

Documentos de Consenso

Monitorización del trasplante renal: ¿tiene impacto clínico?

Editores especiales

Manuel Arias
Francesc Moreso





www.senefro.org

© 2016 Sociedad Española de Nefrología (SEN)

Esta revista y las contribuciones individuales contenidas en ella están protegidas por las leyes de copyright, y los siguientes términos y condiciones se aplican a su uso, además de los términos de cualquier licencia Creative Commons que el editor haya aplicado a cada artículo concreto:

Fotocopiar. Se pueden fotocopiar artículos individuales para uso personal según lo permitido por las leyes de copyright. No se requiere permiso para fotocopiar los artículos publicados bajo la licencia CC BY ni para fotocopiar con fines no comerciales de conformidad con cualquier otra licencia de usuario aplicada por el editor. Se requiere permiso de la editorial y el pago de una tasa para todas las demás fotocopias (en este caso, diríjase a CEDRO [www.cedro.org]).

Productos derivados. Los usuarios pueden reproducir tablas de contenido o preparar listas de artículos, incluyendo resúmenes de circulación interna dentro de sus instituciones o empresas. Aparte de los artículos publicados bajo la licencia CC BY, se requiere autorización de la editorial para su reventa o distribución fuera de la institución o empresa que se suscribe. Para cualquier artículo o artículos suscritos publicados bajo una licencia CC BY-NC-ND, se requiere autorización de la editorial para todos los demás trabajos derivados, incluyendo compilaciones y traducciones.

Almacenamiento o uso. Excepto lo indicado anteriormente, o según lo establecido en la licencia de uso correspondiente, ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, almacenada en sistemas de recuperación o transmitida en cualquier forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia, grabación o cualquier otro, sin el permiso previo por escrito del editor.

Derechos de autor. El autor o autores pueden tener derechos adicionales en sus artículos según lo establecido en su acuerdo con el editor (más información en <http://www.elsevier.com/authorsrights>).

Nota. Ni Elsevier ni la Sociedad Española de Nefrología (SEN) tendrán responsabilidad alguna por las lesiones y/o daños sobre personas o bienes que sean el resultado de presuntas declaraciones difamatorias, violaciones de derechos de propiedad intelectual, industrial o privacidad, responsabilidad por producto o negligencia. Tampoco asumirán responsabilidad alguna por la aplicación o utilización de los métodos, productos, instrucciones o ideas descritos en el presente material. En particular, se recomienda realizar una verificación independiente de los diagnósticos y de las dosis farmacológicas.

Aunque el material publicitario se ajusta a los estándares éticos, su inclusión en esta publicación no constituye garantía ni refrendo alguno de la calidad o valor de dicho producto, ni de las afirmaciones realizadas por su fabricante.



Avda. Josep Tarradellas, 20-30, 1ª planta
08029 Barcelona (España)

Zurbano, 76, 4º Izq.
28010 Madrid (España)

ISSN: 2013-7575

eISSN: 2014-1580

www.revistanefrologia.com

email: revistanefrologia@elsevier.com

Protección de datos: Elsevier España, S.L.U., declara cumplir lo dispuesto por la Ley orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.

Depósito legal: B 10542-2015

Director: Mariano Rodríguez Portillo

Editor: Roberto Alcázar Arroyo

Editor adjunto: Ramón Saracho Rotaeché

Secretaria de Edición: Secretaría de la S.E.N.

Editores Asociados: Trasplante: Julio Pascual Santos; Hemodiálisis: Alejandro Martín Malo; Diálisis Peritoneal: Miguel Pérez Fontán; CKD y Enfermedad Glomerular: Marian Goicoechea Diezhandino; Hipertensión y Enfermedad Cardiovascular: Anna Oliveras i Serrano; Guías Clínicas y Documentos de Consenso: M^a Dolores del Pino y Pino y Carlos Quereda Rodríguez-Navarro

Revista NefroPlus: Roberto Alcázar Arroyo, Francisco Ortega Suárez, Rafael Santamaría Olmo

Directores Honorarios: Luis Hernando Avendaño, David Kerr, Rafael Matesanz Acedós y Carlos Quereda Rodríguez-Navarro

COMITÉ EDITORIAL

J. Arrieta Lezama	L. Espinosa Román	A.L. Martín de Francisco	M. Praga Terente
M.D. Arenas Jiménez	H. García Llana	Hernández	B. Quiroga Gili
G. Ariceta Iraola	V.M. García Nieto	E. Martín Escobar	C. Remón Rodríguez
A. Barat Cascante	M.A. Gentil Govantes	G. Martín Reyes	F. Rivera Hernández
J. Bover San Juan	E. González Parra	A. Martínez Castela	M. Rivera Gorrín
J. Borrego Hinojosa	J.L. Górriz Teruel	A. Martínez Vea	J.C. Rodríguez Pérez
F. Caravaca Magariños	F. Liaño García	M. Molina Núñez	J.E. Sánchez Álvarez
A. Carreño Parrilla	E.P. López de Briñas	A. Ortiz Arduan	R. Santamaría Olmo
S. Cigarrán Guldreis	V. Lorenzo Sellares	M ^a V. Pendón Ruiz de Mier	A. Segarra Medrano
F. Coronel Díaz	J. Luño Fernández	R. Pérez García	J. Segura de la Morena
M. de la Torre Fernández	M. Macía Heras	E. Poch López de Briñas	J.L. Teruel Briones
G. del Peso Gilsanz	F. Maduell Canals	E. Porrini	R. Torra Balcells
J. Egido de los ríos	R. Marín Iranzo	J. Portolés Pérez	A. Vega Martínez
M. Espinosa Hernández			

COMITÉ EDITORIAL INTERNACIONAL

E. Burdmann (Brasil)	A. Felsenfeld (EE.UU)	L. Macdougall (Gran	P. Stevinkel (Suecia)
B. Canaud (Francia)	J.M. Fernández Ceán	Bretaña)	A. Wiecek (Polonia)
J. Chapman (Australia)	(Uruguay)	P. Massari (Argentina)	C. Zoccali (Italia)
R. Coppo (Italia)	J. Frazao (Portugal)	S. Mezzano (Chile)	
R. Correa-Rotter	M. Ketteler (Alemania)	B. Rodríguez Iturbe	
(México)	A. Levin (Canadá)	(Venezuela)	
F. Cosío (EE.UU)	P. K.T. Lee (Hong Kong,	C. Ronco (Italia)	
G. Eknoyan (EE.UU)	China)	J. Silver (Israel)	

Monitorización del trasplante renal: ¿tiene impacto clínico?

Editores especiales: Manuel Arias, Francesc Moreso

INTRODUCCIÓN

- 1 • **Monitorización del trasplante renal: ¿tiene impacto clínico?**
Manuel Arias, Francesc Moreso

REVISIONES

- 2 • **Alorreactividad frente a tolerancia: importancia de la inmunosupresión**
Marcos López Hoyos
- 14 • **Inflamación renal en el trasplante: ¿existen biomarcadores?**
Youssef Aouad, María Soledad Pizarro, Beatriz Fernández-Fernández, Ana M. Ramos, Alberto Ortiz
- 22 • **Evaluación del riesgo de infección en los receptores de trasplante renal: papel de las estrategias de monitorización inmunológica**
Mario Fernández-Ruiz, José María Aguado
- 38 • **Monitorización inmunológica postrasplante renal: ¿tiene impacto clínico?**
M.^ª José Pérez Sáez, Ángel Alonso Melgar, Frederic Cofan Pujol, Pedro Errasti Goenaga, Álvaro Molina Ordás, María O. López-Oliva, David Ramos Escorihuela, Cristina Canal Girol, Julia Fijo López-Viota, Álex Gutiérrez Dalmau, Luisa Jimeno García, Rafael Romero Burgos, Elena Román Ortiz, Natalia Polanco, Edoardo Melilli, Rosa Sánchez Hernández
- 51 • **Monitorización farmacológica de inmunosupresores**
Ana María Fernández, Marisa Agüera Morales, Miguel Ángel Muñoz Cepeda, Francisco Manuel González Roncero, Inmaculada Lorenzo, Alicia Mendiluce Herrero, Antonio Franco Esteve, Teresa García Álvarez, Gonzalo Gómez Marqués, Enrique Luna, Ángel Alonso Hernández, Osorio Moratalla
- 63 • **Monitorización histológica**
Francesc Moreso, Juan J. Amenábar, Carmen Bernis, Natividad Calvo, Laura Cañas, José F. Crespo, Patricia Delgado, Roberto Gallego, Manuel A. Rodríguez, Emilio Rodrigo, M.^ª Luisa Suárez, Ramón Vilalta

Monitorización del trasplante renal: ¿tiene impacto clínico?

Manuel Arias¹, Francesc Moreso²

¹ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander

² Servicio de Nefrología, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona

Nefrologia Sup Ext 2016;7(2):1

La biopsia renal percutánea del riñón trasplantado ha sido el patrón oro para evaluar la respuesta inmune a un aloinjerto renal. Una biopsia no está exenta de riesgos y no es capaz de predecir el rechazo, sino solamente establecer un diagnóstico una vez que el daño tisular está definido.

Por otro lado, la notable mejora en los resultados a corto plazo no se ha trasladado tan brillantemente al largo plazo y seguimos observando una pérdida progresiva de injertos, por atrición, de un 2-6% anual, dependiendo de las características del centro de trasplante, lo que demuestra nuestra incapacidad para detectar cambios en el injerto con las herramientas actuales.

Como consecuencia, en las últimas dos décadas han aumentado los ensayos de monitorización inmunológica que intentan poner fin a la era de la determinación de los niveles de fármacos como única herramienta disponible para los clínicos en el seguimiento de la respuesta inmune.

Los clínicos responsables de dicho seguimiento dependen de medicamentos que tienen una ventana terapéutica estrecha y tienen que decidir entre la espada del rechazo y la pared de efectos secundarios tales como infección, toxicidad y tumores malignos.

Una mejor comprensión de los mecanismos de rechazo y tolerancia, y los avances tecnológicos están llevando al desarrollo de nuevos métodos no invasivos para monitorizar la respuesta inmune.

Para alcanzar el «santo grial» del trasplante, la tolerancia del injerto sin inmunosupresión, es necesario disponer de un biomarcador que sea capaz de identificar los receptores tolerantes y los que desarrollan rechazo clínico o subclínico, y este biomarcador para la monitorización clínica debe ser no invasivo, de bajo coste, reproducible y accesible para los médicos y los pacientes.

En este suplemento de NEFROLOGÍA se publican las presentaciones realizadas en la reunión del grupo Prometeo sobre la monitorización del trasplante renal que ponen al día todos los aspectos de este tema.

Nuestro agradecimiento a todos los ponentes y autores de los capítulos, y a Novartis Trasplante por su continuado apoyo.

Correspondencia: Manuel Arias

Servicio de Nefrología.
Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander.
nefarm@gmail.com

Francesc Moreso

Servicio de Nefrología.
Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona.
fjmoreso@vhebron.net

Alorreactividad frente a tolerancia: importancia de la inmunosupresión

Marcos López Hoyos

Servicio de Inmunología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL, Red de Investigación Renal (REDinREN)-Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) (RD12/0021/007), Santander

Nefrología Sup Ext 2016;7(2):2-13

INTRODUCCIÓN

El sistema inmunitario existe porque el ser humano está expuesto a microorganismos frente a los que libra una batalla permanente. Gracias a todo el arsenal celular y humoral que ha desarrollado, puede combatir de forma especializada a todos estos agentes. Esa gran especialización se acompaña de una capacidad excelente de discernir entre aquello que no supone una amenaza y lo que sí, según la teoría del peligro¹. En este contexto, el sistema inmunitario reconoce como extraño el aloinjerto, el cual no está previsto en la evolución natural, salvo en el caso del feto, que es el primer y principal tipo de aloinjerto al que se expone el ser humano. Para evitar la pérdida del aloinjerto por el alorreconocimiento y la alorrespuesta que se generan en condiciones normales, contamos con la inmunosupresión farmacológica, la cual ha sido esencial para el éxito y la implantación del trasplante de órganos en la práctica clínica². A pesar de ello, la inmunosupresión tiene serios efectos adversos motivados en gran medida por la falta de especificidad inmunológica y entre los que destaca el riesgo de infecciones y de neoplasias, así como el riesgo cardiovascular². Por ello, en el ámbito del trasplante se persigue conseguir un verdadero estado de tolerancia inmunológica frente al aloinjerto, donde el receptor sea capaz de responder a los agentes infecciosos a que se expone y el riesgo de neoplasia por la inmunosupresión inespecífica disminuya³. Esta tolerancia es específica y los beneficios a largo plazo son claros. Sin embargo, el principal *handicap* es que no disponemos de biomarcadores

clínicos que nos ayuden a determinar el estado de tolerancia en un receptor de un trasplante⁴.

Por lo anterior, en el campo del trasplante se buscan biomarcadores que nos permitan cumplir cuatro objetivos necesarios para manejar correctamente al receptor de un injerto^{4,5}:

- Medir el nivel de inmunosupresión correcto para evitar efectos adversos.
- Individualizar para cada paciente el tipo de inmunosupresión más conveniente.
- Emplear marcadores moleculares de imagen que permitan anticiparse a la lesión ya establecida clásica de las biopsias.
- Contar con herramientas que puedan predecir la evolución del injerto.

En el ámbito del trasplante renal, la investigación se ha realizado normalmente de forma transversal, donde se han seleccionado pacientes en distintas situaciones clínicas (rechazo agudo, rechazo crónico, tolerancia operacional) y en los que se han aplicado diversos biomarcadores más o menos invasivos. Algunos de estos biomarcadores que demuestran cierta utilidad se intentan validar posteriormente en estudios prospectivos randomizados. Los principales son ensayos clínicos donde se emplean estos biomarcadores en pacientes trasplantados *de novo* y se compara la inmunosupresión estándar frente a nuevos inmunosupresores o regímenes. También se validan los biomarcadores en ensayos randomizados con pacientes trasplantados estables en los que se decide aplicar tratamientos de minimización de la inmunosupresión. Este tipo de ensayos prospectivos con biomarcadores se realizan en el contexto de grandes consorcios como el Riset (Repro-

Correspondencia: Marcos López Hoyos

Sección de Inmunología.
Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL, Santander.
mlopezhoyos@humv.es

gramming the Immune System for the Establishment of Tolerance) europeo o el ITN (Immune Tolerance Network) americano⁶.

Los mecanismos de tolerancia en el campo del trasplante pueden ser principalmente cuatro⁷: delección, anergia, desviación inmunitaria y supresión. Los dos primeros son pasivos, mientras que los dos últimos suponen mecanismos activos de tolerancia. La delección puede ocurrir a nivel central (tímica) o en la periferia. La desviación inmunitaria supone la diferenciación hacia los distintos tipos de células Th efectoras, mientras que la supresión hace referencia a las células T reguladoras, fundamentalmente las Treg, pero también otros tipos (Tr1, Th3, TCD8+CD28-...).

Desde el momento de la implantación del órgano del donante en el cuerpo del receptor, se produce un alorreconocimiento de antígenos del donante, denominados *aloantígenos*, por parte de los linfocitos del receptor. Los principales aloantígenos que son reconocidos son las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés, *major histocompatibility complex*), que en humanos se denominan *antígenos leucocitarios humanos* (HLA por sus siglas en inglés, *human leukocyte antigen*). No obstante, cualquier antígeno que se codifique por genes polimórficos y que dé lugar a distintas proteínas entre sujetos de la misma especie puede ser desencadenante de una respuesta frente al aloinjerto. El alorreconocimiento puede ser de tipo directo de las moléculas incompatibles presentadas por las células presentadoras de antígeno (APC por sus siglas en inglés, *antigen presenting cells*) del donante o indirecto, donde se presentan los aloantígenos del donante por parte de las APC del receptor que, previamente, las han procesado. En cualquier caso, la célula principal en todo el proceso parece ser la célula T helper (Th) CD4+ del receptor que se activa y genera una serie de citocinas que, según el tipo de estímulo, pueden favorecer una alorrespuesta frente al injerto de tipo celular o de tipo humoral. La activación de la célula T CD4+ depende de tres señales. La primera es la dependiente de la señalización a través del receptor de la célula T (TCR por sus siglas en inglés, *T-cell receptor*), que confiere especificidad a la respuesta. Sin embargo, esta primera señal es insuficiente para activar completamente la célula T, puesto que requiere de una segunda señal

coestimuladora, mediada principalmente a través de CD28 al interactuar con CD80 y CD86 en la APC. Esta segunda señal produce una activación de la transcripción de genes y, sobre todo, de la interleucina 2 (IL-2), una citocina que interactúa con su receptor en la superficie de la célula T y genera la tercera señal necesaria para inducir la proliferación de los linfocitos T².

La actual aproximación inmunosupresora, por otro lado, parece ser demasiado general e inespecífica para bloquear una respuesta tan compleja como la inmunitaria, donde cada día se describen nuevos tipos de células T CD4+ (Th1, Th2, Treg, Th3, Th17, Th9...). Estas células están diferenciadas para inducir un tipo de respuesta efectora o supresora en distintas situaciones⁸. Las células T CD4+ se diferencian de una célula Th0 *naive* hacia células efectoras Th1, Th2 o Th17, o hacia células T reguladoras (Treg), en función básicamente de las citocinas presentes en el ambiente donde se diferencian (figura 1). Así, el interferón gamma (IFN- γ) facilita la diferenciación hacia Th1, que se define por el factor de transcripción T-bet. La IL-4 favorece la diferenciación hacia Th2 (factor de transcripción GATA-3). El factor de crecimiento transformador beta (TGF- β por sus siglas en inglés, *transforming growth factor beta*) es capaz de diferenciar hasta tres tipos de células T CD4+ según la otra citocina que se asocie: el TGF- β y la IL-6 inducen diferenciación hacia Th17 (factor de transcripción ROR- γ -T); el TGF- β y la IL-4 inducen Th9 (factores de transcripción PU.1 e IRF-4) y el TGF- β y la IL-2 inducen la diferenciación hacia Treg (factor de transcripción FoxP3). Además, se ha descrito recientemente otro tipo de célula T CD4+ efectora, la Th22, que se induce con la presencia en el medio de citocinas proinflamatorias como la IL-6 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α , por sus siglas en inglés, *tumour necrosis factor alpha*)⁹.

