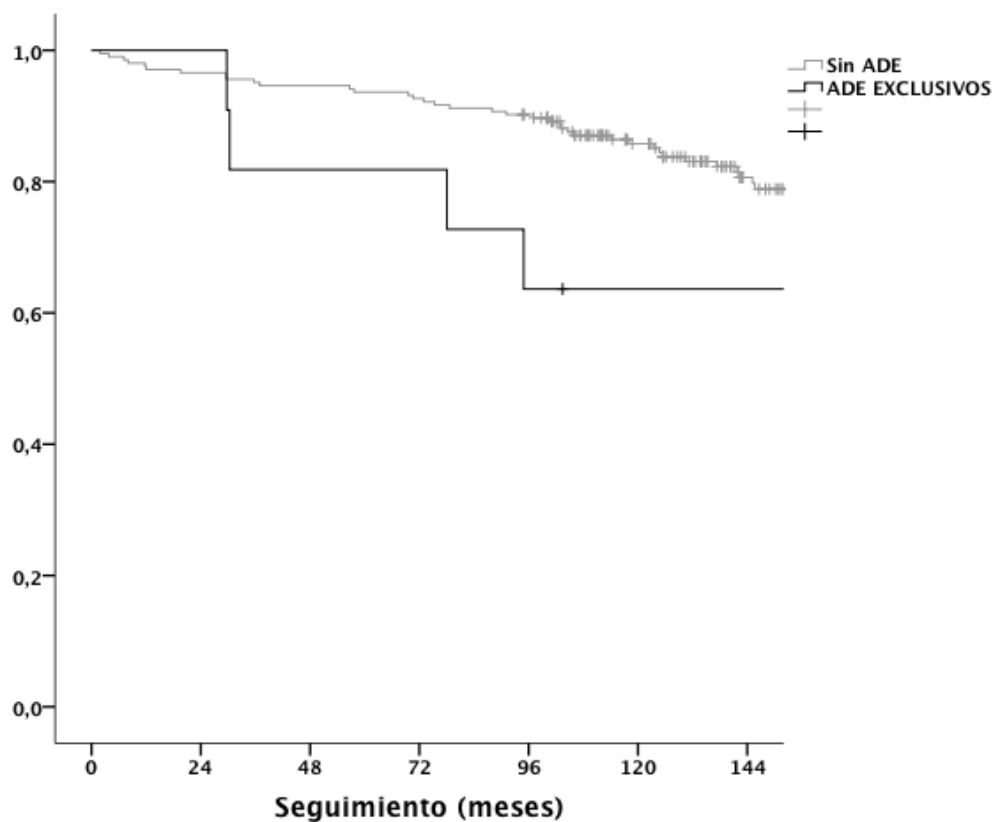
Meses	0	24	48	72	96	120	144	168
ADE exclusivos n (%)	21 (100,0)	19 (90,5)	17 (81,0)	14 (66,7)	12 (57,1)	11 (52,4)	11 (52,4)	11 (52,4)
SIN ADE n (%)	285 (100,0)	266 (93,3)	256 (89,8)	246 (86,3)	234 (82,1)	226 (79,3)	212 (74,4)	210 (73,7)

Figura 41. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto, censurando por la muerte del paciente, análisis comparativo entre pacientes sin ADE (n = 250, línea gris) y pacientes con ADE >1500 MFI determinados exclusivamente por Luminex (n = 15, línea negra) (Log Rank, p = 0,067).



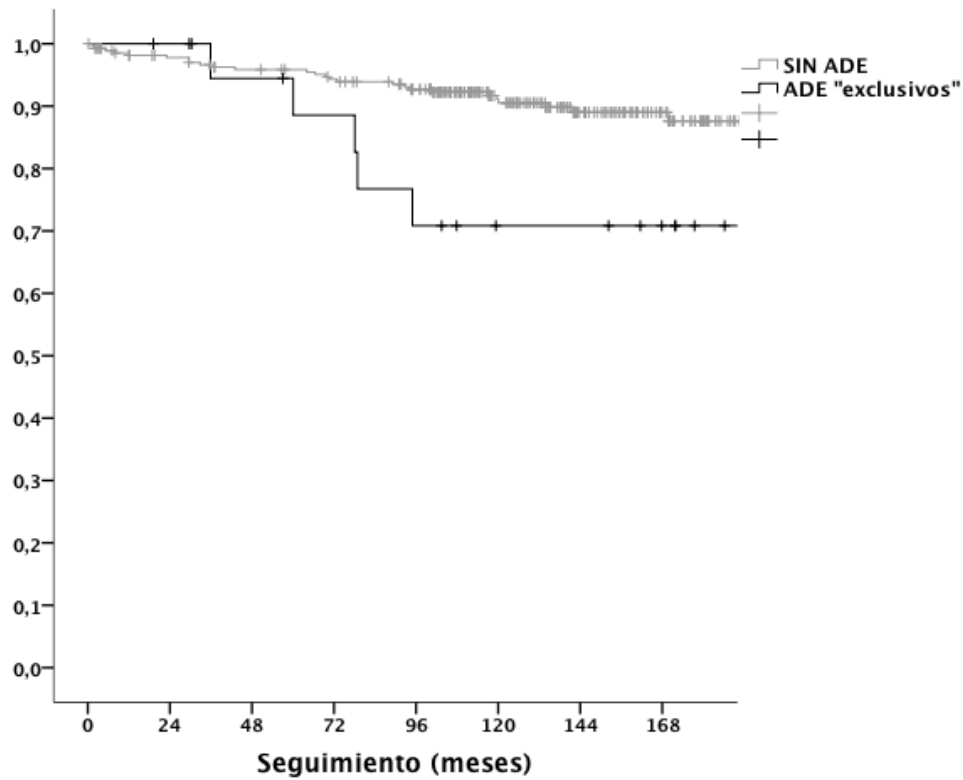
Meses	0	24	48	72	96	120	144	168
Sin ADE n (%)	250 (100,0)	237 (94,8)	243 (97,2)	229 (91,6)	220 (88,0)	211 (84,4)	205 (82,0)	203 (81,2)
ADE exclusivos n (%)	15 (100,0)	14 (93,3)	12 (80,0)	11 (73,3)	11 (73,3)	10 (66,7)	10 (66,7)	10 (66,7)

Figura 42. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto en los pacientes menores de 60 años, análisis comparativo entre pacientes sin ADE (n = 204, línea gris) y pacientes con ADE >1500 MFI determinados exclusivamente por Luminex (n = 11, línea negra) (Log Rank, p = 0,041).



Meses	0	24	48	72	96	120	144
Sin ADE	204	197	193	188	184	176	169
n (%)	(100)	(96,5)	(94,6)	(92,1)	(90,1)	(86,2)	(82,8)
ADE exclusivos	11	11	9	9	7	7	7
n (%)	(100)	(100)	(81,8)	(81,8)	(63,6)	(63,6)	(63,6)

Figura 43. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del paciente, análisis comparativo entre pacientes sin ADE (n=285, línea gris) y pacientes con ADE >1500 MFI determinados exclusivamente por Luminex (n=21, línea negra) (Log Rank, p = 0,004).



Meses	0	24	48	72	96	120	144	168
Sin ADE	285	279	274	268	265	261	259	256
n (%)	(100,0)	(97,9)	(96,1)	(94,0)	(93,0)	(91,6)	(90,9)	(89,8)
ADE exclusivos	21	21	20	19	16	16	16	16
n (%)	(100,0)	(100,0)	(95,2)	(90,5)	(76,2)	(76,2)	(76,2)	(76,2)

5.2 Sección II: Serie prospectiva

Se incluyeron en la serie prospectiva 98 trasplantes renales, de los cuales se excluyó del análisis estadístico a diez de ellos por disfunción primaria del injerto (cuatro pacientes por trombosis vascular, tres por injerto no viable, dos por necrosis cortical y un paciente por ruptura del injerto). La media de seguimiento fue de $47,5 \pm 12$ meses (r: 7-64 meses). En los 88 pacientes restantes se analizó una muestra de suero obtenida antes del trasplante (eligiéndose la más cercana a la fecha de éste) y muestras de suero obtenidas a los 3, 6, 12 y 24 meses postrasplante.

5.2.1 Características de los receptores

Las características demográficas de los receptores figuran en la tabla 40. Se trataba de 61 (69%) varones y 27 (31%) mujeres, con una edad media de 53 ± 12 años (r: 20-78 años). Treinta y tres (35%) pacientes superaban los 60 años de edad.

Factores de riesgo cardiovascular como el antecedente de hipertensión arterial, afectaba a 72 (82%) pacientes, la hipertrofia ventricular izquierda a 40 (45%) pacientes, la dislipemia a 60 (64%) pacientes y el antecedente de tabaquismo al 47% (44) de los receptores. El 13% (12) de los pacientes presentaba algún tipo de cardiopatía y 22 (23%) pacientes presentaban algún grado de valvulopatía (según criterios ecocardiográficos) previo al trasplante. Siete (7,5%) pacientes presentaban diabetes mellitus pre-trasplante.

Las causas más frecuentes de insuficiencia renal terminal en los pacientes trasplantados fueron las glomerulonefritis, presentes en 19 (22%) pacientes, poliquistosis en 16 (18%) pacientes y la nefroangiosclerosis en 15 (17%) pacientes. El tipo de terapia sustitutiva renal más prevalente, en el momento del trasplante fue la hemodiálisis en 73 (83%) pacientes. El tiempo medio en diálisis fue de 40 ± 27 meses.

Características inmunológicas

Factores de riesgo para desarrollar sensibilización HLA como haber recibido alguna transfusión previamente al trasplante estaba presente en 34 (36%) pacientes, siendo el número medio de transfusiones de $2,4 \pm 1,8$ (r: 1-9). Ocho (9%) pacientes habían recibido con anterioridad algún trasplante renal. La mitad de los pacientes eran del grupo sanguíneo A y el 30% (26) eran de grupo 0. El número medio de compatibilidades HLA fue de $2 \pm 0,9$ y el de incompatibilidades fue de $3,5 \pm 1$, siendo el porcentaje de incompatibilidades para el antígeno DR de: 21% cero, 66% una y 10% dos incompatibilidades.

En cuanto a la presencia de sensibilización HLA frente al panel, solo 6 (6,7%) pacientes fueron diagnosticados de “sensibilizados” mediante la técnica de LCT, siendo la tasa máxima (media) de sensibilización de éstos del $31 \pm 34\%$. Todos los pacientes se trasplantaron con una PC para linfocitos T y B (actual e histórica) negativa.

Al analizar la sensibilización HLA pretrasplante medida por tecnología Luminex, catorce (15%) pacientes presentaron un escrutinio positivo, tratándose en cinco casos de AC clase I, en cuatro casos de AC clase II y en cinco casos de AC de ambas clases. La mediana de la sensibilidad en la técnica “single Antigen” fue del 43% (RI: 18-60, r: 3 - 98) para los AC de Clase I y del 40% (RI: 23-55, r: 15 - 83) para los AC de Clase II. El MFI medio de los pacientes presensibilizados por Luminex fue de 10600 (RI: 5600 - 13700, r: 3000 - 17600) para la Clase I y de 13000 (RI: 4600 - 15000, r: 3500 - 20000) para la Clase II. Todos los pacientes sensibilizados por LCT, fueron positivos con la tecnología Luminex, sin embargo ocho pacientes positivos mediante esta última técnica eran negativos por LCT (entre éstos existían dos pacientes con MFI mayor a 10.000).

Seis (5,7%) pacientes presentaron ADE con niveles mayores a 1500 MFI pretrasplante, de lo cuales uno era de clase I y cuatro de clase II. Estos presentaron una mediana de MFI de 9000 (RI: 4500-15200, r: 2800-16300), siendo cuatro de ellos retrasplantados.

5.2.2 Características de los donantes

El 100% de los trasplantes se realizaron con injertos procedentes de donantes cadáver, las características se muestran en la tabla 41. El 51% (44) de los donantes eran varones con una edad media fue de 55 ± 17 años (r: 1-79), siendo el 45% de ellos (42 pacientes) de edad mayor o igual a 60 años. La causa de la muerte fue el accidente cerebrovascular en 61 pacientes (66 %) y el traumatismo craneoencefálico en 16 casos (17%). Casi el 30% (26) de los donantes presentaban antecedentes de Hipertensión arterial y un 10% (9) antecedentes de Diabetes Mellitus. La cifra promedio de creatinina sérica fue de $0,8 \pm 0,3$ mg/dl (r: 0,3-1,7) y el tiempo promedio de isquemia fría fue de 19 ± 5 horas (r: 6-30).

5.2.3 Tratamiento inmunosupresor

Todos los pacientes recibieron tratamiento con inducción: 42% (37) con anti-CD25 y 58% (51) pacientes con Timoglobulina. La totalidad de los pacientes recibieron tratamiento con prednisona oral en pautas descendentes. La mayor parte de ellos recibieron tratamiento inicial con un anticalcineurínico, siendo el 97% (85) tratados con tacrolimus (Tabla 42). El 100% de los pacientes recibieron micofenolato mofetil como segundo fármaco

inmunosupresor, aunque 12 (13%) pacientes suspendieron el fármaco en algún momento de la evolución postrasplante. En caso de secundarismos derivados del uso de micofenolato mofetil se cambio a los pacientes a micofenolato sódico por su mejor tolerancia gastrointestinal. En 77 (87) pacientes no se cambio el fármaco inmunosupresor inicial, sin embargo en ocho receptores (9%) se cambió a inhibidores m-Tor como fármaco principal en algún momento de la evolución debido a secundarismos de los anticalcineurínicos o aparición de neoplasia, en tres (3%) se cambio a tacrolimus y en uno (1%) se cambio a ciclosporina. (Tabla 43)

5.2.4 Evolución del trasplante renal

Se analizaron los niveles medios de tacrolimus y ciclosporina medidos a los 3, 6, 12, 18 y 24 meses postrasplante. Figura 44. El nivel medio de tacrolimus fue de $12,5 \pm 3$ al mes, de $8,54 \pm 2,2$ a los 12 meses y de $7,75 \pm 1,7$ a los 24 meses postrasplante. El nivel medio de ciclosporina fue de 172 ± 63 al mes, de 150 ± 60 a los 12 meses y de 123 ± 28 a los 24 meses postrasplante. Treinta (34%) pacientes presentaron FRI, necesitando al menos una sesión de hemodiálisis dentro de la primera semana postrasplante. Dichos pacientes necesitaron $14,5 \pm 5,4$ días (r: 5-29) para conseguir un descenso mantenido de creatinina sérica (Tabla 43).

Veintiocho (32%) pacientes fueron biopsiados en algún momento de la evolución postrasplante, veintitrés (26%) fueron biopsiados durante los primeros seis meses y doce (13%) pacientes entre los seis meses y el final del seguimiento. Tabla 44. El diagnóstico de rechazo agudo estuvo presente en diez (11,4%) de los pacientes, tratándose de un RHA en seis (6,8%) de los casos. Treinta y siete (43%) pacientes tenían una creatinina sérica $\geq 1,5$ mg/dl a los doce meses postrasplante, mientras que diez (12%) pacientes presentaban proteinuria igual o mayor a 0,5g/24h en el mismo momento evolutivo. 63 pacientes (72%) requirieron algún reingreso, siendo la media de los mismos de $1,8 \pm 2$ (r: 0-11) ingresos por paciente. La infección por Citomegalovirus estuvo presente en el 12,5% (11) de los pacientes de la serie. Quince (17%) pacientes presentaron diabetes mellitus postrasplante. Cinco (6%) pacientes fueron diagnosticados de alguna patología cardiovascular grave en la evolución postrasplante. Catorce (15%) pacientes fueron diagnosticados de algún tipo de neoplasia durante la evolución postrasplante, siendo en seis (7%) de los casos diagnosticados de neoplasia cutánea no melanómica. Se diagnosticaron ocho (9%) neoplasias no cutáneas, encontrándose dos neoplasias intestinales y dos pulmonares, un linfoma, una neoplasia vesical y un tumor maligno de próstata, también se diagnosticó una

neoplasia de origen no identificado. El tiempo medio de diagnóstico de la neoplasia desde el trasplante fue de 25 ± 15 meses (r: 6-56).

5.2.5 Monitorización de la sensibilización HLA postrasplante

Al final del seguimiento 86 (97%) pacientes tenían muestras a los 3 meses, 84 (95%) pacientes a los 6 meses, 85 (96,6%) a los 12 meses y 80 (90,9%) a los 24 meses postrasplante. Doce (13,6%) pacientes presentaron un resultado positivo mediante tecnología Luminex en alguna de las determinaciones del postrasplante, de los cuales todos menos uno, eran ya positivos en la determinación pretrasplante con la misma técnica. Se pudo comprobar la mala adherencia al tratamiento inmunosupresor en el único receptor no presensibilizado, que presentó AC “de novo” durante el seguimiento. El resultado de las determinaciones periódicas de AC anti-HLA durante los dos primeros años del postrasplante se muestra en la tabla 45.

a) En la determinación de AC a los 3 meses, diez (11,3%) pacientes resultaron positivos, siendo todos ellos pre-sensibilizados, mientras que dos (2,3%) pacientes con AC anti-HLA pretrasplante, negativizaron dichos AC en esta determinación. Ningún paciente presentó ADE “de novo” en esta determinación.

b) En el análisis a los 6 meses, ocho (9%) pacientes resultaron positivos, siendo todos ellos presensibilizados, mientras que cuatro (5%) pacientes con AC anti-HLA pretrasplante, negativizaron dichos AC en esta determinación. Ningún paciente presentó ADE “de novo” en esta determinación.

c) En el análisis a los 12 meses, once (12,5%) pacientes resultaron positivos, siendo todos ellos presensibilizados, mientras que un (1%) paciente con AC anti-HLA pretrasplante presentó un resultado negativo en esta determinación. Ningún paciente presentó ADE “de novo” en esta determinación.

d) En el análisis de AC a los 24 meses, diez (11,3%) pacientes resultaron positivos, siendo nueve de ellos presensibilizados, mientras que un (1%) paciente sin AC anti-HLA previos, presentó ADE “de novo” postrasplante. Tres (3%) pacientes presensibilizados negativizaron los AC en esta determinación.

5.2.6 ADE postrasplante

Siete pacientes presentaron ADE > 1500 MFI en el postrasplante, seis ya los tenían en el pretrasplante, mientras sólo un paciente sin AC anti-HLA previos desarrolló ADE “de novo” a los 24 meses postrasplante. Entre los pacientes con ADE > 1500 MFI

postrasplante, tres presentaban AC de ambas clases, tres tenían AC de clase II y un paciente solo presentaba AC de clase I. Todos los pacientes con ADE clase II tenían AC anti-DQ contra el donante. El MFI medio de los 7 pacientes con ADE postrasplante fue de 3200 MFI (RI 2400-8400, r: 1500-10500) para ambas clases. Mientras que, entre los seis pacientes con ADE>1500 MFI pretrasplante, todos mantenían los ADE en las determinaciones postrasplante, sin embargo, habían disminuido significativamente la mediana de MFI del pre al postrasplante (pre trasplante 9000, RI: 4500-15200, r: 2800-16300 vs postrasplante 3200, RI:1950-9950, r: 1500-11500, $p=0,131$).

5.2.7 Supervivencia del injerto y del paciente

La supervivencia del injerto de la serie analizada fue del 97,7% al año y del 92% a los 3 años (Figura 45), al censurar el análisis por la muerte del receptor, la supervivencia del injerto fue del 97,7% al año y 94% a los 3 años. Las causas más frecuentes de fracaso del injerto fueron la DCI (6 casos, 6,8%) y el exitus con injerto funcionando (5 casos, 6%) (Tabla 46). La supervivencia del paciente fue de 100% al año y del 97,6% a los 3 años (Figura 46). Las causas de exitus en los cinco pacientes, fueron la tumoral en dos casos (2,3%), la cardiovascular en dos casos (2,3%) y la infecciosa en un caso (1,1%) (Tabla 47).

5.2.8 Análisis comparativo de la sensibilización postrasplante

En la tabla 48 se muestran las características epidemiológicas de los pacientes con ADE>1500 MFI postrasplante comparados con los que no los tenían, los primeros eran en su mayoría retransplantados (57% vs 5%, $p=0,001$) y con mayor porcentaje aunque no significativo del sexo femenino (57% vs 28%, $p=0,126$). Sin embargo no había diferencias en cuanto a la edad del donante o receptor, tiempo en diálisis, transfusiones pre o postrasplante, tiempo de isquemia fría, tratamiento de inducción o inmunosupresión principal. En la tabla 49 se muestran las características evolutivas, objetivándose un mayor porcentaje de RA probado por biopsia (57% vs 7,4%, $p=0,003$) en el grupo de pacientes con ADE postrasplante, no encontrándose diferencias significativas en cuanto a FRI, biopsias realizadas dentro de los primeros 6 meses postrasplante, cambios en el tratamiento inmunosupresor o complicaciones postrasplante como diabetes mellitus postrasplante, enfermedad por CMV, neoplasias o reingresos entre ambos grupos.

Se analizaron los niveles de tacrolimus sin encontrar diferencias en los niveles medidos al mes (9,6 RI 8,7-13 vs 12,6 RI 10-14, $p=1,71$), a los 3 meses (10,3 RI 9,2-15 vs 10,5 RI 9-12, $p=0,405$), 6 meses (9,2 RI 8-10 vs 9,0 RI 8-10, $p=0,773$), 12 meses (8,7 RI 7-9 vs 8,0 RI 6-

10, $p=0,725$), 18 meses (7,5 RI 7,1-9,1 vs 7,8 RI 6,7-9,3, $p=0,873$) y 24 meses (8,6 RI 6-8,9 vs 7,6 RI 7-8,7, $p=0,928$) postrasplante entre los pacientes con ADE postrasplante comparado con los que no los presentaban. Figura 47.

Se analizaron las biopsias del injerto realizadas durante el seguimiento observándose que dos (28%) pacientes con ADE y diecinueve (23%) pacientes sin ADE fueron biopsiados antes del 6° mes postrasplante, $p=0,268$. Los diagnósticos de las biopsias precoces en los pacientes con ADE fueron: un paciente RAH y otro paciente NTA. Entre los pacientes sin ADE, se diagnosticaron diez pacientes de NTA, dos de RAH, dos de RAC, dos de nefropatía por BKV, dos pacientes de daños crónicos atribuibles al donante y un paciente de daño 2° a nefrotoxicidad por tacrolimus. En cuanto a las biopsias tardías, cinco (71%) pacientes con ADE y seis (7%) sin ADE tenían al menos una biopsia después del 6° mes postrasplante ($p=0,024$). Los diagnósticos de los pacientes con ADE fueron: dos pacientes con RAH, dos pacientes con RHC y un paciente con diagnóstico de NTA; entre los pacientes sin ADE se diagnosticaron dos pacientes de RAH, un paciente de RHC, un paciente de IFTA, uno de nefropatía secundaria a BKV y un paciente de NTA. Los tres pacientes con ADE postrasplante que presentaron un RA en algún momento del seguimiento, éste era de tipo humoral comparado con 4 pacientes sin ADE que presentaron RAH (43% vs 5%, $p=0,001$).

El análisis por compartimientos histológicos de todas las biopsias se muestra en la figura 48. Destaca un mayor porcentaje de glomerulitis ($g>2$: 43% vs 8%, $p=0,06$), capilaritis peritubular ($ptc>1$: 43% vs 16%, $p=0,01$), presencia de dobles contornos ($cg>2$: 28% vs 4%, $p=0,03$) y aumento de matriz mesangial ($mm>2$: 14% vs 4%, $p=0,02$) en los pacientes con ADE comparado con los que no tenían ADE. Al analizar la tinción con C4d en todas las biopsias observamos que los pacientes con ADE presentaban una tinción negativa en un caso (17%), C4d<50% en dos casos (33%) y C4d>50% en tres casos (50%) mientras que los pacientes sin ADE presentaron una tinción negativa en diecisiete casos (77%), C4d<50% en cuatro casos (18%) y C4d>50% en un caso (9%) ($p=0,010$).

Los pacientes con ADE presentaron cifras de creatinina similares durante el seguimiento hasta los cuatro años postrasplante ($p>0,05$) (Figura 49), sin embargo las cifras de proteinuria en orina de 24 horas eran más elevadas en estos pacientes a partir de los 24 meses postrasplante, comparados con los pacientes sin ADE (0,46 RI 0,32-0,66 vs 0,13 RI 0,08-0,22, $p=0,001$ a los 24 meses; 0,56 RI 0,17-0,87 vs 0,18 RI 0,09-0,27 a los 36 meses, $p=0,03$; 0,96 RI 0,45-1,17 vs 0,15 RI 0,10-0,32 a los 48 meses, $p<0,001$, respectivamente) (Figura 50).

La supervivencia del injerto fue similar a los tres años entre los pacientes con ADE comparado con los que no los tenían (86% vs 91%, $p=0,381$), aunque las curvas se separan a los 4 años, siendo la supervivencia en este momento, de 71% en los pacientes con ADE vs 93% en los pacientes sin ADE (figura 51). Al censurar por la muerte del receptor, esta supervivencia seguía siendo similar. El porcentaje de los injertos no funcionantes al final del seguimiento fue del 28,6% para los pacientes con ADE postrasplante y del 13,6% para los pacientes sin ADE ($p=0,275$). La supervivencia del paciente a los 36 meses postrasplante fue del 100% en los pacientes con ADE y de 97,4% en los pacientes sin ADE ($p=0,50$). Hubo cinco éxitos del receptor, en todos los casos eran pacientes sin ADE, siendo la causa del exitus tumoral en dos casos, cardiovascular en dos casos y de causa infecciosa en un caso.