Por otro lado, cada una de estas células Th secreta citocinas necesarias para su función efectora o supresora y para inhibir la diferenciación hacia otro tipo de células Th. De este modo, las células Th1 se caracterizan por secretar fundamentalmente IFN- γ , que por otra parte bloquea la diferenciación hacia Th2 o Th17. De forma semejante, las células Th2 secretan IL-10, que bloquea la diferenciación hacia Th1, e IL-4, que bloquea la diferenciación hacia Th17. Estas secretan IL-17 como citocina efectora, la cual

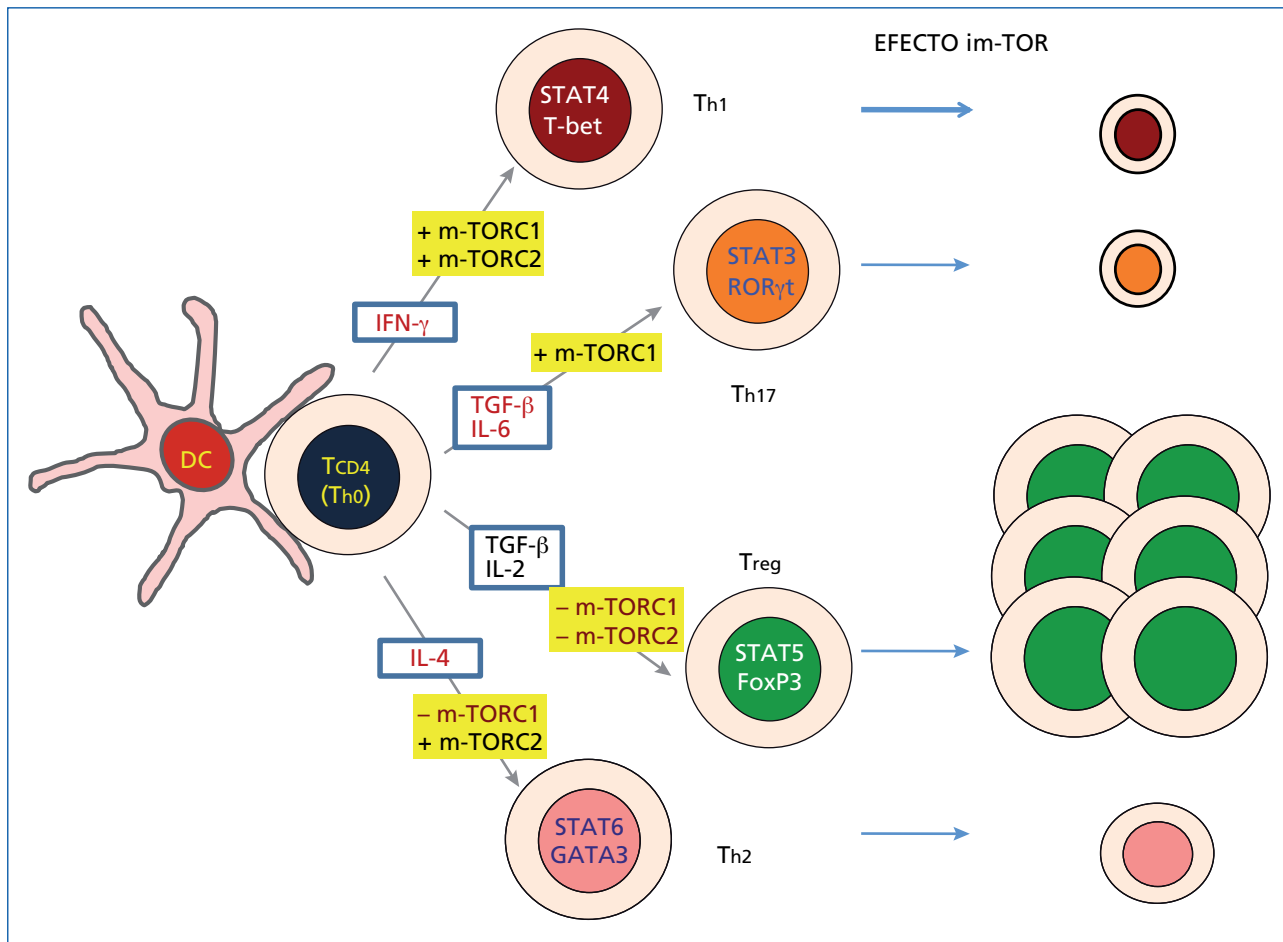


Figura 1. Diferenciación funcional de los cuatro tipos fundamentales de células Th CD4+ (Th1, Th2, Th17 y Treg). Se muestran las citocinas principales implicadas en su diferenciación y producidas tras el estímulo recibido por la célula Th0 de las células dendríticas presentadoras del antígeno. En cada tipo celular se indican los factores de transcripción que le son propios. En rectángulos de fondo amarillo se muestra el efecto que los dos tipos de complejos m-TOR (m-TORC1 y m-TORC2) inducen en la diferenciación de células Th. A la derecha, se representa esquemáticamente el efecto que el tratamiento con inhibidores de m-TOR como el sirolimus y el everolimus puede tener sobre los cuatro tipos celulares. No se muestran las células Th9 y Th22 por no haber aún evidencia acerca del efecto de los complejos mTOR en su diferenciación. DC: células dendríticas; IFN-γ: interferón gamma; IL: interleucina; m-TOR: diana de la rapamicina en mamíferos; TGF-β: factor de crecimiento transformador beta.

es capaz de bloquear la diferenciación hacia Th1, Th2 o Treg. Finalmente, las células Treg son capaces de inhibir la diferenciación y la función de cualquiera de los tres tipos de células Th efectoras¹⁰.

Aunque sean las células T CD4+ las que secretan las citocinas y facilitan o inhiben la diferenciación hacia un tipo celular u otro, son las APC, y especialmente las células dendríticas (DC por sus siglas en inglés, *dendritic cells*), las que captan las señales de peligro del medio y,

al interactuar con las células T CD4+, dirigen la respuesta hacia una más inflamatoria (Th9, Th1 o Th17) o más inmunorreguladora (Treg, Th3 o Tr1)¹¹. Además, un hecho diferencial y de reciente descripción es la extraordinaria capacidad plástica que tienen los distintos tipos de células Th CD4+, de modo que, en función del tipo de señal de alarma que captan las DC del tejido donde se detecte esa señal y de las citocinas que se produzcan en cada momento, un tipo de célula Th se puede transformar en otro¹⁰.

CÉLULAS TH CD4+: EFECTO DE LA INMUNOSUPRESIÓN EN LAS CÉLULAS TREG Y OTRAS CÉLULAS TH

Como se ha mencionado en la introducción, las células T reguladoras son varios subtipos de células con capacidad de supresión de la respuesta inmunitaria a diversos niveles y mediante diferentes mecanismos (contacto dependiente, citocinas antiinflamatorias, etc.). Los tipos de células más estudiados han sido las denominadas *Treg*, células T CD4+ caracterizadas por la expresión de niveles elevados de CD25 (CD25^{high}) y del factor de transcripción FoxP3¹². Las células *Treg* naturales expresan también CD27 y tienen muy baja o ausente expresión de CD127. Estas células tienen un origen central tímico en un porcentaje del 5-10%, que se puede expandir a nivel periférico. Sin embargo, la gran mayoría de ellas adquiere el fenotipo CD+CD25^{high}FoxP3+ en la periferia a partir de células T CD4+ *naïve* y de otros subtipos de células T CD4+, gracias a la plasticidad comentada anteriormente¹². Además, existen otros tipos de células T reguladoras de origen periférico, como las células Tr1 y las Th3. Incluso, en la periferia se ha descrito diferenciación de células T CD8+ con función reguladora (CD8+CD28-).

Desde la descripción y la aceptación definitivas de las células *Treg* como células con capacidad inmunorreguladora en general, su utilidad en la inducción de tolerancia en el ámbito del trasplante ha sido una constante, bien como herramientas tolerogénicas¹³ o bien como biomarcadores¹⁴ para definir la tolerancia frente al aloinjerto. En este sentido, el objetivo del empleo de biomarcadores de tolerancia es definir aquellos pacientes en los que la inmunosupresión puede minimizarse o incluso quitarse sin riesgo de pérdida del injerto. Sin embargo, es posible que cualquier paciente que se defina como no tolerante con una batería de biomarcadores inmunológicos, incluidas las *Treg*, pueda tener una función renal normal. Es decir, una función normal no tiene por qué acompañarse de un panel de biomarcadores de tolerancia inmunológica. Además, la tolerancia y la inmunosupresión farmacológica total son los dos extremos de la situación que puede ocurrir en un trasplante de órganos como el renal, los cuales nunca se llegan a alcanzar. Existen situaciones intermedias en las que se busca un equilibrio entre la cantidad de inmunosupresión

administrada y el grado de alotolerancia que se consigue¹². Es posible que la monitorización de biomarcadores, como las *Treg*, permita establecer el grado de tolerancia/inmunosupresión en el paciente trasplantado.

Existen diversos factores que se deben considerar a la hora de definir biomarcadores¹⁵. En el caso del trasplante renal, el primer aspecto destacable es la matriz biológica donde se va a medir. Como en cualquier órgano, la fuente más directa y que aporta mayor información es el propio tejido (biopsia), pero con el gran inconveniente de tratarse del método más invasivo. La fuente biológica menos invasiva probablemente es la orina del trasplantado renal, aunque se trata de un material difícil de recolectar convenientemente y sus cantidades a veces no son suficientes. Además, lo que se detecta en orina suele reflejar lo que ya ha ocurrido en el riñón y quizás no permita predecir eventos futuros. Entre la biopsia y la orina, quizás la matriz con más utilidad sea la sangre puesto que su obtención es mínimamente invasiva y, además, puede ser reflejo de cambios inmunológicos a nivel sistémico que permitan predecir eventos posteriores.

Otro aspecto que se debe considerar en el estudio de los biomarcadores en el trasplante renal es el tipo de metodología que se va a utilizar (genómica, proteómica, transcriptómica o metabolómica). Es posible que el panel de biomarcadores que defina un estado de alotolerancia en el futuro sea una combinación de varios de esos métodos⁴. Hasta la fecha, la mayoría de las aproximaciones empleaban una u otra técnica, pero en los últimos años y gracias a los consorcios establecidos, se combina un panel de diferentes técnicas.

Además, el trasplante renal no es un proceso estático, sino que es dinámico y cambia en el tiempo, y en su evolución influyen múltiples factores inmunológicos (sensibilización previa, compatibilidad HLA) y no inmunológicos (tipo de inmunosupresor, nefrotoxicidad, infecciones, diabetes, daño de isquemia-reperusión...). Estos factores también pueden contribuir a cambios en los biomarcadores que estudiamos.

Por ello, uno de los factores que pueden influir en el estudio de las células *Treg* como biomarcadores en un tras-

plantado renal es el tipo de inmunosupresión empleado. En este sentido, existe una clara diferencia entre el empleo de inhibidores de la calcineurina (CNI por sus siglas en inglés, *calcineurin inhibitors*) o de inhibidores de la diana de la rapamicina en mamíferos (m-TOR por sus siglas en inglés, *mammalian target of rapamycin*), im-TOR, como principales inmunosupresores incluidos en la triple terapia de mantenimiento tras el trasplante renal. De este modo, se demostró ya hace una década que los CNI eran capaces de inducir un descenso en las cifras de células Treg en la sangre de trasplantados renales estables y de más de 2 años de evolución respecto a los tratados con im-TOR, que mantenían cifras semejantes a los donantes sanos y los pacientes con enfermedad renal terminal¹⁶. El descenso de las células Treg que los CNI inducen se recupera incluso cuando los pacientes se retiran de regímenes que combinaban los CNI con los im-TOR o cuando los pacientes cambian de un tratamiento con CNI a otro con im-TOR. Además, el aumento de células Treg tras la conversión de 18 trasplantados renales de terapia con CNI a im-TOR se acompañó en otro estudio de un descenso en la activación de linfocitos T CD4+ circulantes, medido por el método Immuknow, a los 3 meses de la conversión¹⁷. Todos estos datos se corresponden con los estudios iniciales *in vitro* que mostraban cómo la rapamicina inducía la diferenciación hacia células Treg a partir de células T CD4+ efectoras convencionales y no por expansión de células Treg naturales¹⁸⁻²⁰.

Cabe destacar que las células Treg definidas hace 20 años han demostrado ser un grupo de células con diferentes subtipos y grados de activación. Así, Miyara et al²¹ demostraron tres fracciones de células Treg con distinta capacidad supresora y que eran definidas por diferentes fenotipos según la expresión de los marcadores celulares mediante citometría de flujo. De este modo, se define la población de células Treg activada como con mayor capacidad supresora con fenotipo CD4+CD45RA-CD25^{high}FoxP3^{high}. Además, hay otros dos tipos de células Treg que pueden activarse y que tienen fenotipos distintos: células Treg *naive* (CD4+CD45RA+CD25+FoxP3+) y células Treg silentes (CD4+CD45RA+CD25+FoxP3-). Las células Treg activadas expresan el mayor nivel de la molécula inhibidora de la segunda señal, CTLA-4, seguidas por las células Treg silentes y las *naive*²¹. En un estudio multi-

céntrico español, se midieron los niveles circulantes de células Treg totales y de los distintos subtipos de células Treg descritos, mediante citometría de flujo, en una cohorte de 75 trasplantados renales²². Se consensuó la metodología empleada en los cuatro centros y se establecieron protocolos normalizados de trabajo empleando lotes de reactivos idénticos para minimizar los coeficientes de variación inter- e intralaboratorio, que pueden sesgar los trabajos multicéntricos que emplean este tipo de métodos. Los niveles de las células Treg se cuantificaron antes del trasplante y durante el primer año postrasplante renal. Estas células cayeron de forma significativa desde la primera semana después del trasplante y a partir del segundo mes se fueron recuperando para alcanzar los niveles pretrasplante al año²², de forma semejante a lo descrito previamente en un estudio unicéntrico con 33 trasplantados renales²³. Un comportamiento paralelo mostraron las células Treg activadas, pero de forma importante, se demostró que estas células activadas estaban ya aumentadas antes del trasplante en aquellos receptores que sufrían un rechazo agudo²². En concreto, se estableció que la presencia de una frecuencia de células Treg activadas en sangre superior al 1,4% se asociaba de forma significativa a un mayor riesgo de rechazo agudo. En dicho estudio no se demostró diferencia alguna en el número de los subtipos de células Treg en función del inmunosupresor empleado, puesto que la mayoría de los pacientes estaban con un régimen basado en los CNI.

Aunque las células Treg son los biomarcadores más asociados con la tolerancia, dados los distintos tipos de células T CD4+ y su enorme plasticidad, es importante considerar el balance entre células reguladoras y células efectoras o entre células antiinflamatorias y células inflamatorias; dicho de otro modo, el balance entre células Treg y células Th1-Th17²⁴. Dicho balance puede ser alterado por el empleo de los fármacos inmunosupresores en el postrasplante renal. Así, se sabe que existen dos complejos de la m-TOR implicados en la inducción y en la diferenciación de los subtipos de células Th CD4+: los complejos m-TORC1 y m-TORC2 (figura 1). Así, m-TORC1, que se activa más que m-TORC2 en el linfocito que recibe señales coestimuladoras, induce la diferenciación hacia Th1 y Th17, mientras que inhibe la de Th2 y Treg. Por su parte, m-TORC2 estimula la diferenciación

hacia Th1 y hacia Th2. Se conoce que la rapamicina bloquea ambos complejos m-TOR, aunque con mayor potencia el m-TORC1^{25,26}. En consecuencia, el uso de los m-TOR, como la rapamicina, sería capaz de inhibir la diferenciación hacia células efectoras como Th1 y Th17 y, en menor medida, hacia Th2, mientras que facilitarían la inducción de células Treg (figura 1). En este sentido, un trabajo reciente en cultivo mixto linfocitario *in vitro* y en presencia de citocinas inflamatorias muestra cómo el tacrolimus es capaz de inhibir la diferenciación tanto hacia Th1 y Th17 como hacia Treg²⁷. La rapamicina disminuye la cantidad de células Th1 y Th17 en el cultivo pero aumenta las células Treg. Además, cuando se emplean de forma combinada el tacrolimus y la rapamicina, el efecto inhibitorio de las células Th1 y Th17 se potencia, mientras que la combinación es capaz de recuperar el descenso de células Treg inducido por el tacrolimus.

CÉLULAS T DE MEMORIA

El desarrollo en el conocimiento de las diferentes subpoblaciones de células T ha permitido el avance en el estudio de los mecanismos inmunológicos implicados en el rechazo del aloinjerto. Las células más estudiadas en el rechazo o aceptación de un trasplante han sido los subtipos funcionales de linfocitos T CD4⁺ (Th1, Th2, Th17, Treg). Sin embargo, pocos estudios se centran en el análisis de una población que persiste tras el trasplante con un patrón de diferenciación ambiguo: las células Th de memoria²⁸. Esta población de memoria comprende a células T tanto efectoras (Th1, Th17) como reguladoras, las cuales pueden modificar sus patrones de expresión específica del subtipo si cambian las señales de diferenciación precisas²⁹. Por otro lado, la mayoría de los estudios en los que se analiza la implicación de las células T *naïve* frente a las de memoria se han realizado en animales de experimentación³⁰ y se da la paradoja de que en estos animales la frecuencia de células T de memoria es < 3%, mientras que en humanos esa frecuencia aumenta aproximadamente al 70%. Probablemente la frecuencia de células T de memoria en un receptor en lista de espera para recibir un injerto renal sea aún mayor por la exposición previa a infecciones, transfusiones y estímulos inflamatorios continuos, como los derivados de la diálisis.

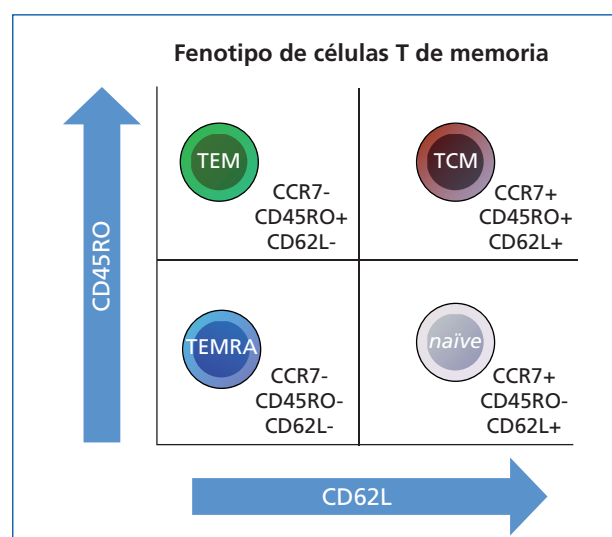


Figura 2. Representación de los marcadores de superficie que identifican los distintos subtipos de células T en su maduración y cómo se distribuirían en una imagen de citometría de flujo. TCM: células T centrales de memoria; TEM: células T efectoras de memoria; TEMRA: células T efectoras terminales.

En el trasplante, la respuesta inmunitaria de memoria, al igual que en el caso de cualquier infección, es mucho más rápida y agresiva que la dirigida por las células T *naïve*, puesto que el componente de memoria contiene multitud de células T clonales expandidas mientras que el *naïve* contiene pocas células, cada una con especificidades diferentes. Gracias a las nuevas metodologías se han descrito diferentes subpoblaciones de células T de memoria con diferentes propiedades fenotípicas y funcionales, así como de distribución tisular³¹.

Las células T de memoria humanas tienen una expresión diferenciada de CD45RA, CD27, CD28, CCR7 y CD62L frente a las células T *naïve* (figura 2). Estas últimas son células CD45RA+CD27+CD28+, productoras en gran medida de IL-2, necesaria para su supervivencia. Las células T de memoria se dividen en T centrales de memoria (TCM por sus siglas en inglés, T *central memory cells*), localizadas principalmente en tejidos linfoides periféricos en un estado silente. Se caracterizan por la expresión en superficie de CD45RO (y ausencia de CD45RA) y de CD62L, necesaria para su reclutamiento en tejidos linfoides, además de CD27 y CD28. Existe un estadio intermedio de célula T de memoria en que se pierde la expresión

de CD28 respecto al estadio TCM, manteniendo la expresión de CD27. Estas células ya secretan IFN- γ al tiempo que decae la producción de IL-2. Finalmente, la célula T de memoria se diferencia hacia célula efectora de memoria (TEM por sus siglas en inglés, *T effector memory cells*), que también presenta CD45RO en superficie, pero se diferencia de las TCM en la ausencia de expresión de CD62L (por lo que se localizan en órganos no linfoides periféricos) y en la ausencia de CD27 y CD28. La principal diferencia entre las TCM y las TEM es funcional, puesto que las TEM son capaces de inducir una respuesta de memoria rápida con un menor requerimiento de señales de coestimulación, lo que las convierte en las células con mayor capacidad de rechazar un injerto trasplantado. Estas células TEM se caracterizan en humanos por producir IFN- γ y casi nada de IL-2^{31,32}. Recientemente se ha demostrado que las células T de memoria montan una alorrespuesta de tal magnitud que incluso las células Treg (conocidas por su papel favorecedor del establecimiento de tolerancia a injertos) son incapaces de controlarla²⁸. Gran parte del poder de esta alorrespuesta es la capacidad de reclutar células mononucleares por parte de las células de memoria. Si se evita la movilización de estas células, las células Treg serían capaces de controlar dicha alorrespuesta³³. Cada vez parece más evidente que conseguir un control efectivo sobre las células de memoria facilitaría el establecimiento de un estado de tolerancia o, al menos, de aceptación del injerto trasplantado, objetivo último en estos pacientes.

El estudio del grupo de Nantes y el del Hospital Clínic de Barcelona en trasplantados renales mostraron un aumento de las células con fenotipo de TEM mediante citometría de flujo en los receptores renales tratados con im-TOR respecto a los tratados con CNI³⁴. Además, dicho aumento se acompañó de un incremento de transcritos de RNA relacionados con la ruta inflamatoria del factor nuclear kappa B (NF-kB por sus siglas en inglés, *nuclear factor kappa B*) y de linaje monocitario y células *natural killer* (NK). También el tratamiento con im-TOR indujo un aumento de células Treg comparado con el de CNI. Por lo tanto, el efecto de los inmunosupresores sobre los tipos funcionales y madurativos de células Th CD4+ parece complejo y aún por definir. Incluso, los dos principales im-TOR, el everolimus y el sirolimus, parecen tener efec-

tos dispares. En cultivos *in vitro*, tras activación policlonal, se demuestra que el everolimus, pero no el sirolimus, es capaz de bloquear la maduración de células Th *naive* hacia células TCM o TEM³⁵. Además, el everolimus inhibe de forma más eficiente la proliferación de células TCM y TEM que el sirolimus, aunque ninguno de ellos consigue el nivel antiproliferativo del tacrolimus. Aunque el trabajo muestra esas diferencias madurativas en las células Th, no lo hace en la producción de citocinas características de cada tipo funcional Th ni con CNI ni con im-TOR³⁵.

CÉLULAS LIFOIDES INNATAS: UN NUEVO TIPO CELULAR QUE PUEDE SER MODULADO POR LA INMUNOSUPRESIÓN

La complejidad de la respuesta inmunitaria es tal que el nivel de especialización descrito en la respuesta adaptativa, aunque en menor grado, también parece detectarse en la respuesta innata. De este modo, se han descrito familias de células linfoides innatas (sin TCR) pero que comparten factores de transcripción y citocinas producidas con los subtipos de células Th de la respuesta adaptativa³⁶. La función de estos tipos de células es probablemente complementaria y de soporte a la activación de los tipos Th más especializados. Se han descrito grupos de células linfoides innatas (ILC por sus siglas en inglés, *innate lymphoid cells*). Las ILC del grupo 1 expresan el factor de transcripción propio de las Th1, el T-bet, y secretan fundamentalmente IFN- γ . Existe un subtipo en este grupo, las NK-like, que, además del T-bet, tienen el factor de transcripción EOMES. Las ILC del grupo 2 tienen el factor de transcripción GATA-3 y ROR- α y secretan IL-4, IL-5 e IL-13. Las ILC del grupo 3 expresan el factor ROR- γ -T y se subdividen en tres subtipos: las células inductoras de tejido linfoides (LTi por sus siglas en inglés, *lymphoid tissue inducer cells*) y las células linfoides innatas 3 sin receptor de citotoxicidad natural (NCR-ILC-3 por sus siglas en inglés, *natural cytotoxicity receptor*), que secretan IL-17 e IL-22, y las células linfoides innatas 3 con receptor de citotoxicidad natural (NCR+ILC-3), que secretan solo IL-22. Todo parece indicar que estos subtipos de ILC pueden tener también capacidad plástica y en función de los estímulos y de los tejidos donde se encuentren pueden transformarse en un tipo u otro.

Dada su reciente descripción, no existen aún trabajos acerca de la influencia de los tratamientos inmunosupresores en estas células. Recientemente, un estudio en ratones jóvenes tratados con sirolimus ponía de manifiesto cómo aumentaba el porcentaje de células ILC-1 e ILC-3 circulantes. El efecto también se mostraba para las ILC-1 en ratones viejos, pero no para las ILC-3²⁶. En los próximos años aparecerán más evidencias en relación con las ILC y el efecto de los fármacos inmunosupresores y su influencia en la evolución del trasplante de órganos.

LA RESPUESTA HUMORAL EN EL TRASPLANTE NO SOLO SE INHIBE CON TERAPIAS ESPECIALMENTE DIRIGIDAS A LAS CÉLULAS B

El rechazo humoral es el resultado de una activación linfocitaria B que desencadena la producción de anticuerpos específicos frente al HLA del donante (DSA por sus siglas en inglés, *donor specific antibodies*) que activan el complemento, lo que supone un elevado riesgo de pérdida del injerto. Esto ha motivado el desarrollo de tratamientos dirigidos específicamente a hacer frente a moléculas y rutas de activación de células B³⁷. No obstante, debe tenerse en cuenta que la respuesta de anticuerpos anti-HLA es de tipo T-dependiente, donde la colaboración entre células Th CD4+ y célula B es necesaria. Por este motivo, la inmunosupresión con fármacos como los CNI o los im-TOR, adscrita tradicionalmente a la inhibición solo de células T, también participa en el control de la respuesta humoral.

El grupo de Berlín fue el primero en demostrar, en un estudio que combinaba dos cohortes randomizadas y que sumaban 127 pacientes, que el tratamiento con CNI inhibía de forma más efectiva la producción de DSA y el rechazo humoral que el tratamiento con everolimus³⁸. Más recientemente, en una cohorte de 247 trasplantados renales unicéntrica, se demostró que la conversión de un régimen basado en CNI a otro basado en im-TOR favorecía la producción de anticuerpos anti-HLA en más del doble respecto a los pacientes que se mantenían con los CNI, aunque la mayoría no eran DSA³⁹. De forma significativa, este trabajo demostró que el riesgo de producir anticuerpos, especialmente los DSA, era mayor en aquellos pacientes que tenían cierto grado de sensibilización antes de la conversión de

CNI a im-TOR³⁹. Por lo tanto, el mensaje incidía en la necesidad de determinar el nivel de anticuerpos anti-HLA en un paciente antes de realizar la conversión y evitar realizarla en caso de presencia de anticuerpos circulantes. Un trabajo más reciente mostró cómo la conversión de tacrolimus a everolimus a los 3 meses del trasplante inducía el triple de producción de DSA *de novo* respecto a los pacientes que se mantenían con tacrolimus⁴⁰. No obstante, el riesgo de producción de DSA parece depender también del momento de la conversión, puesto que aquellos pacientes convertidos después del año del trasplante tienen un riesgo muy inferior que los que lo hacen antes del año⁴¹.

A pesar de que la razón aducida para el mayor riesgo de rechazo humoral con los im-TOR radica en su menor capacidad supresora de células T respecto a los CNI, existen escasas evidencias del efecto directo de los dos tipos de inmunosupresores sobre las células B. Un trabajo reciente demuestra que el tacrolimus no afecta ni a la proliferación de células B *in vitro* ni tampoco a su diferenciación hacia células con fenotipo de célula plasmática⁴². En cambio, el sirolimus, tanto a dosis terapéuticas como infraterapéuticas, reduce la proliferación de las células B y también su diferenciación hacia células plasmáticas productoras de anticuerpos. Evidentemente, se trata de un trabajo *in vitro*, pero que no concuerda con los resultados encontrados *in vivo* de los niveles de los DSA circulantes.

De modo semejante al resto de poblaciones celulares T mencionadas hasta ahora, las células B también tienen subtipos según la función que ejercen. Así, existen células B patógenas, que median el rechazo humoral con producción de citocinas inflamatorias y aloanticuerpos y que tienen capacidad de memoria, y células B con función reguladora, equivalente a la de las células Treg⁴³. Es posible que las discordancias entre los datos *in vivo* e *in vitro*, como las descritas en el párrafo anterior, tengan que ver con los subtipos funcionales de células B que fenotípicamente no somos capaces de distinguir. De hecho, los trabajos de los consorcios americano (ITN) y europeo (RISET) demostraron una firma molecular rica en transcritos de células B y producción de anticuerpos no DSA en los pacientes renales con tolerancia operacional que habían abandonado la inmunosupresión^{44,45}. Este hallazgo fue contradictorio en aquel momento, puesto que cualquier rasgo de respuesta humoral

se asociaba entonces a rechazo de tipo vascular agresivo. Además, en aquellos trabajos no se mostraba evidencia de aumento de células ni genes relacionados con células T reguladoras. Más recientemente, un grupo de Chicago ha demostrado que en los receptores de trasplante renal de vivo y HLA idéntico en los que se dejaba la inmunosupresión a los 2 años del trasplante, se conseguía tolerancia frente al aloinjerto. En dicho estudio, se demuestra un aumento de células Treg (CD4⁺CD25^{high}CD127⁻FoxP3⁺) respecto a los no tolerantes, al tiempo que la firma molecular es compatible con la descrita por el ITN como la asociada a la tolerancia operacional⁴⁶.

Actualmente se considera que existen células B reguladoras que tienen diversos fenotipos, pero que, de forma destacada, realizan su función supresora mediante la citocina antiinflamatoria IL-10⁴⁷. Básicamente se han descrito dos tipos de células con distintos fenotipos: células Breg (CD19⁺CD20⁺CD24^{high}CD27⁻CD38^{high}IgD^{high}IgM^{high}) y células B transicionales o de la zona marginal (CD19⁺CD24⁺CD38⁺IgD⁺). Nuestro grupo estudió los niveles en sangre de estas últimas células en trasplantados renales a los que se realizaba una biopsia por indicación clínica. Los resultados mostraban cómo las células B transicionales estaban disminuidas en la sangre en los trasplantados en el momento del rechazo respecto a los trasplantados con biopsia que no tenía datos de rechazo. Al cabo de 30 días de la biopsia, los porcentajes de estas células en sangre se igualaban entre los dos grupos⁴⁸. Más recientemente, un estudio con 36 trasplantados renales estables demuestra que las células B transicionales aumentan con el tiempo, lo que se relaciona con la supervivencia a largo plazo con independencia del tratamiento inmunosupresor. Curiosamente, en ese trabajo no hay diferencias en el número de células Breg entre los receptores tratados con CNI o con im-TOR, a diferencia de las células Treg, que sí que caen con los CNI⁴⁹, tal como se ha comentado anteriormente.

LA CÉLULA PRESENTADORA DE ANTÍGENO: LA OLVIDADA POR LA INMUNOSUPRESIÓN

La activación correcta de la célula T precisa en todo momento de una APC que le presente el aloantígeno, en el

caso del trasplante, y le transmita señales coestimuladoras. Es la APC la que, en función del tejido y del ambiente de citocinas y otros factores en que se encuentre, induce la diferenciación hacia un tipo de respuesta inmunitaria u otro. Por lo tanto, es una célula central en la alorrespuesta y, sin embargo, se han estudiado muy poco los efectos que los fármacos inmunosupresores ejercen sobre ella.

Entre los escasos trabajos, Wang et al⁵⁰ demostraron que un tipo de APC, las células endoteliales, cuando se pretratan con sirolimus, inducen la expansión de células Treg *in vitro*. Este efecto es semejante al obtenido con RNA de interferencia frente a m-TOR que, además de inducir una expansión de células Treg, induce la expresión de FoxP3, mientras que no cambia la expresión de otros genes propios de la respuesta celular efectora (Cbl-b, Grail, Itch). Este efecto de la rapamicina puede ser secundario a la inhibición de la secreción de citocinas inflamatorias como la IL-6 y al aumento de la expresión de las moléculas tolerogénicas ligando de muerte programada 1 (PD-L1 por sus siglas en inglés, *programmed death ligand 1*) y 2 (PD-L2) en las APC⁵⁰.

El sistema mononuclear fagocítico comprende tres tipos de linajes definidos a partir de estudios de alta resolución genética: la población de macrófagos establecida durante la embriogénesis, los monocitos que se desarrollan en el adulto y las células dendríticas. Estos subtipos tienen funciones diferenciadas y especializadas. Su empleo y su monitorización en el campo del trasplante de órganos están aún por definir⁵¹. De todos ellos, se ha descrito cómo los macrófagos que expresan la molécula de adhesión intercelular no asociada a integrina específica de células dendríticas (DC-SIGN por sus siglas en inglés, *dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing non-integrin*) son capaces de promover tolerancia mediante la inhibición de las células T CD8⁺ y la expansión de las células Treg⁵². El efecto de los inmunosupresores empleados en la clínica sobre estas células aún no se conoce.

CONCLUSIONES

Aunque el establecimiento de un estado de tolerancia real frente al aloinjerto es el objetivo último en el ámbito del

trasplante para conseguir una supervivencia prolongada del injerto en ausencia de los efectos adversos de la inmunosupresión, es una realidad aún lejana en la actualidad. La tolerancia operacional es, hoy por hoy, el mejor medio para comprender los mecanismos de alotolerancia y establecer biomarcadores útiles. Entre estos biomarcadores, los relacionados con la supresión activa, como las células T reguladoras, son los de mayor utilidad para definir la mejor inmunosupresión. Sin embargo, los efectos de los inmunosupresores de uso clínico no se dirigen únicamente a hacer frente a las células T CD4+, sino que cada día se describen nuevos efectos de los CNI y los im-TOR, junto con los nuevos tipos celulares (células linfoides innatas, sistema mononuclear fagocítico, células Breg...) de la respuesta inmunitaria y su papel en la evolución del trasplante. En todo caso, probablemente la mejor opción desde el punto de vista de la inmunosupresión farmacológica sea el empleo de una combinación de CNI e im-TOR con efectos sinérgicos.