5.2.9 Resumen

La serie analizada estuvo compuesta de forma preferente por receptores del sexo masculino, de edad media elevada, habiendo recibido transfusiones un tercio de los mismos. El 15% de los receptores era presensibilizado y el 7% se trasplantó con ADE>1500 MFI preexistentes. Los donantes presentaron una edad media elevada y el fallecimiento se debió a patología cerebrovascular en dos tercios de los mismos. El 100% de la población estudiada recibió tratamiento de inducción, recibiendo cerca del 60% inducción con timoglobulina. Casi un 100% de la serie recibió tacrolimus como inmunosupresor principal. La FRI afectó a un tercio de la población y otro tercio fue biopsiado dentro de los primeros seis meses postrasplante. El RA se produjo en el 11% de los casos, tratándose en el 7% de éstos de RAH. Las causas más frecuentes de pérdida del injerto fueron la DCI y la muerte con injerto funcionante. La situación de retrasplante fue más frecuente en los pacientes con ADE>1500 MFI postrasplante. Todos los pacientes que se trasplantaron con ADE, los mantuvieron en las determinaciones postrasplante, detectándose sólo dos pacientes con “ADE de novo”. La presencia de ADE>1500 MFI se relacionó con un mayor número de biopsias durante el seguimiento, siendo más prevalente en este grupo el diagnóstico de rechazo agudo humoral, así como las lesiones de glomerulitis, capilaritis y presencia de dobles contornos de las asas capilares periféricas. Los receptores con ADE>1500 MFI postrasplante presentaron peores cifras de proteinuria a partir de los dos años postrasplante, sin embargo no se objetivaron diferencias en cuanto a la supervivencia del injerto renal o del paciente.

5.2.10 Tablas y Figuras

Tabla 40. Características demográficas de los receptores incluidos en la serie prospectiva en el momento del trasplante renal (n=88).

	88 pacientes x ± DS, n (%)
Edad receptor (años)	52,7 ± 12 (r: 20-78)
Edad receptor >60 años	33 (35)
Sexo (Mujer/Varón)	27/61 (31/69)
Hipertensión arterial	72 (82)
Hipertrofia ventricular izquierda	40 (45)
Dislipemia	60 (64)
Tabaquismo	41 (47)
Cardiopatía	12 (13)
Valvulopatía	22 (23)
Accidente cerebrovascular	1 (1)
Diabetes Mellitus previa	7 (7,5)
VHC +	2 (2)
VHB +	1 (1)
Etiología de la insuficiencia renal:	
Glomerulonefritis	19 (22)
Poliquistosis	16 (18)
Intersticial	13 (15)
Vascular	15 (17)
Sistémica	6 (6)
Diabetes mellitus	1 (1)
No filiadas/miscelánea	15 (17)
Hipoplasia/nefrectomía	3 (4)
Tipo de tratamiento sustitutivo renal:	
Hemodiálisis	73 (83)
Diálisis peritoneal	15 (17)
Tiempo en diálisis	40 ± 27(r: 3-139)
Transfundido	34 (36)
Nº de transfusiones	2,4 ± 1,8 (r: 1-9)
Retrasplantes	8 (9)
Nº de trasplantes previos (1º/2º)	82/10 (89/11)
Grupo sanguíneo (0/A/B/AB)	27/49/12/3 (29/54/13/3)
Sensibilización frente al panel	6 (6,7)
Tasa máxima de sensibilización**	31 ± 34 (r: 0-90)
Nº de incompatibilidad DR (0/1/2)	20/62/9 (21/66/10)
Nº de compatibilidades HLA	2 ± 0,9 (r: 0-5)
Nº de incompatibilidades HLA	3,5 ± 1 (r: 0-5)

*VCH+: Anticuerpos positivos contra el virus de la hepatitis C, VHB+: antígeno Australia positivo,

** en aquellos pacientes con sensibilización frente al panel > 0%.

Tabla 41. Características demográficas de los donantes y tiempos de isquemia de la serie prospectiva.

	88 Donantes x ± DS, n (%)
Edad (años)	55 ± 17 (r: 1-79)
Edad ≥ 60 años	42 (45)
Sexo (Mujer/Varón)	43/44 (49/51)
Causa muerte:	
Traumatismo craneoencefálico	16 (18)
Accidente cerebrovascular	51 (59)
Otras	19 (20)
Diabetes Mellitus	9 (9,8)
Hipertensión arterial	26 (28)
Creatinina sérica (mg/dl)	0,8 ± 0,3 (r: 0,3-1,7)
Tiempo isquemia fría (horas)	19 ± 5 (r: 6-30)
Tiempo de sutura vascular (minutos)	61 ± 41 (r: 15-180)

Tabla 42. Tratamiento inmunosupresor inicial de los pacientes incluidos en la serie prospectiva.

	88 pacientes x ± DS, n (%)
Ciclosporina microemulsionada	3 (3)
Tacrolimus	85 (97)
Micofenolato mofetil / Micofenolato sódico	88 (100)
Esteroides orales	88 (100)
Inducción con Anti-CD25	37 (42)
Inducción con Timoglobulina	51 (58)

Tabla 43. Características en relación a la evolución posterior del trasplante de los pacientes incluidos en la serie prospectiva (n=88).

	88 pacientes x ± DS, n (%)
Función retrasada del injerto	30 (34)
Tiempo de recuperación función renal (días)**	14,5 ± 5,4
Biopsia antes del 6º mes postrasplante	23 (26)
Biopsia después del 6º mes postrasplante	12 (13)
Rechazo agudo	10 (11,4)
Creatinina sérica ≥ 1,5mg/dl a los 12meses	37 (43)
Proteinuria ≥ 0,5g/24h a los 12meses	10 (11,6)
Diabetes mellitus postrasplante	15 (17)
Accidente cerebrovascular	3 (3,4)
Isquemia vascular periférica	2 (2,3)
Reingresos	63 (72)
Número de reingresos	1,8 ± 1,7
Enfermedad por Citomegalovirus	11 (12,5)
Neoplasias	13 (14,8)
Cambio de protocolo inmunosupresor:	
No cambio	77 (87)
A Tacrolimus	3 (3,4)
A Inhibidor m-Tor	7 (8)
A Ciclosporina microemulsionada	1 (1)

**Tiempo (días) de recuperación de la función renal en los pacientes con función retrasada del injerto.

Tabla 44. Diagnósticos de las biopsias de seguimiento de los pacientes incluidos en la serie prospectiva (n=88).

	Biopsias precoces (23) n (%)	Biopsias tardías (12) n (%)
NTA	12 (52)	2 (16)
RAC	2 (8)	1 (8)
RAH	3 (13)	4 (33)
BKN	2 (8)	1 (8)
IFTA	0 (0)	1 (8)
RCH	0 (0)	3 (25)
Otras	3 (13)	0 (0)
Normal	1 (4)	0 (0)

*NTA: necrosis tubular aguda, RAC: rechazo agudo celular, RAH: rechazo agudo humoral, BKN: nefropatía por virus BK, IFTA: fibrosis intersticial y atrofia tubular, RCH: rechazo crónico humoral.

Tabla 45. Relación entre la determinación de AC anti-HLA pre y postrasplante mediante Luminex de los pacientes incluidos en la serie prospectiva ($p < 0,001$).

Luminex pretrasplante	Luminex postrasplante (n)			
	3 meses (86) AC+/AC-	6 meses (84) AC+/AC-	12 meses(85) AC+/AC-	24 meses (80) AC+/AC-
Positivos (n=12)	10 / 2	8 / 4	11/1	9 / 3
Negativos (n=76)	0 /74	0 /72	0 /73	1 /67

*AC: anticuerpos anti-HLA positivos o negativos postrasplante.

Tabla 46. Causas de fracaso del injerto de los receptores incluidos en la serie prospectiva (n=88).

	Frecuencia	Porcentaje
Disfunción crónica del injerto	6	6,8
Exitus con injerto funcionante	5	5,7
Rechazo agudo	2	2,3
Injerto funcionante	75	85,2
Total	88	100

Tabla 47. Causas de exitus del receptor en la serie prospectiva (n=88).

	Frecuencia	Porcentaje
Tumoral	2	2,3
Cardiovascular	2	2,3
Infecciosa	1	1,1
Receptor vivo	83	94,3
Total	88	100,0

Tabla 48. Características pre y postrasplante de los receptores y donantes de la serie prospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500 MFI postrasplante (n=7) y los pacientes sin ADE postrasplante (n=81).

	ADE postrasplante x, RI; n (%)	Sin ADE x, RI; n (%)	p
Edad receptor (años)	56 (44-58)	51 (44-63)	0,775
Edad donante (años)	63 (51-64)	55 (46-68)	0,478
Sexo receptor (femenino)	4 (57)	23 (28)	0,126
Nº Incompatibilidades HLA	3 (3-4)	4 (3-4)	0,222
Transfundido pretrasplante	4 (57)	29 (41)	0,212
Retrasplante	4 (57)	4 (5)	0,001
Meses en diálisis	95 (23-135)	31 (21-46)	0,076
Horas Isquemia fría	20 (16-23)	19 (15-23)	0,508
Inducción con Timoglobulina	6 (86)	44 (55)	0,118
Inmunosupresor (TAC)	6 (86)	79 (97)	0,222
Transfundido postrasplante	4 (57)	48 (59)	0,606
Nº transfusiones postrasplante	1,5 (0-4,5)	2,0 (0-2)	0,924

* Nº Incompatib HLA: numero de incompatibilidades HLA, TAC: tacrolimus.

Tabla 49. Características en relación a la evolución posterior del trasplante en la serie prospectiva, análisis comparativo entre los pacientes con ADE>1500 MFI postrasplante (n=7) y los pacientes sin ADE postrasplante (n=81)

	ADE postrasplante n, %	Sin ADE n, %	P
Función retrasada del injerto	1 (14)	29 (36)	0,249
Biopsia < 6 meses postrasplante	3 (43)	20 (25)	0,304
Rechazo agudo	4 (57)	6 (7,4)	0,003
Cambio de inmunosupresión:			
-No cambio	6 (86)	70 (88)	0,840
-A Tacrolimus	1 (14)	2 (2,5)	
-A Inhibidor m-Tor	0 (0)	7 (9)	
-A Ciclosporina	0 (0)	1 (1)	
Diabetes postrasplante	1 (14)	14 (17)	0,659
Enfermedad Citomegalovirus	3 (28)	9 (11)	0,210
Reingresos	7 (100)	56 (70)	0,087
Neoplasias	0 (0)	13 (16)	0,313

Figura 44. Niveles medios de tacrolimus y ciclosporina de los pacientes incluidos en la serie prospectiva (n=88).

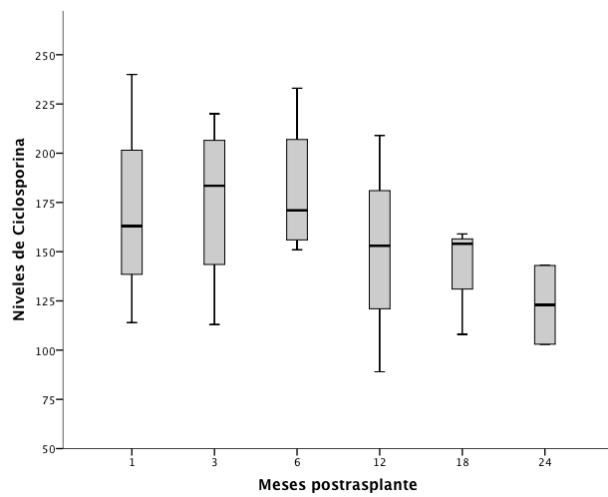
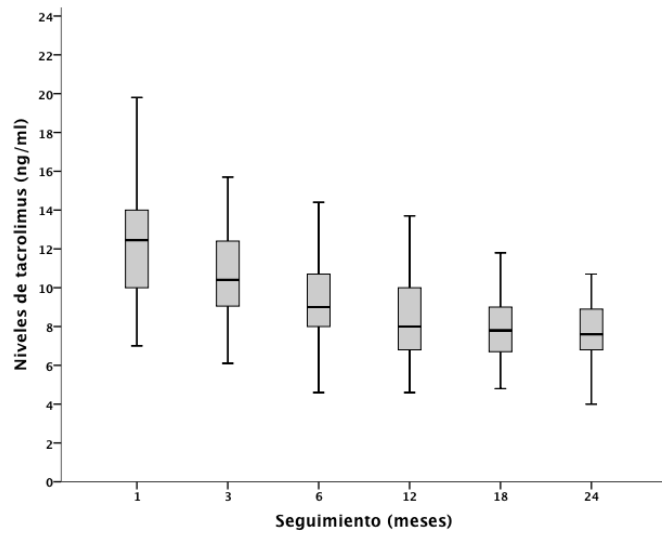
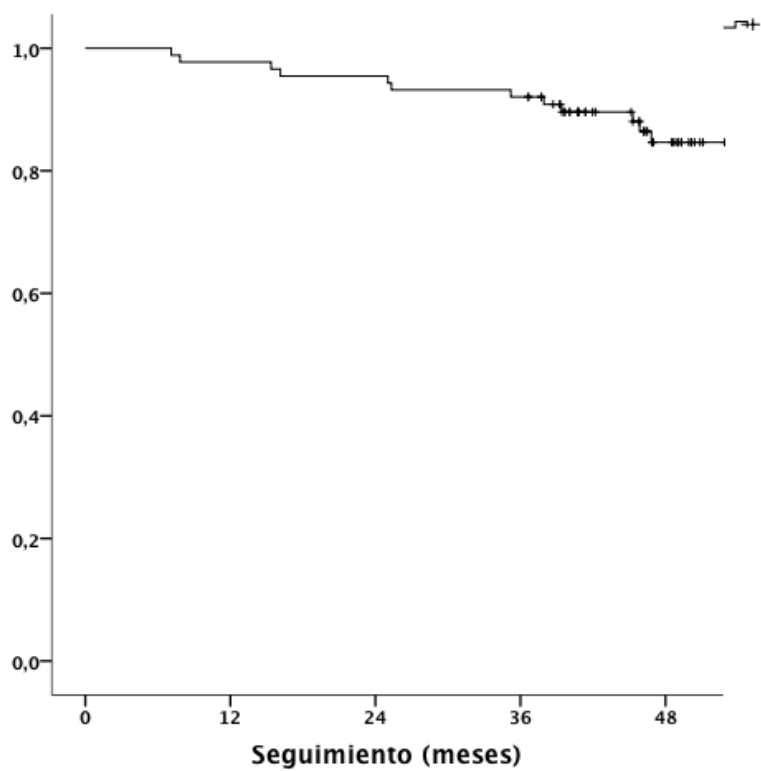
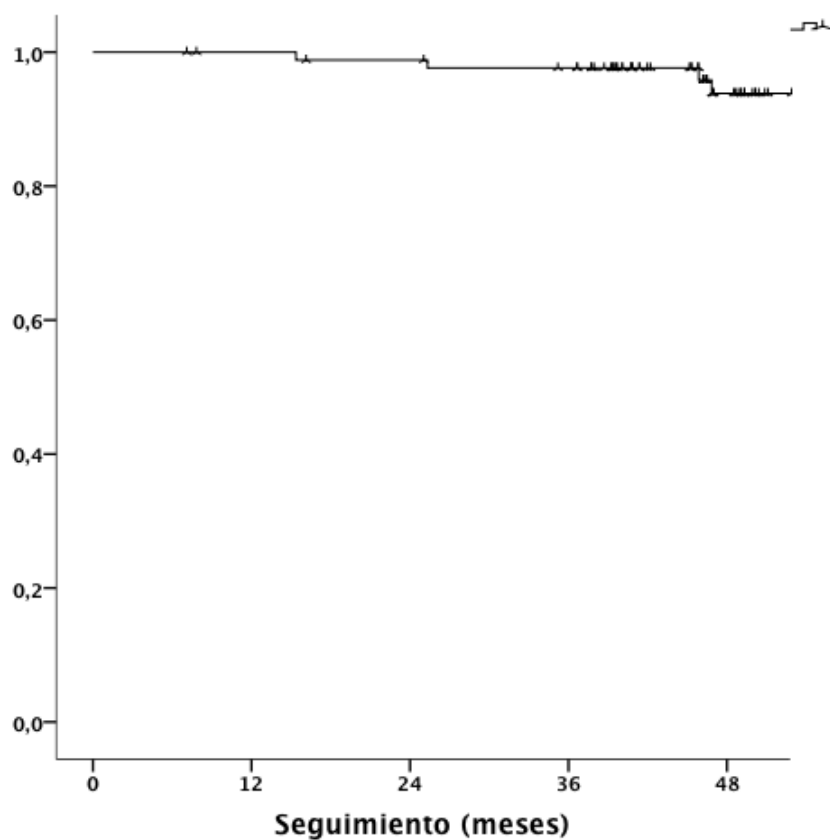


Figura 45. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto, sin censurar por la muerte del paciente, en la serie global de la serie prospectiva (n=88).



Meses	0	12	24	36	48
N	88	86	84	81	76
(%)	(100,0)	(97,7)	(95,5)	(92,0)	(86,4)

Figura 46. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del paciente, en la serie global de la serie prospectiva (n=88).



Meses	0	12	24	36	48
N	88	88	87	86	84
(%)	(100,0)	(100,0)	(98,9)	(97,7)	(95,5)

Figura 47. Niveles medios de tacrolimus (ng/ml), análisis comparativo entre pacientes con ADE>1500 MFI postrasplante (n=7, gris oscuro) vs pacientes sin ADE (n= 81, gris claro), (p>0,05).

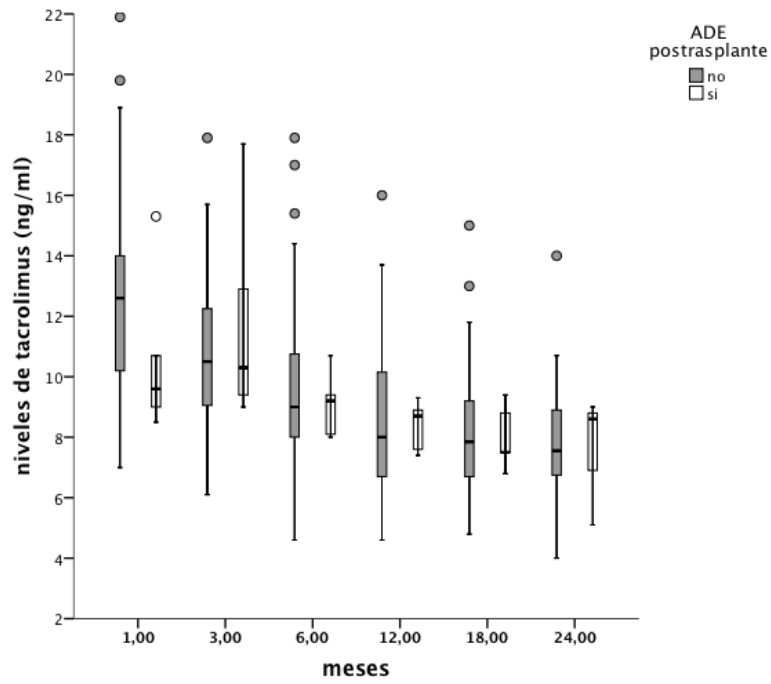
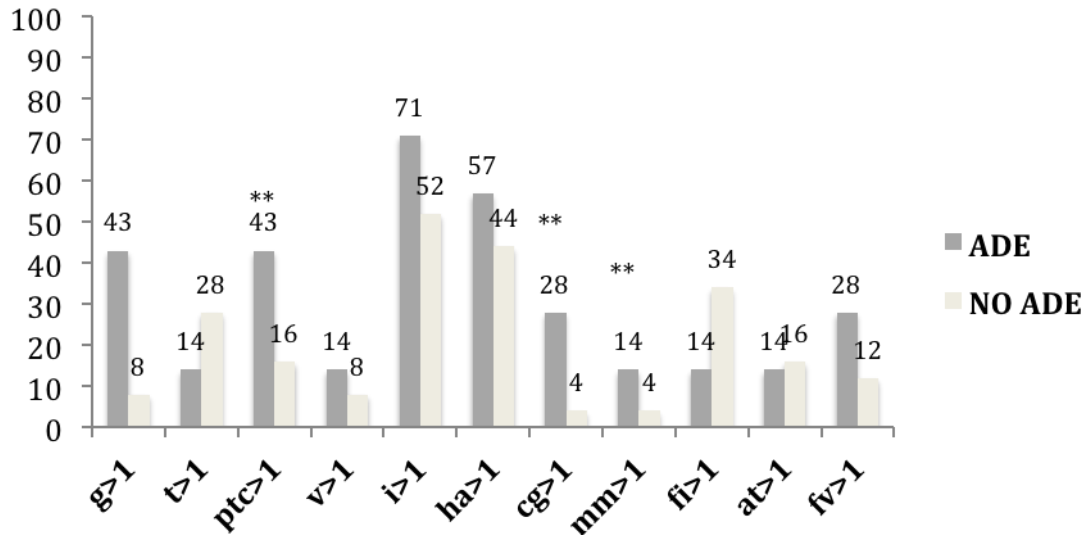


Figura 48. Lesiones histológicas por compartimientos de todas las biopsias realizadas en los pacientes de la serie prospectiva, análisis comparativo entre pacientes con ADE>1500 MFI postrasplante (n =7, gris oscuro) vs pacientes sin ADE (n = 25, gris claro) (los datos se muestran en porcentajes)



g>1, p=0,06; t>1, p=0,413; **ptc>1, p=0,01; v>1, p=0,547; i>1, p=0,236; ha>1, p=0,173; **cg>1, p=0,03; **mm>1, p=0,02; fi>1, p=0,125; at>1, p=0,583; fv>1, p=0,083.

g>1: glomerulitis presente en más del 25% de los glómerulos, t>1: presencia de células inflamatorias en los túbulos (>5 células por sección tubular), ptc>1: capilaritis en más del 10% de los capilares peritubulares y más de 4 células inflamatorias por capilar, i>1: inflamación intersticial mayor al 25% del parénquima, v>1: severa arteritis intimal con al menos el 25% de pérdida del área luminal en al menos la sección de una arteria y/o arteritis transmural, ha>1: engrosamiento hialino no circunferencial en más de una arteriola, cg>1 presencia de dobles contornos afectando a más del 25% de las asas capilares periféricas en la mayor parte de los glomérulos, mm>1: aumento de la matriz mesangial en más del 25% de los glomérulos no escleróticos, fi>1: presencia de fibrosis intersticial mayor al 25% del área cortical, at>1: atrofia tubular afectando más del 25% del área cortical de los túbulos, fv>1: presencia de estenosis vascular mayor al 25% de la luz por engrosamiento fibrointimal de arterias +/- rotura de la elástica.

Figura 49. Valores promedio de creatinina sérica (mg/dl) a lo largo del seguimiento de la serie prospectiva (IC 95% de la media), análisis comparativo entre pacientes con ADE>1500 MFI postrasplante (n = 7, gris oscuro) vs pacientes sin ADE (n = 81, gris claro), ($p>0,05$).

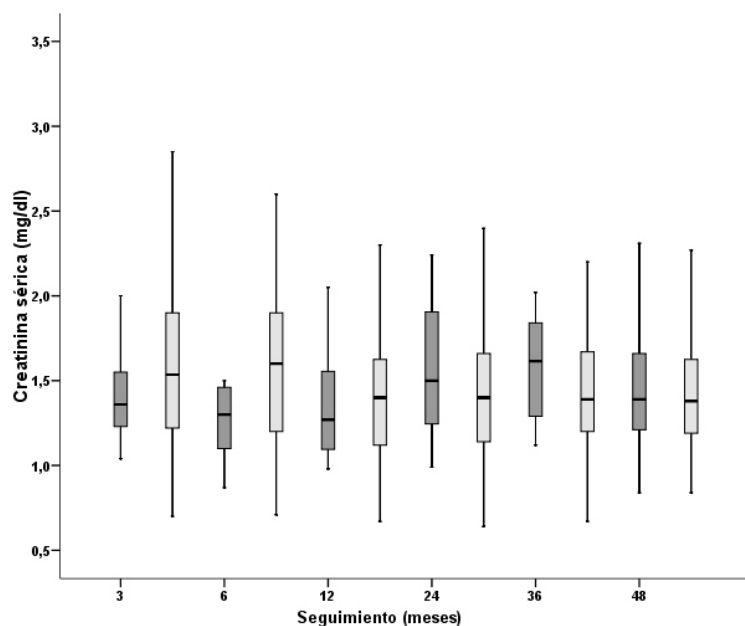


Figura 50. Valores promedio de proteinuria (g/24h) a lo largo del seguimiento de la serie prospectiva (IC 95% de la media), análisis comparativo entre pacientes con ADE>1500 MFI postrasplante (n = 7, gris oscuro) vs pacientes sin ADE (n = 81, gris claro) ($p>0,05$ a los 3, 6 y 12 meses, $p<0,05$ a los 24, 36 y 48 meses).