Conflicto de intereses

El autor declara que no tiene conflictos de intereses potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Land WG. How evolution tell us to induce allotolerance. *Exp Clin Transplant*. 2015;13 Suppl 1:45-54.
- Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med*. 2004;351:2715-29.
- Bamoulid J, Staeck O, Halleck F, Khadzhyrov D, Brakemeier S, Dürr M, Budde K. The need for minimization strategies: current problems of immunosuppression. *Transplant Int*. 2015;28:891-900.
- Brunet M, Shipkova M, van Gelder T, Wieland E, Sommerer C, Budde K, et al. Barcelona Consensus on Biomarker-Based Immunosuppressive Drugs Management in Solid Organ Transplantation. *Ther Drug Monitor*. 2016;38 Suppl 1:S1-S20.
- Schlickeiser S, Boës D, Streitz M, Sawitzki B. The use of novel diagnostics to individualize immunosuppression following transplantation. *Transplant Int*. 2015;28:911-20.
- Turka LA, Lechler RI. Towards the identification of biomarkers of transplantation tolerance. *Nat Rev Immunol*. 2009;9:521-6.
- Salisbury EM, Game DS, Lechler RI. Transplantation tolerance. *Pediatr Nephrol*. 2014;29:2263-72.
- Askar M. T helper subsets & regulatory T cells: rethinking the paradigm in the clinical context of solid organ transplantation. *Int J Immunogenet*. 2014;41:185-94.
- Trifari S, Kaplan CD, Tran EH, Crellin NK, Spits H. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from Th-17, Th1 and Th2 cells. *Nat Immunol*. 2009;10:864-71.
- Bluestone JA, Mackay CR, O'Shea JJ, Stockinger B. The functional plasticity of T cell subsets. *Nat Rev Immunol*. 2009;9:811-6.
- Steinman RM. Decisions about dendritic cells: past, present, and future. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:1-22.
- López-Hoyos M, Segundo DS, Fernández-Fresnedo G, Marín MJ, González-Martín V, Arias M. Regulatory T cells in renal transplantation and modulation by immunosuppression. *Transplantation*. 2009;88:S31-9.
- Juvet SC, Whatcott AG, Bushell AR, Wood KJ. Harnessing regulatory T cells for clinical use in transplantation: the end of the beginning. *Am J Transplant*. 2014;14:750-63.
- López-Hoyos M, San Segundo D, Brunet M. Regulatory T cells as biomarkers for rejection and immunosuppression tailoring in solid organ transplantation. *Ther Drug Monitor*. 2016;38 Suppl 1: S36-42.
- Naesens M, Sarwal MM. Molecular diagnostics in transplantation. *Nat Rev Nephrol*. 2010;6:614-28.
- Segundo DS, Ruiz JC, Izquierdo M, Fernández-Fresnedo G, Gómez-Alamillo C, Merino R, et al. Calcineurin inhibitors, but not rapamycin, reduce percentages of CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in renal transplant recipients. *Transplantation*. 2006;82:550-7.
- San Segundo D, Fernández-Fresnedo G, Gago M, Beares I, Ruiz-Criado J, González M, et al. Number of Peripherals blood regulatory T cells and lymphocyte activation at 3 months after conversion to mTOR inhibitor therapy. *Transplant Proc*. 2010;42:2871-3.
- Baan CC, van der Mast BJ, Klepper M, Mol WM, Peeters AM, Korevaar SS, et al. Differential effect of calcineurin inhibitors, anti-CD25 antibodies and rapamycin on the induction of FOXP3 in human T cells. *Transplantation*. 2005;80:110-7.
- Coenen JJ, Koenen HJ, van Rijssen E, Hilbrands LB, Joosten I. Rapamycin, and not cyclosporin A, preserves the highly suppressive CD27+ subset of human CD4+CD25+ regulatory T cells. *Blood*. 2006;107:1008-23.
- Valmori D, Tosello V, Souleimani NE, Godefroy E, Scotto L, Wang Y, Ayyoub M. Rapamycin-mediated enrichment of T cells with regulatory activity in stimulated CD4+ T cell cultures is not due

- to the selective expansion of naturally occurring regulatory T cells but to the induction of regulatory functions in conventional CD4+ T cells. *J Immunol.* 2006;177:944-9.
21. Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A, Shima T, Wing K, Niwa A, et al. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity.* 2009;30:899-911.
 22. San Segundo D, Millán O, Muñoz-Cacho P, Boix F, Paz-Artal E, Talayero P, et al. High proportion of pretransplantation activated regulatory T cells (CD4+CD25highCD62L+CD45RO+) predicts acute rejection in kidney transplantation: results of a multicenter study. *Transplantation.* 2014;98:1213-8.
 23. San Segundo D, Fernández-Fresnedo G, Ruiz JC, Rodrigo E, Benito MJ, Arias M, López-Hoyos M. Two-year follow-up of a prospective study of circulating regulatory T cells in renal transplant patients. *Clin Transplant.* 2010;24:386-93.
 24. Heidt S, Segundo DS, Chadha R, Wood KJ. The impact of Th17 cells on transplant rejection and the induction of tolerance. *Curr Opin Organ Transplant.* 2010;15:456-61.
 25. Chi H. Regulation and function of mTOR signalling in T cell fate decisions. *Nat Rev Immunol.* 2012;12:325-38.
 26. Hurez V, Dao V, Liu A, Pandeswara S, Gelfond J, Sun L, et al. Chronic mTOR inhibition in mice with rapamycin alters T, B, mieloide, and innate lymphoid cells and gut flora and prolongs life of immune-deficient mice. *Aging Cell.* 2015;14:945-56.
 27. Gallon L, Traitanon O, Yu Y, Shi B, Leventhal JR, Miller J, et al. Differential effects of calcineurin and mammalian target of rapamycin inhibitors on alloreactive Th1, Th17, and regulatory T cells. *Transplantation.* 2015;99:1774-84.
 28. Yang J, Brook MA, Carvalho-Gaspar M, Zhang J, Ramon HE, Sayegh MH, et al. Allograft rejection mediated by memory T cells is resistant to regulation. *PNAS.* 2007;104:19954-9.
 29. Krawczyk CM, Shen H, Pearce EJ. Functional plasticity in memory T helper cell responses. *J Immunol.* 2007;178:4080-8.
 30. Bushell A, Morris PJ, Wood KJ. Transplantation tolerance induced by antigen pretreatment and depleting anti-CD4 antibody depends on CD4+ T cell regulation during the induction phase of the response. *Eur J Immunol.* 1995;25:2643-9.
 31. Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. *Ann Rev Immunol.* 2004;22:745-63.
 32. Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood.* 2008;112:1557-69.
 33. Jones ND, Brook MO, Carvalho-Gaspar M, Luo S, Wood KJ. Regulatory T cells can prevent memory CD8+ T-cell-mediated rejection following polymorphonuclear cell depletion. *Eur J Immunol.* 2010;40:3107-16.
 34. Brouard S, Puig-Rey I, Lozano JJ, Pallier A, Braud C, Giral M, et al. Comparative transcriptional and phenotypic Peripherals blood analysis of kidney recipients under ciclosporina A or Sirolimus monotherapy. *Am J Transplant.* 2010;10:2604-14.
 35. Merino D, San Segundo D, Medina JM, Rodrigo E, Asensio E, Irure J, et al. Different in vitro proliferation and cytokine-production inhibition of memory T cell subsets after calcineurin and mammalian target of rapamycin inhibitors treatment. *Immunology.* 2016;148:206-15.
 36. Hazenberg MD, Spits H. Human innate lymphoid cells. *Blood.* 2014;124:700-9.
 37. Bartel G, Schwaiger E, Böhmig GA. Prevention and treatment of alloantibody-mediated kidney transplant rejection. *Transplant Int.* 2011;24:1142-55.
 38. Liefeldt L, Brakemeier S, Glander P, Waiser J, Lachmann N, Schönemann C, et al. Donor-specific HLA antibodies in a cohort comparing everolimus with cyclosporine after kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2012;12:1192-8.
 39. Ruiz San Millán JC, López-Hoyos M, Segundo DS, Quintela E, Rodrigo E, Gómez-Alamillo C, et al. Predictive factors of allosensitization in renal transplant patients switched from calcineurin to mTOR inhibitors. *Transplant Int.* 2014;27:847-56.
 40. De Sandes-Freitas TV, Felipe CR, Campos EF, de Lima MG, Soares MF, de Franco MF, et al. Subclinical Lesions and Donor-Specific Antibodies in Kidney Transplant Recipients Receiving Tacrolimus-Based Immunosuppressive Regimen Followed by Early Conversion to Sirolimus. *Transplantation.* 2015;99:2372-81.
 41. Croze LE, Tetaz R, Roustit M, Malvezzi P, Janbon B, Jouve T, et al. Conversion to mammalian target of rapamycin inhibitors increases risk of de novo donor-specific antibodies. *Transplant Int.* 2014;27:775-83.
 42. Traitanon O, Mathew JM, La Monica G, Xu L, Mas V, Gallon L. Differential effects of Tacrolimus versus Sirolimus on the proliferation, activation and differentiation of human B cells. *PLoS One.* 2015;10:e0129658.
 43. Lund FE, Randall TD. Effector and regulatory B cells: modulators of CD4+ T cell immunity. *Nat Rev Immunol.* 2010;10:236-47.
 44. Newell KA, Asare A, Kirk A, Gisler TD, Bourcier K, Suthanthiran M, et al. Identification of a B cell signature associated with renal transplant tolerance in humans. *J Clin Invest.* 2010;120:1836-47.
 45. Sagoo P, Perucha E, Sawitzki B, Tomiuk S, Stephens DA, Miqueu P, et al. Development of a cross-platform biomarker signature to

- detect renal transplant tolerance in humans. *J Clin Invest.* 2010;120:1848-61.
46. Leventhal JR, Mathew JM, Salomon DR, Kurian SM, Friedewald JJ, Gallon L, et al. Nonchimeric HLA-identical renal transplant tolerance: regulatory immunophenotypic/genomic biomarkers. *Am J Transplant.* 2016;16:221-34.
47. Stolp J, Turka LA, Wood KJ. B cells with immune-regulating function in transplantation. *Nat Rev Nephrol.* 2014;10:389-97.
48. San Segundo D, Rodrigo E, Fernández-Fresnedo G, Bonilla G, Arias M, López-Hoyos M. Decrease in Marginal Zone B-cells (CD27+IgD+CD38-) as Surrogate Marker of Rejection in Kidney Transplant Recipients. *Trends in Transplant.* 2013;7:51-5.
49. Latorre I, Esteve-Sole A, Redondo D, Giest S, Argilaguët J, Álvarez S, et al. Calcineurin and mTOR inhibitors have opposing effects on regulatory T cells while reducing regulatory B cell populations in kidney transplant recipients. *Transplant Immunol.* 2016;35:1-6.
50. Wang C, Yi T, Qin L, Maldonado RA, von Andrian UH, Kulkarni S, et al. Rapamycin-treated human endothelial cells preferentially activate allogeneic regulatory T cells. *J Clin Invest.* 2013;123:1677-93.
51. Ochando J, Kwan WH, Ginhoux F, Hutchinson JA, Hashimoto D, Collin M. The mononuclear phagocyte system in organ transplantation. *Am J Transplant.* 2016;16:1053-69.
52. Conde P, Rodríguez M, van der Touw W, Jiménez A, Burns M, Miller J, et al. DC-SIGN(+) macrophages control the induction of transplantation tolerance. *Immunity.* 2015;42:1143-58.

Inflamación renal en el trasplante: ¿existen biomarcadores?

Youssef Aouad^{1,2,*}, María Soledad Pizarro^{1,2,*}, Beatriz Fernández-Fernández^{1,2},
Ana M. Ramos^{1,2}, Alberto Ortiz^{1,2,3,4}

¹ Instituto de Investigación Sanitaria, Fundación Jiménez Díaz, Madrid

² Red de Investigación Renal (REDinREN), Madrid

³ Universidad Autónoma de Madrid, Madrid

⁴ Instituto Reina Sofía de Investigación en Nefrología (IRSIN), Madrid

*Ambos autores contribuyeron por igual.

Nefrología Sup Ext 2016;7(2):14-21

RESUMEN

El diagnóstico actual del rechazo agudo es tardío (cuando ha dado lugar a disfunción renal) o invasivo (biopsia renal que confirma la sospecha clínica o biopsias de protocolo que diagnostican el rechazo agudo subclínico). Sería deseable disponer de biomarcadores que permitieran la monitorización y diagnóstico precoz no invasivo del rechazo agudo. Estos biomarcadores podrían representar la respuesta inmune frente al injerto o la inflamación renal que caracteriza histológicamente al rechazo. Estudios recientes han evaluado la cuantificación en orina de mRNA que codifica proteínas implicadas en el rechazo renal o quimioquinas inducidas por interferón como biomarcadores no invasivos de rechazo agudo. La evaluación de mRNA urinario es cara, compleja y la muestra es evaluable en una proporción insuficiente de casos para uso rutinario. Sin embargo, la determinación en orina de quimioquinas activadoras de CXCR3, como CXCL9 y CXCL10, es prometedora para el diagnóstico temprano del rechazo agudo humoral, celular o mixto. Los niveles urinarios de CXCL9 y CXCL10 aumentan en orina antes de que se diagnostique el rechazo con la metodología actual y pueden mejorar el diagnóstico del rechazo humoral en conjunción con la determinación de anticuerpos donante-específicos. Sin embargo, los niveles urinarios aumentan en otras formas de inflamación renal, incluida la infección, y los estudios disponibles hasta ahora son observacionales. Antes de la incorporación a la práctica clínica rutinaria, sería necesario realizar ensayos clínicos en los que se

usaran los niveles de quimioquinas urinarias para tomar decisiones diagnósticas o terapéuticas y se evaluara el impacto pronóstico.

Palabras clave: Biomarcador, Inflamación, Quimioquinas, Trasplante renal, Rechazo agudo, Nefropatía crónica del trasplante

Renal inflammation in kidney transplant: Are there any biomarkers?

ABSTRACT

Current diagnosis of acute rejection is established late (after the development of renal dysfunction) or is invasive (through renal biopsy confirming clinical suspicion or protocol biopsies that diagnose acute subclinical rejection). There is a need for biomarkers that would allow monitoring and early non-invasive diagnosis of acute renal rejection. Such biomarkers could reflect the immune response to the kidney graft or the renal inflammation that histologically characterizes rejection. Recent studies have assessed urinary quantification of mRNA codifying the proteins involved in rejection or interferon-induced chemokines as non-invasive biomarkers of acute rejection. Urinary mRNA assessment is expensive and complex and the number of patients whose sample can be assessed is too small for its routine use. However, urinary determination of CXCR3-activating chemokines, such as CXCL9 and CXCL10, is promising for the early diagnosis of acute cellular, humoral or mixed cellular and humoral rejection. Urinary CXCL9 and CXCL10 levels are increased in urine before diagnosis of rejection with current methods and can improve the diagnosis of humoral rejection when used in conjunction with donor-specific antibodies. However, urinary levels are increased in other forms of renal

Correspondencia: Alberto Ortiz

Dialysis Unit.

Fundación Jiménez Díaz, Madrid.

aortiz@fjd.es

inflammation, including infection, and the available studies to date are observational. Before the inclusion of these biomarkers in routine clinical practice, clinical trials are needed that use urinary chemokine levels for clinical or therapeutic decision-making and that evaluate their prognostic impact.

Key words: *Biomarker, Inflammation, Chemokines, Acute renal, Transplant rejection, Chronic renal transplant nephropathy*

INTRODUCCIÓN

El trasplante es la terapia renal sustitutiva que ofrece mayor supervivencia y mejor calidad de vida en pacientes con enfermedad renal crónica avanzada¹. Los avances en inmunosupresión y monitorización han mejorado la morbilidad a medio y largo plazo. No obstante, durante el primer año postrasplante, entre el 9 y el 14% de los receptores sufren un rechazo agudo², que puede tener, a largo plazo, un impacto negativo sobre la supervivencia del injerto y conducir a una disfunción crónica del mismo³. El rechazo agudo es el mayor predictor de disfunción crónica del injerto. Es esencial para el manejo del trasplantado renal evitar o retrasar la progresión hacia disfunción crónica del injerto mediante el diagnóstico precoz de rechazos agudos. Los marcadores validados disponibles actualmente para monitorizar el rechazo, como el incremento de la creatinina o el aumento de la proteinuria, son tardíos e inespecíficos. Por tanto, el patrón oro actual para el diagnóstico del rechazo del injerto es la biopsia renal⁴. Este es, sin embargo, un método invasivo, costoso y con posibilidad de complicaciones (hematuria, anuria, hematoma perirrenal, hemorragia y *shock*, fístula arteriovenosa e incluso pérdida del injerto). Además, la interpretación de la biopsia es subjetiva y dependiente del observador.

El rechazo agudo se clasifica, según criterios analíticos, en clásico, si se acompaña de un incremento de la creatinina, y subclínico, si la creatinina no cambia. El rechazo agudo subclínico se diagnostica mediante biopsias de protocolo, realizadas en fechas prefijadas, y no sobre la base de hallazgos clínicos o analíticos. Ambas formas de rechazo pueden ser, según criterios histológicos, humorales o celulares⁵. La gravedad del rechazo se define según la intensidad de la glomerulitis, la endotelitis/arteritis y la inflama-

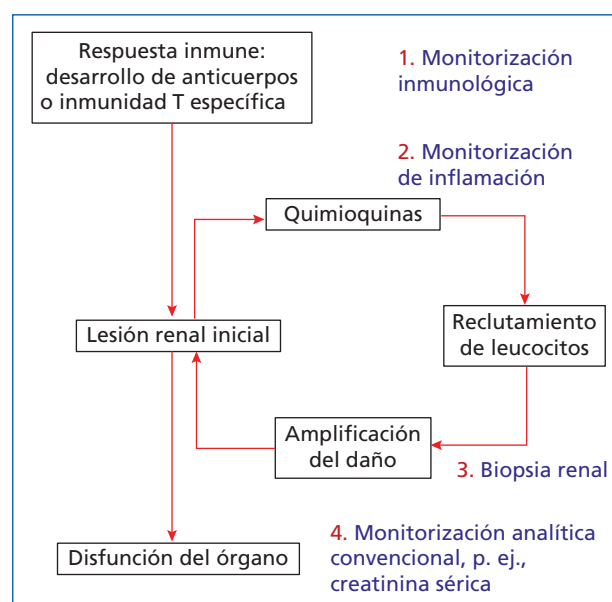


Figura 1. Situación de los marcadores de inflamación renal dentro de la secuencia de acontecimientos que lleva al diagnóstico del rechazo agudo. Los números hacen referencia a la secuencia temporal de acontecimientos y, por lo tanto, a la precocidad teórica con la que la determinación de parámetros representativos de ese fenómeno puede permitir el diagnóstico de rechazo.

ción tubulointersticial en la clasificación de Banff⁵. Observamos que estos términos hacen referencia a la inflamación de diferentes nichos renales, por lo que se puede hipotetizar que el uso de métodos no invasivos para monitorizar el grado de inflamación renal podría ser útil para detectar el rechazo.

Con estas premisas, es necesario desarrollar pruebas diagnósticas incruentas y biomarcadores con alta sensibilidad y especificidad que se modifiquen de forma precoz ante el inicio del rechazo, que sean capaces de evaluar el riesgo inmunológico y de orientar la toma de decisiones, y que disminuyan la necesidad de realizar biopsias renales^{4,6}. En este artículo, revisaremos el estado actual de los biomarcadores de inflamación para predecir y diagnosticar el riesgo inmunológico del injerto o guiar las decisiones terapéuticas tras el trasplante renal, y su posible aplicación a la práctica clínica diaria (figura 1).

INFLAMACIÓN DEL INJERTO RENAL

De entre los diversos componentes de la respuesta inflamatoria, las quimioquinas son moléculas particularmente atractivas cuando se quiere evaluar la inflamación de forma precoz o el grado de actividad de la respuesta inflamatoria. En efecto, las quimioquinas son citoquinas quimiotácticas secretadas por las células parenquimatosas y del sistema inmune, en respuesta al estrés celular o a los amplificadores de la inflamación. Así pues, pueden ser la primera evidencia de que una célula renal está expuesta a un estrés y preceden a la infiltración masiva de leucocitos en respuesta a las propias quimioquinas, al daño tisular consecuencia de esta infiltración y a la disfunción del órgano como consecuencia de la lesión tisular. Asimismo, el cese de la respuesta inflamatoria implica que se dejan de producir quimioquinas y, por lo tanto, de atraer nuevos leucocitos al foco inflamatorio.

Los interferones están implicados en el rechazo, por lo que se ha prestado especial atención a las quimioquinas producidas por células renales en respuesta a interferones y que, además, atraen linfocitos T, células clave del rechazo. Sin embargo, las quimioquinas son promiscuas desde todos los puntos de vista: numerosos tipos celulares diferentes pueden secretar múltiples quimioquinas, cada una de ellas en respuesta a múltiples estímulos posibles, y, a su vez, las quimioquinas pueden con frecuencia activar varios receptores, que comparten con otras quimioquinas, y así atraer diversos tipos celulares⁷. De hecho, diversas moléculas proinflamatorias, además de los interferones, estimulan la producción de quimioquinas por las células renales, incluyendo citoquinas de la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF, por sus siglas en inglés, *tumour necrosis factor*) y productos bacterianos, así como nefrotóxicos⁷⁻¹⁰. Por lo tanto, *a priori*, se esperaría que el hallazgo de niveles elevados de quimioquinas fuera inespecífico desde el punto de vista de la etiología (infecciosa o inflamación estéril) y que la magnitud del cambio estuviera más relacionada con la intensidad de la inflamación que con la etiología. Así, por ejemplo, hace más de 20 años ya se observó que tóxicos podocitarios que causan proteinuria elevaban la producción renal de la proteína inducible por interferón gamma 10 (IP-10, por sus siglas en inglés, *interferon*

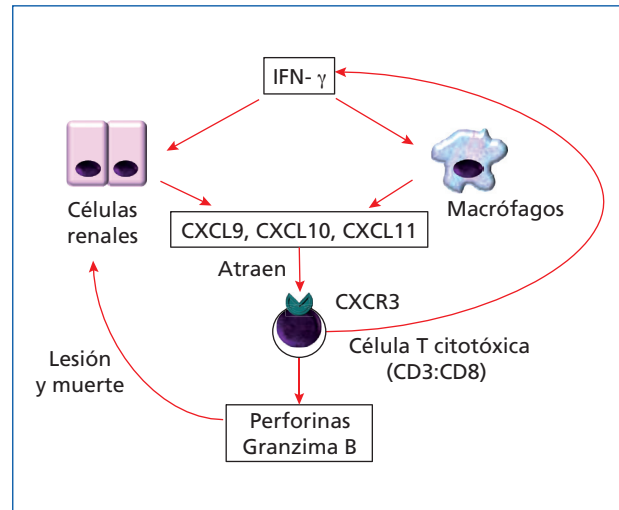


Figura 2. Situación de los principales marcadores de inflamación renal mencionados dentro de la ruta inmunológica del rechazo agudo.

gamma-inducible protein 10) en ratas y que el TNF era un potente inductor de la producción de IP-10 por parte de las células renales¹¹. Las quimioquinas atraen leucocitos durante la respuesta inmune y la inflamación¹² mediante la activación de receptores transmembrana específicos acoplados a proteínas G¹³.

El CXCR3 es un receptor de quimioquinas expresado en los linfocitos T y B, y en las células *natural killer* (NK) que es activado por las quimioquinas CXCL11, CXCL10 y CXCL9, que atraen principalmente a linfocitos T activados, que tienen una alta expresión del CXCR3¹⁴⁻¹⁶ (figura 2). Dos de las quimioquinas que activan el receptor CXCR3 (CXCL9 y CXCL10) se han relacionado con el desarrollo del rechazo agudo^{17,18}. Sin embargo, tenemos que destacar que los estudios que han relacionado estas quimioquinas con el rechazo estaban diseñados sobre la base de hipótesis preestablecidas. Si bien esta es una forma ortodoxa de hacer ciencia, existe la posibilidad de que, debido al conocimiento limitado de la biología humana, no se hayan estudiado moléculas que podrían dar información más sensible y específica. Este tipo de aproximación, no sesgada, es característica de las aproximaciones ómicas, como la transcriptómica o la proteómica¹⁹⁻²².

La inflamación del injerto renal puede tener diversas etiologías, además del rechazo, incluyendo la isquemia

de reperfusión, la recidiva de la enfermedad de base, las infecciones bacterianas o virales, o los nefrotóxicos. En el injerto renal de donante cadáver, la inflamación precede a la implantación del órgano, como se ha podido demostrar en estudios transcriptómicos, como los recogidos en la base de datos Nephromine (www.nephromine.org). Se piensa que estos cambios son consecuencia de la muerte cerebral. Así, por ejemplo, en comparación con los riñones de donantes vivos o de pacientes con síndrome nefrótico de cambios mínimos, en el riñón de donante cadáver está aumentada la expresión génica de las quimioquinas CXCL9 y CXCL10, de la interleucina 18 (IL-18), de la quimiocina CCL2, de la quinasa apical de la vía no canónica del factor de transcripción proinflamatorio nuclear kappa B (NF-kB por sus siglas en inglés, *nuclear factor kappa B*), MAP3K14 y del receptor de la citoquina TWEAK (por sus siglas en inglés, *TNF-like weak induced of apoptosis*) de la superfamilia del TNF, TNFRSF12A. Sin embargo, está disminuida la expresión de KL, el gen que codifica el factor antienvjecimiento de origen renal Klotho. Estos resultados son interesantes porque ponen en contexto aquellos obtenidos en el trasplante renal humano que discutiremos a continuación: no solo el interferón, sino también citoquinas como el TWEAK, aumentan la expresión de quimioquinas en células tubulares y disminuyen la expresión de Klotho, que, a su vez, también tiene propiedades antiinflamatorias y antifibróticas²³⁻²⁷.

ÁCIDO RIBONUCLEICO MENSAJERO URINARIO

El ácido ribonucleico mensajero (mRNA por sus siglas en inglés, *messenger ribonucleic acid*) en orina de pacientes trasplantados renales podría resultar informativo como biomarcador de rechazo agudo. Ya en el año 2001 se estudiaron 151 muestras de orina de 85 receptores de trasplante renal y se desarrollaron y describieron técnicas de cuantificación de mRNA de proteínas citotóxicas en las células urinarias, abriendo así una larga y compleja línea de investigación científica en ese ámbito²⁸. De los 85 pacientes evaluados en este estudio, 38 fueron sometidos a biopsia renal, de los que se obtuvieron 44 muestras. Los niveles altos de mRNA de perforina y granzima B (proteínas de linfocitos T citotóxicos) y de CD3 (marcador de linfocitos

T) en las células urinarias se asociaron al desarrollo de rechazo agudo de trasplante.

En 2013, se publicó el mayor estudio de mRNA urinario y rechazo de trasplante renal, que expuso tanto la promesa como las debilidades de esta aproximación. En 4.300 muestras de orina de 485 receptores de trasplante renal recogidas desde el tercer día de la intervención hasta los 12 meses posteriores (días postrasplante 3, 7, 15 y 30; y meses 2, 3, 4, 5, 6, 9, y 12; y en el momento de la biopsia y 2 semanas después) se evaluaron los niveles de mRNA de ocho marcadores asociados previamente al rechazo y se observó que tres estaban claramente relacionados con el rechazo agudo²⁹. Los tipos de mRNA identificados fueron 18S ribosomal (rRNA), y el mRNA de CXCL10 y de CD3ε, estos últimos normalizados por 18S mRNA. Los autores integraron los tres biomarcadores en un solo parámetro, una huella molecular estimada mediante una fórmula matemática ($-6,1487 + 0,8534 \log_{10}[\text{CD}3\epsilon/18\text{S}] + 0,6376 \log_{10}[\text{IP-10}/18\text{S}] + 1,6464 \log_{10}[18\text{S}]$), que permitió establecer un valor de corte de $-1,213$. Este parámetro no aumentó con infecciones del tracto urinario, con bacteriemia ni con infecciones por citomegalovirus (CMV), pero sí se asoció con infección por virus BK ($p = 0,03$). Los autores concluyen que la determinación urinaria de estos tipos de mRNA podría tener valor diagnóstico y pronóstico del rechazo agudo celular sin biopsia renal, una vez descartada la infección por BK mediante métodos no invasivos. El estudio tenía ciertas limitaciones, como la imposibilidad de recoger todas las muestras de orina previas a las biopsias y, en algunos casos, el hecho de no cumplir los controles de calidad exigidos. Los pacientes seleccionados presentaron un bajo porcentaje de rechazo mediado por anticuerpos, por lo que no se puede validar para diagnóstico de rechazo humoral. Una desventaja de esta metodología es que solo el 83% de las muestras son válidas. En este sentido, las técnicas analíticas implicadas son caras y complejas, y aplicarlas para no disponer de un resultado válido en uno de cada seis pacientes es *a priori* cuestionable. Finalmente, el área bajo la curva (AUC por sus siglas en inglés, *area under the curve*) para el diagnóstico de rechazo se redujo desde 0,85 (intervalo de confianza [IC] del 95%, 0,78-0,91) en el estudio inicial a 0,74 (IC del 95%, 0,61-0,86) en la fase de validación externa, con un límite del intervalo de confianza muy cercano a 0,50.

QUIMIOQUINAS URINARIAS

Hay varios trabajos publicados que abordan la utilidad de la determinación de las quimioquinas urinarias, fundamentalmente la CXCL9 y la CXCL10, para el diagnóstico del rechazo agudo^{4,6}. Comentaremos aquí los más destacados e ilustrativos del valor de estas quimioquinas.

Un estudio observacional, prospectivo y multicéntrico, con 280 receptores de injerto renal, estudió seis tipos de mRNA (CCR1, CXCR3, granzima B, IL-8, CXCL9 y CXCL10) y dos quimioquinas (la CXCL9 y la CXCL10) en orina. Los niveles de la CXCL9 o la CXCL10 urinarias fueron más altos en el rechazo agudo que en pacientes sin rechazo (otros diagnósticos), pero los niveles de la CXCL10 urinaria no diferenciaron el rechazo de infección¹⁹. La CXCL9 urinaria permitió diagnosticar el rechazo agudo con un área bajo la curva de 0,86, un valor predictivo positivo de 68% y un valor predictivo negativo de 92%, con lo que se podrían, idealmente, evitar biopsias renales en pacientes con sospecha clínica de rechazo y niveles bajos de la CXCL9¹⁷ urinaria. La combinación de la proteína CXCL9 y el mRNA CXCL9 aportó resultados marginalmente mejores, con valor predictivo positivo de 71% y valor predictivo negativo de 92%, lo que no parece justificar la determinación añadida del mRNA¹⁷. Los niveles urinarios de la CXCL9 aumentaron un mes antes de la realización de una biopsia renal por sospecha clínica de rechazo agudo con diagnóstico de rechazo agudo. En este sentido, la CXCL9 en orina podría predecir el rechazo agudo y contribuir a realizar una biopsia renal antes, lo que facilitaría el tratamiento precoz del rechazo. Además, la monitorización de los niveles de la CXCL9 urinaria podría ayudar a la identificación de una adecuada resolución del rechazo agudo, si se tiene en cuenta que los niveles de dicho biomarcador disminuyeron tras 30 días de tratamiento con éxito del rechazo. Es más, existió una relación entre los niveles urinarios de la CXCL9 y los datos de inflamación del injerto (categorías i [inflamación intersticial] y t [tubulitis] de Banff) en biopsias de protocolo a los 6 meses. Finalmente, la medición de los niveles de la CXCL9 urinaria al sexto mes postrasplante renal permitiría estratificar los receptores en bajo y alto riesgo de rechazo renal, ya que existió una relación entre la CXCL9 urinaria elevada en el sexto mes y la aparición de rechazo

clínico entre el sexto y el 24 mes postrasplante renal (*odds ratio*, 4,7; sensibilidad, 83%; especificidad, 84% [p = 0,005]). El AUC fue de 0,88; el valor predictivo negativo, de 99%, y el valor predictivo positivo, de 15%, lo que permitiría identificar receptores con bajo riesgo de rechazo. En este sentido, los niveles indetectables de la CXCL9 en orina predijeron una función estable del injerto a largo plazo con valor predictivo negativo para deterioro de la función renal por encima del 99%, independientemente de diversas características clínicas del paciente. En resumen, en este estudio, la CXCL9 urinaria global fue el parámetro con mejor comportamiento pronóstico y diagnóstico de rechazo agudo.

En otra cohorte de 244 receptores de trasplante renal muy sensibilizados (27% con anticuerpos antidonante) en los que se practicaron 281 biopsias renales, se observó una asociación significativa entre los niveles urinarios de la CXCL9 y de la CXCL10, sin normalizar o normalizados por la creatinina urinaria (CXCL9/CrU y CXCL10/CrU), y la inflamación renal categorizada por la clasificación de Banff, tanto tubulointersticial (categorías i y t), como microvascular (categorías g [glomerulitis] y ptc [capilaritis peritubular])¹⁸. Sin embargo, no se evidenció relación de estas quimioquinas con los criterios de rechazo crónico de la clasificación de Banff¹⁸. Los niveles urinarios de la CXCL10 y del cociente CXCL10/CrU fueron más altos en el rechazo agudo y el cociente CXCL10/CrU diagnosticó el rechazo agudo celular (AUC, 0,80; IC, 95%; 0,68 a 0,92), humoral (AUC, 0,76; IC, 95%; 0,69 a 0,82) y mixto (AUC, 0,82; IC, 95%; 0,74 a 0,90). El cociente CXCL10/CrU permitió estimar el riesgo de pérdida del injerto después de un rechazo humoral agudo. Además, la combinación del cociente CXCL10/CrU con los anticuerpos donante específicos inmunodominantes permitió mejorar el AUC para el diagnóstico de rechazo agudo humoral (sube de 0,75; IC, 95%; 0,68-0,82 hasta 0,83; IC, 95%; 0,77-0,89). La CXCL9 y el cociente CXCL9/CrU, sin embargo, se incrementaron de forma significativa en los rechazos mixtos y los rechazos celulares puros, pero no en los rechazos humorales puros. Las curvas características de operación del receptor (ROC por sus siglas en inglés, *receiver operating characteristic*) mostraron superioridad de la CXCL9 y del cociente CXCL9/CrU (AUC, 0,86; IC, 95%; 0,74-0,98 y

0,90; IC, 95%; 0,84-0,97) respectivamente respecto a la CXCL10 y al cociente CXCL10/CrU en la predicción del rechazo agudo celular. En general, los valores predictivos positivos de la determinación de quimioquinas urinarias fueron menores (12 a 59%) que los valores predictivos negativos (84 a > 99% para el diagnóstico de rechazo agudo o sus modalidades). En resumen, el cociente CXCL10/Cr urinario tuvo el mejor comportamiento global en este estudio respecto a su asociación con el grado histológico de inflamación tubulointersticial y microvascular en el trasplante renal y la discriminación del rechazo, y su combinación con los niveles séricos de anticuerpos donante específicos mejoró el diagnóstico no invasivo del rechazo agudo humoral, aunque el cociente CXCL9/CrU tuvo mejor comportamiento para el diagnóstico del rechazo celular.

CONCLUSIONES

En resumen, diversas publicaciones han expuesto que la determinación en orina mediante un análisis de inmunoadsorción ligada a enzimas (ELISA por sus siglas en inglés, *enzyme linked immunosorbent assay*) técnicamente simple de quimioquinas activadoras del CXCR3 (la CXCL9 y la CXCL10) permite detectar inflamación renal diagnóstica de rechazo agudo incluso cuando esta es subclínica, ya que aumentan hasta un mes antes de un episodio diagnosticado por biopsia de rechazo agudo, disminuyen en respuesta al tratamiento antirrechazo y pueden llegar a predecir la disfunción posterior del injerto. Sin embargo, pueden aumentar en otras condiciones asociadas a inflamación renal, como infección viral o bacteriana, y no existen puntos de corte bien definidos ni ensayos validados para su uso clínico. La otra aproximación, la determinación de niveles urinarios del mRNA, resulta más compleja, no ofrece ventajas frente a la determinación de quimioquinas y presenta una tasa inaceptable de estudios no válidos para la práctica de la medicina en el siglo XXI. En general, los estudios disponibles sobre el potencial biomarcador de la determinación urinaria de las quimioquinas o del mRNA de moléculas inflamatorias son observacionales. Por lo tanto, no han podido demostrar la utilidad clínica de estas determinaciones. Para ello se necesitarían ensayos clínicos en los

que se evaluara si los resultados del estudio de las quimioquinas urinarias permiten tomar decisiones clínicas (por ejemplo, biopsiar o no biopsiar, modificar el tratamiento o no modificarlo) que mejoren el pronóstico de los pacientes. Por otra parte, la forma de seleccionar los marcadores que se han estudiado hasta ahora (derivada de hipótesis) no garantiza que estos sean los mejores biomarcadores posibles. Sería necesario realizar estudios no sesgados de tipo ómico para identificar posibles biomarcadores urinarios de inflamación que en estos momentos no se puedan proponer basándose en hipótesis debido al conocimiento insuficiente de la biología humana³⁰. Finalmente, es muy posible que en el trasplante renal, al igual que ocurre en otros campos de la medicina e incluso de la nefrología, el uso simultáneo de varios biomarcadores (un panel de biomarcadores) proporcione información más sensible y específica que el estudio de un solo biomarcador¹⁹⁻²².

En conclusión, los biomarcadores urinarios de inflamación no están listos para su uso clínico en 2016.