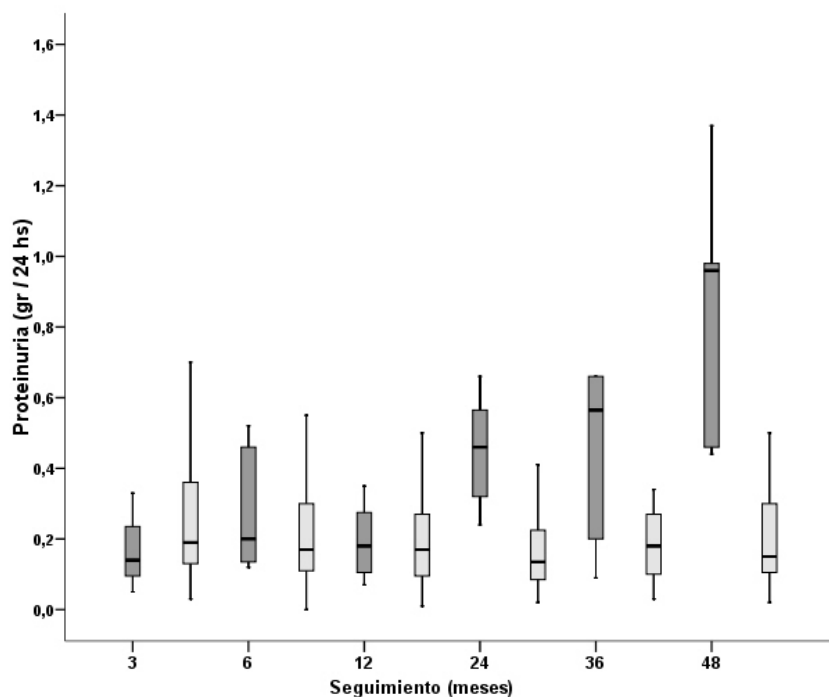
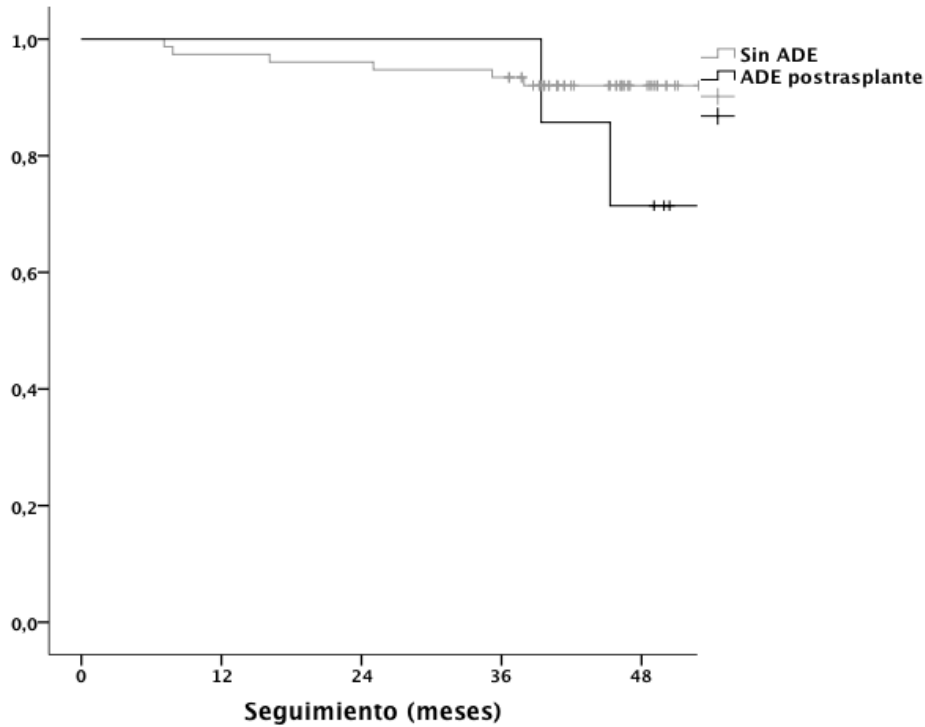


Figura 51. Curva de supervivencia de Kaplan Meier del injerto en la serie prospectiva, sin censurar por la muerte del paciente, análisis comparativo entre pacientes con ADE >1500 MFI postrasplante (n=7, línea negra) y pacientes sin ADE (n=81, línea gris) (Log Rank, p = 0,381).



Meses	0	12	24	36	48
Sin ADE	81	79	78	76	75
n (%)	(100)	(97)	(96)	(93)	(92)
ADE >1500 postrasplante	7	7	7	7	5
n (%)	(100)	(100)	(100)	(100)	(71)

DISCUSIÓN

Presentamos el análisis de dos series de pacientes trasplantados en nuestro centro, la primera es una serie retrospectiva (SR) de pacientes que se trasplantaron desde que se iniciara el programa de trasplante renal en Noviembre del 1996 hasta Noviembre del 2006, fecha en la que se comienza a utilizar la tecnología Luminex de forma rutinaria en la práctica clínica. Sin embargo, no es una serie de trasplantes consecutivos ya que se excluyeron del análisis a aquellos pacientes que no disponían de sueros sanguíneos almacenados para realizar el análisis de AC anti-HLA. La segunda serie prospectiva (SP), más reciente, incluye pacientes trasplantados de forma consecutiva en nuestro centro desde septiembre del año 2009 hasta diciembre del año 2011.

6.1 Características generales de ambas series

Las características demográficas de la población analizada en la SR son similares en términos generales a las descritas en un reciente estudio observacional multicéntrico español que incluyó 2600 receptores de trasplante renal (Morales 2008) La distribución por sexo de los pacientes trasplantados mostró una proporción de varones de casi un 60% en la serie retrospectiva y un 70% en la prospectiva. La edad media de la población en la SR era cercana a los 50 años, y en la SP de 53 años, siendo mayores de 60 años alrededor de un tercio de los receptores en ambas series. La edad media elevada, similar al estudio multicéntrico español (Morales 2008) y más elevada que en estudios previos (Serón 2003), responde a la progresiva ampliación de los criterios de inclusión en lista de espera, que ha permitido la realización de trasplantes en pacientes de mayor edad y con mayor comorbilidad (Legendre 2013). En nuestra Unidad es una práctica habitual intentar adecuar la edad del donante y del receptor (Kwon 2005), de tal modo que ambas presentaron una correlación estadísticamente significativa.

Los receptores mostraron una elevada prevalencia de factores de riesgo cardiovascular en el momento del trasplante, como esta descrito en poblaciones de pacientes con insuficiencia renal crónica candidatos a trasplante renal (Legendre 2013, Hernández 2015), siendo más del 80% de los pacientes hipertensos con un elevado porcentaje de lesión en órgano diana (hipertrofia ventricular izquierda). La prevalencia de la infección por VHC (6% en la SR y 2% en la SP) en ambas series fue similar a otras provenientes de países desarrollados, donde ésta se situó entre 1,8% y 8%, porcentajes inferiores a los observados en las décadas previas derivadas del uso generalizado de agentes eritropoyéticos en los pacientes con insuficiencia renal crónica y consiguiente disminución de las necesidades transfusionales

(Kliem 2008; Santos 2009; Scott 2010). La supervivencia del injerto es menor en pacientes con HVC+, sin embargo no debe considerarse como una contraindicación al trasplante ya que la supervivencia de estos pacientes mejora con respecto a permanecer en diálisis (Baid-Agrawal 2014). La prevalencia de la infección por VHB resultó baja (1%) debido a la generalización de la vacunación de los pacientes con insuficiencia renal crónica.

La distribución de las diferentes etiologías de la insuficiencia renal fue similar en ambas series y similar también a la demostrada por Morales et al (Morales 2008). La principal causa de insuficiencia renal fue la glomerulonefritis, seguida de la poliquistosis renal y causas de origen intersticial y vascular. La nefropatía diabética afectó a una proporción menor de pacientes que en otras series (Morales 2008). La población trasplantada recibió tratamiento sustitutivo renal en su gran mayoría (87% en la SR y 82% en la SP) con hemodiálisis, siendo este análisis previo al inicio del programa de diálisis peritoneal en nuestro centro, el cual se inició en el año 2012. El tiempo medio en diálisis fue cercano a los 4 años en la SR y de 3 años en la SP, similar a otras series de ámbito nacional, (Morales 2008, Fernández-Fresnedo G, 2004). Casi la mitad de los pacientes de la SR habían recibido alguna transfusión sanguínea, mientras que este porcentaje disminuía al 36% en la SP, más reciente. Sigue siendo necesario insistir dentro del colectivo médico y nefrológico sobre las consecuencias derivadas de las transfusiones sanguíneas en pacientes con enfermedad renal crónica aún desde estadios precoces, ante un eventual futuro trasplante renal. La tasa de retrasplantes fue del 6% en la SR y del 9% en la SP, porcentajes aún menores que en el estudio español multicéntrico (16%: Morales 2008) y la proporción de pacientes con sensibilización HLA medida por LCT en torno al 6% en ambas series, también menores a los de otras series publicadas (12,5%: Morales 2008, 24%: Marfo 2014), debido a la relativa juventud de nuestro programa de trasplante iniciado en 1996. El aumento de la sensibilización medida por LCT, aumenta el riesgo de pérdida del injerto según datos del registro americano, así como también la baja compatibilidad HLA (www.ustransplant.org/annual-reports). El porcentaje de pacientes con alguna incompatibilidad DR alcanzó el 91% en la SR y 76% en la SP, mientras que el número promedio de incompatibilidades fue alrededor de 3 en ambas series. Los datos más recientes del estudio colaborativo europeo de trasplante confirman el impacto positivo a largo plazo de la compatibilidad HLA no solamente sobre la supervivencia del injerto y del paciente, también sobre otros factores como la necesidad de dosis menores de inmunosupresores con consiguiente menores efectos secundarios derivados de los mismos, menor porcentaje de fractura de cadera y menor grado de sensibilización HLA

postrasplante (Süsal 2013). El sexo masculino fue menos prevalente entre los donantes de la SP (50% vs 64%), este dato estaría en parte relacionado con el incremento de la edad del donante, en un segmento de edad, más allá de la sexta década de la vida, en que el estado vascular y la función renal están mejor preservados en las mujeres. La edad de los donantes fue mayor entre los pacientes de la SP (48 vs 53 años), así la prevalencia de donantes con criterios expandidos en esta serie también fue mayor (30% vs 45%). La edad del donante fue ligeramente superior a la de los diferentes centros españoles (47 años, Morales 2008) y más elevada que en la pasada década en España (Serón 2003), reflejando la tendencia actual a aceptar donantes con criterios más expandidos ante la carencia progresiva de donantes óptimos. La prevalencia de donantes fallecidos por accidente cerebrovascular resultó cercana al 60% en ambas series, algo mayor que en el estudio español (56%). Este perfil de donante con criterios expandidos presenta un RR de 1,7 de fallo del injerto en el 1º año postrasplante, respecto al donante con criterios estándar, asociándose a una menor supervivencia del injerto a corto plazo (<http://www.optn.org>). Así mismo, los riñones trasplantados de donantes fallecidos por ACV, en comparación con otras causas de muerte, tienen una menor tasa de supervivencia del injerto al año (79% vs 84%, Port 2005). El tiempo medio de isquemia fría (19 horas) fue prácticamente igual a los de otros centros españoles (Morales 2008, <http://www.ont.es>).

En relación al tratamiento inmunosupresor, el uso de ciclosporina y tacrolimus en la SR se repartió al 50%, aunque la utilización de tacrolimus fue aumentando de forma progresiva, siendo del 63% en el estudio multicéntrico español (Morales 2008) y de hasta el 97% en los pacientes incluidos en nuestra SP, en consonancia con la práctica más reciente. El uso de micofenolato mofetilo se mantuvo estable en ambas series, con una participación mínima de inhibidores mTor. Se utilizó terapia de inducción en un 40% de la población trasplantada incluida en la SR (globulinas antilinfocitarias 35%, anti-CD25 14%, OKT3 1%), fundamentalmente en relación con el trasplante procedentes de donantes con criterios expandidos, con elevado riesgo de FRI o en pacientes de alto riesgo inmunológico, porcentaje mayor al 24% referido en otros centros españoles (Morales 2008). Este porcentaje se elevó al 100% en los receptores de la SP, hecho que se explica en parte por el mayor porcentaje de donantes con criterios expandidos en esta serie, y además por la mayor experiencia en la utilización de timoglobulina en dosis reducidas en nuestro centro en los últimos años con buenos resultados (Gavela 2009). La proporción de pacientes que desarrollaron FRI fue de un 35% en ambas series, a pesar del peor perfil de los donantes en la SP. El impacto de la FRI en la evolución a largo plazo han sido motivo de controversia

durante los últimos años (Pallardó 1989, Boom 2000, Yarlalagadda 2010, Gavela 2011). Si bien, experiencias como la de Boom et al. no demostraron una asociación independiente del FRI con la pérdida del injerto (Boom 2000), en estudios posteriores sí se ha podido establecer esta relación (Pascual 2012). De hecho, en un reciente meta-análisis, Yarlalagadda et al demostraron en aquellos pacientes que desarrollaron FRI, un incremento del 14% de la tasa de fallo del injerto renal tras 3,2 años de seguimiento (Yarlalagadda 2010). La incidencia de RA fue de 23% en la SR, superior a la descrita en otras series (14%, Morales 2008), aunque disminuyó a la mitad (11%) en la SP, en relación con el mayor uso de terapias de inducción y a la utilización de tacrolimus como inmunosupresor principal. Más de la mitad de la SR (57%) presentó una función renal subóptima al año del trasplante, medida por la creatinina sérica $\geq 1,5$ mg/dl al año, siendo este porcentaje algo menor (43%) en los pacientes de la serie prospectiva. La proteinuria mayor a 0,5g/24h de forma mantenida durante al menos 3 meses, estuvo presente en un tercio de la SR y en menor porcentaje en la SP (12%), factores ambos que se han relacionados con el fracaso del injerto a medio y largo plazo (Hariharan S 2004, Kasiske 2011, Sancho 2010). El tiempo medio de seguimiento de la SR fue de 119 ± 50 meses, mientras que en la SP fue de 47 ± 12 meses. Se diagnosticó diabetes mellitus postrasplante en un 25% de la SR y en un 17% de la SP, aunque esta diferencia podría estar relacionada con el tiempo de seguimiento más corto en la SP. Los porcentajes son ligeramente superiores a los reportados en la literatura, estimándose la incidencia de diabetes de nueva aparición en otras series extranjeras entre un 9% y 18% (Gosmanov 2012). El 10% de la SR presentó alguna patología cardiovascular grave, resultados similares a los encontrados en el estudio multicéntrico español (Morales 2008), mientras que este porcentaje disminuyó al 6% en la SP. Casi un 30% de los pacientes de la FR fueron diagnosticados de alguna neoplasia (la mitad era cutánea no melanómica), mientras que este porcentaje fue del 15% en la SP. Estos porcentajes son inferiores al de un estudio irlandés donde observan que el 37% de los pacientes presentaron una neoplasia “de novo” postrasplante, aunque en este estudio el seguimiento es más prolongado (McCaughan 2015). Un porcentaje mayor al 70% de la población de ambas series presentaron algún reingreso hospitalario tras el alta del trasplante. La enfermedad por Citomegalovirus estuvo presente en el 11,6% de la serie antigua y en el 12% de la SP. Un estudio multicéntrico español, reporta un 3,6% de enfermedad por CMV a los 12 meses postrasplante ascendiendo al 39% cuando se trataba de infección asintomática (Fernández-Ruiz 2015).

La mitad de los pacientes de la SR y un tercio de los pacientes de la SP fueron biopsiados al menos una vez, tratándose de biopsias precoces en el 30% de los casos de la SR y en el 26% de los pacientes incluidos en la SP. El diagnóstico de RA fue el más prevalente en las biopsias precoces de la SR, presentando una incidencia del 24% en esta serie, mientras que este diagnóstico estuvo presente sólo en el 11% de los pacientes incluidos en la SP. El diagnóstico de RA es muy variable entre las series publicadas en la literatura, situándose en un 14% en el estudio español multicéntrico (Morales 2008).

Dado el mayor uso de fármacos inmunosupresores más potentes como el tacrolimus, se ha conseguido una reducción de la incidencia del rechazo agudo por debajo del 20%, aunque ante el temor a la nefrotoxicidad inherente a los inhibidores de la calcineurina se ha podido abusar de estrategias de minimización de dichos fármacos con el riesgo consiguiente de activación inmune y de rechazo subclínico, favoreciendo el fracaso tardío de causa inmunológica. La nefrotoxicidad por anticalcineurínicos, considerada hasta fechas recientes un componente importante de la patogenia de la DCI (Nankivell et al, 2003), se considera en la actualidad que sería una causa menor de fracaso del injerto (El-Zoghby et al, 2009; Dunn et al, 2011)

El 30% de los pacientes de la SR fueron biopsiados de forma tardía y entre los diagnósticos destaca que casi el 70% presentaba algún grado de IFTA, hallazgos encuadrables en biopsias realizadas en más de la mitad de los casos, más allá de los cuatro años postrasplante.

6.2 Supervivencia del injerto y del paciente de ambas series

La supervivencia del injerto censurada por muerte en la SR fue del 90% a los 5 años ligeramente superior a la descrita en el estudio de Morales et al (Morales 2008), que incluía pacientes trasplantados durante los mismos años con supervivencias del injerto a los 4 años del 85.6%. Esta diferencia podría deberse a que se trata de una serie seleccionada, teniendo en cuenta que entre los pacientes que no se incluyeron en el estudio por no tener muestras serotecadas en el CTCV, habría un porcentaje no despreciable de pérdidas del injerto, lo cual constituiría un sesgo del estudio. La presencia de ADE>1500 pretrasplante, ajustado por la creatinina mayor a 1,5 mg/dl al año del trasplante, se relacionó de forma independiente con el fracaso del injerto, aumentando este riesgo 3 veces más con respecto a los pacientes sin ADE. La causa más frecuente de pérdida del injerto en ambas series fueron la DCI y el éxitus con injerto funcionante, siendo este último el responsable del

45% de las pérdidas del injerto a los tres años en el estudio multicéntrico español (Morales 2008). La supervivencia del injerto de los pacientes de la SP permanece similar en la siguiente década, siendo del 92% a los 3 años.

La supervivencia del paciente en la SR fue del 96% a los 5 años, cifra ligeramente superior a la publicada por el estudio español sobre la nefropatía crónica del trasplante (Morales 2008). En este estudio, la supervivencia del paciente fue del 92% a los 4 años, siendo la patología cardiovascular, la primera causa de muerte del receptor durante el primer año postrasplante. No obstante, no serían cifras comparables debido a las limitaciones de nuestra serie retrospectiva. La supervivencia del paciente en la SP fue del 97,6% a los 3 años del trasplante. Las causas más frecuentes de exitus del receptor en las dos series de nuestro estudio fueron la tumoral, cardiovascular e infecciosa en el mismo orden. Casi un 30% de los pacientes de la SR fueron diagnosticados de algún tipo de tumor, siendo ésta la causa más frecuente de exitus del receptor, si bien en términos absolutos fallecieron por tumor 14 pacientes, es decir el 4,3% de la serie a lo largo de todo el seguimiento. Este dato difiere de lo publicado en algunos estudios donde el diagnóstico de neoplasia aparece en segundo o tercer lugar como causa de muerte del receptor (Morales 2008, Engels 2011), aunque estudios más recientes sitúan a las neoplasias como la primera causa de mortalidad (McCaughan 2015).

En nuestra SR, la edad del receptor fue el factor de riesgo independiente más importante para la muerte del receptor (HR 7,4), al igual que en el estudio multicéntrico español (Morales 2008). Datos recientes del registro australiano, muestran que aunque el trasplante renal mejora la supervivencia con respecto a la diálisis, estos enfermos presentan una elevada mortalidad global con respecto a la población general (<http://www.anzdata.org.au/v1/index.html>). Así, la mortalidad precoz, durante el primer año, representa aproximadamente el 20% de los fracasos del trasplante, mientras que la mortalidad más allá del primer año constituye el 40% de éstas (Hernández 2013).

En un análisis de regresión de Cox, ajustado por la edad del receptor mayor a 60 años, los ADE>1500 MFI pretrasplante presentaron un impacto negativo sobre la supervivencia del receptor (HR 2.4), confirmándose una peor supervivencia del mismo en el análisis de Kaplan Meier, con respecto a los pacientes sin ADE.

6.3 Sensibilización donante específica medida por Luminex en ambas series

La sensibilización HLA tiene un impacto deletéreo sobre el injerto y paciente tanto a corto como a largo plazo que se conoce desde los inicios de la historia del trasplante (Terasaki 2012). Desde que en 1969, Patel y Terasaki publicaron el estudio de referencia que estableció definitivamente el efecto deletéreo de los ADE detectados mediante LCT sobre la supervivencia del injerto, los pacientes sensibilizados presentan resultados inferiores a los no sensibilizados y este fenómeno se observa independientemente de la técnica utilizada para medir los AC anti-HLA, especialmente los donantes específicos (Lefaucher 2008). Desde el trabajo clásico de Patel y Terasaki, los avances tecnológicos han dado lugar a técnicas más sensibles para la detección de ADE, incluyendo la prueba cruzada por citometría de flujo y los más recientes ensayos de fase sólida como el Luminex. La tecnología Luminex, que se utiliza tanto para monitorización pre como postrasplante, permite una determinación exquisita de niveles bajos de AC HLA clase I y II, identificando todas las especificidades HLA (Caro Oleas 2012, Leffell 2010, Süsal 2010). En la SR el porcentaje de sensibilización HLA pretrasplante mediante Luminex fue del doble que la determinada mediante LCT, trasplantándose, sin saberlo de antemano, un 11% de los pacientes en presencia de ADE. Este porcentaje sigue siendo bajo, a pesar de no disponer en ese momento de la tecnología Luminex, debido a que el porcentaje de pacientes retrasplantados en nuestro centro fue bajo y a la política de no trasplantar pacientes con sensibilización media o elevada en presencia de una baja compatibilidad HLA.

El porcentaje de sensibilización HLA pretrasplante en las distintas series, depende principalmente del punto de corte utilizado en la tecnología Luminex. En un estudio americano realizado de forma retrospectiva, en 237 pacientes trasplantados con prueba cruzada negativa por LCT, observan que un 67% de pacientes presentan ADE, este alto porcentaje se debe a que el punto de corte utilizado fue de 100 MFI (Singh 2010). Un exhaustivo estudio francés que analiza de forma retrospectiva la presencia de ADE pretrasplante en la era previa a la tecnología Luminex, incluyó 402 pacientes trasplantados de cadáver entre 1998 y 2006, los autores observaron que el 19% de los pacientes presentaban ADE pretrasplante, aunque también con un punto de corte bajo (MFI 300) (Lefaucheur 2010). Más cercano al punto de corte utilizado en nuestro estudio fue el utilizado por Marfo et al, que incluye 373 pacientes trasplantados de los cuales el 17% presentaban ADE mayor a 1000 MFI (Marfo 2014). Finalmente, un estudio retrospectivo español publicado en 2012, reporta un 13,8% de pacientes con ADE pretrasplante en un

total de 369 pacientes trasplantados con donante cadáver con un punto de corte de 1500 MFI (Caro-Oleas 2012).

En la SP, ya en posesión de la técnica, un 7% (6) de los pacientes se trasplantaron con ADE preexistentes, y de ellos cuatro eran retrasplantados. En uno de estos pacientes el análisis específico de los AC se completó después del trasplante, en tres pacientes estos ADE se interpretaron como negativos, ya que clínicamente se utilizaba en ese momento un punto de corte más elevado (MFI 3000), y en los dos restantes se asumió el riesgo del trasplante en presencia de ADE, con el fin de disminuir el tiempo en lista de espera. Los pacientes con ADE exclusivos por Luminex, en nuestra serie, tenían niveles de MFI más bajos que los detectados por ambas técnicas.

El punto de corte utilizado para el análisis, tanto en la SR como en la SP, fue de 1500 MFI. En el momento del diseño de este estudio, el punto de corte utilizado en nuestro centro era de 3000 MFI, sin embargo pensamos que utilizando este nivel, perderíamos información sensible como la de los pacientes con ADE de baja intensidad. El punto de corte utilizado para definir un ADE como “positivo” varía entre los diferentes centros, no existiendo consenso en la literatura. La mayoría de las publicaciones reportan puntos de corte entre 1500 y 3000 MFI, aunque existe una tendencia actual de disminuir este punto de corte, pudiendo bajar hasta 500 MFI (Niederhaus 2011). Por otro lado, existe controversia sobre la excesiva penalización que ejerce el Luminex sobre los pacientes en lista de espera, al convertir un mayor porcentaje de pacientes en “presensibilizados”. Un estudio alemán reciente reporta hasta un 80% de pacientes sensibilizados mediante Luminex en lista de espera, utilizando puntos de corte bajos (Gombos 2013). También existiría una tendencia a realizar un análisis gradual donde a partir de 500 MFI los ADE serían clínicamente significativos, pero a partir de 3000 es cuando serían más relevantes (Djamali 2013). Cabe destacar, que en nuestro estudio la PC por LCT fue negativa en presencia de ADE con niveles muy elevados (MFI>10000), aunque los niveles elevados se han relacionado en la literatura con la positividad de esta PC (Orandi 2014). Esta situación pone en evidencia la importancia de realizar la PC clásica (LCT) en el momento del trasplante sobre todo en pacientes presensibilizados. En un estudio reciente con más de 10.000 pacientes trasplantados, observaron que los pacientes con ADE pero con PC negativa por LCT y CF presentaban una supervivencia del injerto similar a los pacientes sin ADE (Orandi 2014). Además los niveles de MFI de los pacientes con ADE eran significativamente más altos cuando estos tenían el antecedente de un trasplante previo, poniendo de relevancia el rol del retrasplante como factor de riesgo para el desarrollo de ADE.

6.4 Análisis comparativo de la serie retrospectiva

En nuestra serie se confirma que el sexo femenino (OR 8,2) y la condición de retrasplante (OR 29,5) fueron factores de riesgo independientes para presentar ADE, como en otras publicaciones de la literatura (Marfo 2014, Issa 2008). Los pacientes con ADE recibieron con más frecuencia tratamiento de inducción con timoglobulina al igual que en otras series (Marfo 2014, Singh 2010). Este hecho se asocia a que entre los primeros se encontraban los pacientes previamente conocidos como sensibilizados por LCT, por la misma razón este grupo recibió con mayor frecuencia tacrolimus en lugar de ciclosporina. Es de destacar que no se encontraron diferencias en variables evolutivas como FRI en el postrasplante inmediato o en las cifras de creatinina y proteinuria a pesar del largo período de seguimiento. Similares hallazgos fueron publicados por Marfo et al, donde 66 pacientes con ADE no presentaban diferencias en cuanto a niveles de creatinina sérica o proteinuria comparados con 307 pacientes sin ADE (Marfo 2014). En cambio, en el estudio de Singh et al, observan que los pacientes con ADE pretrasplante ≥ 500 MFI, pero solo de Clase II, presentan peor FG estimado ($\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$) al año (47 vs 54, $p=0,02$) y peor cociente proteína/creatinina en orina ($0,6 \pm 0,0$ vs $0,4 \pm 0,3$, $p=0,03$) (Singh 2010). Más adelante se comentará que los pacientes con ADE >1500 MFI postrasplante (SP) sí que presentaron peores cifras de proteinuria durante el seguimiento.

No encontramos diferencias en cuanto a complicaciones postrasplante como eventos cardiovasculares o neoplasias que podrían influir de forma independiente en la supervivencia del paciente y del injerto. Tampoco existe, en la actualidad, literatura que relacione la presencia de ADE con este tipo de complicaciones postrasplante.