Agradecimientos

Fondo de Investigación en Salud (FIS), PI13/00047, Instituto de Salud Carlos III-Redes Temáticas de Investigación Cooperativa en Salud (RETICS)- Red de Investigación Renal (REDinREN) RD12/0021-Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), Sociedad Española de Nefrología, Sociedad Española de Trasplante, Fundación Renal Íñigo Álvarez de Toledo (FRIAT), Comunidad de Madrid/CIFRA S2010/BMD-2378. FIS a BFF (Joan Rodés), Programa Intensificación Actividad Investigadora a AO.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tonelli M, Wiebe N, Knoll G, Bello A, Browne S, Jadhav D, et al. Systematic review: kidney transplantation compared with dialysis

- in clinically relevant outcomes. *Am J Transplant*. 2011;11:2093-109.
2. Matas AJ, Smith JM, Skeans MA, Thompson B, Gustafson SK, Schnitzler MA, et al. OPTN/SRTR 2012 Annual Data Report: kidney. *Am J Transplant*. 2014;14 Suppl 1:11-44.
 3. Wu J, Chen J, Wang Y, Zhang J, Zhu Z, Shou Z, et al. Impact of acute rejection episodes on long-term renal allograft survival. *Chin Med J (Engl)*. 2003;116:1741-5.
 4. Hirt-Minkowski P, de Serres SA, Ho J. Developing renal allograft surveillance strategies - urinary biomarkers of cellular rejection. *Can J Kidney Health Dis*. 2015;2:28.
 5. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant*. 2008;8:753-60.
 6. Kim SC, Page EK, Knechtle SJ. Urine proteomics in kidney transplantation. *Transplant Rev (Orlando)*. 2014;28:15-20.
 7. Moreno JA, Moreno S, Rubio-Navarro A, Gómez-Guerrero C, Ortiz A, Egido J. Role of chemokines in proteinuric kidney disorders. *Expert Rev Mol Med*. 2014;16:e3.
 8. Ortiz A, Bustos C, Alonso J, Alcázar R, López-Armada MJ, Plaza JJ, et al. Involvement of tumor necrosis factor-alpha in the pathogenesis of experimental and human glomerulonephritis. *Adv Nephrol Necker Hosp*. 1995;24:53-77.
 9. González-Cuadrado S, Bustos C, Ruiz-Ortega M, Ortiz A, Guijarrero C, Plaza JJ, et al. Expression of leucocyte chemoattractants by interstitial renal fibroblasts: up-regulation by drugs associated with interstitial fibrosis. *Clin Exp Immunol*. 1996;106:518-22.
 10. González-Guerrero C, Ocaña-Salceda C, Berzal S, Carrasco S, Fernández-Fernández B, Cannata-Ortiz P, et al. Calcineurin inhibitors recruit protein kinases JAK2 and JNK, TLR signaling and the UPR to activate NF-kappaB-mediated inflammatory responses in kidney tubular cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2013;272:825-41.
 11. Gómez-Chiarri M, Ortiz A, González-Cuadrado S, Serón D, Emancipator SN, Hamilton TA, et al. Interferon-inducible protein-10 is highly expressed in rats with experimental nephrosis. *Am J Pathol*. 1996;148:301-311.
 12. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity*. 2000;12:121-7.
 13. Murphy PM, Baggiolini M, Charo IF, Hébert CA, Horuk R, Matsushima K, et al. International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol Rev*. 2000;52:145-76.
 14. Rabin RL, Park MK, Liao F, Swofford R, Stephany D, Farber JM. Chemokine receptor responses on T cells are achieved through regulation of both receptor expression and signaling. *J Immunol*. 1999;162:3840-50.
 15. Loetscher M, Loetscher P, Brass N, Meese E, Moser B. Lymphocyte-specific chemokine receptor CXCR3: regulation, chemokine binding and gene localization. *Eur J Immunol*. 1998;28:3696-705.
 16. Sallusto F, Lenig D, Mackay CR, Lanzavecchia A. Flexible programs of chemokine receptor expression on human polarized T helper 1 and 2 lymphocytes. *J Exp Med*. 1998;187:875-83.
 17. Hricik DE, Nickerson P, Formica RN, Poggio ED, Rush D, Newell KA, et al. Multicenter validation of urinary CXCL9 as a risk-stratifying biomarker for kidney transplant injury. *Am J Transplant*. 2013;13:2634-44.
 18. Rabant M, Amrouche L, Lebreton X, Aulagnon F, Benon A, Sauvaget V, et al. Urinary C-X-C Motif Chemokine 10 Independently Improves the Noninvasive Diagnosis of Antibody-Mediated Kidney Allograft Rejection. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26:2840-51.
 19. Schanstra JP, Züribig P, Alkhalaf A, Argiles A, Bakker SJ, Beige J, et al. Diagnosis and Prediction of CKD Progression by Assessment of Urinary Peptides. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26:1999-2010.
 20. Siwy J, Schanstra JP, Argiles A, Bakker SJ, Beige J, Boucek P, et al. Multicentre prospective validation of a urinary peptidome-based classifier for the diagnosis of type 2 diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29:1563-70.
 21. Posada-Ayala M, Zubiri I, Martín-Lorenzo M, Sanz-Maroto A, Molero D, González-Calero L, et al. Identification of a urine metabolomic signature in patients with advanced-stage chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2014;85:103-11.
 22. Mischak H, Ioannidis JP, Argiles A, Attwood TK, Bongcam-Rudloff E, Broenstrup M, et al. Implementation of proteomic biomarkers: making it work. *Eur J Clin Invest*. 2012;42:1027-36.
 23. Sanz AB, Izquierdo MC, Sánchez-Niño MD, Uceró AC, Egido J, Ruiz-Ortega M, et al. TWEAK and the progression of renal disease: clinical translation. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29 Suppl 1:i54-i62.
 24. Poveda J, Tabara LC, Fernández-Fernández B, Martín-Cleary C, Sanz AB, Selgas R, et al. TWEAK/Fn14 and Non-Canonical NF-kappaB Signaling in Kidney Disease. *Front Immunol*. 2013;4:447.
 25. Moreno JA, Izquierdo MC, Sánchez-Niño MD, Suárez-Álvarez B, López-Larrea C, Jakubowski A, et al. The inflammatory cytokines TWEAK and TNFalpha reduce renal klotho expression through NFkappaB. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22:1315-25.
 26. Izquierdo MC, Pérez-Gómez MV, Sánchez-Niño MD, Sanz AB, Ruiz-Andrés O, Poveda J, et al. Klotho, phosphate and inflammation/ageing in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27 Suppl 4:iv6-10.

27. Izquierdo MC, Sanz AB, Mezzano S, Blanco J, Carrasco S, Sánchez-Niño MD, et al. TWEAK (tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis) activates CXCL16 expression during renal tubulointerstitial inflammation. *Kidney Int.* 2012;81:1098-107.
28. Li B, Hartono C, Ding R, Sharma VK, Ramaswamy R, Qian B, et al. Noninvasive diagnosis of renal-allograft rejection by measurement of messenger RNA for perforin and granzyme B in urine. *N Engl J Med.* 2001;344:947-54.
29. Suthanthiran M, Schwartz JE, Ding R, Abecassis M, Dadhania D, Samstein B, et al. Urinary-cell mRNA profile and acute cellular rejection in kidney allografts. *N Engl J Med.* 2013;369:20-31.
30. Izquierdo MC, Sanz AB, Sánchez-Niño MD, Pérez-Gómez MV, Ruiz-Ortega M, Poveda J, et al. Acute kidney injury transcriptomics unveils a relationship between inflammation and ageing. *Nefrología.* 2012;32:715-23.

Evaluación del riesgo de infección en los receptores de trasplante renal: papel de las estrategias de monitorización inmunológica

Mario Fernández-Ruiz, José María Aguado

Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario 12 de Octubre, Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (i+12), Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid

Nefrología Sup Ext 2016;7(2):22-37

INTRODUCCIÓN

El trasplante renal (TR) constituye una alternativa terapéutica bien establecida en pacientes con enfermedad renal crónica, tanto si se encuentran sometidos a técnicas de reemplazo renal como si permanecen en situación de prediálisis, al haber demostrado su beneficio en términos de supervivencia y calidad de vida^{1,2}. La supervivencia del injerto censurada por muerte ha experimentado un avance notable en las últimas décadas, fruto de la introducción de regímenes de inmunosupresión más potentes que han permitido reducir la incidencia del rechazo agudo a cifras inferiores al 12%³⁻⁵. No obstante, los pacientes sometidos a TR siguen sufriendo un exceso de morbimortalidad respecto a la población general derivado de los efectos deletéreos a medio y largo plazo del tratamiento inmunosupresor, que conducen a un mayor riesgo de infecciones, eventos cardiovasculares y neoplasia *de novo*^{5,6}. En concreto, las complicaciones infecciosas suponen una de las principales causas de muerte con injerto funcional, solo por detrás de la mortalidad de origen cardiovascular⁶.

La implementación en la práctica clínica de estrategias de monitorización inmunológica durante el período de seguimiento postrasplante podría resultar en la minimización de estos eventos adversos al permitir el ajuste individualizado del tratamiento con arreglo al estado global de inmu-

nosupresión de cada paciente, como recientemente ha demostrado un ensayo clínico basado en la determinación de los niveles intracelulares de trifosfato de adenosina (ATP por sus siglas en inglés, *adenosine triphosphate*) en los linfocitos T CD4⁺ mediante un test comercial⁷. La estrategia ideal de monitorización inmunológica debería estar fundamentada en biomarcadores sensibles y específicos, que fueran capaces de compendiar la naturaleza multidimensional de la respuesta inmune tanto innata como adaptativa, cuya determinación fuera sencilla y reproducible desde un punto de vista técnico, y que pudieran ser puestos en conocimiento del clínico en un corto período de tiempo a fin de permitir la toma de decisiones terapéuticas⁸. Hasta la fecha, la única estrategia con un grado significativo de implantación en la práctica asistencial se limita a la monitorización de los niveles plasmáticos de fármacos inmunosupresores, principalmente anticalcineurínicos e inhibidores de la diana de la rapamicina en mamíferos (mTOR por sus siglas en inglés, *mammalian target of rapamycin*). Por desgracia, este abordaje unidimensional, de carácter exclusivamente farmacocinético, dista de cumplir estos requisitos^{9,10}.

La presente revisión se centrará en una serie de estrategias de monitorización inmunológica que comparten su naturaleza no patógeno específica (resumidas en la tabla 1). Es decir, estos biomarcadores proporcionan una evaluación de la respuesta inmune que, ya sea funcional o exclusivamente cuantitativa, no está circunscrita a un determinado microorganismo, toda vez que no se basan en un estímulo antigénico concreto⁸. Deben ser diferenciados, por tanto, de los abordajes que tienen por objeto evaluar la magnitud y la

Correspondencia: Mario Fernández Ruiz
Unidad de Enfermedades Infecciosas.
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.
mario_fdezruiz@yahoo.es

Tabla 1. Estrategias de monitorización inmunológica de naturaleza no patógeno específica

Características	Inmunoglobulinas séricas	Componentes del sistema de complemento	Subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica	Forma soluble de CD30 (sCD30)	Viremia por VEB o anellovirus
Muestra requerida	Suero	Suero	Sangre completa	Suero	Sangre completa, suero o plasma
Técnica	Nefelometría	Nefelometría, ELISA o genotipado del gen MBL2	Citometría de flujo	ELISA	PCR cuantitativa
Análisis funcional	No	No	No	Sí	Sí
Ventajas	Bajo coste. Técnica sencilla y ampliamente disponible. Posibilidad de intervención mediante reposición con IgIV	Bajo coste. Técnica sencilla (cuantificación de C3 y C4)	Técnica sencilla (métodos semiautomatizados). Excelente VPN para descartar infección. Amplia experiencia análoga en la infección por VIH	Técnica sencilla (kits comerciales). Bajo volumen de muestra requerida (25 µl)	Valoración funcional global de la inmunidad celular. Técnica sencilla y ampliamente disponible (PCR para VEB)
Limitaciones	No informa acerca del estado funcional de la inmunidad humoral. Evidencia aún limitada de la utilidad de las IgIV	No informa acerca del estado funcional del sistema del complemento. Interpretación compleja (genotipos de MBL2). Experiencia clínica limitada	No informa acerca del estado funcional de la inmunidad celular. Ausencia de puntos de corte establecidos. Modesto VPP	Ausencia de puntos de corte establecidos. Experiencia clínica limitada con resultados discordantes entre estudios	Ausencia de estandarización técnica. Ausencia de puntos de corte establecidos. Posible interferencia del tratamiento antiviral (VEB). Experiencia clínica limitada

C3 y C4: componentes 3 y 4 del complemento; ELISA: análisis de la inmunoabsorción ligada a enzimas; IgIV: inmunoglobulinas intravenosas; MBL: lectina fijadora de manosa; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; VEB: virus de Epstein-Barr; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; VPN: valor predictivo negativo; VPP: valor predictivo positivo. Modificado de Fernández-Ruiz et al⁸.

funcionalidad de la respuesta celular adaptativa específica frente a ciertos virus, y cuyo esfuerzo se ha centrado fundamentalmente hasta el momento en el citomegalovirus (CMV). Estas técnicas, basadas en la medición de citoquinas de tipo Th1 como el interferón gamma en linfocitos pre-

viamente estimulados con péptidos virales, lisados virales o células dendríticas infectadas con virus vivos, han experimentado un notable desarrollo en los últimos años y quedarán fuera de nuestro objetivo, por lo que se remite al lector interesado a revisiones recientes al respecto^{11,12}.

NIVELES SÉRICOS DE INMUNOGLOBULINAS

La inmunidad humoral desempeña un papel crucial en la respuesta protectora tanto innata como adaptativa frente a los microorganismos causantes de infección. Interviene, entre otras funciones, en la opsonización y fagocitosis de bacterias encapsuladas (como *Streptococcus pneumoniae* o *Neisseria meningitidis*), en la activación del complemento o en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (tabla 2)¹³. En el paciente portador de TR concurren una serie de factores que actúan de forma deletérea sobre este brazo efector de la inmunidad, entre los que destacan el síndrome de malnutrición, inflamación y aterosclerosis en el periodo de diálisis pretrasplante y el propio tratamiento inmunosupresor¹⁴. En ese sentido, algunos autores han sugerido una asociación entre el uso del micofenolato de mofetilo y la disminución de los niveles séricos de inmunoglobulina G (IgG), que podría estar mediada por el efecto directo de este fármaco sobre la funcionalidad de los linfocitos B¹⁵⁻¹⁷. También se ha observado que la administración de anticalcineurínicos o de bolos de esteroides como terapia del rechazo agudo contribuye indirectamente a la alteración de la inmunidad humoral a través de un mecanismo inhibitorio sobre los linfocitos T CD4 Th2 y sus citoquinas (necesarios para la activación y expansión de los linfocitos B)^{14,18}. Por todo ello, la hipogammaglobulinemia (HGG) es más frecuente en los receptores de TR que en sujetos sanos o en pacientes con enfermedad renal crónica no trasplantados. Esta complicación aparece habitualmente *de novo* tras el trasplante. En nuestra experiencia, la prevalencia de la HGG a expensas de IgG (definida por niveles séricos de IgG < 700 mg/dl) se incrementó desde el 6,6% en situación basal hasta el 52% en el primer mes postrasplante, para mantenerse en el 31,4% al sexto mes¹⁹. En un metaanálisis realizado a partir de 579 receptores de TR incluidos en seis estudios, la prevalencia de la HGG IgG a lo largo del primer año postrasplante fue del 40%. Es destacable que el descenso de la concentración de la IgG fuera clasificada como grave (< 400 mg/dl) hasta en el 8% de los casos²⁰.

Desde el ya clásico trabajo de Wieneke et al, publicado hace más de 30 años, son múltiples los estudios que han analizado el impacto del desarrollo de la HGG *de novo* sobre la incidencia de complicaciones infecciosas en dis-

Tabla 2. Funciones desempeñadas por las inmunoglobulinas en la respuesta inmune frente a patógenos bacterianos

Neutralización de enzimas secretadas y de toxinas bacterianas
Opsonización y fagocitosis de bacterias encapsuladas (mediadas por los receptores de la Fc de las inmunoglobulinas)
Activación del sistema del complemento por la vía clásica (particularmente IgM)
Citotoxicidad celular mediada por anticuerpos (lisis celular directa por linfocitos <i>natural killer</i> y macrófagos)
Mantenimiento de la inmunidad de mucosas (fundamentalmente IgA)

Fc: fracción constante; IgA: inmunoglobulina A; IgM: inmunoglobulina M.

tintos tipos de trasplante de órgano sólido (TOS)^{17,19,21-26}. En vista del papel de la inmunidad humoral en la respuesta frente a bacterias encapsuladas, no es sorprendente que la asociación patogénica más ampliamente documentada sea la que vincula HGG e infección bacteriana²⁷. Por ejemplo, nuestro grupo demostró que los receptores de TR con HGG de cualquier clase (IgG, IgA o IgM) en el primer mes postrasplante presentan una mayor incidencia de infección de etiología bacteriana a lo largo de los meses siguientes (*hazard ratio* [HR]: 1,81) tras ajustar en un modelo multivariante por potenciales confusores (edad del paciente o desarrollo previo de rechazo, entre otros)¹⁹. De hecho, observamos una suerte de «gradiente de riesgo» según el cual la incidencia de infección bacteriana global, de bacteriemia y de pielonefritis aguda se incrementaba de forma progresiva conforme disminuían los niveles de la IgG (figura 1). Hasta la mitad de los receptores que presentaron niveles séricos de IgG por debajo de 500 mg/dl en el primer mes habían sufrido algún tipo de infección bacteriana al finalizar el sexto mes postrasplante. También hemos demostrado recientemente que la presencia de la HGG IgG predice el desarrollo de diarrea por *Clostridium difficile* tras el TR²⁸, en la línea de trabajos previos en receptores de trasplante cardíaco^{29,30}.

El impacto de las alteraciones adquiridas de la inmunidad humoral en receptores de TR y de otros tipos de TOS no se

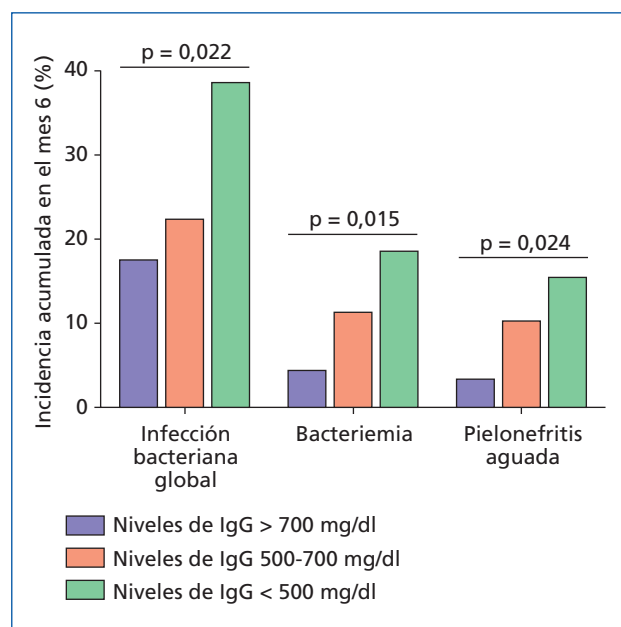


Figura 1. Incidencia acumulada en el sexto mes postrasplante de infección bacteriana global, bacteriemia y pielonefritis aguda en una cohorte de 304 receptores de trasplante renal en función de los niveles séricos de inmunoglobulina G (IgG) determinados en el primer mes. Modificado de Fernández-Ruiz et al¹⁹.

limita a la infección bacteriana. En el citado metaanálisis de Florescu et al, los pacientes con HGG IgG grave presentaron un riesgo incrementado de infección por CMV (*odds ratio* [OR]: 2,40), aspergilosis invasora (OR: 8,19) y otras infecciones fúngicas (OR: 3,69)²⁰. Sin duda, resulta más cuestionable establecer un nexo etiopatogénico directo entre los niveles de la IgG y la susceptibilidad a virus herpes y hongos filamentosos, toda vez que la inmunidad humoral juega un papel secundario en la respuesta frente a estos microorganismos en comparación con la inmunidad celular^{31,32}. No debe excluirse, por lo tanto, que la presencia de la HGG no actúe más bien como un marcador de riesgo capaz de identificar a pacientes más frágiles, con mayor carga de comorbilidad y peor estado nutricional³³.