6.4.1 Biopsias de seguimiento

Los pacientes con ADE no fueron más biopsiados que los pacientes sin ADE, un 60% de pacientes con ADE presentó al menos una biopsia frente al 58% de los pacientes sin ADE. Sin embargo, entre los pacientes que sí fueron biopsiados, los que presentaban ADE pretrasplante fueron biopsiados un mayor número de veces y de forma más precoz. La frecuencia de función retrasada del injerto o de RAC no fue distinta entre ambos grupos. Sin embargo, se observó una incidencia de RAH incrementada en 8 veces en el grupo de pacientes con ADE en biopsias realizadas dentro de los primeros 6 meses postrasplante, el 33% de los pacientes con ADE presentó RAH frente al 4% de aquellos sin ADE. No encontramos una mayor tasa de RAH en los pacientes con ADE en las biopsias tardías. El

porcentaje de RAH dependerá en las distintas series de la forma de medir ADE pretrasplante (técnicas, puntos de corte, etc). En el estudio de Marfo et al, el 56% de los pacientes con ADE, un porcentaje similar al de nuestro estudio, fueron biopsiados por indicación clínica, no encontrando diferencias significativas en cuanto a la tasa acumulada de rechazo agudo hasta el año del trasplante (Marfo 2014). Los autores observaban una mayor frecuencia, aunque no significativa, de RAH en el grupo de pacientes con ADE (5% vs 1%, $p=0,07$) con un seguimiento medio de 24 meses, atribuyendo la baja tasa encontrada de RAH a la mayor utilización de Timoglobulina al considerarlos como de alto riesgo inmunológico. En el estudio francés de Lefaucheur et al, con un seguimiento medio de 51 ± 30 meses, observaron un 21% y un 40% de RAH en los pacientes con ADE, según se considerasen en la muestra inmediata pretrasplante o en la muestra histórica pretrasplante de máxima intensidad, respectivamente (Lefaucheur 2010). Los autores demuestran que el riesgo de desarrollar RAH aumenta de forma directamente proporcional al aumento de la intensidad (MFI) de los ADE en las muestras máximas históricas. En un estudio español que incluía 369 pacientes se observó que los pacientes con ADE presentaron un mayor porcentaje de RH, RA celular y rechazo combinado comparado con los pacientes sin ADE ($p<0,001$) (Caro Oleas 2012). El grupo de Djamali va más allá, habiendo publicado recientemente un estudio con un seguimiento medio de 1.8 años, en donde demuestra una menor supervivencia libre de RH a partir de 100 MFI (Singh 2010). Se han diferenciado, en la literatura reciente, dos tipos de RAH dependiendo del momento del diagnóstico. El RAH precoz, que típicamente aparece dentro del primer año postrasplante, en pacientes con ADE pre-existentes (Gloor 2008, Haas 2011, Loupy 2011) y el RAH diagnosticado de forma más tardía, detectado en pacientes de bajo riesgo inmunológico o no sensibilizados, generalmente asociado a la aparición de ADE “de novo” (Sis 2010). Así, el alto porcentaje de RAH observado en las biopsias precoces de nuestro estudio, relacionado con la presencia de ADE pretrasplante, contrasta con los porcentajes más bajos observados cuando la tecnología Luminex se utiliza en el pretrasplante para conseguir una prueba cruzada virtual negativa (Einecke 2009).

Más allá del diagnóstico histopatológico, en la revisión por compartimientos de las laminillas antiguas, encontramos un mayor porcentaje de glomerulitis en el grupo de pacientes con ADE. Casi la mitad de éstos tenían más del 25% de los glomérulos afectados comparado con el 6% de los pacientes sin ADE ($p=0,001$).

La presencia de inflamación glomerular aislada se ha señalado como un indicador precoz de un futuro rechazo en pacientes sensibilizados, aunque no queda claro si estos cambios

representarían el inicio de un proceso de rechazo o simplemente un biomarcador de riesgo inmunológico (Djamali 2013). En un estudio que analiza 234 biopsias realizadas por indicación clínica, se observa que la glomerulitis “per se” es un factor de riesgo independiente para la pérdida del injerto (RR 2.11, 1.39-3.18, $p=0.001$) (Einecke 2009).

La principal causa de fracaso tardío del injerto, juntamente con la muerte del paciente con injerto funcionante, la constituye la pérdida progresiva y gradual de la función renal, acompañada de hipertensión arterial y proteinuria, y en los que el hallazgo histológico más frecuentemente relacionado en la actualidad es el daño en la microcirculación del injerto mediada por AC (Einecke 2009, Mannon 2010). En la SR, cerca de la mitad de los pacientes (41,6%) con ADE biopsiados de forma tardía presentaron criterios histológicos y clínicos de RCH, una diferencia significativa con respecto al 14,5% de los pacientes sin ADE. Al tratarse de un estudio retrospectivo, sin biopsias de protocolo, no podemos asegurar la ausencia de hallazgos compatibles con RCH en los pacientes con ADE no biopsiados. La glomerulopatía del trasplante (GT) es una entidad histológica hallada en los injertos renales que se caracteriza por la presencia de dobles contornos de la membrana basal de los capilares, que aún cuando se diagnostica precozmente, es progresiva y con frecuencia lleva a la pérdida del injerto (Issa 2008). En las laminillas de las biopsias precoces no se analizó la incidencia de GT, por considerarse ésta una lesión crónica, aunque si que hay descritos casos en la literatura de GT en biopsias precoces (Mengel 2012). Por otra parte, en el análisis de las biopsias tardías, se observó un mayor porcentaje GT en los pacientes con ADE. Hasta el 80% de estos pacientes presentaban algún grado de GT, comparado con el 14% de los pacientes sin ADE ($p=0,001$). Un estudio que compara 61 pacientes con GT con el mismo número de controles macheados sin GT, biopsiados en un mismo centro y con un seguimiento máximo de 17 años, demuestra que los ADE “de novo” fueron el único factor de riesgo independiente para el desarrollo de GT, OR 3,8 (IC 95% 1,1-12,9); $p=0,032$ (Eng 2011). Issa et al, publica en un estudio retrospectivo con muestras de 598 pacientes, donde el 39% presentaba ADE pretrasplante, que el riesgo de GT era mayor en los pacientes con ADE (OR 3,5 (1,6-7,4); $p=0,001$) y aumentaba de forma directamente proporcional al aumento de los niveles de AC clase II (Issa 2008). En nuestro estudio no encontramos diferencias en cuanto al hallazgo de IFTA en las biopsias tardías entre ambos grupos de pacientes.

Un dato a destacar es que el 40% de los pacientes con ADE en nuestro estudio no fueron biopsiados en ningún momento del seguimiento postrasplante. En una etapa anterior de nuestro Servicio no estaba protocolizada la realización de biopsias del injerto renal en

pacientes con disfunción crónica y/o pacientes con ADE. Así un paciente con ADE presentó disfunción del injerto siendo diagnosticado de rechazo crónico clínico pero nunca fue biopsiado. En una etapa más actual de nuestro servicio, existe un protocolo de biopsias del injerto por indicación clínica que incluye situaciones como el deterioro de la función del injerto, así como aparición de proteinuria o empeoramiento de la misma.

Sin embargo, 8 (22,8%) pacientes con ADE tenían una función renal del injerto conservada al final del seguimiento. En el estudio de Einecke, los pacientes con ADE en cuyas biopsias no se encontró afectación de la microcirculación (glomerulitis, capilaritis) presentaban una supervivencia del injerto similar a los pacientes no sensibilizados (Einecke 2009), señalando así que no todos los ADE se acompañan de una respuesta inflamatoria en el injerto.

6.4.2 ADE pretrasplante como factor de riesgo para RH

La presencia de ADE pretrasplante >1500 MFI en nuestro estudio, incrementó de manera significativa el riesgo de presentar RAH (OR 6,12, IC 95% 2,0-18,6, $p=0,005$), siendo significativamente menor el tiempo libre de RAH en los pacientes con ADE > 3000 MFI comparado con los pacientes que tenían ADE entre 1500 y 3000 MFI, o pacientes sin ADE. Estos hallazgos coinciden con la literatura reciente, la cual apoya la idea de que cuanto más altos los niveles de los ADE pretrasplante detectados por Luminex, más alto sería el riesgo de desarrollar RAH y por consiguiente, menor la supervivencia del injerto (Mohan 2012). Lefaucheur et al observan que el riesgo de presentar RAH es 100 veces más alto en los pacientes con >3000 MFI comparado con pacientes con ADE menores a 460 MFI (Lefaucheur 2008). Sin embargo, el grupo de Djamali observa que un MFI ≥ 300 para ADE de clase I y MFI ≥ 1000 para ADE de clase II muestran el mejor valor predictivo positivo para predecir un evento de rechazo humoral (Singh 2010). Akalin et al, también observaron un incremento en el riesgo de RH en los pacientes con ADE y MFI más altos, especialmente por encima de 5000 MFI (Akalin 2008, Akalin 2005).

Con respecto a la GT, el retrasplante fue el único factor de riesgo independiente para presentar esta complicación (OR 5,1, IC 95% 1,2-20,7, $p=0,023$). En nuestra serie, no encontramos una relación estadísticamente significativa en el análisis multivariante entre los ADE pretrasplante y la GT, ésta tampoco existía al analizar los distintos niveles de MFI o subclases de AC. Este hecho podría explicarse por el bajo número de biopsias a largo plazo en la serie retrospectiva, debido a que el diagnóstico de RCH se hacía frecuentemente por presunción clínica en el marco de la “nefropatía crónica del injerto”. Numerosos estudios sitúan los ADE, sobre todo los de Clase II, como factor de riesgo para el desarrollo de GT

y por ende RCH (Mengel 2012, Issa 2008, Sis 2007, Gloor 2007). En un estudio australiano que analiza el diagnóstico de GT en las biopsias de 1444 pacientes, observan que en más del 50% de los casos de GT se detectaba ADE y que la presencia de ADE tanto pre como postrasplante se asociaba de forma independiente con el diagnóstico de GT (OR 3,8, IC 95% 1,1-12,9; $p=0,03$) (Eng 2011). Además, en este mismo estudio observan que los pacientes con GT y ADE pretrasplante desarrollan la glomerulopatía más precozmente que los pacientes con GT sin ADE (1,8 años vs 4,3 años, $p=0,049$). Sin embargo, el rechazo tardío mediado por AC se ha relacionado más recientemente con los ADE “de novo” o postrasplante, más que con los ADE preexistentes antes del trasplante (Loupy 2012). Lachman et al demuestran que la incidencia de GT entre 1014 pacientes trasplantados a los cuales se les realiza una determinación de AC anti-HLA postrasplante, era cuatro veces mayor entre los pacientes con dichos AC (72% vs 16%, $p<0,0001$) (Lachman 2009).

6.4.3 Supervivencia del injerto

Mejorar la supervivencia a largo plazo del injerto aún es una asignatura pendiente en el área del trasplante renal. Las pérdidas del injerto debidas a daño inmunológico, agudo o crónico, se consideran entre las barreras más importantes que limitan actualmente la buena evolución del injerto a largo plazo (Djamali 2014). En nuestro estudio, la presencia de ADE pretrasplante se asoció con un riesgo incrementado de pérdida del injerto, aunque esta relación era estadísticamente significativa a partir de ADE > 3000 MFI. Este riesgo se mantenía al analizar por separado ambas clases de AC (I o II). Estos hallazgos son similares a los encontrados en múltiples publicaciones. Süsal et al, en un estudio reciente que incluía 83 pacientes con pérdida del injerto, observaron que los pacientes con ADE>500 MFI pretrasplante presentaban mayor porcentaje de pérdida del injerto (10% vs 1%, $p=0,034$) (Süsal 2015). Un estudio prospectivo canadiense que analizó las pérdidas tardías del injerto en 234 pacientes, observaba que los ADE eran más frecuentes en los injertos que fracasaban (67% vs 38%, $p=0,04$) y que además, en más del 50% de estos presentaban ADE clase II (56% vs 26%, $p=0,02$) (Einecke 2009). En este mismo estudio, el rechazo humoral fue el fenotipo más frecuentemente asociado con los injertos que fallaban con posterioridad.

En nuestra serie, la pérdida del injerto debida a disfunción crónica del injerto fue significativamente más prevalente entre los pacientes con ADE >1500 MFI pretrasplante comparado con aquellos sin ADE (31,4% vs 11,6%, $p=0,005$).

Datos del estudio multicéntrico DEKAF indican que la mayoría de las pérdidas tardías del injerto renal están relacionadas con daño inmunológico y que otras etiologías como la fibrosis idiopática o la nefrotoxicidad inducida por anticalcineurínicos son raramente responsables del fracaso del injerto (El 2009). Sellares et al, publica que el 64% de las pérdidas del injerto en un grupo de 56 pacientes biopsiados antes de retornar a diálisis fueron atribuibles a rechazo humoral, la mayoría con hallazgos de rechazo crónico humoral activo (Sellares 2012). Estos datos cobran relevancia, ante la ya probada evidencia de que el RCH es una de las causas más frecuentes de pérdida tardía del injerto (Einecke 2009, Gaston 2010, Sellarés 2012) y que su tratamiento sólo ha sido modestamente satisfactorio hasta la fecha (Arias 2014). A esto se suma la dificultad en realizar el diagnóstico, ya que hasta en un 25-30% de los casos no se detectan los ADE circulantes o sus niveles son muy bajos (Cosio 2014) y hasta el 70% de las biopsias presentan C4d negativo (Sis 2007).

La supervivencia del injerto en nuestra serie fue significativamente peor en los pacientes con ADE>1500 pretrasplante, tanto a 5 años (76% vs 90%, p=0,000) como a 10 años (60% vs 79%, p=0,000), hallazgo que se mantenía al censurar las muertes con injerto funcionante (74% vs 91,8%, p=0,000 y 65% vs 83,8%, p=0,000). Existen gran cantidad de datos en la literatura que avalan el riesgo incrementado de peor supervivencia del injerto para los pacientes presensibilizados frente a los pacientes que no tienen AC anti-HLA en el momento del trasplante (<http://www.usrds.org/adr.aspx>, Fields 2010, www.unos.org, Vo 2010). Süsal et al demostró en un estudio multicéntrico, que incluyó 5315 pacientes de diferentes países, que los pacientes con AC anti-HLA clase I+II presentaban peor supervivencia a los 2 años comparados con los no sensibilizados (76,5 vs 87,5%, p<0,001) (Süsal 2009). Este estudio tiene dos limitaciones principales, por un lado el hecho de que no especifica si la sensibilización era donante específica y el que ésta se determinara mediante técnicas de ELISA. Sin embargo, la relevancia de este estudio radica en el elevado número de pacientes incluidos y en la observación de que la supervivencia en los sensibilizados mejoraba considerablemente cuando el número de incompatibilidades se reducía a una o ninguna. Lefaucheur et al, observa que la supervivencia del injerto a 8 años era significativamente peor entre los pacientes con ADE preexistentes (61%) comparado con aquellos pacientes sensibilizados sin ADE (84%) o no sensibilizados (93%) (Lefaucheur 2010). Además, los autores publican que la supervivencia del injerto en los pacientes con ADE>3000 MFI era peor que en aquellos pacientes con ADE≤3000 MFI (p<0,0001), sin diferencias en cuanto a las subclases de ADE. En este estudio, el análisis con tecnología Luminex fue realizado de forma retrospectiva con lo cual esta información

no pudo incidir en el tratamiento recibido por los pacientes. En concordancia con los hallazgos de Lechaufeur et al, los pacientes de nuestra serie con ADE >3000 MFI presentaron una peor supervivencia del injerto tanto a 5 como a 10 años, al compararlos con aquellos con ADE<3000 MFI (81% vs 68% y 62% vs 52%, $p<0,001$). Además los pacientes con ADE clase II, de nuestra serie, fueron los que presentaron una peor supervivencia, cercana al 40% a los 10 años, al compararlos con los que tenían ADE preexistentes de clase I o de ambas clases. La supervivencia de los ADE de ambas clases se asemejaba a la supervivencia de los ADE clase II cuando se analizaba sólo los pacientes con ADE > 3000.

Otros estudios encuentran resultados dispares, probablemente porque la existencia de ADE era conocida previamente al trasplante y el tratamiento se hizo en función del riesgo inmunológico. En el estudio de Singh et al, solo encontraban diferencias en la supervivencia del injerto a los 2 años, en los pacientes con ADE >1000 MFI pretrasplante de clase II (75% vs 91,9%, $p=0,055$). Sin embargo, en este estudio los puntos de corte eran muy bajos (100 MFI), no se hace referencia a análisis con puntos de corte mayores a 1000 MFI y además el tratamiento de inducción se realizó según el riesgo inmunológico de los pacientes (Singh 2010). En el estudio prospectivo más reciente de Marfo et al, los pacientes con ADE recibieron una pauta de inducción/desensibilización con Timoglobulina e Inmunoglobulinas intravenosas, no encontrando diferencias en la supervivencia del injerto entre los pacientes con ADE pretrasplante y los pacientes sin ADE (Marfo 2014).

Una observación interesante radica en la existencia de pacientes que trasplantándose con ADE, mantienen una función renal estable y no desarrollan episodios de RH. Existen en la literatura múltiples hipótesis a este respecto, que se trate de diferentes subtipos de IgG (fijadoras o no de complemento), falsos positivos de las técnicas del Luminex, niveles bajos de ADE que no produzcan daño inmunológico y el fenómeno de acomodación ya descrito en el trasplante de órgano sólido (Wiebe 2013). En nuestra serie, al comparar los pacientes con ADE pretrasplante según siguieran funcionando o no, encontramos que los que no funcionaban tenían niveles más altos de MFI, mayor prevalencia de RCH y proteinuria y habían negativizado los ADE en las muestras postrasplante con menor frecuencia. En contraste, Lachman et al, no encuentra diferencias en los niveles de MFI entre los pacientes con ADE, según funcionaran o no (Lachman 2009). Otra observación que podría relacionarse con la existencia de ciertos ADE “benévolos” sería la presencia de ADE de “etiología incierta”, diagnosticados en pacientes varones, que nunca han sido transfundidos

ni trasplantados. Estos se han relacionado con una mejor evolución del injerto (Sicard 2013).

Finalmente, no encontramos relación entre los niveles de MFI y la PC por LCT. Así, 6 pacientes de la SR, que tenían niveles muy altos de ADE (MFI>10.000) presentaron una PC negativa con el donante por LCT. No existe una correlación clara en la literatura acerca de que niveles de MFI se asocian con la positividad de la PC por LCT. Bentall et al (2013), encuentran una pobre correlación tanto para ADE de clase I o II con esta PC ($r^2=0,28-0,24$, respectivamente). Sin embargo DeVos et al, reportan que niveles de MFI por encima de 8000 se asociaban con PC positiva por LCT (DeVos 2014).

6.4.4 Supervivencia del paciente

En nuestra serie, la presencia de ADE>1500 en los sueros pretrasplante se asoció con una peor supervivencia del paciente a partir de los 6 años postrasplante, siendo casi un 10% menor la supervivencia a los 10 años en los pacientes sensibilizados (83% vs 92%, $p=0,009$). No observamos diferencias en cuanto a las causas de muerte del paciente entre ambos grupos. Existen estudios donde no se observan diferencias en cuanto a la supervivencia del paciente, aunque reportan un tiempo de seguimiento medio no tan prolongado como el de nuestra serie (Marfo 2014, Singh 2010, Lefaucheur 2010). En el estudio retrospectivo de Lechaufeur et al, con un seguimiento medio de $51,4 \pm 30$ meses ($r:1-132$), no se observaron diferencias en la supervivencia del paciente al analizar los diferentes niveles de MFI o clases de ADE (Lechaufeur 2010). En el estudio de Singh et al, sólo se observó una peor supervivencia del paciente en los receptores trasplantados con ADE>1000 contra el locus DR-8 (62,5% vs 92%, $p=0,01$) (Singh 2010), aunque nuevamente en este estudio el seguimiento fue corto (1,84 años, R: 0-2,5). Sin embargo, estudios más recientes y con mayor tiempo de seguimiento encuentran una peor supervivencia del receptor. Bentall et al, en un análisis comparativo de pacientes trasplantados con donante vivo, 102 pacientes con PC inicial por LCT positiva, ADE por Luminex y posterior tratamiento de desensibilización y un grupo de 204 pacientes con PC por LCT negativa, todos con un seguimiento mínimo de 5 años postrasplante (Bentall 2013); observó que la supervivencia del receptor a 5 años era menor en los pacientes con ADE (83,5% vs 92,5%, $p=0,01$). En el estudio de Bentall et al, se encuentra una peor supervivencia del paciente que en nuestro estudio, probablemente relacionado con la mayor potencia de los ADE representada por su capacidad de fijar complemento (PC positiva por LCT). A pesar de estos hallazgos, se ha demostrado que la supervivencia del paciente

trasplantado con ADE, es mejor que los pacientes que permanecen en la lista de espera (Montgomery 2011).

6.4.5 Permanencia de ADE en el postrasplante

El 72% de los pacientes con ADE pretrasplante los negativizaron en el período postrasplante, aunque la muestra postrasplante no fue realizada en el mismo momento evolutivo en cada receptor, lo que supone una limitación de nuestro estudio. La intensidad media de los ADE pretrasplante (2700 MFI clase I y 1900 clase II) del grupo de pacientes que los negativizaron fue significativamente menor que la de los que no lo hicieron (6300 clase I y 4900 clase II). Se ha postulado que la negativización de estos AC en el postrasplante podría deberse a la absorción de los ADE por el injerto (Martín 2005) o bien a la fluctuación de sus niveles plasmáticos (Cornell 2008), si bien se ha probado que el tratamiento inmunosupresor de desensibilización, con diferentes esquemas de tratamiento, es efectivo para disminuir sus niveles (Reinsmoen 2008, Vo 2010, Lobashevsky 2013, Bentall 2013). Lobashevsky et al observan que los ADE >10.000 son los que más probabilidad tienen de reaparecer tras el tratamiento de desensibilización (Lobashevsky 2013). En el estudio de Marfo et al, 66 pacientes se trasplantaron con ADE menores a 5000 MFI recibiendo como tratamiento de desensibilización IgIV y rituximab (Marfo 2014). La mitad de estos pacientes negativizaron los ADE a los 3 meses postrasplante y el 62% lo hizo al año del trasplante. Los pacientes que no negativizaron los ADE presentaban mayor porcentaje de RH comparado con los que si lo hacían (30% vs 7%, $p=0,006$). En este sentido, Caro Oleas et al, también observaron una menor incidencia de RH entre los pacientes que negativizaron los ADE comparado con los que tenían ADE persistentes (60% vs 73%) (Caro Oleas 2012). En nuestra serie, la supervivencia del injerto a los 5 y 10 años, de los pacientes que negativizaron los ADE fue mejor que la de los pacientes con ADE persistente postrasplante (94% vs 85% y 74% vs 68%, $p=0,034$) y superponible a la de los pacientes no sensibilizados (90% a los 5 años y 76% a los 10 años). En un estudio reciente, los autores observan que los pacientes con ADE pretrasplante con MFI mayor a 5000 que persistían en las muestras postrasplante, presentaban mayor porcentaje de pérdida del injerto (10% vs 1%, $p=0,034$) (Susal 2015).

6.4.6 ADE “de novo”

Como se comenta en el apartado de introducción, los ADE podrían aparecer hasta en el 30% de los pacientes trasplantados a lo largo de la evolución postrasplante (Hidalgo 2009,

Everly 2013, DeVos 2014, Heilman 2014). Se ha postulado que los ADE “de novo” serían más frecuentemente de clase II, ya que el factor de riesgo más relevante para su aparición sería la incompatibilidad HLA (Wiebe 2012, Everly 2013, Liefeldt 2012). Otros factores de riesgo implicados serían la menor edad del receptor, la mala adherencia al tratamiento inmunosupresor y terapias inmunosupresoras menos potentes (Wiebe 2012).

Entre los 285 pacientes sin ADE pretrasplante de la SR, el 5,5% presento ADE “de novo”, porcentaje más bajo que en otras series publicadas (27%, Cooper 2011; 18% DeVos 2012; 15%, Wiebe 2012). La dificultad para interpretar los estudios sobre ADE “de novo” en la literatura radica en la heterogeneidad para definir la positividad de los ADE en el pretrasplante, (diferentes técnicas utilizadas, distintos puntos de corte de MFI, etc) En este escenario, un ADE pretrasplante podría haberse dado como negativo, y después del trasplante, aparecer de forma precoz debido a una elevación de los títulos gracias a la activación de los linfocitos B de memoria.

Los pacientes con ADE “de novo” en la SR presentaron un mayor porcentaje de RAH comparado con los pacientes que nunca presentaron ADE (15% vs 3%, $p=0,066$). Múltiples estudios han concluido que los ADE “de novo” son un factor de riesgo para RH tardío y pérdida del injerto. Un resultado similar al de este estudio, es publicado por DeVos et al, quienes observan un 16% de RH en los pacientes con ADE “de novo” frente al 0,6 de los pacientes no sensibilizados, $p<0,001$ (DeVos 2014). En este sentido, Heilman et al, observan que el riesgo de RH en pacientes con ADE “de novo” postrasplante >3000 MFI es 100 veces más elevado que en los pacientes con $ADE<3000$ MFI (HR 10,6, IC 95% 2,2-49,5) (Heilman 2014). En un análisis español que incluía 151 pacientes, el 100% de los pacientes con ADE “de novo” que fueron biopsiados, fue diagnosticado de rechazo humoral como causa de la pérdida del injerto (Caro oleas 2012). En nuestra SR, los pacientes con “ADE de novo” presentaron una peor supervivencia del injerto a largo plazo cuando se censuraba por la muerte del paciente.

6.4.7 ADE de “baja intensidad” y “exclusivos” por Luminex

La introducción de la tecnología Luminex para la detección de AC anti-HLA en los pacientes de lista de espera, ha tenido un enorme impacto en la toma de decisiones sobre la selección del donante en pacientes sensibilizados (Roelen 2012). La interpretación de estos resultados se hace todavía más difícil cuando se trata de AC a títulos bajos o que no se detectan por técnicas más tradicionales.

Once pacientes de la SR presentaban ADE de “baja intensidad” definido por niveles de MFI entre 1500 y 3000. La mayoría (82%) de estos pacientes fueron exclusivamente detectados por tecnología Luminex. Existen publicaciones que sitúan a estos ADE como no clínicamente relevantes en presencia de prueba cruzada negativa por LCT (Vlad 2009, Gupta 2008). También se ha publicado una incidencia similar de RH en presencia de estos ADE, independientemente de la fijación de complemento (Honger 2010). En contraste, otros estudios sostienen que los ADE de “baja intensidad” se asocian a un riesgo incrementado de RH (Patel 2007, Amico 2009, Hirai 2012, Sicard 2013). Lefaucher et al publica que el riesgo de RH está aumentado en pacientes con ADE entre 400 y 3000 de MFI (Lefaucher 2010). Asimismo, Singh et al demuestran que a partir de ADE > 100 MFI se incrementa el riesgo de RAH (Singh 2010).