La monitorización postrasplante de los niveles séricos de inmunoglobulinas presenta varias ventajas: amplia disponibilidad, sencillez técnica (la determinación suele realizarse mediante nefelometría), bajo coste y existencia de puntos de corte validados en la literatura¹⁴. Otro de los principales atractivos de esta estrategia radica en la posibi-

lidad de intervención a través de la administración de preparados de inmunoglobulinas inespecíficas por vía intravenosa (IgIV). De este modo, y si se asume que la HGG juega un papel patogénico en el desarrollo de la infección postrasplante, su reversión permitiría disminuir la incidencia de esta complicación sin necesidad de modificar el tratamiento inmunosupresor y, por tanto, sin comprometer la supervivencia del injerto¹⁴. La administración periódica de IgIV y de preparados similares por vía subcutánea constituye un abordaje profiláctico de contrastada utilidad en la inmunodeficiencia variable común y otras inmunodeficiencias primarias por déficit de anticuerpos³⁴. Por desgracia, la experiencia acumulada hasta el momento en el campo del TOS es limitada y de baja calidad metodológica, y ofrece resultados discordantes. Carbone et al comunicaron su experiencia con un grupo de 55 receptores de trasplante cardíaco con HGG IgG (< 600 mg/dl) y al menos un episodio previo de infección, que fueron sometidos a una estrategia de reposición con IgIV (dosis de 300-400 mg/kg repetidas de forma mensual hasta alcanzar niveles de IgG superiores a 750 mg/dl). Los autores observaron un descenso en la incidencia de infecciones graves una vez que se inició el tratamiento, así como la normalización de ciertos parámetros funcionales de inmunidad humoral (títulos de anticuerpos antitoxoide tetánico y frente al antígeno de superficie del virus de la hepatitis B [anti-HBsAg]), en ausencia de efectos adversos reseñables³⁵. Recientemente han publicado una experiencia favorable con el uso de preparados por vía subcutánea³⁶. Claustre et al obtuvieron resultados comparables en receptores de trasplante pulmonar, si bien el carácter retrospectivo y no aleatorizado limita la validez de su estudio³⁷. Por el contrario, un ensayo clínico de diseño cruzado también realizado en receptores de trasplante pulmonar con HGG IgG (< 500 mg/dl), que fueron aleatorizados a recibir IgIV o placebo a lo largo de dos periodos consecutivos de 12 semanas, no fue capaz de detectar diferencias en la incidencia de infección bacteriana (aun cuando los niveles de IgG aumentaron de forma significativa durante la fase de administración de las IgIV). Hay que señalar, no obstante, que solo fueron incluidos 11 pacientes en este ensayo³⁸. Florescu et al tampoco pudieron demostrar que la administración periódica de IgIV tuviera un efecto aparente sobre la mortalidad o la supervivencia del injerto en un estudio retrospectivo basado en una cohorte reducida y heterogénea integrada por

Revisiones

receptores de diversos tipos de TOS³⁹. Según nuestro conocimiento, no se ha publicado hasta ahora ningún estudio de esta naturaleza enfocado específicamente a receptores de TR. A esta limitada evidencia disponible hay que añadir que la reposición periódica con IgIV constituye una terapia de coste elevado y no exenta de riesgos (fenómenos tromboembólicos arteriales y venosos, reacciones transfusionales o hemólisis)^{40,41}.

NIVELES SÉRICOS DE COMPONENTES DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO

El sistema del complemento actúa como un instrumento efector de la respuesta inmune tanto innata como adaptativa en tareas que incluyen la opsonización de bacterias encapsuladas (mediada fundamentalmente por los componentes C3b y C4b), la puesta en marcha de reacciones anafilactoides (componentes C3a y C5a), el aclaramiento de inmunocomplejos circulantes o la inducción de lisis celular por parte del complejo de ataque a la membrana (componentes C5b a C9)⁴². Sus tres vías de activación reconocen diversas señales, bien sean mediadas por anticuerpos (porción Fc de IgM e IgG) o independientes de estos (secuencias poliméricas de la superficie de los microorganismos), y confluyen sobre C3, cuya activación resulta en la constitución de la convertasa de C5 (C4b-C2aC3b en las vías clásica y asociada a lectinas y [C3b]₂Bb en la vía alternativa). La convertasa de C5, a su vez, pone en marcha el complejo de ataque a la membrana sobre la célula diana⁴³.

La monitorización del sistema del complemento se ha realizado clásicamente mediante parámetros funcionales que cuantifican su capacidad hemolítica (CH50 para la vía clásica y AP50 para la alternativa)⁴⁴. La relativa complejidad técnica de este abordaje, no obstante, limita su aplicabilidad en la práctica habitual. La determinación mediante nefelometría o análisis de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA por sus siglas en inglés, *enzyme linked immunosorbent assay*) de los niveles séricos de algunos de sus componentes, como el C3, el C4 o la lectina fijadora de manosa (MBL por sus siglas en inglés, *mannose-binding lectin*), supone una alternativa más accesible⁴⁵. Otra aproximación consiste en el análisis de los determinantes

genéticos que modulan la concentración sérica de la MBL. Ha sido caracterizada una serie de polimorfismos de nucleótido único (SNP por sus siglas en inglés, *single nucleotide polymorphisms*) en el exón 1 y en la región promotora del gen MBL2, localizado en el cromosoma 10 y que codifica dicho componente de la vía de las lectinas⁴⁶. Los alelos variantes de estos SNP originan defectos en la expresión del gen y en la polimerización de la proteína que son en gran parte responsables de la amplia variabilidad interpersonal observada en la concentración sérica de la MBL. Así, se estima que hasta la tercera parte de la población mundial presenta niveles deficientes de MBL, con notables diferencias étnicas en su distribución⁴⁷.

La utilidad de la monitorización de ciertos componentes del sistema del complemento a la hora de individualizar el riesgo de infección tras el TR ha sido evaluada en varios estudios. Nuestro grupo determinó las concentraciones de C3 y C4 en situación basal (pretrasplante) y en los meses primero y sexto postrasplante en una cohorte de 270 pacientes⁴⁸. Como era previsible a la luz de la posición clave que ocupa C3 en la cascada del complemento, este biomarcador se reveló más útil que C4. En concreto, la hipocomplementemia C3 (HCC3) en el primer mes (definida por niveles séricos de C3 < 84 mg/dl) estuvo presente en el 20% de los receptores y fue identificada como un factor de riesgo independiente para el desarrollo de infección global (HR: 1,91) y bacteriana (HR: 2,13) durante el período intermedio (meses 1 a 6 postrasplante) (figura 2). La HCC3 en el sexto mes también se asoció con el desarrollo de infección bacteriana tardía (HR: 3,34). Es destacable que la mortalidad de cualquier causa también estuvo incrementada de forma significativa entre los pacientes que presentaron HCC3 en el primer mes⁴⁸. Otros autores han comunicado asociaciones similares entre las concentraciones séricas de C3 y la incidencia de infección en receptores de trasplante cardíaco⁴⁹ y hepático⁵⁰.

La inmunidad innata y la adaptativa ejercen funciones parcialmente complementarias. Se ha sugerido que la inmunosupresión que acompaña al TOS, al actuar de forma preferente sobre la respuesta adaptativa, permite poner de manifiesto deficiencias constitutivas en el sistema del complemento que carecen de impacto clínico aparente en el huésped inmunocompetente⁵¹. Esta hipótesis cobra es-

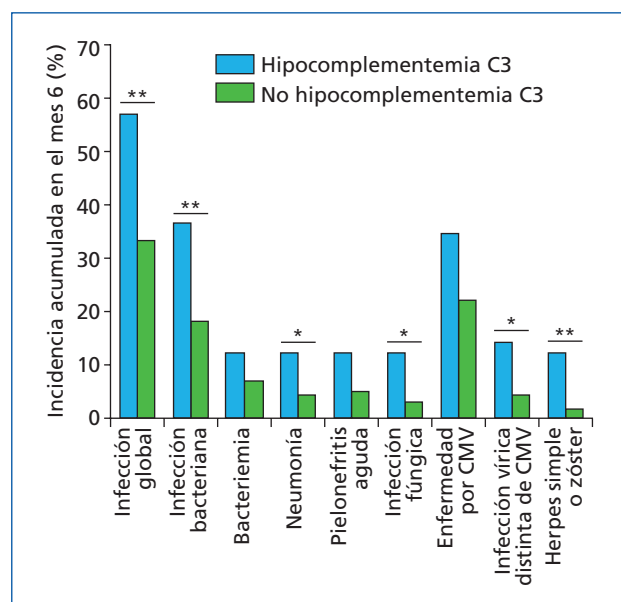


Figura 2. Incidencia acumulada en el sexto mes postrasplante de diversos tipos de infección en 270 receptores de TR con y sin hipocomplementemia C3 (definida por niveles séricos < 84 mg/dl) en el primer mes. Modificado de Fernández-Ruiz et al⁴⁸. CMV: citomegalovirus.

*p < 0,05; **p < 0,01.

pecial relevancia al considerar el efecto de los niveles de la MBL y de sus determinantes genéticos sobre la susceptibilidad a la infección postrasplante. Por ejemplo, Manuel et al publicaron un caso muy ilustrativo de bacteriemia por meningococo (una bacteria encapsulada) en un receptor de TR con valores normales de C3, C4 y CH50, pero con niveles indetectables de MBL⁵². Broeders et al observaron un mayor riesgo de sepsis y de infección respiratoria en receptores de TR con niveles disminuidos de MBL²⁴. En un estudio basado en 152 receptores de trasplante reno-pancreático simultáneo, Verschuren et al demostraron que cada incremento de 500 ng/ml en la concentración basal de la MBL se asociaba a un descenso en el riesgo posterior de infección del tracto urinario (OR: 0,83) y de sepsis de origen urológico (OR: 0,68)⁵³. Todos estos hallazgos son congruentes con la mayor incidencia de *shock* séptico y otras infecciones que ha sido demostrada en receptores de injertos hepáticos procedentes de donantes portadores del alelo variante (O) en el exón 1 del gen MBL2 en comparación con los que reciben órganos de sujetos con el alelo salvaje (hay que señalar que la MBL se sintetiza mayoritariamente en el hígado, por lo que el genotipo del donante

es el principal factor que determina sus niveles séricos tras el trasplante hepático)^{54,55}.

El papel de la MBL como molécula de reconocimiento de patrones (PRM por sus siglas en inglés, *pattern recognition molecule*) explica igualmente su participación en la inmunidad antiviral. Se ha observado una mayor incidencia de infección asintomática y de enfermedad por CMV tras la interrupción de la profilaxis con valganciclovir en receptores de TR de alto riesgo (donante seropositivo/receptor seronegativo) con los niveles de la MBL disminuidos (< 500 ng/ml) en la determinación basal⁵⁶. En el contexto del trasplante hepático⁵⁷ y pulmonar⁵⁸ se han comunicado resultados similares. Por el contrario, el estudio de Segedal et al no pudo concluir que los niveles basales de la MBL modificaran el riesgo de infección o de enfermedad por CMV en receptores de TR, si bien los autores describieron una asociación entre esta complicación y la concentración de la proteína 2 de serina-lectina fijadora de manosa (MASP-2 por sus siglas en inglés, *mannose-binding lectin-associated serine protease 2*), una proteasa involucrada en la vía de activación asociada a las lectinas⁵⁹. No se ha observado, sin embargo, que la incidencia de nefropatía por poliomavirus BK esté incrementada en receptores deficientes en MBL⁶⁰.

CUANTIFICACIÓN DE LAS SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS EN LA SANGRE PERIFÉRICA

El empleo del recuento en la sangre periférica de determinadas subpoblaciones linfocitarias como marcador subrogado del grado de inmunosupresión postrasplante y, por tanto, del riesgo de infección, supone una extrapolación plausible al contexto del TR de la experiencia adquirida en otros tipos de huéspedes inmunodeprimidos⁸. Por ejemplo, el recuento de linfocitos T CD4⁺ se usa desde hace décadas para estratificar el riesgo de infección oportunista en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y para establecer la indicación de profilaxis⁶¹. Se ha propuesto un abordaje similar para la linfocitopenia T CD4⁺ idiopática⁶². Por otra parte, el uso de agentes depletores linfocitarios es frecuente en receptores de TR, ya sea como tratamiento de inducción o tras el desarrollo de un rechazo celular. Tanto los anticuerpos mo-

Revisiones

noclonales anti-CD3 (muromonab-CD3 [OKT-3]) y anti-CD25 (alemtuzumab) como los policlonales (globulina antitimocítica de conejo o de caballo) ejercen un profundo impacto sobre el recuento linfocitario en sangre periférica que puede extenderse hasta más allá del primer año tras su administración^{63,64}. El incremento del riesgo de infección postrasplante vinculado a estas terapias está bien contrastado^{65,66} y justifica las actuales recomendaciones de estrategias específicas de prevención frente a la infección por CMV^{67,68}. De forma análoga y siguiendo la pauta establecida en los pacientes con VIH, las guías de práctica clínica de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) contemplan la monitorización de los linfocitos T CD4⁺ con el fin de individualizar la duración de la profilaxis frente a *Pneumocystis jirovecii* en pacientes oncohematológicos previamente tratados con alemtuzumab o análogos de las purinas⁶⁹.

Sobre la base de estas evidencias preliminares, son varios los estudios que han demostrado que los receptores de TR con recuentos disminuidos de linfocitos T CD4⁺ afrontan una mayor incidencia de infecciones por patógenos oportunistas (predominantemente intracelulares), con especial relevancia en el caso de *P. jirovecii*⁷⁰⁻⁷². En un estudio reciente, el número de linfocitos T CD4⁺ fue significativamente menor en pacientes con neumonía por *P. jirovecii* respecto al grupo control, integrado por receptores de TR que también habían sido sometidos a un lavado broncoalveolar, pero en los que no se identificó este microorganismo (242 frente a 412 células/mm³). En el análisis multivariante, la presencia de linfocitopenia absoluta (< 750 células/mm³) a lo largo de los 50 días previos al diagnóstico actuó como un factor de riesgo independiente para el desarrollo de esta complicación⁷³. Algunos autores han sugerido que la administración generalizada de profilaxis con trimetoprim-sulfametoxazol durante los primeros meses tras el TR está retrasando el período de riesgo clásicamente asumido para la infección por *P. jirovecii*, con un aumento progresivo de casos de aparición muy tardía (a partir del primer año postrasplante)⁷³⁻⁷⁵. De este modo, la monitorización selectiva del recuento de linfocitos T CD4⁺ tras determinados eventos que obliguen a incrementar el tratamiento inmunosupresor (el diagnóstico de un rechazo agudo, por ejemplo) permitiría identificar a aquellos pacientes que podrían beneficiarse de la prolongación o rein-

troducción de la profilaxis frente a *Pneumocystis*, en una estrategia de evaluación individual del riesgo de infección.

En el escenario específico del receptor de TR con infección por el VIH, Carter et al observaron que la presencia de un recuento de linfocitos T CD4⁺ < 200 células/mm³ a lo largo del seguimiento se asoció al desarrollo de infección grave (y no solo oportunista), si bien el tamaño muestral analizado era pequeño (n = 20). Como cabía esperar, los pacientes sometidos a inducción con globulina antitimocítica mantuvieron recuentos linfocitarios más bajos que los que recibieron anticuerpos monoclonales anti-CD25⁷⁶. En una cohorte de 42 receptores de TR, en su mayor parte tratados con basiliximab, Calarota et al comprobaron que el recuento de linfocitos T CD8⁺ durante los 8 primeros meses postrasplante fue consistentemente menor entre los pacientes que presentaron alguna infección oportunista⁷⁷. Nuestro grupo también ha explorado esta estrategia de monitorización inmunológica en 304 receptores de TR en los que llevamos a cabo la determinación de linfocitos totales y de diversas subpoblaciones linfocitarias (linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺, linfocitos B y células *natural killer* [NK]) en varios puntos (situación basal y meses primero y sexto)⁷⁸. Como primer hallazgo, comprobamos que la cinética de cada una de estas subpoblaciones difería marcadamente según el tipo de terapia de inducción administrada. Así, el recuento de linfocitos T CD4⁺ presentó un acusado nadir al primer mes en los pacientes tratados con globulina antitimocítica policlonal, mientras que aumentaba ligeramente respecto al basal entre los que no recibieron inducción o esta consistió en basiliximab. La cinética de los linfocitos T CD8⁺ fue similar, aunque con diferencias menos evidentes (figura 3). Por este motivo, analizamos de forma separada en cada uno de estos dos grupos el papel predictivo de las subpoblaciones linfocitarias mediante curvas características de operación del receptor (ROC por sus siglas en inglés, *receiver operating characteristic*). Entre los pacientes que recibieron globulina antitimocítica, la presencia de linfocitopenia T CD4⁺ (definida por un recuento < 50 células/mm³) en el primer mes se asoció al desarrollo de infección oportunista y, particularmente, de enfermedad por CMV durante el período posterior (meses 1 a 6). En el grupo sin inducción o tratado con basiliximab, fueron los linfocitos T CD8⁺ los que exhibieron mejor capacidad predictiva, de forma que la presencia de linfocitopenia a expensas de esta

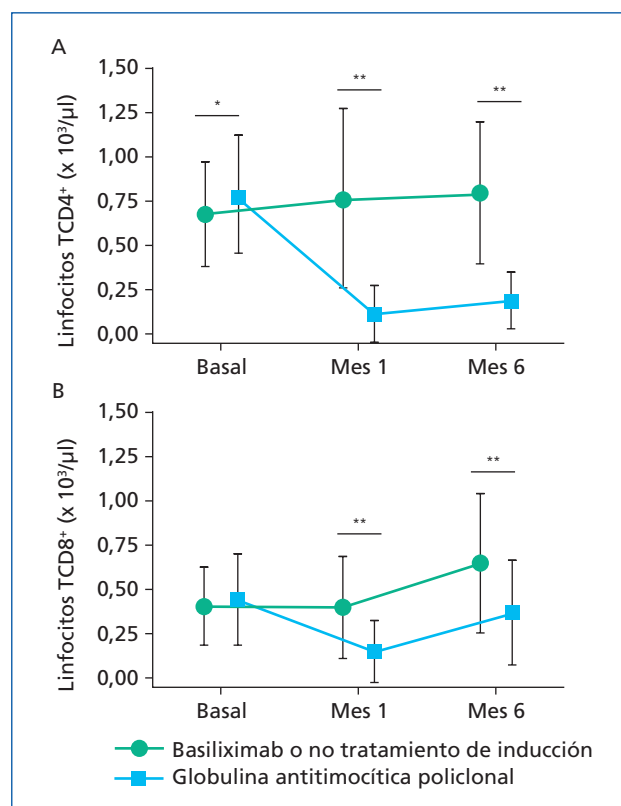


Figura 3. Cinética postrasplante de diversas subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica en función del tipo de tratamiento de inducción administrado: A) linfocitos T CD4⁺. B) linfocitos T CD8⁺. Modificado de Fernández-Ruiz et al⁷⁸.