En el análisis de la SR, observamos que los pacientes con bajos títulos de ADE, no presentaron mayor número de biopsias comparado con los pacientes sin ADE, ni tampoco mayor frecuencia en el diagnóstico de RH, RAC o FRI. Hay que destacar que no se trataba de biopsias por protocolo. En el análisis por compartimientos histológicos de las biopsias se observaba mayor porcentaje de daño inmunológico representado como glomerulitis, capilaritis y arteritis en el grupo de pacientes con ADE. Este hecho podría justificar la menor supervivencia del injerto, hallada entre los pacientes con ADE de “baja intensidad”, sobre todo a largo plazo comparada con la supervivencia de los pacientes no sensibilizados (5 años: 82% vs 89%, 10 años: 44% vs 76%, respectivamente, $p=0,015$). Esta diferencia dejaba de ser estadísticamente significativa al censurar por la muerte del paciente, aunque sólo restaban 6 pacientes en el grupo de ADE y la supervivencia seguía siendo clínicamente menor en el grupo de pacientes con ADE. Este aspecto aún produce controversia, sin embargo, existen numerosas publicaciones que apoyan la relación de los ADE a títulos bajos y peores resultados postrasplante (Singh 2010, Lefaucher 2010, Wu 2013). La mayor preocupación actualmente de la comunidad trasplantadora, es encontrar el punto de corte que no penalice en exceso a los pacientes en lista de espera. Un reciente artículo que analiza los costes y beneficios de usar la tecnología Luminex, concluye que el punto de corte de 500 MFI es el que mejor se relaciona con beneficios postrasplante como mejor calidad de vida, menor incidencia de RH y pérdida del injerto (Nguyen 2015). Además, los autores refieren que cuando el punto de corte se eleva a 2000 MFI, es cuando existiría un equilibrio entre un mejor acceso al trasplante del paciente sensibilizado manteniendo los beneficios reportados.

En nuestra serie, veintiún pacientes entre los treinta y cinco con ADE, presentaban ADE sólo detectados por tecnología Luminex. La definición de ADE de “baja intensidad” o títulos bajos se ha ligado en la literatura a la de ADE “exclusivos”, aunque en nuestro análisis, solo el 43% de los ADE “exclusivos” tenían MFI de baja intensidad.

Existe debate en la literatura sobre la relevancia de estos ADE, habiéndose postulado la posibilidad de encontrar ADE exclusivamente detectados por Luminex en donantes de sangre sin historia de eventos sensibilizantes (Morales-Buenrostro 2008). Un estudio diseñado para dar luz a este debate, analiza 534 pacientes de lista de espera en un centro alemán, encontrando que un alto porcentaje (435, 81%) de estos pacientes, presentaban AC anti-HLA medidos por Luminex. Lo destacable era que el 33% de los sensibilizados no tenían en su historial ningún evento sensibilizante, este porcentaje disminuía pero no desaparecía al subir el punto de corte de MFI, encontrándose ADE de hasta 14000 MFI. Los autores caracterizan estos resultados como “falsos positivos” y aconsejan seguir usando las técnicas tradicionales junto con la tecnología Luminex (Gombos 2013). Süsal et al, estudia el rol de estos ADE en 118 pacientes cuyo injerto había fallado y eran negativos mediante las técnicas de LCT y ELISA (Süsal 2011). Los autores no encuentran mayor porcentaje de pérdida del injerto en el grupo de pacientes con ADE exclusivos, incluso al analizar con diferentes puntos de corte (MFI 1000, 2000 y 3000).

Sin embargo existen también publicaciones a favor del rol deletéreo de los ADE “exclusivos”. El reciente metaanálisis de Mohan et al, que incluye 7 estudios de cohorte retrospectivos con más de 1000 pacientes, relaciona a los ADE “exclusivos” con un peor pronóstico para el injerto. Identifica 145 pacientes que se trasplantan con ADE detectados por Luminex pero con PC negativa por LCT y CF (Mohan 2012). Concluye que los pacientes con ADE “exclusivos” casi doblan el riesgo de RH (RR 1.98, 95%IC 1,36-2,89, $p<0,001$) y presentaban un riesgo de pérdida del injerto incrementado en un 76% (RR 1,76, 95% IC 1,13-2,74; $p=0,01$).

En consonancia con el meta-análisis comentado, los pacientes con ADE “exclusivos” en nuestra serie presentaron mayor prevalencia de rechazo humoral (23,8% vs 3,6%, $p<0,001$) y peor supervivencia del injerto (5 años, 71% vs 89%, $p=0,006$) comparado con los pacientes no sensibilizados. Sin embargo, la supervivencia del injerto al censurar por la muerte del receptor, presentaba sólo una tendencia, no significativa a una peor evolución del injerto. Además en el análisis multivariante de Cox, la presencia de ADE “exclusivos” que inicialmente presentaba un riesgo incrementado para el fracaso del injerto, perdía impacto al ajustarlo por la edad del receptor. Poniendo de manifiesto que estos resultados

podrían estar relacionados con la mayor edad del receptor en el grupo de pacientes con ADE “exclusivos”. En este contexto, cuando se analizaba la supervivencia sólo en los receptores menores de 60 años, ésta era significativamente peor en los pacientes con ADE “exclusivos”, no así en los receptores mayores de 60 años.

Es relevante que la supervivencia del injerto a los 5 años fue un 20% menor en los pacientes con ADE “exclusivos” con respecto a los pacientes sin ADE, de este análisis se desprende la observación de que la patogenia de los ADE iría asociada a los niveles crecientes de MFI y no tanto a la técnica con la cual se determinan. La prevalencia de lesiones histológicas asociadas a daño inmunológico (glomerulitis y capilaritis) también era mayor en las biopsias de los pacientes con ADE exclusivos, al igual que en todos los grupos de pacientes con ADE estudiados en esta serie. La supervivencia del paciente a largo plazo fue peor en los pacientes con ADE exclusivamente detectados por Luminex y también en los pacientes con ADE de “baja intensidad”. No existen estudios relevantes en la literatura sobre la mortalidad y ADE exclusivos o de baja intensidad.

A partir de los resultados obtenidos, diseñamos en nuestro Servicio un protocolo de inducción incrementada para permitir el acceso al trasplante a pacientes con niveles bajos de ADE, sobre la base de que una mayor inmunosupresión podría lograr la negativización de los ADE de baja intensidad. Esto nos ha permitido, hasta la fecha trasplantar con éxito a 5 pacientes. Apéndice III.

6.5 Monitorización de ADE postrasplante

El objetivo principal del análisis de la serie prospectiva fue la recolección de muestras postrasplante, estandarizadas en el tiempo, con el fin de estudiar el comportamiento de los ADE durante los dos primeros años posteriores al trasplante. Más del 90% de los pacientes tenían muestras en todos los momentos establecidos en el estudio. Hasta un 30% de los pacientes con sensibilización HLA pretrasplante negativizaron los AC en las determinaciones postrasplante. Los pacientes con ADE previos al trasplante, no los negativizaron en las muestras postrasplante, aunque su intensidad disminuyó, siendo menor el MFI medio en las muestras postrasplante comparadas con las pretrasplante. (3200 MFI, RI 1950-9950 vs 9000 MFI, RI: 4500-15200, $p=0,131$). El tratamiento inmunosupresor jugaría un rol protector en los primeros meses postrasplante, determinando la negativización o disminución de los AC anti-HLA en el postrasplante. En este sentido Heilman et al, observa que hasta el 75% de los pacientes con ADE “de novo” en el

postrasplante precoz, desaparecían al año postrasplante (Heilman 2014). Los pacientes con ADE de la SP recibieron inducción con timoglobulina pero no recibieron tratamiento de desensibilización. Este tratamiento, que puede incluir terapias inmunosupresoras para remover los ADE previos (plasmaféresis o inmunoadsorción), terapias depletivas de linfocitos (alemtuzumab, rituximab, timoglobulina), inmunoglobulinas intravenosas o bortezomib, ha demostrado sobre todo en el trasplante con donante vivo, eficacia en mejorar los resultados del trasplante HLA incompatible (Higgins 2011, Gupta 2008, Willivcombe 2011, Bentall 2013, Tait 2013).

La monitorización de los ADE en el período postrasplante aún no está estandarizada en los diferentes centros, siendo el objetivo en la actualidad, encontrar el equilibrio coste beneficio ante una técnica costosa y de difícil interpretación. Un estudio exquisito publicado por Wiebe et al, analiza los pacientes sin sensibilización HLA previa, descartando aquellos que tuvieran ADE MFI>300 pretrasplante y que además en las biopsias de protocolo a los 6 meses postrasplante no presentaran daño inmunológico. Los autores concluyen que los ADE aparecen tarde postrasplante, ninguno antes de los 6 meses, con una incidencia del 2% en el primer año y una media de aparición a los 4,6 años postrasplante (Wiebe 2012). En concordancia con el estudio de Wiebe et al, en nuestra serie, ningún paciente no sensibilizado previamente de la SP, presentó AC “de novo” hasta la determinación de los doce meses postrasplante. Solo 2 (2,3%) de los pacientes presentaron ADE “de novo” a los 24 meses postrasplante, un paciente era pre-sensibilizado y otro paciente no tenía AC previos al trasplante. En este último se confirmó la mala adherencia al tratamiento inmunosupresor. Según publicaciones recientes, la mala adherencia al tratamiento inmunosupresor llegaría a afectar hasta el 36% de los pacientes trasplantados (Pinsky 2009, Dew 2007), y se correlacionaría de manera potente con la pérdida del injerto, encontrando en las biopsias de pacientes no adherentes un patrón mixto de RH y RAC (Wiebe 2012). En contraste, Everly et al observan un 11% de ADE “de novo” durante el primer año en pacientes sin ADE pretrasplante, aunque si presensibilizados, usando un cut off de 1000 MFI (Everly 2013). En este estudio el porcentaje anual de aparición de ADE fue del 1,3-5%.

La hipótesis más aceptada en la literatura sostiene que los ADE aparecerían antes de la disfunción clínica del injerto, induciendo el daño histológico mediado por AC (Lachman 2006, Lee 2009, DeVos 2012, Ginevri 2012, Everly 2013). Everly et al, demuestra que el 75% de los ADE se detectan antes del RH (Everly 2013). Ginevri et al, en un estudio con población trasplantada pediátrica, publica que los ADE aparecerían 1 año antes del

diagnóstico de RH (Ginevri 2012). En este sentido, tres estudios publicados recientemente, coinciden en que el porcentaje de pérdida del injerto a los 3 años desde la aparición de los ADE medidos por Luminex, sería entre un 20 y un 29% (Wiebe 2012, Everly 2013, Fotheringham 2011). En este contexto, la monitorización de ADE ofrece la oportunidad de intervención precoz desde múltiples enfoques, antes de que el daño crónico e irreversible se establezca. Sin embargo, la monitorización de ADE en el postrasplante aún es materia de debate. Como se comenta en el apartado de la introducción, las últimas guías internacionales publicadas recomiendan la determinación de ADE, para todos los pacientes, por lo menos una vez dentro de los primeros 12 meses postrasplante o toda vez que el paciente se encuentre en riesgo de aparición de ADE (disfunción del injerto, mala adherencia, minimización o cambio de tratamiento, etc) (Tait 2013). Morath et al, revisan las intervenciones clínicas con más impacto para prevenir el desarrollo de rechazo humoral mediado por anticuerpos, siendo una de éstas la monitorización de ADE en el postrasplante (Morath 2012). Ante los hallazgos de nuestra serie, sugerimos que en poblaciones estudiadas con tecnología Luminex, aquellos pacientes sin sensibilización HLA pre-trasplante y en ausencia de situaciones de riesgo como mala adherencia, minimización o cambio de tratamiento, tendrían un riesgo bajo de aparición de ADE dentro de los primeros 24 meses postrasplante, por lo tanto no estaría justificado una monitorización estrecha de ADE. En este punto resulta fundamental, diseñar estrategias destinadas a detectar a los pacientes no adherentes, a los cuales sí que convendría monitorizar con más frecuencia. Así mismo, también estaría justificada la monitorización de ADE más frecuentemente, en el trasplante HLA incompatible dependiendo del riesgo que se asuma en el momento del trasplante y ante cambios de tratamiento inmunosupresor, lo cual podría ayudar en la toma de decisiones. Sería importante monitorizar ADE antes del cambio a terapias basadas en inhibidores m-Tor, dado que existe literatura que señala una mayor prevalencia de aparición de ADE bajo este tratamiento, comparado con anticalcineurínicos (Liefeldt 2012, Ruiz San Millán 2014). A partir de los resultados del presente análisis, diseñamos un protocolo de monitorización de AC para la consulta de trasplante renal que se muestra en el Apéndice IV.

6.6 Análisis comparativo de la sensibilización postrasplante

En siete pacientes de la SP se detectaron ADE postrasplante, de los que seis ya los presentaban en las muestras pretrasplante. Destacando un mayor porcentaje de

retrasplantes (57% vs 5%, $p=0,001$) al compararlos con los pacientes sin ADE, sin hallar diferencias en otras características epidemiológicas. La pérdida de un injerto previo es un conocido factor de riesgo de sensibilización HLA, habiéndose relacionado fundamentalmente con el desarrollo de AC clase II (Wiebe 2014). Según literatura reciente, el seguimiento de nuestra serie no sería suficientemente prolongado como para analizar la verdadera incidencia de ADE postrasplante, habiéndose reportado que el pico de aparición de ADE “de novo” en el postrasplante en pacientes sin sensibilización HLA previa sería alrededor de los 4 años postrasplante (Lefaucheur 2010, Wiebe 2012). Sin embargo, Everly et al observan al año postrasplante, la mayor incidencia de ADE “de novo”, poniendo otra vez de manifiesto la heterogeneidad de estudios y observaciones en este campo del trasplante (Everly 2013). Como factores de riesgo determinantes para la aparición de ADE postrasplante se han señalado la incompatibilidad DR, la falta de adherencia al tratamiento inmunosupresor y eventos de RAC previos a la aparición de ADE (Wiebe 2012, DeVos 2014, Everly 2013). Los pacientes con ADE postrasplante de la SP, presentaban mayores cifras de proteinuria a partir de los 24 meses postrasplante, sin diferencias en la creatinina sérica. Un estudio reciente publicado por nuestro grupo demuestra que el aumento de la proteinuria en el primer año del trasplante se asocia de forma independiente a la sensibilización HLA (Sancho 2015). Casi la mitad de los pacientes con ADE presentaron rechazo humoral frente a un pequeño porcentaje de los pacientes sin ADE (43% vs 5%, $p=0,001$). En este sentido, un estudio reciente diseñado para detectar la incidencia de ADE en el postrasplante, reporta que el riesgo de desarrollar RH era más alto para los pacientes con ADE postrasplante, siendo el HR de 10,6, (IC 95%: 2,2-49,5) para los ADE>3000 MFI (Heilman 2014). Al analizar el daño histológico mediado por AC, observamos que casi la mitad de los pacientes con ADE presentaron glomerulitis (43% vs 8%, $p=0,06$) y capilaritis peritubular (43% vs 16%, $p=0,01$). Este hallazgo coincide con la publicación de Kort et al, donde observan que la inflamación de la microcirculación, definida por glomerulitis y capilaritis peritubular era más frecuente en las biopsias de los pacientes con ADE postrasplante (Kort 2013). Además en el citado estudio, observan que los pacientes con los mayores índices de inflamación, presentaban peor supervivencia del injerto (17% a los 4 años postrasplante). También en el estudio de Heilman et al, observan un mayor porcentaje de glomerulitis e inflamación intersticial en las biopsias de protocolo de los pacientes con ADE postrasplante (Heilman 2014).

El análisis de la SP no fue diseñado para estudiar el impacto de los ADE postrasplante en la supervivencia del injerto, sino para evaluar la estrategia de monitorización de ADE en el

postrasplante a corto plazo en nuestro centro. Sin embargo, observamos que existía una tendencia a una peor supervivencia del injerto, censurada por la muerte del receptor, en el grupo de pacientes con ADE (a partir de los 4 años postrasplante), aunque esta diferencia no fue significativa, probablemente debido al corto seguimiento de la SP. Numerosos estudios han demostrado que los ADE postrasplante, en especial los ADE “de novo” se relacionan con una peor supervivencia del injerto (Campos 2006, Hidalgo 2009, Terasaki 2004). En el año 2007, ya publicaba Terasaki, que la presencia de ADE en el postrasplante se correlacionaba con una peor supervivencia del injerto al año del trasplante (Terasaki 2007). Esta peor supervivencia estaría asociada al daño inmunológico contra el endotelio del glomérulo y los capilares peritubulares, manifestándose en las fases tempranas de forma subclínica (Arias y Rush 2014). La detección del daño inmunológico de forma precoz y antes de que fracase el injerto, daría la oportunidad de cambiar estrategias de inmunosupresión. Además, no disponemos en la actualidad de terapias eficaces contra el rechazo humoral crónico, cobrando mayor importancia la adopción de medidas de prevención como la monitorización de ADE en el postrasplante. No encontramos diferencias significativas en cuanto a la supervivencia del paciente.

6.7 Reflexión final

Actualmente existe evidencia de una importante y creciente mortalidad, sobre todo cardiovascular, entre nuestros pacientes en lista de espera, a medida que pasan los años esperando para poder ser trasplantados, condicionado a menudo por la presencia de sensibilización HLA (Hernández 2015), y por otro lado, literatura a favor de una mejor supervivencia del paciente tras el trasplante renal (Montgomery 2011), aún comparando con técnicas de diálisis más refinadas como la hemodiálisis nocturna (Pauly 2009). Ante esta situación sería deseable lograr un trasplante renal en tiempo y forma en aquellos pacientes sensibilizados, para lo cual será necesario estimar de manera óptima la relevancia clínica de los ADE pretrasplante ante una pareja donante-receptor en concreto. Para esto habría que tener en cuenta el origen de los ADE, prestando especial atención a los que proceden de un trasplante previo; y atendiendo al nivel de MFI de los mismos, asumiendo que éstos deberían ser considerados como un factor de riesgo, variando este riesgo entre ningún riesgo hasta muy alto riesgo o contraindicación para el trasplante (Roelen 2012). Además, cuando la valoración global del receptor aconseja la realización del trasplante debería hacerse adecuando la inmunosupresión, vigilando la aparición de ADE “de novo”

o aumentos de intensidad de ADE previos y manteniendo un seguimiento estrecho de la función renal, incluyendo biopsias del injerto en ausencia de función renal óptima y, mejor aún, de biopsias de protocolo. Por último, para lograr un trasplante con éxito y evitar el efecto de los ADE, se pueden implementar alternativas como programas de “incompatibilidades HLA aceptables” o en el caso de trasplante con donante vivo, programas de donación cruzada.

6.8 Resumen

Nuestras series se caracterizaron por presentar receptores y donantes con una edad media elevada y creciente. Entre los factores de riesgo para desarrollar sensibilización HLA pretrasplante, el porcentaje de pacientes que necesitaron transfusiones sanguíneas fue decreciente en el tiempo, al comparar la SR con la SP; el porcentaje de retrasplantes fue reducido en ambas series comparado con otros centros trasplantadores nacionales, atribuible a la relativa juventud de nuestro programa y el grado de incompatibilidad HLA donante-receptor fue elevado, como cabría esperar tratándose de una población de trasplante exclusivamente con donante cadáver.

El uso de tacrolimus como inmunosupresor principal se incrementó desde el 50% en la SR hasta ser del 97% en la SP, consecuencia de la aceptación de tacrolimus como inmunosupresor más potente que ciclosporina, asociado al cambio de perfil del donante. Por las mismas razones y por la experiencia acumulada de nuestro centro con el uso de timoglobulina en dosis bajas, el tratamiento de inducción alcanzó el 100% de los trasplantes en la SP. Situaciones de riesgo asociadas a peores resultados como la FRI, el RA o la función renal subóptima, mostraron mejores resultados en la SP, probablemente debido a varias razones, entre ellas la experiencia acumulada en nuestra unidad y los cambios en el protocolo inmunosupresor, confirmando las múltiples publicaciones que sostienen que el pronóstico del injerto a corto plazo ha mejorado en los últimos años. Como consecuencia, la incidencia de FRI se mantuvo estable a pesar del peor perfil del donante, el RA disminuyó de manera significativa y la proporción de pacientes con cifras de creatinina subóptimas ($>1,5$ mg/dl) al año del trasplante mejoró con respecto a la SR. La supervivencia del injerto a los 3 años permaneció estable en la siguiente década.

Un 11% de la SR se trasplantó en presencia de ADE >1500 MFI, un resultado más bajo que otras series publicadas, en parte debido al bajo porcentaje de retrasplantes. En la SP, el 7% presentaron ADE pretrasplante. El sexo femenino y el retrasplante, como cabría

esperar, fueron factores de riesgo independientes para presentar ADE pretrasplante al igual que en otras series publicadas. Los pacientes con ADE pretrasplante presentaron una incidencia ocho veces mayor de RAH precoz comparado con los pacientes sin ADE, a pesar de haber recibido más tratamiento con timoglobulina. En este sentido, la presencia de ADE pretrasplante fue un factor de riesgo independiente para el diagnóstico histológico de RAH, en un estadio precoz postrasplante, particularmente con ADE>3000 MFI. En las biopsias tardías, prevaleció el diagnóstico de “rechazo crónico”, siendo diagnosticado de RCH, el 40% de los pacientes con ADE pretrasplante. Casi la mitad de los pacientes con ADE presentaban glomerulitis y un 80% de éstos presentaban glomerulopatía del trasplante en las biopsias realizadas más allá de los 6 meses postrasplante, ambas entidades reconocidas como de mal pronóstico para el injerto. En este contexto, los ADE>3000 MFI pretrasplante representaron un factor de riesgo independiente para la pérdida del injerto, sin encontrar diferencias entre los AC, fueran frente a antígenos de clase I o II.

La supervivencia del injerto en la SR a los 5 y 10 años postrasplante fue peor en los pacientes con ADE>1500. En dicha serie, la supervivencia del injerto fue peor con ADE>3000 MFI y en presencia de ADE clase II, poniendo de manifiesto por un lado, una posible correlación positiva entre mayores niveles de MFI y peor supervivencia del injerto y por otro lado, la importancia de la incompatibilidad DR donante-receptor.

Un alto porcentaje de pacientes con ADE en la SR (72%), negativizaron éstos en las muestras aleatorias postrasplante. La permanencia de los ADE en el postrasplante, se asoció con mayores niveles de MFI en el pretrasplante y peor supervivencia del injerto. En contraste, los pacientes que negativizaron los ADE en el postrasplante mejoraron su pronóstico ya que presentaron una supervivencia del injerto similar a la de los pacientes sin ADE. En este punto, se apoyan los programas que apuestan por terapias de desensibilización con buenos resultados.

Sólo un 5% de los pacientes no sensibilizados en la SR presentó ADE “de novo”, mientras que el porcentaje en la literatura ronda el 20-30% de la población trasplantada, según los tiempos medios de seguimiento. Al igual que los pacientes presensibilizados, los que tenían ADE “de novo” presentaron mayor frecuencia de RH y peor supervivencia del injerto a largo plazo. Por otro lado, existe debate sobre el rol patogénico de los ADE de “baja intensidad” y de los ADE “exclusivamente” detectados por Luminex. En la SR los pacientes con ADE de baja intensidad y “exclusivos” también presentaron peor supervivencia del injerto comparado con los no sensibilizados, aunque esta diferencia desaparecía cuando se censuraba por la muerte del paciente. La supervivencia del injerto en

los pacientes con ADE “exclusivos” fue peor en pacientes menores de 60 años, perdiendo esta diferencia cuando se analizaba aquellos pacientes mayores a 60 años. Los receptores con ADE “exclusivos” presentaron con mayor frecuencia el diagnóstico de RHA, comparado con los no sensibilizados, no siendo así para los pacientes con ADE de “baja intensidad”. Aunque, al analizar los compartimientos histológicos de las biopsias, ambos grupos presentaban mayor porcentaje de glomerulitis y capilaritis peritubular que los pacientes no sensibilizados.

La supervivencia del paciente en la SR fue menor en los pacientes con ADE > 1500 MFI, ADE de “baja intensidad” y ADE “exclusivos” comparado con los no sensibilizados a largo plazo. Esta observación no se aprecia en las series publicadas con seguimientos más cortos aunque ya hay alguna publicación que reporta peor supervivencia con seguimiento a 5 años postrasplante. Sin embargo, la supervivencia del receptor de un trasplante HLA realizado en presencia de ADE, podría ser mejor que la de los pacientes que permanecen en la lista de espera.

Al analizar las muestras periódicas de AC de la SP, observamos que los pacientes sensibilizados negativizaban con frecuencia los AC en el postrasplante, aunque los pacientes con ADE sólo disminuyeron la intensidad de los mismos. Esta observación apoyaría el uso de terapias de desensibilización en casos seleccionados. En cuanto a la monitorización de ADE en la SP, ningún paciente no sensibilizado HLA, presentó ADE “de novo” en los 24 meses postrasplante. En esta fecha un (1%) paciente presentó ADE “de novo”, el cual había incumplido de forma manifiesta el tratamiento inmunosupresor, circunstancia que podría no ser infrecuente en la población trasplantada. En base a estos resultados, creemos que la monitorización de ADE sería una herramienta fundamental en pacientes de riesgo, como presensibilizados o bajo sospecha de no adherencia al tratamiento. Sin embargo no sería tan necesaria, al menos precozmente, en los pacientes no presensibilizados y, en principio, cumplidores. En la SP, los pacientes con ADE postrasplante fueron en su mayoría retrasplantados y presentaron mayor porcentaje de daño inmunológico sobre el injerto, representado como glomerulitis, capilaritis peritubular y mayor porcentaje de RH durante el seguimiento. Múltiples publicaciones avalan la relación entre los ADE postrasplante, RH y por ende, menor supervivencia del injerto. En esta serie no encontramos diferencias significativas en la supervivencia del injerto ni del paciente, hecho probablemente relacionado con el relativo corto seguimiento de la misma.

6.9 Limitaciones del estudio

Nuestro estudio presenta ciertas limitaciones que se detallan según se trate de la serie retrospectiva o prospectiva.

Serie retrospectiva: No se dispuso de muestras serotecadas del 100% de los pacientes trasplantados de forma consecutiva en el período de estudio. Setenta y ocho pacientes no tenían muestras sanguíneas almacenadas en el CTCV, ya que las mismas se habían eliminado antes del comienzo de este estudio. Además, se trata de un estudio retrospectivo de cohortes, con los problemas que esto conlleva en relación a la obtención de datos procedentes de las historias clínicas (Grimes DA, 2002; Pager JK, 2007).

La baja prevalencia de ADE pretrasplante detectada en la serie retrospectiva, condiciona una “n” baja que limita las conclusiones derivadas del daño inmunológico resultante de la sensibilización HLA frente al donante. La ausencia de biopsias de protocolo, tanto en la fase precoz como en estadios avanzados, limita las conclusiones relativas a la incidencia y filiación histológica de las lesiones mediadas por AC anti-HLA específicos frente al donante. En este contexto, 14 pacientes con ADE >1500 MFI pretrasplante, no fueron biopsiados ninguna vez en el seguimiento postrasplante. Además, los resultados de la tinción con C4d de forma retrospectiva no fue satisfactorio, pudiendo valorarse sólo en 28 biopsias, bien por falta de material o bien por problemas técnicos. Otra de las limitaciones de la SR, reside en que no disponíamos de muestras postrasplante de todos los pacientes incluidos en la misma, al no ser esta determinación una práctica de rutina durante los años de seguimiento postrasplante en estos pacientes.

Serie prospectiva: Si bien el seguimiento prospectivo de todos los trasplantes efectuados en el período de dos años permitió valorar adecuadamente la periodicidad de la monitorización de ADE, también en esta serie tuvimos ciertas limitaciones. No disponíamos de biopsias de protocolo para estimar el daño de los pacientes trasplantados con ADE “pretrasplante”. Este hecho ha podido infraestimar la cuantía del daño inmunológico o rechazo humoral subclínico en la población analizada. El corto seguimiento de la misma no permitió valorar adecuadamente resultados como la incidencia de ADE “de novo” o la supervivencia del injerto y del paciente a largo plazo.

A pesar de sus limitaciones, y en el contexto actual, donde existe un amplio debate sobre la interpretación de los ADE y los diferentes aspectos relacionados con la utilización de la tecnología Luminex, nuestro trabajo pretende ser una aportación acerca del verdadero rol patogénico que desempeñan los ADE y la optimización del uso de la tecnología Luminex en el ámbito del trasplante renal.

CONCLUSIONES

La hipótesis de este trabajo se basa en que la presencia de ADE, tanto en el período pretrasplante como postrasplante renal repercute negativamente en la funcionalidad del injerto, pudiendo condicionar la supervivencia del mismo, y que además el reconocimiento de los factores de riesgo para su desarrollo, podría aportar luz sobre la predicción del riesgo inmunológico, la estrategia de inmunosupresión a adoptar y el manejo de dichos pacientes.

Los resultados encontrados nos permiten concluir que:

- En relación al objetivo principal, el trasplante realizado en presencia de ADE con niveles mayores a 1500 MFI se siguió de un incremento del riesgo de fracaso del injerto, más evidente cuando los niveles de ADE eran mayores a 3000 MFI. En contraste, la supervivencia del injerto mejoraba cuando los ADE se negativizaban en el período postrasplante.

- En relación a los objetivos secundarios planteados, podemos concluir que:

1- Encontramos un riesgo incrementado de muerte del receptor en los pacientes con ADE con niveles mayores a 1500 MFI pretrasplante, que fue independiente de la edad del mismo, resultando más evidente a partir de los 6 años postrasplante.

2- El sexo femenino y la condición de retrasplante fueron los factores de riesgo independientes más importantes para el desarrollo de ADE. Además, los niveles de ADE de los pacientes con trasplante previo eran superiores a los niveles de los pacientes con ADE que no habían sido trasplantados, situación que alertaría sobre el peor perfil de los ADE en los primeros.

3- La presencia de ADE pretrasplante fue un factor de riesgo independiente para el diagnóstico de rechazo humoral agudo, siendo la incidencia de esta entidad más alta cuando se trataba de ADE mayores a 3000 MFI. Sin embargo, no encontramos relación entre los ADE y la prevalencia de rechazo humoral crónico, situación que relacionamos con la ausencia de biopsias de protocolo en nuestra serie, y por consiguiente la posibilidad de haber infraestimado este diagnóstico.

4- los ADE de baja intensidad, es decir con niveles entre 1500 y 3000 MFI, se relacionaron con el sexo femenino, no así con el retrasplante. Los trasplantes realizados en presencia de éstos ADE, no presentaron mayor prevalencia de rechazo humoral. Sin embargo, presentaron una supervivencia del injerto intermedia, es decir inferior a la de los trasplantes efectuados en ausencia de ADE y superior a la de los trasplantes efectuados en presencia de ADE con niveles mayores a 3000 MFI.

5- Los trasplantes realizados en presencia de ADE “exclusivos” por Luminex presentaron una mayor incidencia de rechazo humoral agudo y peor supervivencia del injerto, sobre todo en los receptores menores de 60 años.

6- En cuanto a la patocronia de aparición de ADE observamos que los pacientes sin ADE pretrasplante, no presentaron ADE “de novo” en los 24 meses postrasplante. Esta observación avalaría una monitorización menos estrecha de ADE en pacientes de bajo riesgo inmunológico y con buen cumplimiento terapéutico. Por otro lado, en los pacientes con mayor riesgo inmunológico o incumplimiento terapéutico, deberíamos realizar una monitorización de AC más frecuente por el mayor riesgo de presentar ADE postrasplante, que se ha relacionado con una mayor frecuencia de rechazo humoral agudo y peores cifras de proteinuria.

Concluimos finalmente, que los resultados del trasplante renal en presencia de ADE son inferiores a los obtenidos con el trasplante renal sin anticuerpos preexistentes frente al donante. No obstante, ante el perfil menos patogénico de los ADE de baja intensidad y la observación de que la negativización de los mismos en el postrasplante se asocia a mejores resultados, pensamos que la presencia de ADE con niveles menores a 3000 MFI no debería ser una contraindicación para el trasplante, pudiendo beneficiarse de programas de desensibilización o de inducción potente con el objetivo de disminuir los tiempos de espera de los pacientes sensibilizados.

BIBLIOGRAFIA

- Abbas AK, Janeway CA Jr. (2000). Immunology: improving on nature in the twenty-first century. *Cell* 100(1):129-38.
- Adams A, Williams M, Jones T *et al* (2003). Heterologous immunity provides a potent barrier to transplantation tolerance. *J Clin Invest* 111: 1887-95.
- Adeyi O, Girnita A, Howe J *et al.* (2005) Serum analysis after transplant nephrectomy reveals restricted antibody specificity patterns against structurally defined HLA class I mismatches. *Transpl Immunol* 14: 53–62.
- Akalin E, Ames S, Sehgal V *et al.* (2005) Intravenous immunoglobulin and thymoglobulin induction treatment in immunologically high-risk kidney transplant recipients. *Transplantation* 79: 742.
- Akalin E, Bromberg J (2005) Intravenous immunoglobulin induction treatment in flow cytometry cross-match-positive kidney transplant recipients. *Hum Immunol* 66:359.
- Akalin E, Dinavahi R, Friedlander R *et al.* (2008) Addition of plasmapheresis decreases the incidence of acute antibody-mediated rejection in sensitized patients with strong donor-specific antibodies. *Clin J Am Soc Nephrol* 3:1160-7.
- Akalin E, Pascual M (2006) Sensitization after kidney transplantation *Clin J Am Soc Nephrol*. 1 (3): 433-40.
- Alachkar N, Lonze B, Zachary A *et al.* (2012) Infusion of High-Dose Intravenous Immunoglobulin Fails to Lower the Strength of Human Leukocyte Antigen Antibodies in Highly Sensitized Patients. *Transplantation* 94, (2) 27, 165-71.
- Altman DG, Bland JM. (1994) Quartiles, quintiles, centiles, and other quantiles. *BMJ* 15; 309(6960): 996.
- Amico P, Honger G, Mayr M *et al.* (2009) Clinical relevance of pretransplant donor-specific HLA antibodies detected by single-antigen flow-beads. *Transplantation* 87(11): 1681-8.
- Amico P, Honger G, Steiger J, Schaub S (2009) Utility of the virtual crossmatch in solid organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 14 (6): 656-61.
- Arias M, Rush D, Wiebe C *et al.* (2014) Antibody-mediated rejection: analyzing the risk, proposing solutions. *Transplantation* 98 Suppl 3:S3-21.

- Arnold ML, Dechant M, Doxiadis II, Spriewald BM (2008) Prevalence and specificity of immunoglobulin G and immunoglobulin A non-complement-binding anti-HLA alloantibodies in retransplant candidates. *Tissue Antigens* 72 (1): 60-6.
- Arrieta J. (2010) Evaluación económica del tratamiento sustitutivo renal (hemodiálisis, diálisis peritoneal y trasplante) en España. *Nefrología* 1(Supl Ext 1): 37-47.
- Aubert V, Venetz JP, Pantaleo G, Pascual M (2009a) Are all donor-specific antibodies detected by solid-phase assay before transplantation clinically relevant? *Transplantation* 87 (12): 1897-8.
- Aubert V, Venetz JP, Pantaleo G, Pascual M. (2009b) Low levels of human leukocyte antigen donor specific antibodies detected by solid phase assay before transplantation are frequently clinically irrelevant. *Human Immunology* 70 (8): 580-3.
- Baid-Agrawal S, Pascual M, Moradpour D *et al.* (2014) Hepatitis C virus infection and kidney transplantation in 2014: what's new? *Am J Transplant* 14(10): 2206-20.
- Bartel G, Regele H, Wahrmann M *et al.*(2008) Posttransplant HLA alloreactivity in stable kidney transplant recipients-incidences and impact on long-term allograft outcomes. *Am J transplant* 8: 2652-60.
- Bartel G, Wahrmann M, Exner M *et al.*(2008) In vitro detection of C4dfixing HLA alloantibodies: association with capillary C4d deposition in kidney allografts. *Am J Trans* 6: 41.
- Bentall A, Cornell LD, Gloor JM *et al.* (2013) Five-year outcomes in living donor kidney transplants with a positive crossmatch. *Am J Transplant* 13: 76–85.
- Bentall A, Gloor J, Cornell LD *et al.* (2012) Five year outcomes of positive crossmatch kidney transplants: insight into late graft injury. *Am J Transplant* 12: 227.
- Billen EVA, Christiaans MHL, Doxiadis IIN *et al.* (2010) HLA-DP antibodies before and after renal transplantation. *Tissue Antigens* 75: 278.
- Billen EVA, Voorter CEM, Christiaans MHL *et al.* (2008) Luminex donor specific crossmatches. *Tissue Antigens* 71: 507.
- Boom H, Mallat M, de Fijter J *et al.* (2000) Delayed graft function influences, but not survival. *Kidney Int* 58: 859-66
- Brodin-Sartorius A, Sberro-Soussan R, Suberbielle C *et al.* (2012) Is an acceptable mismatch program any better than post-transplant desensitization in donor specific

- HLA antibodies plus kidney transplant patients? *Am J Transplant* 12: 525.
- Burns JM, Cornell LD, Perry DK *et al.* (2008) Alloantibody levels and acute humoral rejection early after positive crossmatch kidney transplantation. *Am J Transplant* 8(12): 2684-94.
 - Burrell BE, Bishop DK. (2010) Th17 cells and transplant acceptance. *Transplantation* 90: 945-8.
 - Cai J, Terasaki PI, Anderson N, Lachmann N, Schönemann C (2009) Intact HLA not beta2m-free heavy chain-specific HLA class I antibodies are predictive of graft failure. *Transplantation* 88: 226-30.
 - Cai J and Terasaki PI. (2010) Induction immunosuppression improves long-term graft and patient outcome in organ transplantation: An analysis of United Network for Organ Sharing Registry Data. *Transplantation* 90: 1511-15.
 - Campos EF, Tedesco-Silva H, Machado PG *et al.* (2006) Post-transplant anti-HLA class II antibodies as risk factor for late kidney allograft failure. *Am J Transplant* 6: 2316–20.
 - Cardarelli F, Pascual M, Tolckoff-Rubin N *et al.* (2005) Prevalence and significance of anti-HLA and donor-specific antibodies long-term after renal transplantation. *Transpl Int* 18: 532-40.
 - Caro-Oleas JL, Gonzalez-Escribano MF, Gonzalez-Roncero FM *et al.* (2012) Clinical relevance of HLA donor-specific antibodies detected by single antigen assay in kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 27 (3): 1231-8.
 - Cecka JM, Kucheryavaya AY, Reinsmoen NL, Leffell MS. (2011) Calculated PRA: initial results show benefits for sensitized patients and a reduction in positive crossmatches. *Am J Transplant* 11 (4): 719-24.
 - Claas FH. (2008) HLA antibody testing: a tool to facilitate not to prevent organ transplantation. *Int J Immunogenet* 35(4-5): 275-7.
 - Claas FH, Doxiadis II. (2009) Human leukocyte antigen antibody detection and kidney allocation within *Eurotransplant*. *Hum Immunol* 70: 636.
 - Claas FH, Witvliet MD, Duquesnoy RJ, Persijn GG, Doxiadis II. (2004) The acceptable mismatch program as a fast tool for highly sensitized patients awaiting a cadaveric kidney transplantation: short waiting time and excellent graft outcome. *Transplantation* 78: 190.
 - Clatworthy M, Watson C, Allison M, Dark J (2012) *Transplantation at a glance*

Chichester: Wiley-Blackwell

- Cornell LD, Smith N, Colvin RB (2008) Kidney transplantation: mechanisms of rejection and acceptance. *Annu Rev Pathol* 3: 189.
- Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA *et al.* (1999) Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* 10: 2208.
- Colvin R (2007) Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis. *J. Am. Soc. Nephrol* 18, 1046–1056.
- Cooper JE, Gralla J, Cagle L *et al.* (2011) Inferior kidney allograft outcomes in patients with de novo donor-specific antibodies are due to acute rejection episodes. *Transplantation* 91: 1103.
- Cosio FG. (2014) Experiencia clínica propia, Exposición sobre el rechazo crónico humoral en la reunión “Detecta”, Madrid.
- Cosio FG, Gloor JM, Sethi S, Stegall MD (2008) Transplant glomerulopathy. *Am J Transplant* 8: 492-496.
- Couzi L, Araujo C, Guidicelli G *et al.* (2011) Interpretation of positive flow cytometric crossmatch in the era of the single antigen bead assay. *Transplantation* 91: 527.
- Crespo, M. (2002) Estudio De La Respuesta Inmune Humoral Post-Trasplante Renal: “Rechazo Agudo Humoral” Tesis doctoral. Barcelona: Universidad de Barcelona.
- Crespo M, Torio A, Mas V *et al.* (2013) Clinical relevance of pretransplant anti-HLA donor-specific antibodies: does C1q-fixation matter? *Transpl Immunol* 29 (1-4): 28-33.
- Denton MD, Magee CC, Sayegh MH (1999) Immunosuppressive strategies in transplantation. *Lancet* 27; 353: 1083-91.
- Devos JM, Gaber AO, Knight RJ *et al.* (2012) Donor-specific HLA-DQ antibodies may contribute to poor graft outcome after renal transplantation. *Kidney Int* 82: 598.
- Devos JM, Gaber AO, Teeter L, *et al.* (2014) Intermediate-Term Graft Loss After Renal Transplantation is Associated With Both Donor-Specific Antibody and Acute Rejection. *Transplantation* 97: 534-540.

- Dew MA, DiMartini AF, De Vito Dabbs A, *et al.* (2007) Rates and risk factors for nonadherence to the medical regimen after adult solid organ transplantation. *Transplantation* 83: 858–873.
- Dierselhuis M, Goulmy E. (2009) The relevance of minor histocompatibility antigens in solid organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplantation* 14: 419-425.
- Djamali D, Kaufman B, Ellis T *et al.* (2014) Diagnosis and Management of Antibody-Mediated Rejection: Current Status and Novel Approaches. *Am J Transplant.* 14: 255–271.
- Dunn TB, Noreen H, Gillingham K *et al.* (2011) Revisiting traditional risk factors for rejection and graft loss after kidney transplantation. *Am J Transplant* 11: 2132.
- Earley MC, Vogt RF Jr, Shapiro HM *et al.* (2002) Report from a workshop on multianalyte microsphere assays. *Cytometry* 50: 239.
- Einecke G, Sis B, Reeve J *et al.* (2009) Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant* 9: 2520-2531.
- El-Zoghby ZM, Stegall MD, Lager DJ *et al.* (2009) Identifying specific causes of kidney allograft loss. *Am J Transplant* 9: 527–535.
- Eng HS, Bennett JG, Chang S *et al.* (2011) Donor human leukocyte antigen specific antibodies predict development and define prognosis in transplant glomerulopathy. *Hum Immunol* 72(5):386-91.
- Eng HS, Bennett JG, Tsiopelas E *et al.* (2008) Anti-HLA donor-specific antibodies detected in positive B-cell crossmatches by Luminex predict late graft loss. *Am J Transplant* 8: 2335.
- Engels EA, Pfeiffer RM, Fraumeni JF Jr *et al.* (2011) Spectrum of cancer risk among US solid organ transplant recipients. *JAMA* 306:1891-901.
- Ercilla M, Martorell J. (2010) Estudio Inmunológico de donante receptor. *Nefrología* 30 (2):60-70.
- Everly MJ, Everly JJ, Arend LJ *et al.* (2009) Reducing de novo donor-specific antibody levels during acute rejection diminishes renal allograft loss. *Am J Transplant* 9: 1063.
- Everly MJ, Rebellato LM, Haisch C *et al.* (2013) Incidence and impact of de novo donor specific alloantibody in primary renal allografts. *Transplantation* 95, 3: 410-417.

- Everly MJ, Rebellato LM, Ozawa M. (2010) Beyond histology: lowering human leukocyte antigen antibody to improve renal allograft survival in acute rejection. *Transplantation* 89 (8): 962-7.
- Famulski KS, Broderick G, Einecke G *et al.* (2007) Transcriptome analysis reveals heterogeneity in the injury response of kidney transplants. *Am J Transplant* 2007; 7: 248
- Fehr T, Gaspert A. (2012) Antibody-mediated kidney allograft rejection: Therapeutic options and their experimental rationale. *Transpl Int* 25: 623–632.
- Fernández Fresnedo G. (2009) Guías SEN: Recomendaciones sobre la vuelta a diálisis del paciente trasplantado. *Nefrología* 29 (1).
- Fernández-Ruiz M, Arias M, Campistol JM *et al.* (2015) Cytomegalovirus prevention strategies in seropositive kidney transplant recipients: an insight into current clinical practice. *Transplant Int*; en prensa.
- Feucht HE, Schneeberger H, Hillebrand G *et al.* (1993) Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss. *Kidney Int* 43: 1333.
- Fields, R. (2010) In Dialysis, Life-Saving Care at Great Risk and Cost. ProPublica [online], <http://www.propublica.org/article/in-dialysis-life-saving-care-at-great-risk-and-cost>
- Fotheringham J, Angel C, Goodwin J *et al.* (2011) Natural history of proteinuria in renal transplant recipients developing de novo human leukocyte antigen antibodies. *Transplantation* 91: 991–996.
- Fuggle SV, Martin S. (2004) Toward performing transplantation in highly sensitized patients. *Transplantation* 78: 186.
- Fuggle SV, Martin S. (2008) Tools for human leukocyte antigen antibody detection and their application to transplanting sensitized patients. *Transplantation* 15;86(3):384-90
- Fuller TC, Fuller AA, Golden M, Rodey GE. (1997) HLA alloantibodies and the mechanism of the antiglobulin-augmented lymphocytotoxicity procedure. *Hum Immunol* 56(1-2):94-105.
- Garovoy MR, Rheinschmidt M, Bigos M *et al.* (1983) Flow cytometry analysis. *Transplant proc* 15: 1939-44.

- Gavela E, Pallardó LM, Sancho A *et al.* (2009) Histological findings of early graft biopsies in old donor renal transplant patients receiving induction therapy. *Transplant Proc.* 41(6):2099-101.
- Gavela E, Pallardó LM, Sancho A *et al.* (2011) Delayed Graft Function After Renal Transplantation: An Unresolved Problem. *Transplantation Proceedings* 43: 2171-2173
- Gaston, RS (2009) Chronic calcineurin inhibitor nephrotoxicity: reflections on an evolving paradigm. *Clin J Am Soc Nephrol* 4, 2029–2034.
- Gaston RS, Cecka JM, Kasiske BL *et al.* (2010) Evidence for antibody-mediated injury as a major determinant of late kidney allograft failure. *Transplantation* 90: 68–74.
- Gebel H, Bray R, Nickerson P. (2003) Pre-transplant assessment of donor- reactive, HLA-specific antibodies in renal transplantation: Contraindication vs risk. *Am J Transplant* 3: 1488.
- Gebel HM, Halloran PF. (2010) Making sense of desensitization. *Am J Transplant* 10: 443.
- Gill J, Landsberg D, Johnston O *et al.* (2010) Screening for de novo anti-human leukocyte antigen antibodies in nonsensitized kidney transplant recipients does not predict acute rejection. *Transplantation* 89 (2): 178-84.
- Ginevri F, Nocera A, Comoli P *et al.* (2012) Posttransplant de novo donorspecific HLA antibodies identify pediatric kidney recipients at risk for late antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 12: 3355–3362.
- Gloor JM, Cosio FG, Rea D *et al.* (2006) Histologic findings one year after positive crossmatch or ABO blood group incompatible living donor kidney transplantation. *Am J Transplant* 6: 1841-47.
- Gloor JM; DeGoey S, Ploeger N *et al.* (2004) Persistence of low levels of alloantibody after desensitization in crossmatch positive living donor kidney transplantation. *Transplantation* 78: 221.
- Gloor J, Sethi S, Stegall M *et al.* (2007) Transplant glomerulopathy: subclinical incidence and association with alloantibody. *Am J Transplant* 7:2124–32.
- Gombos P, Opelz G, Scherer S *et al.* (2013) Influence of Test Technique on Sensitization Status of Patients on the Kidney Transplant Waiting List. *Am J Transplantation* 13: 2075–82.
- Gosmanov AR. (2012) Predicting, managing and preventing new-onset diabetes

- after transplantation. *Minerva Endocrinol.* 37(3): 233-46.
- Gupta A, Iveson V, Varagunam M, Bodger S *et al.* (2008) Pretransplantation donor-specific antibodies in cytotoxic negative crossmatch kidney transplants: Are they relevant? *Transplantation* 85: 200–4.
 - Haas M, Mirocha J. (2011) Early ultrastructural changes in renal allografts: correlation with antibody-mediated rejection and transplant glomerulopathy. *Am. J. Transplant.* 11, 2123-31.
 - Haas M, Montgomery RA, Segev DL *et al.* (2007) Subclinical acute antibody-mediated rejection in positive crossmatch renal allografts. *Am J Transplant* 7: 576–585.
 - Haas M, Rahman MH, Racusen LC *et al.* (2006) C4d and C3d staining in biopsies of ABO- and HLA-incompatible renal allografts: Correlation with histologic findings. *Am J Transplant* 6: 1829–40.
 - Haas M, Sis B, Racusen L *et al.* (2013) Banff Meeting Report: Inclusion of C4d-Negative Antibody-Mediated Rejection and Antibody-Associated Arterial Lesions. *AJT* 14: 272–83.
 - Halloran PF, de Freitas DG, Einecke G *et al.* (2010) An integrated view of molecular changes, histopathology and outcomes in kidney transplants. *Am J Transplant* 10: 2223–30.
 - Halloran PF, Schlaut J, Solez K, Srinivasa NS. (1992) 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.
 - Hara M, Kingsley C, Niimi M *et al.* (2001) IL-10 is required for regulatory T cells to mediate tolerance to alloantigens in vivo. *J Immunol* 166: 3789-96.
 - Hariharan S, Kasiske B, Matas A *et al.* (2004) Surrogate markers for long-term renal allograft survival. *Am J Transplant.* 4(7): 1179-83.
 - Haririan A, Nogueira J, Kukuraga D *et al.* (2009) Positive crossmatch living donor kidney transplantation: longer term outcomes. *Am J Transplant* 9: 536.
 - Heilman RL, Nijim A, Desmarteau Ym *et al.* (2014) De Novo Donor-Specific Human Leukocyte Antigen Antibodies Early After Kidney Transplantation. *Transplantation* 98 (12): 1310-5.
 - Heinemann FM, Roth I, Rebmann V *et al.* (2006) Characterization of anti-HLA antibodies eluted from explanted renal allografts. *Clin Transpl* 371.

- Heinemann FM, Roth I, Rebmann V *et al.* (2007) Immunoglobulinisotype- specific characterization of anti-human leukocyte antigen antibodies eluted from explanted renal allografts. *Hum Immunol* 68: 500–506.
- Hernández D, Moreso F.(2013) ¿Ha mejorado la supervivencia del paciente tras el trasplante renal en la era de la moderna inmunosupresión? *Nefrología* 33(2):171-80.
- Hernando Avendaño L. (2003) “Inmunobiología del trasplante renal”, Bestard O, Martorell J, Cruzado J, Grinyó J. *Nefrología Clínica*. Madrid: Panamericana, capítulo 20.1.
- Hidalgo LG, Campbell PM, Sis B *et al.* (2009) De novo donor-specific antibody at the time of kidney transplant biopsy associates with microvascular pathology and late graft failure. *Am J Transplant* 9(11):2532-41.
- Hirai T, Kohei N, Omoto K, et al (2012). Significance of low level DSA detected by solid-phase assay in association with acute and chronic antibody-mediated rejection. *Transpl Int* 25 (9): 925–934.
- Honger G, Hopfer H, Arnold ML *et al.* (2011) Pretransplant IgG subclasses of donor-specific human leukocyte antigen antibodies and development of antibody-mediated rejection. *Transplantation* 92: 41.
- Honger G, Wahrmann M, Amico P *et al.* (2010) C4d-fixing capability of low-level donorspecific HLA antibodies is not predictive for early antibody-mediated rejection. *Transplantation* 89: 1471.
- Hood B, Olander R, Nagy Z, Bergentz S. (1970) Glomerulopathy in the transplanted kidney. *Scand J Urol Nephrol* 4: 135–42.
- Hourmant M, Cesbron-Gautier A, Terasaki PI *et al.* (2005) Frequency and clinical implications of development of donor-specific and non- donor-specific HLA antibodies after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 16: 2804.
- Issa N, Cosio FG, Gloor JM *et al.* (2008) Transplant glomerulopathy: risk and prognosis related to anti-human leukocyte antigen class II antibody levels. *Transplantation* 86 (5): 681–5.
- Iwaki Y, Cook DJ, Terasaki PI *et al.* (1987) Flow cytometry crossmatching in human cadaver kidney transplantation. *Transplant Proc* 19: 764-6.
- Jackson AM, Lucas DP, Melancon JK *et al.* (2011) Clinical relevance and IgG subclass determination of non-HLA antibodies identified using endothelial cell precursors isolated from donor blood. *Transplantation* 92: 54.

- Jackson AM, Zachary AA. (2008) The problem of transplanting the sensitized patient: Whose problem is it? *Front Biosci* 13: 1396.
- Jeannet M, Pinn VW, Flax MH *et al.* (1970) Humoral antibodies in renal allotransplantation in man. *N Engl J Med* **282**: 111–7.
- Jordan SC, Reinsmoen N, Lai CH, *et al.* (2012) Desensitizing the broadly human leukocyte antigen-sensitized patient awaiting deceased donor kidney transplantation. *Transplant Proc* 44: 60.
- Jordan SC, Vo AA, Peng A *et al.* (2006) Intravenous gammaglobulin (IVIG): a novel approach to improve transplant rates and outcomes in highly HLA-sensitized patients. *Am J Transplant* 6: 459.
- Kanter J, Pallardó LM, Beltrán S *et al.* (2011) Donor-specific HLA antibodies: Risk factors and outcomes after kidney transplantation. *Transplant Proc* 43: 2154-2156.
- Kanter J, Sancho A, Gavela E *et al.* (2012) Pretransplant Donor-Specific HLA Antibodies Detected by Single Antigen Bead Flow Cytometry: Risk Factors and Outcomes After Kidney Transplantation. *Transplant Proc* 44, 2529–2531.
- Kaposztas Z, Podder H, Mauiyyedi S *et al.* (2009) Impact of rituximab therapy for treatment of acute humoral rejection. *Clin Transplant* 23: 63–73.
- Kasiske BL, Skeans MA, Leighton TR *et al.* (2013) OPTN/SRTR 2011 Annual Data Report: international data. *Am J Transplant.* 13 Suppl 1:199-225.
- Kerman R. (2011) Clinical histocompatibility workshop. Punta Cana, Dominican Republic. Canoga Park, Ca: One Lambda Inc.
- Kerman RH, Susskind B, Buelow R *et al.* (1996) Correlation of ELISA- detected IgG and IgA anti-HLA antibodies in pre-transplant sera with renal allograft rejection. *Transplantation* 62: 201.
- Kerman RH, Susskind B, Kerman D *et al.* (1998) Comparison of PRA-STAT, sHLA-EIA, and anti-human globulin-panel reactive antibody to identify alloreactivity in pretransplantation sera of heart transplant recipients: correlation to rejection and posttransplantation coronary artery disease. *J Heart Lung Transplant* **17**: 789–794.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group (2009) KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 9 (Suppl 3): S1–S155.

- Kimball PM, Baker MA, Wagner MB *et al.* (2011) Surveillance of alloantibodies after transplantation identifies the risk of chronic rejection. *Kidney Int* 79: 1131.
- Kissmeyer-Nielsen, F, Olsen T, Patersen V *et al.* (1966) Hiperacute rejection of kidney allografts with preexisting humoral antibodies against donor cells. *Lancet* 1: 662-65.
- Kort H, Willicombe M, Brookes P *et al.* (2013) Microcirculation Inflammation Associates With Outcome in Renal Transplant Patients With De Novo Donor-Specific Antibodies. *Am J Transplant* 13: 485–492.
- Kosmoliaptsis V, Bradley JA, Peacock S, Chaudhry AN, Taylor CJ. (2009) Detection of immunoglobulin G human leukocyte antigen-specific alloantibodies in renal transplant patients using single-antigen-beads is compromised by the presence of immunoglobulin M human leukocyte antigenspecific alloantibodies. *Transplantation* 87: 813.
- Kwon OJ, Kwak JY, Kang CM *et al.* (2005) The impact of gender and age matching for long-term graft survival in living donor renal transplantation. *Transplant Proc* 37(2):726-8.
- Lachmann N, Terasaki PI, Budde K *et al.* (2009) Anti-Human Leukocyte Antigen and Donor-Specific Antibodies Detected by Luminex Posttransplant Serve as Biomarkers for Chronic Rejection of Renal Allografts. *Transplantation* 87: 1505-13.
- Lamb KE, Lodhi S, Meier-Kriesche HU. (2011) Long-term renal allograft survival in the United States: A critical reappraisal. *Am J Transplant* 11: 450–462.
- Lawrence C¹, Willicombe M, Brookes PA *et al.* (2013) Preformed complement-activating low-level donor-specific antibody predicts early antibody-mediated rejection in renal allografts. *Transplantation* 27;95(2):341-6.
- Lederer SR, Schneeberger H, Albert E *et al.* (1996) Early renal graft dysfunction. The role of preformed antibodies to DR- typed lymphoblastoid cell lines. *Transplantation* 61(2):313-9.
- Lee PC, Ozawa M. (2007) Reappraisal of HLA antibody analysis and crossmatching in kidney transplantation. *Clinical Transplants* 219-26
- Lee PC, Terasaki PI, Takemoto SK *et al.* (2002) All chronic rejection failures of kidney transplants were preceded by the development of HLA antibodies. *Transplantation* 74: 1192.

- Lefaucheur C, Suberbielle-Boissel C, Hill GS, et al. (2008) Clinical relevance of preformed HLA donor-specific antibodies in kidney transplantation. *Am J Transplant* 8: 324.
- Lefaucheur C, Loupy A, Hill GS *et al.* (2010) Preexisting donor-specific HLA antibodies predict outcome in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 21: 1398–1406.
- Lefaucheur C, Loupy A, Vernerey D *et al.* (2013) Antibody-mediated vascular rejection of kidney allografts: a population-based study. *Lancet* 26; 381: 313-9.
- Lefaucheur C, Nochy D, Andrade J *et al.* (2009) Comparison of combination plasmapheresis/IVIg/anti-CD20 versus high-dose IVIg in the treatment of antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 9: 1099–1107.
- Leffell MS, Montgomery RA, Zachary AA. (2005) The changing role of antibody testing in transplantation. *Clin Transpl* 259.
- Leffell MS, Zachary AA. (2010a) Anti-allograft antibodies: relevance, detection, and monitoring. *Curr Opin Organ Transplant* 15: 2.
- Leffell MS, Zachary AA. (2010b) Anti-allograft antibodies: some are harmful, some can be overcome, and some may be beneficial. *Discov Med* 9: 478.
- Legendre C, Canaud G, Martínez F (2014) Factors influencing long-term outcome after kidney Transplantation. *Transpl Int.* 27(1): 19-27
- Lesage J, Noël R, Lapointe I *et al.* (2015) Donor-Specific Antibodies, C4d and Their Relationship With the Prognosis of Transplant Glomerulopathy. *Transplantation* 99 (1): 69-76.
- Levey AS, Coresh J, Greene T *et al.* (2007) Expressing the Modification of Diet in Renal Disease Study Equation for Estimating Glomerular Filtration Rate with Standardized Serum Creatinine Values. *Clin Chem* 53(4):766-72.
- Li X, Ishida H, Yamaguchi Y *et al.* (2008) Poor graft outcome in recipients with *de novo* donor-specific anti-HLA antibodies after living related kidney transplantation. *Transpl Int* 21: 1145-52.
- Liefeldt L, Brakemeier S, Glander P *et al.* (2012) Donor-specific HLA antibodies in a cohort comparing everolimus with cyclosporine after kidney Transplantation. *Am J Transplant* 12: 1192-8.
- Lobashevsky A, Higgins N, Rosner K, *et al.* (2013) Analysis of Anti-HLA Antibodies in Sensitized Kidney Transplant Candidates Subjected to

Desensitization with Intravenous Immunoglobulin and Rituximab. *Transplantation* 96: 182-190.

- Lobashevsky A, Rosner K, Goggins W, Higgins N (2010) Subtypes of immunoglobulin (Ig)-G antibodies against donor class II HLA and cross-match results in three kidney transplant candidates. *Transpl Immunol* 23: 81.
- Locke JE, Magro CM, Singer AL *et al.* (2009) The use of antibody to complement protein C5 for salvage treatment of severe antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 9: 231–235.
- Loupy A, Hill G, Jordan S (2012) The impact of donor-specific anti-HLA antibodies on late kidney allograft failure. *Nat. Rev. Nephrol.* 8: 348-357.
- Loupy A, Hill GS, Suberbielle *et al.* (2011) Significance of C4d Banff scores in early protocol biopsies of kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies (DSA). *Am J Transplant* 11(1): 56-65.
- Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D *et al.* (2011) Outcome and therapeutic approaches in acute rejection with vascular lesions and DSAs. *Am J Transplant* 11 (2) 193.
- Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D *et al.* (2013) Complement-Binding Anti-HLA Antibodies and Kidney-Allograft Survival. *NEJM* 369; 13 (26): 1215-26.
- Loupy A, Suberbielle-Boissel C, Hill GS *et al.* (2009) Outcome of subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies. *Am J Transplant* 9: 2561–70.
- Loupy A, Suberbielle_Boisel C, Zuber J *et al.* (2010) Combined posttransplant prophylactic IVIg/anti-CD 20/plasmapheresis in kidney recipients with preformed donor-specific antibodies: a pilot study. *Transplantation* 89, 1403–10.
- Lubetzky ML, Walker JK, Matignon M *et al.* (2011) Evolving therapies for antibody mediated rejection: Is bortezomib better than rituximab? World Congress of Nephrology. Vancouver, Canada: [abstract SA-PO3065].
- Macaluso J, Killackey M, Paramesh A *et al.* (2011) Comparative study of bortezomib therapy for antibody mediated rejection. *Am J Transplant* 11 (2): 160.
- Magee C and Pascual M. (2003) The Growing Problem of Chronic Renal Failure after Transplantation of a Non-renal Organ. *N Engl J Med* 349:994-6.
- Mahoney RJ, Taranto S, Edwards E. (2002) B-cell crossmatching and kidney allograft outcome in 9031 United States transplant recipients. *Hum*

Immunol 63: 324–35.

- Mai ML, Ahsan N, Wadei HM, Genco PV, Geiger XJ, Willingham DL *et al.* (2009) Excellent renal allograft survival in donor-specific antibody positive transplant patients—role of intravenous immunoglobulin and rabbit antithymocyte globulin. *Transplantation* 87: 227–32.
- Mannon R. (2010) Immune monitoring and biomarkers to predict chronic allograft dysfunction. *Kidney International* 78 (Suppl 119), S59–S65.
- Mao Q, Terasaki PI, Cai J *et al.* (2007) Extremely high association between appearance of HLA antibodies and failure of kidney grafts in a five-year longitudinal study. *Am J Transplant* 7: 864–871.
- Marfo K, Ajaimy M, Colovai A *et al.* (2014) Pretransplant Immunologic Risk Assessment of Kidney Transplant Recipients With Donor-Specific Anti-Human Leukocyte Antigen Antibodies *Transplantation* 98 (10): 1082–8.
- Marfo K, Lu A, Ling M *et al.* (2011) Desensitization protocols and their outcomes, *Clin JASN* 6:922.
- Martin L, Guignier F, Bocrine O *et al.* (2005) Detection of anti-HLA antibodies with flow cytometry in needle core biopsies of renal transplants recipients with chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 79: 1459.
- Martin L, Guignier F, Mousson C, Rageot D *et al.* (2003) Detection of donor-specific anti-HLA antibodies with flow cytometry in eluates and sera from renal transplant recipients with chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 76: 395–400.
- Matas, A. J. (2011) Chronic progressive calcineurin nephrotoxicity: an overstated concept. *Am. J. Transplant.* 11, 687–92 .
- Mauiyyedi S, Pelle PD, Saidman S *et al.* (2001) Chronic humoral rejection: identification of antibody-mediated chronic renal allograft rejection by C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* 12: 574.
- McCaughan A, Courtney AE. (2015) The clinical course of kidney transplant recipients after 20 years of graft function. *Am J Transplant.* 15(3):734–40.
- Meier-Kriesche H, Schold JD, Kaplan B. (2004) Long-term renal allograft survival: Have we made significant progress or is it time to rethink our analytic and therapeutic strategies? *Am J Transplant* 4: 1289–95.
- Meier-Kriesche H, Schold JD, Srinivas TR, Kaplan B. (2004) Lack of improvement

in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am J Transplant* 4: 378–83.

- Mengel M, Husain S, Hidalgo L *et al.* (2012) Phenotypes of antibody-mediated rejection in organ transplants. *Transplant International* 25 (2012) 611–622.
- Metzger RA, Delmonico FL, Feng S *et al.* (2003) Expanded criteria donors for kidney transplantation. *Am J Transplant* 3: S114-S125.
- Michaels PJ, Fishbein MC, Colvin RB. (2003) Humoral rejection of human organ transplants. *Springer Semin Immunopathol* 25: 119.
- Mizutani K, Terasaki PI, Shih RN *et al.* (2006) Frequency of MIC antibody in rejected renal transplant patients without HLA antibody. *Hum Immunol* 67: 223-9.
- Mohan S, Palanisamy A, Tsapepas D *et al.* (2012) Donor specific antibodies adversely affect kidney allograft outcomes. *JASN* 23: 2061-2071.
- Montgomery RA, Lonze BE, King KE *et al.* (2011) Desensitization in HLA-incompatible kidney recipients and survival. *N Engl J Med.* 365(4):318-26.
- Morales-Buenrostro LE, Buzo-Romero JM, de Leo C *et al.* (2006) Prevalence of HLA antibodies and its impact on graft function in a group of kidney transplant recipients: A cross-sectional study. *Transplant Proc* 38: 899–902.
- Morales-Buenrostro LE, Terasaki PI, Marino-Vazquez LA *et al.* (2008) “Natural” human leukocyte antigen antibodies found in non-alloimmunized healthy males. *Transplantation* 86: 1111.
- Morales JM, Marcén R, Andrés A *et al.* (2008) Renal transplantation in the modern immunosuppressive era in Spain: four-year results from a multicenter database focus on post-transplant cardiovascular disease. *Kidney International* 74 (Suppl 111), S94–S99.
- Morath C, Zeier M, Susal C. (2011) Desensitization of HLA incompatible kidney recipients. *NEJM* 365, 1644.
- Moreso F, Carrera M, Goma M *et al.* (2012) Early subclinical rejection as a risk factor for late chronic humoral rejection. *Transplantation* 93: 41.
- Mühlberger I, Perco P, Fechete R *et al.* (2009) Biomarkers in renal transplantation ischemia reperfusion injury. *Transplantation* 88: S14-S19.
- Niederhaus S, Muth B, Lorentzen D *et al.* (2011) Luminex-Based Desensitization Protocols: The University of Wisconsin Initial Experience. *Transplantation* 92: 1(15), 12-17.

- Nguyen HT, Lim WH, Craig JC *et al.* (2015) The relative benefits and costs of solid phase bead technology to detect preformed donor specific antihuman leukocyte antigen antibodies in determining suitability for kidney transplantation. *Transplantation* 99(5): 957-64.
- O'Connor J, Guash R, Carretero F. (1994) Flow Cytometry. En: Brando and O'Connor JE, eds. Diagnostic applications of cytofluorimetric methods using monoclonal antibodies. Valencia ESTM: 3-13.
- Ogura Y, Sutterwala FS, Flavell RA. (2006) The inflammasome: First line of the immune response to cell stress. *Cell* 126: 659-66.
- Ojo AO, Hanson JA, Wolfe RA *et al.* (2000) Long-term survival in renal transplant recipients with graft function. *Kidney Int.* 57(1): 307-13.
- Opelz G, Döhler B. (2013) HLA matching and kidney transplantation: beyond graft survival. *Clin Transpl* 121-6.
- Oppenheimer F, Revuelta I, Serra N *et al.* (2010) Trasplante renal ABO incompatible: de un sueño a una realidad. Experiencia del Hospital Clínic de Barcelona. *Nefrología* 30: 54-63.
- Orandi BJ, Garonzik-Wang JM, Massie AB *et al.* (2014) Quantifying the risk of incompatible kidney transplantation: a multicenter study. *Am J Transplant* (7): 1573-80.
- Osawa M, Tersaki PI, Castro R *et al.* (2007) "Prospective Chronic Rejection Project: a three-year follow-up analysis" en 14th International HLA and Immunogenetics Workshop. *Clinical Transplants* 255-60.
- Otten HG, Verhaar MC, Borst HP *et al.* (2012) Pretransplant donor-specific HLA class-I and -II antibodies are associated with an increased risk for kidney graft failure. *Am J Transplant* 12: 1618.
- Pallardó Mateu L. (1989) Trasplante renal: Análisis de los factores pronósticos en la función inicial del injerto en la aparición de rechazo agudo y en la supervivencia del injerto y paciente. Tesis doctoral. Universitat de València, Facultad de Medicina, Valencia.
- Pallet N, Fougeray S, Beaune P *et al.* (2009) Endoplasmic reticulum stress: An unrecognized actor in solid organ transplantation. *Transplantation* 88: 605-613.
- Palomar R, Lopez-Hoyos M, Pastor JM *et al.* (2005) Impact of HLA antibodies on transplant glomerulopathy. *Transplant Proc* 37: 3830-2.

- Pascual J, Alonso A, Burgos D *et al.* (2012) Chronic renal dysfunction in kidney transplant recipients. Consensus Document. Spanish Consensus Group on Renal Dysfunction in Kidney Transplantation Patients. *Nefrología* 32 Suppl 2:1-28.
- Pascual J, Barrios C, Téllez E *et al.* (2011) Rechazo humoral crónico del injerto renal. *Nefrología Sup Ext* 2(5):105-11.
- Pascual, M, Theruvath T, Kawai T *et al.* (2002) Strategies to improve long term Outcomes after renal transplantation. *N Eng J Med* 346: 580-590.
- Patel R, Briggs WA. (1971) Limitation of the lymphocyte cytotoxicity crossmatch test in recipients of kidney transplants having preformed antileukocyte antibodies. *NEJM* 6; 284(18): 1016
- Patel AM, Pancoska C, Mulgaonkar S *et al.* (2007) Renal transplantation in patients with pre-transplant donor-specific antibodies and negative flow cytometry crossmatches. *Am J Transplant* 7: 2371.
- Patel R, Terasaki PI. (1969) Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *NEJM* 280: 735-739.
- Pauly RP, Gill JS, Rose CL, et al. (2009) Survival among nocturnal home haemodialysis patients compared to kidney transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 24: 2915–19.
- Pei R, Lee Jh, Shih NJ *et al.* (2003) Single human leukocyte antigen flow cytometry beads for accurate identification of human leukocyte antigen antibody specificities. *Trasplantation* 75 (1) :43-49.
- Perbos E, Juinier E, Guidicelli G *et al.* (2014) Evolution of donor specific antibodies and incidence of de novo donor specific antibodies in solid organ transplant recipients after switch to everolimus alone or associated with low dose of calcineurin inhibitors. *Clin Transplant.* 9: 1054-60.
- Perry DK, Burns JM, Pollinger HS *et al.* (2009) Proteasome inhibition causes apoptosis of normal human plasma cells preventing alloantibody production. *Am J Transplant* 9: 201.
- Phelan D, Mohanakumar T, Ramachandran S, Jendrisak MD (2009) Living donor renal transplantation in the presence of donor-specific human leukocyte antigen antibody detected by solid-phase assay. *Hum Immunol* 70: 584.
- Piazza A, Poggi E, Ozzella G *et al.* (2006) Post-transplant donor-specific antibody production and graft outcome in kidney transplantation: Results of sixteen-year

- monitoring by flow cytometry. In: Terasaki PI, ed. Clinical transplants. Los Angeles, CA: Terasaki Foundation Laboratory 323–336.
- Pinsky BW, Takemoto SK, Lentine KL *et al.* (2009) Transplant outcomes and economic costs associated with patient noncompliance to immunosuppression. *Am J Transplant* 9: 2597–2606.
 - Ponticelli C, Villa M, Cesana B, et al. (2002) Risk factors for late kidney allograft failure. *Kidney Int* 62 (5):1848-54.
 - Port FK, Dykstra DM, Merion RM *et al.* (2004) Trends and results for organ donation and transplantation in the United States *Am J Transplant.* 5(4 Pt 2):843-9.
 - Puig N. (1995) Aplicación de la citometría de flujo al estudio inmunoserológico del trasplante renal. Tesis doctoral. Valencia: Universidad de Valencia.
 - Racusen LC, Colvin RB, Solez K *et al.* (2003) Antibody-mediated rejection criteria—an addition to the Banff '97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 3:706-714.
 - Racusen LC, Leffell M. (2013) C1q-Binding Antibodies in Kidney Transplantation. *NEJM* 369; 13: 1266-7.
 - Reinsmoen NL, Lai CH, Heidecke H *et al.* (2010) Anti-angiotensin type 1 receptor antibodies associated with antibody mediated rejection in donor HLA antibody negative patients. *Transplantation* 90: 1473.
 - Reinsmoen NL, Nelson K, Zeevi A. (2004) Anti-HLA antibody analysis and crossmatching in heart and lung transplantation. *Transplant Immunol* 13: 63.
 - Roberts DM, Jiang SH, Chadban SJ. (2012) The treatment of acute antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients: A systematic review. *Transplantation* 94: 775–83.
 - Roelen D, Ilias I, Doxiadis N *et al.* (2012) Detection and clinical relevance of donor specific HLA antibodies: a matter of debate. *Transpl Int* 25, 604-10.
 - Ruiz San Millán J, Arias Rodríguez M, Lopez Hoyos M et al. (2010) Inmunobiología del trasplante. Estudios inmunológicos del donante y receptor del trasplante renal. In: Lorenzo sellares V, Lopez Gomez JM, editors. Nefrología al día . 2º edición. Barcelona.
 - Ruiz San Millán JC, López-Hoyos M, Segundo DS. (2014) Predictive factors of allosensitization in renal transplant patients switched from calcineurin to mTOR inhibitors. *Transpl Int.* (8): 847-56.

- Salonen T, Reina T, Oksa H *et al.* (2003) Cost analysis of renal replacement therapies in Finland. *Am J Kidney Dis.* 42(6): 1228-38.
- Sancho A. (2010) Incidencia, factores de riesgo y significado pronóstico de la proteinuria en el trasplante renal. Valor predictivo de la proteinuria precoz sobre la función renal y las supervivencias del injerto y del paciente. Tesis doctoral. Valencia: Universidad de Valencia.
- Sancho A, Gavela E, Kanter J *et al.* (2015) Prognostic significance of creeping proteinuria in the first year after transplantation. *Transplantation*, en prensa.
- Schaub S, Scornik J. (2008) High-Tech Detection of HLA Antibodies and Complement: Prospects and Limitations. *Am J Transplant* 8: 5–6.
- Schnaidt M, Weinstock C, Jurisic M *et al.* (2011) HLA antibody specification using single- antigen beads—a technical solution for the prozone effect. *Transplantation* 92: 510.
- Schönemann C, Groth J, Leverenz S, May G. (1998) HLA class I and class II antibodies. Monitoring before and after kidney transplantation and their clinical relevance. *Transplantation* 65 (11): 1519.
- Scornik JC, LeFor WM, Cicciarelli JC *et al.* (1992) Hyperacute and acute kidney graft rejection due to antibodies against B cells. *Transplantation* 54(1): 61-4.
- Sellarés J, De Freitas D, Mengel M *et al.* (2012) Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant* 12: 388–399
- Serón D, Moreso F. (2011) Disfunción crónica tardía del trasplante renal. <http://nefrologiadigital.revistanefrologia.com>, capítulo 105.
- Sicard A, Amrouche L, Suberbielle C (2014) Outcome of kidney transplantations performed with preformed donor-specific antibodies of unknown etiology. *Am J Transplant* 14 (1): 193-201.
- Sijpkens Y, Joosten S, Wong M *et al.* (2004) Immunologic risk factors and glomerular C4d deposits in chronic transplant glomerulopathy. *Kidney Int* 65: 2409–18.
- Singh N, Djamali A, Lorentzen D *et al.* (2010) Pretransplant donor-specific antibodies detected by single-antigen bead flow cytometry are associated with inferior kidney transplant outcomes. *Transplantation* 90 (10) 1079-84.

- Sis B, Campbell P, Mueller T et al. (2007) Transplant glomerulopathy, late antibody-mediated rejection and the ABCD tetrad in kidney allograft biopsies for cause. *Am J Transplant* 7: 1743–52.
- Sis, B. Einecke G, Chang J et al. (2010) Cluster analysis of lesions in nonselected kidney transplant biopsies: microcirculation changes, tubulointerstitial inflammation and scarring. *Am. J. Transplant.* 10, 421–430
- Sis B, Halloran P. F. (2010) Endothelial transcripts uncover a previously unknown phenotype: C4d-negative antibody-mediated rejection. *Curr. Opin. Organ Transplant* 15, 42–48.
- Sis B, Jhangri GS, Bunnag S et al. (2009) Endothelial gene expression in kidney transplants with alloantibody indicates antibody-mediated damage despite lack of C4d staining. *Am J Transplant.* 9(10): 2312-23.
- Sis B, Mengel M, Haas M et al. (2010) Banff'09 Meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff Working groups. *Am J Transplant* 10: 464–471.
- Smith RN, Malik F, Goes N et al. (2012) Partial therapeutic response to rituximab for the treatment of chronic alloantibody mediated rejection of kidney allografts. *Transpl Immunol* 27: 107–113.
- Snanoudj, R. Royal V, Elie C et al. (2011) Specificity of histological markers of long-term CNI nephrotoxicity in kidney transplant recipients under low-dose cyclosporine therapy. *Am. J. Transplant.* 11, 2635–2646.
- Solez K, Colvin R, Racusen L et al. (2007) Banff '05 Meeting Report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy (“CAN”). *Am J Transplant* 7: 518–26.
- Solgi G, Furst D, Mytilineos J, et al. (2012) Clinical relevance of pre and post-transplant immune markers in kidney allograft recipients: anti-HLA and MICA antibodies and serum levels of sCD30 and sMICA. *Transpl Immunol* 26: 81.
- Souillou JP, Peyrat MA, Guenel J. (1978) Association between treatment-resistant kidney-allograft rejections and post-transplant appearance of antibodies to donor B-lymphocyte alloantigens. *Lancet* 1: 354–356.
- Stastny P, Ring S, Lu C et al. (2009) Role of immunoglobulin (Ig)-G and IgM antibodies against donor human leukocyte antigens in organ transplant recipients. *Hum Immunol* 70(8): 600-4.

- Suberbielle C, Legendre C, Chkoff N et al. (1996) Anti-HLA sensitization after renal transplant excision: A retrospective study in 84 patients. *Transplant Proc* 28: 2814.
- Sumitran-Holgersson S. (2001) HLA-specific alloantibodies and renal graft outcome. *Nephrol Dial Transplant*. 16(5): 897-904.
- Sumitran-Holgersson S, Wilczek HE, Holgersson J *et al.* (2002) Identification of the nonclassical HLA molecules, MICA, as targets for humoral immunity associated with irreversible rejection of kidney allografts. *Transplantation* 27: 268.
- Süsal C, Dohler B, Opelz G. (2009) Presensitized kidney graft recipients with HLA class I and II antibodies are at increased risk for graft failure: A Collaborative Transplant Study report. *Human Immunology* 70: 569–573.
- Süsal C, Mahmoud K, Ovens J *et al.* (2010) Are additional antibodies detected by Luminex single antigen testing clinically relevant? A Collaborative Transplant Study report. *Transpl Int* 23: 36.
- Süsal C, Opelz G. (2002) Kidney graft failure and presensitization against HLA class I and class II antigens. *Transplantation* 73: 1269–73.
- Süsal C, Opelz G. (2013) Current role of HLA matching in organ transplantation. *Curr Opin Organ Transpl* 18:438-444.
- Süsal C, Ovens J, Mahmoud K *et al.* (2011) No association of Kidney Graft Loss with Human Leukocyte Antigen Antibodies Detected Exclusively by Sensitive Luminex Single-Antigen Testing: A Collaborative Transplant Study Report *Transplantation* 2011; 91: 883-87.
- Süsal C, Wettstein D, Dohler B *et al.* (2015) Association of Kidney Graft Loss With De Novo Produced Donor-Specific and Non-Donor-Specific HLA Antibodies Detected by Single Antigen Testing. *Transplantation* Feb 12, en prensa.
- Tait BD. (2009) Solid phase assays for HLA antibody detection in clinical transplantation. *Curr Opin Immunol* 21(5): 573-7.
- Tait BD, Süsal C, Gebel HM. (2013) Consensus Guidelines on the Testing and Clinical Management Issues Associated With HLA and Non-HLA Antibodies in Transplantation. *Transplantation* 95 (1): 15, 19-47.
- Takemoto S, Port FK, Claas FH *et al.* (2004) HLA matching for kidney transplantation. *Hum Immunol* 65 (12): 1489-1505.
- Takemoto SK, Zeevi A, Feng S, et al. (2004) National conference to assess

- antibody-mediated rejection in solid organ transplantation. *Am J Transplant* 4: 1033.
- Taylor C, Kosmoliaptsis V, Sharples L *et al.* (2010) Ten-year experience of selective omission of the pretransplant crossmatch test in deceased donor kidney transplantation. *Transplantation* 27; 89(2):185-93.
 - Taylor CJ, Kosmoliaptsis V, Summers DM *et al.* (2009) Back to the future: application of contemporary technology to long-standing questions about the clinical relevance of HLA-specific alloantibodies in renal transplantation. *Hum Immunol* 70: 563.
 - Terasaka S, Kitada H, Okabe Y *et al.* (2014) Living-donor kidney transplant in T-cell and B-cell flow cytometry crossmatch-positive patients. *Exp Clin Transplant* 12(3): 227-32.
 - Terasaki PI (2003) Humoral Theory of transplantation. *Am J Transplant* 3(6): 665-673.
 - Terasaki PI (2012) A personal perspective: 100-year history of the humoral theory of transplantation. *Transplantation* 27; 93(8): 751-6.
 - Terasaki PI, Cai J. (2008) Human leukocyte antigen antibodies and chronic rejection: from association to causation. *Transplantation* 86: 377.
 - Terasaki PI, Osawa M. (2004) Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant* 4: 448.
 - Terasaki PI, Osawa M, Castro R. (2007) Four-year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies on kidney graft survival. *Am J Transplant* 7: 408-15.
 - Terasaki PI, Ozawa M. (2005) Predictive value of HLA antibodies and serum creatinine in chronic rejection: Results of a 2-year prospective trial. *Transplantation* 80: 1194–1197.
 - Terasaki, P, Mizutani K. (2006) Antibody mediated rejection: update. *Clin J Am Soc Nephrol* 1: 400-403.
 - Ting A. (1983) The lymphocytotoxic crossmatch test in clinical renal transplantation. *Transplantation* 35: 403-7.
 - United Network for Organ Sharing [online], www.unos.org (2011).
 - United States Renal Data System. USRDS (2010) Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States [online], <http://www.usrds.org/adr.aspx>

- USRDS (2002) USRDS 2001 Annual Data Report: NHI and NIDDK, Bethesda, MD.
- Van den Berg-Loonen EM, Billen EV, Voorter CE *et al.* (2008) Clinical relevance of pretransplantation donor-directed antibodies detected by single antigen beads in highly sensitized renal transplant patients. *Transplantation* 85: 1086–90.
- Van Timmeren M, Lems S, Hepkema B, Bakker S. (2009) Anti-human leukocyte antigen antibodies and development of graft failure after renal transplantation. *Transplantation* 88 (12) 1399-1401.
- Vincenti F, Larsen FC, Durrbach A *et al.* (2005) Costimulation Blockade with Belatacept in Renal Transplantation. Costimulation Blockade with Belatacept in Renal Transplantation. *N Engl J Med*; 353: 770-781.
- Vlad G, Ho EK, Vasilescu ER *et al.* (2009) Relevance of different antibody detection methods for the prediction of antibody-mediated rejection and deceased-donor kidney allograft survival. *Hum Immunol* 70: 589–594.
- Vo AA, Peng A, Toyoda M *et al.* (2010) Use of intravenous immune globulin and rituximab for desensitization of highly HLA-sensitized patients awaiting kidney transplantation. *Transplantation* 89: 1095.
- Wahrmann M, Bartel G, Exner M *et al.* (2009) Clinical relevance of preformed C4d-fixing and non-C4d-fixing HLA single antigen reactivity in renal allograft recipients. *Transpl Int* 22: 982.
- Wahrmann M, Exner M, Schillinger M *et al.* (2006) Pivotal role of complement-fixing HLA alloantibodies in presensitized kidney allograft recipients. *Am J Transplant* 6: 1033.
- Waiser J, Schutz M, Liefeldt L. (2010) Treatment of antibody-mediated renal allograft rejection with bortezomib or rituximab. *Am J Transplant* 10 (Suppl 4, Abstract #1504): 466.
- Waterboer T, Sehr P, Pawlita M. (2006) Suppression of non-specific binding in serological Luminex assays. *J Immunol Methods* 309: 200.
- Wavamunno M, O’Connell P, Vitalone M *et al.* (2007) Transplant glomerulopathy: ultrastructural abnormalities occur early in longitudinal analysis of protocol biopsies. *Am J Transplant* 7: 2757–68.


- Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD *et al.* (2012) Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant* 12: 1157.
- Wiebe C, Nickerson P. (2013) Posttransplant monitoring of de-novo human leukocyte antigen donor specific antibodies in kidney transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* 470-7.
- Wiebe C, Nickerson P. (2014) Acceptable mismatching at the class II epitope level: the Canadian experience. *Curr Opin Organ Transplant.* (4):442-6.
- Win TS, Pettigrew GJ (2010) Humoral autoimmunity and transplant vasculopathy: When allo is not enough. *Transplantation* 90: 113-120.
- Wolfe RA, Sabih VB, Milford EL *et al.* (1999) Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 341: 1725-30.
- Wood KJ, Sakaguchi S. (2003) Regulatory T cells in transplantation tolerance. *Nature Immunol Rev* 3: 199-210.
- Worthington JE, Martin S, Al-Husseini DM *et al.* (2003) Posttransplantation production of donor HLA-specific antibodies as a predictor of renal transplant outcome. *Transplantation* 75: 1034.
- Worthington JE, Thomas AA, Dyer PA, Martin S. (1998) Detection of HLA-specific antibodies by PRA-STAT and their association with transplant outcome. *Transplantation* 65 (1):121.
- Wu P, Jin J, Everly M *et al.* (2013) Impact of alloantibody strength in crossmatch negative DSA positive kidney transplantation. *Clin Biochem.* 46(15): 1389-93.
- Yabu JM, Higgins JP, Chen G (2011) C1q-fixing human leukocyte antigen antibodies are specific for predicting transplant glomerulopathy and late graft failure after kidney transplantation. *Transplantation* 91: 342.
- Zhang Q, Liang LW, Gjertson DW *et al.* (2005) Development of posttransplant antidonor HLA antibodies is associated with acute humoral rejection and early graft dysfunction. *Transplantation* 79(5): 591-8.
- Zhang Q, Reed EF. (2010) Non-MHC antigenic targets of the humoral immune response in transplantation. *Curr Opin Immunol* 22: 682.
- Zou Y, Heinemann FM, Grosse-Wilde H *et al.* (2006) Detection of anti-MICA antibodies in patients awaiting kidney transplantation, during the post-transplant

course, and in eluates from rejected kidney allografts by Luminex flow cytometry. *Hum Immunol* 67(3): 230-7.

- Zou Y, Stastny P, Süsal C, *et al.* (2007) Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N Engl J Med* 357: 1293.

APÉNDICES

Apéndice I: Clasificación de Banff revisada en 2009.



Nombre Hospital
Dirección Hospital
Población Hospital
Teléfono Hospital

PROTOCOLO diagnóstico: TRASPLANTE RENAL-BANFF 09

0010	<input type="checkbox"/>	1.Glomeruloesclerosis	
0020	<input type="checkbox"/>	Número de glomérulos #633 NUMERO#	
0030	<input type="checkbox"/>	Número con esclerosis global #632 NUMERO#	
0730	<input type="checkbox"/>	Esclerosis segmentaria #83 Esclerosis segmentaria#	
0040	<input type="checkbox"/>	2.Tubulitis (t)	
0190	<input type="checkbox"/>	t0 ausencia de células inflamatorias mononucleadas en los túbulos	
0260	<input type="checkbox"/>	t1 foco de 1 a 4 células/sección tubular o 10 células tubulares	
0270	<input type="checkbox"/>	t2 foco con 5 a 10 células /sección tubular	
0280	<input type="checkbox"/>	t3 foco con > 10 células/sección tubular, o presencia de al menos dos áreas de destrucción de la membrana basal tubular	
0050	<input type="checkbox"/>	3.Glomerulitis	(g)
0060	<input type="checkbox"/>	g0 ausencia de glomerulitis	
0070	<input type="checkbox"/>	g1 glomerulitis en menos del 25% de glomérulos	
0080	<input type="checkbox"/>	g2 glomerulitis segmentaria o global en 25 al 75% de glomérulos	
0090	<input type="checkbox"/>	g3 glomerulitis (mayormente global) en más del 75% de glomérulos	
0100	<input type="checkbox"/>	4a.Inflamación intersticial (i) (en parénquima no fibrótico-no atrofico-no subcapsular-no perivascular)	
0110	<input type="checkbox"/>	i0 ausente o insignificante inflamación (<10%)	
0120	<input type="checkbox"/>	i1 10 al 25% del parénquima con infiltración inflamatoria	
0130	<input type="checkbox"/>	i2 26 al 50% del parénquima con infiltración inflamatoria	
0140	<input type="checkbox"/>	i3 > 50% del parénquima con infiltración inflamatoria	
0150	<input type="checkbox"/>	(marcar si presentes):	
0170	<input type="checkbox"/>	Eosinófilos	
0600	<input type="checkbox"/>	Neutrófilos	
0180	<input type="checkbox"/>	4b.Inflamación intersticial total (ti)	
0850	<input type="checkbox"/>	ti0 <10% del parénquima	
0860	<input type="checkbox"/>	ti1 10-25% del parénquima	
0980	<input type="checkbox"/>	ti2 26-50% del parénquima	
0990	<input type="checkbox"/>	ti3 >50% del parénquima	
0160	<input type="checkbox"/>	Capilaritis peritubular	
1030	<input type="checkbox"/>	ptc0 CPT no significativa o <10%	
1040	<input type="checkbox"/>	ptc1 >10% de Capilares peritubulares CPT en cortex con capilaritis, <4 células inflamatorias por capilar	
1050	<input type="checkbox"/>	ptc2 >10% de CPT, 5-10 células inflamatorias por capilar	
1060	<input type="checkbox"/>	ptc3 >10% de CPT, >10 células inflamatorias por capilar	

Nº de Registros: 126

Fecha de Impresión: 09/06/2015 12:56:40

Página 1 de 4



PROTOCOLO diagnóstico: TRASPLANTE RENAL-BANFF 09

0200	5.Arteritis	intimal	(v)	
0210	v0 ausencia de arteritis			
0220	v1 leve a moderada arteritis intimal en al menos la sección de una arteria			
0230	v2 severa arteritis intimal con al menos el 25% de pérdida del área luminal en al menos la sección de una arteria			
0240	v3 cambio fibrinoide arterial y/o arteritis transmural con necrosis del músculo liso de la media con inflamación linfoc			
0250	No valorable			
0290	6.Hialina	arteriolar	(ah)	
0300	ah0 ausencia de engrosamiento hialino PAS-positivo			
0310	ah1 engrosamiento hialino no circunferencial en una arteriola			
0320	ah2 engrosamiento hialino no circunferencial en más de una arteriola			
0330	ah3 engrosamiento hialino con afectación circunferencial			
0350	7a.Glomerulopatía	del	transplante	(cg)
0360	cg0 ausencia de glomerulopatía, dobles contornos <10% de asas capilares periféricas de glomérulos más severamente afecta			
0370	cg1 dobles contornos afectando hasta el 25% de asas capilares periféricas de la mayor parte de glomérulos afectados no			
0380	cg2 dobles contornos afectando entre 26 y 50% de asas capilares periféricas en la mayor parte de glomérulos no esclerót			
0390	cg3 dobles contornos afectando a mas del 50% de asas capilares periféricas en la mayor parte de glomérulos afectados no			
0400	7b. Aumento de matriz mesangial	(mm)		
0410	mm0 no aumento de matriz mesangial			
0420	mm1 hasta un 25% de glomérulos no escleróticos afectados			
0430	mm2 26-50% de glomérulos no escleróticos afectados (al menos moderado aumento de matriz)			
0440	mm3 >50% de glomérulos no escleróticos afectados (al menos moderado aumento de matriz)			
0450	8.Fibrosis intersticial (i)			
0460	fi0 fibrosis intersticial hasta el 5% del área cortical			
0470	fi1 leve fibrosis intersticial del 6 al 25% del área cortical			
0480	fi2 moderada fibrosis intersticial del 26 al 50% del área cortical			
0490	fi3 severa fibrosis intersticial de >50% del área corti			
0500	9.Atrofia	tubular	(t)	
0510	at0 ausencia de atrofia tubular			



PROTOCOLO diagnóstico: TRASPLANTE RENAL-BANFF 09

0520	<input type="checkbox"/> at1 atrofia tubular hasta el 25% del área cortical de túbulos	
0530	<input type="checkbox"/> at2 atrofia tubular afectando del 26 al 50% del área cortical de túbulos	
0540	<input type="checkbox"/> at3 atrofia tubular de >50% del área cortical de túbulos	
0550	<input type="checkbox"/> 10.Fibrosis vascular intimal (fv)	
0560	<input type="checkbox"/> v0 ausencia de cambios vasculares crónicos	
0570	<input type="checkbox"/> fv1 estenosis vascular de hasta el 25% de la luz por engrosamiento fibrointimal de arterias +/- roturas de la elástica	
0580	<input type="checkbox"/> fv2 aumento de severidad de los cambios anteriores con un 26 al 50% de estenosis de la luz vascular por engrosamiento f	
0590	<input type="checkbox"/> fv3 severos cambios vasculares con >50% de estenosis de la luz vascular luz por engrosamiento fibrointimal de arterias	
0610	<input type="checkbox"/> 11. Otros hallazgos:	
0620	<input type="checkbox"/> 12.Categorías diagnósticas (marcar tantas como sea apropiado):	
0630	<input type="checkbox"/> Normal	
0640	<input type="checkbox"/> Rechazo mediado por anticuerpos	F44261
0340	<input type="checkbox"/> C4d+ sin cambios morfológicos de Rechazo Activo	
0740	<input type="checkbox"/> C4d+ con evidencia de lesión tisular aguda	
1000	<input type="checkbox"/> Grado I inflamación mínima tipo Necrosis Tubular Aguda	
1010	<input type="checkbox"/> Grado II Capilaritis peritubular, glomerulitis y/o trombosis	
1020	<input type="checkbox"/> Grado III Arteritis	
1120	<input type="checkbox"/> Rechazo crónico mediado por anticuerpos (c4d+ con cg>0 y/o FI-AT y/o fv>0)	F44250
0650	<input type="checkbox"/> Cambio borderline (i0-1, t0-3, v0) o (i2-3, t1, v0)	F44100
0660	<input type="checkbox"/> Rechazo agudo mediado por Células T	F44110
0670	<input type="checkbox"/> IA Casos con infiltrado intersticial significativo (i2-3) y tubulitis moderada (t2)	F44110
0680	<input type="checkbox"/> IB Casos con infiltrado intersticial significativo (i2-3) y tubulitis severa (t3)	F44110
0690	<input type="checkbox"/> IIA Casos con arteritis leve-moderada (v1)	F44261
0700	<input type="checkbox"/> IIB Casos con arteritis severa que afecta>25% de la luz (v2)	F44261
0710	<input type="checkbox"/> III Casos con arteritis transmural y/o necrosis fibrinoide con infiltrado linfoide (v3)	F44261
1070	<input type="checkbox"/> Rechazo crónico activo mediado por células T	F44200
1080	<input type="checkbox"/> Arteriopatía crónica del trasplante (fibrosis subintimal con infiltrado mononuclear en la fibrosis)	
0720	<input type="checkbox"/> Fibrosis intersticial y Atrofia Tubular	F44200
0750	<input type="checkbox"/> I Leve (afecta <25% de área cortical)	
0770	<input type="checkbox"/> II Moderada (afecta 26-50% del área cortical)	
0790	<input type="checkbox"/> III Severa (afecta >50% del área cortical)	
0820	<input type="checkbox"/> Vacuolización tubular y/o miocitaria. Cambios asociados a fármacos.	



Nombre Hospital
Dirección Hospital
Población Hospital
Teléfono Hospital

PROTOCOLO diagnóstico: TRASPLANTE RENAL-BANFF 09

0830	☒ Necrosis	tubular	aguda.	M53150
0840	☒ Enfermedad del donante			
0870	☒ Enfermedad glomerular del receptor (especificar):			
0880	☒ Injuria		subcapsular	
0890	☒ Pielonefritis			
0900	☒ Nefropatía por Polioma Virus			E35700
1090	☒ Estadio A Cambios precoces sin necrosis epitelial tubular			
1100	☒ Estadio B Nefropatía activa con cambios citopáticos epiteliales			
1110	☒ Estadio C Cambios esclerosantes tardío			
0910	☒ Obstrucción. Reflujo			
0920	☒ Trombosis vascular (especificar)			M35100
0930	☒ Miscelánea (especificar):			
0940	☒ PAS, Tricrómico, Plata-metenamina - Cambios de la MBG:			
0950	☒ 13. Inmunofluorescencia			
0960	☒ C4d:			
0760	☒ C4d0: Negativo			
0780	☒ C4d1: positivo mínimo (<10% de CPT en corteza)			
0800	☒ C4d2: positivo focal (10-50%)			
0810	☒ C4d3: positivo difuso (>50%)			
0970	☒ Otros:			

Apéndice II: Valoración anatomopatológica de los injertos renales preimplante.

- a) Glomérulos esclerosados:
 - (0) ausencia
 - (1) 0-10%
 - (2) 11-20%
 - (3) + 20%
- b) Glomérulos con fibrosis capsular:
 - (0) ausencia
 - (1) 0-15%
 - (2) 16-40%
 - (3) + 40%
- c) Glomérulos quistificados:
 - (0) ausencia
 - (1) 0-15%
 - (2) 16-40%
 - (3) + 40%
- d) Arteriopatía hialina:
 - (0) ausencia
 - (1) Presencia de hialina sin oclusión patente de luces en menor de 50% de las arteriolas
 - (2) Presencia de hialina sin oclusión patente de luces entre 50-100% de las arteriolas o con oclusión de luces en menos del 25% de las arteriolas
 - (3) Presencia de hialina sin oclusión patente de luces entre 50-100% de las arteriolas
- e) Elastosis miointimal:
 - (0) ausencia
 - (1) Engrosamiento intimal con reducción entre el 0-20% de la luz arterial
 - (2) Engrosamiento intimal con reducción entre el 20-50% de la luz arterial
 - (3) Engrosamiento intimal con reducción de más del 50% de la luz arterial
- f) Atrofia tubular y cilindros:
 - (0) ausencia
 - (1) Atrofia afectando a menos de 4 campos por cada 20 de 40x escogidos al azar y/o muy ocasionales cilindros
 - (2) Atrofia afectando entre 4-10 campos por cada 20 de 40x escogidos al azar y/o al menos 1 cilindro por campo de 40x
 - (3) Atrofia afectando a más del 50% de 10 campos de 40x y/o presencia de cilindros patentes en todos los campos.
- g) Fibrosis intersticial:
 - (0) ausencia
 - (1) Fibrosis afectando a menos de 3 campos por cada 20 de 40x escogidos al azar
 - (2) Fibrosis afectando entre 3-8 campos por cada 20 de 40x
 - (3) Fibrosis afectando a más de 8 campos entre 20 de 40x

Total:...../21**

*Para deslindarla de la atrofia tubular se valorará la presencia de áreas desprovistas de al menos el 50% de los túbulos que normalmente deberían estar presentes en las mismas.

** <5, riñón óptimo. 5-8, receptor añoso. 9-12, posible trasplante doble. > 12 riñón no apto.

Apéndice III: Protocolo de facilitación del acceso al trasplante a pacientes con alto riesgo inmunológico.

-Ante cualquier alerta de trasplante cadáver, NO sería criterio de exclusión para ser incluido en las pruebas cruzadas por linfocitotoxicidad a aquellos pacientes sensibilizados que cumplan con las siguientes condiciones:

- 1-Pacientes con ADE detectados por Luminex con una intensidad entre 1500 y 3000 MFI.
- 2-Pacientes re-trasplantados en los cuales estos ADE no estuvieran dirigidos contra los antígenos del donante previo.
- 3-Exigencia mínima de una compatibilidad HLA-DR con el donante.

Estos pacientes recibirán un tratamiento de inducción de mayor potencia inmunosupresora como el siguiente (ver tabla abajo):

Prequirófano: Tacrolimus 0.1 mg/kg + Micofenolato 1 gramo .-

Quirófano: 6-Metilprednisolona: 500 mg en bolo IV + 1ª dosis de timoglobulina (1,25 mg/kg).-

A partir del día +1:

Timoglobulina: 1,25 mg/kg, Plasmaféresis: recambios plasmáticos del 110% del volumen plasmático con seroalbumina 5%. -

Postplasmaféresis: IVIG 0.5 gr/kg.-

Refuerzos de IVIG : 1g/kg.-

Rituximab: 375 mg/m² (monitorizar CD19, CD20 a la semana para valorar indicación de la dosis del día +8).-

Biopsia renal: según evolución entre la 2º y 4º semana postrasplante.

Días postx	+0	Q	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7	+8	+9	+10	+11	+30
Tac+MMF	X													
6MP		X												
PF					X		X		X					
IgIV					X		X		X			2X	2X	2X
Timo		X	X	X		X		X			X		X	
RTX			X							X				
BX												X		

*Q: quirófano, +Tac: tacrolimus, MMF: micofenolato mofetilo, 6MP: 6-metilprednisolona, PF: plasmaféresis, IgIV: inmunoglobulinas intravenosas, Timo: timoglobulina, RTX: rituximab, BX: biopsia del injerto renal.

Apéndice IV: Protocolo de monitorización de AC anti-HLA mediante Luminex en el período postrasplante, según riesgo inmunológico.

En el 1º año postrasplante

1. **Muy alto: determinación en 1º, 3º, 6º y 12º mes**

PRA máximo por linfocitotoxicidad >75%,

PC histórica positiva

2º trasplante con pérdida del injerto x causa inmunológica dentro del primer año

ADE pretrasplante

2. **Alto: 3º, 6º y 12º mes**

AC anti-HLA no ADE por Luminex

PRA máximo por linfocitotoxicidad <75%

2º trasplante

3. **Moderado: 6º y 12º mes**

Politransfundido

Múltiparas (≥ 2 embarazos)

Ninguna compatibilidad DR

4. **Bajo : 12º mes**

1º trasplante

No sensibilización HLA

No transfusiones

Después del 1º año postrasplante

1. **Muy alto:** cada 6 meses hasta el 2º año, luego anual

2. **Alto-moderado-Bajo:** anual

3. **Todos:** siempre ante las situaciones abajo señaladas

-Cualquier cambio en la inmunosupresión (minimización, conversión, suspensión, disminución)

-sospecha de incumplimiento

-disfunción del injerto, sospecha de RA

-aparición de proteinuria no justificada por otras causas