*p < 0,05; **p < 0,01.

subpoblación (recuento < 100 células/mm³) incrementó de forma significativa el riesgo de infección oportunista global (HR: 3,55) y de enfermedad por CMV (HR: 4,19). Cabe destacar que ambos puntos de corte presentaron excelentes valores predictivos negativos (superiores al 83%) para el posterior desarrollo de infección, lo cual permitiría individualizar un subgrupo de receptores de muy bajo riesgo en los cuales sería factible discontinuar las profilaxis habituales⁷⁸. Recientemente hemos comunicado una asociación similar entre el recuento de células NK y el riesgo de infección fúngica invasora tras el TOS⁷⁹. Por último, la validez de la monitorización de ciertas subpoblaciones en la sangre periférica (linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺) como aproximación al estado neto de inmunosupresión también se ha visto corroborada en una serie de estudios centrados en el desarrollo de la neoplasia *de novo* postrasplante⁸⁰⁻⁸³.

CONCENTRACIÓN DE LA FORMA SOLUBLE DE LA CD30

La CD30 es una glucoproteína transmembrana perteneciente a la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral y del factor de crecimiento neural⁸⁴. Clásicamente empleada como marcador de la célula de Reed-Sternberg en el linfoma de Hodgkin⁸⁵, se ha comprobado que la CD30 también se expresa en linfocitos T y B normales, células NK y células dendríticas⁸⁶. Si bien su misión aún no ha sido dilucidada por completo, se cree que participa en la regulación del balance Th1/Th2 de la respuesta celular y en la generación de linfocitos T de memoria⁸⁷. Se ha comprobado que la coestimulación con células que expresan la CD30 induce a los linfocitos T a polarizarse en sentido Th2 y a sintetizar el correspondiente repertorio de citoquinas (como la interleucina 4 [IL-4] o la IL-13)^{88,89}. Además de la forma de superficie celular (de 120 kDa), existe una forma soluble de 85 kDa (sCD30) generada tras la separación enzimática de su porción extracelular por parte de la metaloproteasa enzima de conversión del factor de necrosis tumoral alfa (TACE por sus siglas en inglés, *tumor necrosis factor-alpha converting enzyme*)⁹⁰ y que es liberada al plasma durante el proceso de activación de los linfocitos T⁹¹.

La monitorización de la sCD30 ha recibido una creciente atención en los últimos años como estrategia de monitorización inmunológica en el TR^{86,92}. Varios estudios han mostrado que los niveles basales de la sCD30 se relacionan de forma inversa con la supervivencia del injerto, a expensas fundamentalmente de una mayor incidencia de rechazo entre los receptores con concentraciones séricas más elevadas⁹²⁻⁹⁶. Süsal et al comunicaron que este efecto deletéreo sobre el pronóstico del injerto es sinérgico al ejercido por la sensibilización pretrasplante (*panel reactive antibody* [PRA] > 5%) o el número de incompatibilidades de los antígenos leucocitarios humanos (HLA por sus siglas en inglés, *human leukocyte antigen*) entre donante y receptor⁹⁷. Estos hallazgos han llevado a sugerir que los niveles elevados de la sCD30, en su condición de marcador de activación de la subpoblación linfocitaria Th2, son un mejor predictor del riesgo de rechazo humoral que del riesgo de rechazo celular^{86,98}.

La utilidad de la sCD30 como biomarcador del riesgo de infección postrasplante ha sido explorada en un número

Revisiones

reducido de trabajos que por desgracia han proporcionado resultados discordantes. Un estudio realizado entre receptores de TR demostró que los pacientes que sufrieron algún episodio de neumonía postrasplante partían de niveles basales de sCD30 significativamente menores respecto a los que permanecieron libres de esta complicación (123 frente a 151 UI/ml)⁹⁹. Nikaein et al también observaron que las concentraciones pretrasplante reducidas (< 90 UI/ml) de sCD30 se asociaban a un mayor riesgo de infección tras el trasplante cardíaco¹⁰⁰. Sin embargo, estos mismos autores comunicaron la asociación inversa (niveles basales más elevados de sCD30 en pacientes con infección posterior) en el contexto del TR¹⁰¹. En un intento de aportar luz en esta discordancia, analizamos mediante un kit comercial de ELISA la concentración de sCD30 tanto en situación basal como en varios puntos postrasplante en 101 receptores de TR. En nuestra experiencia, los niveles basales de este biomarcador fueron significativamente mayores en pacientes con infección bacteriana (pero no en infección global o por CMV) a lo largo de los primeros 12 meses postrasplante. La supervivencia libre de infección bacteriana fue significativamente menor entre los receptores con niveles basales de sCD30 ≥ 12 ng/ml (figura 4), asociación que se mantuvo después de ajustar por otras variables en un modelo multivariante (HR: 4,1). Como explicación proponemos que el nivel de la sCD30 actúa fundamentalmente como un marcador de actividad de los linfocitos Th2, los cuales ofrecen una respuesta protectora frente a patógenos bacterianos menos eficaz que los linfocitos con diferenciación Th1 o Th17. En la misma línea, se ha demostrado que los pacientes sometidos a diálisis crónica con concentraciones elevadas de la sCD30 presentan mayor riesgo de infección o de neoplasia⁸⁶.

VIREMIA POR VIRUS DE EPSTEIN-BARR Y ANELLOVIRUS

La última estrategia revisada se basa en la determinación periódica, mediante técnicas moleculares (reacción en cadena de la polimerasa [PCR por sus siglas en inglés, *polymerase chain reaction*]), de la carga viral en sangre completa o en muestras acelulares (plasma o suero) de determinados virus que desarrollan una infección latente en el hospedador y cuyo control replicativo depende fun-

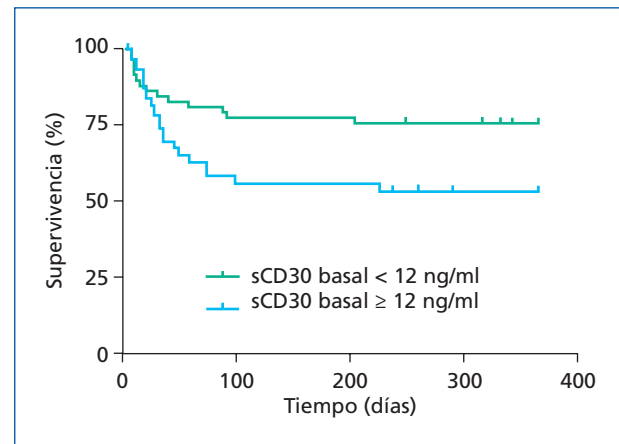


Figura 4. Supervivencia libre de infección bacteriana a lo largo del primer año postrasplante en una cohorte de 101 receptores de trasplante renal según los niveles séricos de la forma soluble de la CD30 (sCD30) en situación basal. Fernández-Ruiz et al (datos no publicados).

P para la diferencia entre ambos grupos [test de rangos logarítmicos] = 0,012.

damentalmente de la inmunidad celular adaptativa. La reactivación de estos virus latentes (presentes en la mayor parte de la población adulta), aunque asintomática, vendría a constituir un parámetro subrogado del grado de funcionalidad de la respuesta inmune. De confirmarse esta hipótesis podríamos disponer de biomarcadores muy sensibles que actuarían como una suerte de «sumatorio funcional» de la carga global de inmunosupresión. Son fundamentalmente dos los agentes explorados hasta ahora con esta finalidad: el virus de Epstein-Barr (VEB) y los anellovirus.

El VEB es un virus herpes gamma que presenta la capacidad, gracias a un amplio repertorio de mecanismos de evasión inmune, de establecer una infección latente en el compartimento de linfocitos B que dura toda la vida del huésped¹⁰². Dado que su control depende de la inmunidad celular adaptativa, se ha comprobado que la reactivación del VEB es un fenómeno frecuente en receptores de TOS¹⁰³⁻¹⁰⁵. Si bien este fenómeno replicativo es subclínico en la mayor parte de las ocasiones, puede llegar a producir daño orgánico directo o contribuir indirectamente a la patogénesis del síndrome linfoproliferativo postrasplante¹⁰⁶. Varios grupos, incluyendo el nuestro, han trabajado con la

viremia del VEB como marcador de competencia funcional de la respuesta inmune celular en receptores de trasplante cardíaco, pulmonar y renal¹⁰⁷⁻¹⁰⁹. Por ejemplo, hemos observado que la demostración mediante la PCR cuantitativa en sangre completa de viremia persistente (más de 30 días) o elevada (más de 1.500 copias/ml) a lo largo de los 6 primeros meses postrasplante se asocia al desarrollo de complicaciones tardías por exceso de inmunosupresión, como infección oportunista o neoplasia *de novo*¹⁰⁸.

Los anellovirus son virus de pequeño tamaño carentes de envoltura, dotados de un genoma circular de ADN de cadena simple e integrados en la familia *Anelloviridae*. En 1997 fue identificado el primer anellovirus, denominado «torque teno virus (TTV)»¹¹⁰, seguido 3 años después del torque teno minivirus (TTMV)¹¹¹. Los anellovirus exhiben una gran diversidad genética, por lo que la taxonomía de esta familia se ha ido ampliando hasta quedar definida en torno a nueve géneros y decenas de especies diferentes¹¹². La primoinfección tiene lugar en edades tempranas a través de diversas vías (perinatal, respiratoria o fecal-oral), tras lo que establecen una infección latente, fundamentalmente en células mononucleares de sangre periférica¹¹³. De este modo, la prevalencia de infección por TTV y TTMV en población general adulta supera el 90% y su replicación transitoria a bajo nivel es frecuente entre sujetos inmunocompetentes¹¹⁴. Hasta el momento, no ha sido demostrado ningún efecto patogénico directamente atribuible en el ser humano (son virus huérfanos). No obstante, varios estudios han demostrado que la reactivación de la infección latente es más frecuente en pacientes con enfermedades crónicas debilitantes o cáncer en comparación con sujetos sanos^{115,116}. Este hallazgo podría ser explicado por el papel fundamental que la inmunidad mediada por células desempeña en el control de la replicación viral. Por ejemplo, existe una correlación inversa entre la carga viral de TTV y el recuento de linfocitos T CD4⁺ en pacientes con infección por el VIH¹¹⁷. Por otra parte, se ha demostrado que los pacientes en hemodiálisis crónica presentan con más frecuencia viremias elevadas (> 5 x 10³ copias/ml) de TTV respecto a los controles sanos¹¹⁸. Basándose en esta evidencia, algunos autores han tratado de evaluar la potencial utilidad que la monitorización de la viremia por anellovirus (fundamentalmente por TTV) podría tener como aproximación a la carga global de inmunosupresión

en diversos tipos de receptores de TOS, incluyendo el renal¹¹⁹, el hepático^{120,121} y el pulmonar¹²². Si bien adolecen de tamaños muestrales reducidos, escasa frecuencia de monitorización o ausencia de correlato con eventos clínicos bien definidos, estos estudios preliminares representan una «prueba de concepto» prometedora.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Como se ha tratado de exponer en esta revisión, la aplicación de estrategias de monitorización inmunológica basadas en biomarcadores no patógeno específicos en receptores de TR ofrece la posibilidad de individualizar el riesgo de complicación infecciosa postrasplante y de optimizar así los resultados a largo plazo de este procedimiento. Si bien se han realizado prometedores avances en este sentido a lo largo de los últimos años, la experiencia clínica basada en estudios de intervención es hasta el momento muy limitada. Los mecanismos moleculares y celulares implicados en la respuesta inmune frente a la infección son complejos y con frecuencia redundantes. Por ello, el diseño de cualquier estrategia de monitorización debe ponderar la sensibilidad y especificidad del parámetro empleado, por un lado, y su sencillez técnica y aplicabilidad por otro. La elaboración de un *score* multidimensional que incorpore varios de estos biomarcadores y que permita asignar un riesgo concreto de infección a cada receptor de TR podría facilitar de forma notable el proceso de decisión clínica.

Financiación

Algunos de los resultados presentados en esta revisión han sido obtenidos en estudios financiados por el Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad (Fondo de Investigaciones Sanitarias [FIS] 11/01538 y Proyecto Integrado de Excelencia [PIE] 13/00045), y por la Fundación Mutua Madrileña de Investigación Médica (FMM 2010/0015). Mario Fernández Ruiz disfruta de un contrato de investigación clínica Juan Rodés (JR 14/00036) del Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad.

Revisiones

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med*. 1999;341:1725-30.
2. Laupacis A, Keown P, Pus N, Krueger H, Ferguson B, Wong C, et al. A study of the quality of life and cost-utility of renal transplantation. *Kidney Int*. 1996;50:235-42.
3. Womer KL, Kaplan B. Recent developments in kidney transplantation: a critical assessment. *Am J Transplant*. 2009;9:1265-71.
4. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gürkan A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med*. 2007;357:2562-75.
5. Ojo AO, Morales JM, González-Molina M, Steffick DE, Luan FL, Merion RM, et al. Comparison of the long-term outcomes of kidney transplantation: USA versus Spain. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28:213-20.
6. Hernández D, Moreso F. Has patient survival following renal transplantation improved in the era of modern immunosuppression? *Nefrología*. 2013;33:171-80.
7. Ravaioli M, Neri F, Lazzarotto T, Bertuzzo VR, di Gioia P, Stacchini G, et al. Immunosuppression modifications based on an immune response assay: results of a randomized, controlled trial. *Transplantation*. 2015;99:1625-32.
8. Fernández-Ruiz M, Kumar D, Humar A. Clinical immune-monitoring strategies for predicting infection risk in solid organ transplantation. *Clin Transl Immunology*. 2014;3:e12.
9. Fleming JN, Weimert NA. Novel strategies for immune monitoring in kidney transplant recipients. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2010;17:e63-77.
10. Kuypers DR, le Meur Y, Cantarovich M, Tredger MJ, Tett SE, Cattaneo D, et al. Consensus report on therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid in solid organ transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5:341-58.
11. Egli A, Humar A, Kumar D. State-of-the-art monitoring of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity after organ transplant: a primer for the clinician. *Clin Infect Dis*. 2012;55:1678-89.
12. Manuel O. Clinical experience with immune monitoring for cytomegalovirus in solid-organ transplant recipients. *Curr Infect Dis Rep*. 2013;15:491-6.
13. Kaveri S. Advances in the treatment of primary and secondary immune deficiencies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2013;13 Suppl 2:S51-2.
14. Mawhorter S, Yamani MH. Hypogammaglobulinemia and infection risk in solid organ transplant recipients. *Curr Opin Organ Transplant*. 2008;13:581-5.
15. Keven K, Sahin M, Kutlay S, Sengul S, Erturk S, Ersoz S, et al. Immunoglobulin deficiency in kidney allograft recipients: comparative effects of mycophenolate mofetil and azathioprine. *Transpl Infect Dis*. 2003;5:181-6.
16. Ganschow R, Lyons M, Kemper MJ, Burdelski M. B-cell dysfunction and depletion using mycophenolate mofetil in a pediatric combined liver and kidney graft recipient. *Pediatr Transplant*. 2001;5:60-3.
17. Yip NH, Lederer DJ, Kawut SM, Wilt JS, d'Ovidio F, Wang Y, et al. Immunoglobulin G levels before and after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173:917-21.
18. Corales R, Chua J, Mawhorter S, Young JB, Starling R, Tomford JW, et al. Significant post-transplant hypogammaglobulinemia in six heart transplant recipients: an emerging clinical phenomenon? *Transpl Infect Dis*. 2000;2:133-9.
19. Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, Varela-Peña P, Lora-Pablos D, García-Reyne A, González E, et al. Monitoring of immunoglobulin levels identifies kidney transplant recipients at high risk of infection. *Am J Transplant*. 2012;12:2763-73.
20. Florescu DF, Kalil AC, Qiu F, Schmidt CM, Sandkovsky U. What is the impact of hypogammaglobulinemia on the rate of infections and survival in solid organ transplantation? A meta-analysis. *Am J Transplant*. 2013;13:2601-10.
21. Wieneke H, Otte B, Lang D, Heidenreich S. Predictive value of IgG subclass levels for infectious complications in renal transplant recipients. *Clin Nephrol*. 1996;45:22-8.
22. Yamani MH, Avery RK, Mawhorter SD, Young JB, Ratliff NB, Hobbs RE, et al. Hypogammaglobulinemia following cardiac transplantation: a link between rejection and infection. *J Heart Lung Transplant*. 2001;20:425-30.
23. Doron S, Ruthazer R, Werner BG, Rabson A, Snyderman DR. Hypogammaglobulinemia in liver transplant recipients: incidence, timing, risk factors, and outcomes. *Transplantation*. 2006;81:697-703.
24. Broeders EN, Wissing KM, Hazzan M, Ghisdal L, Hoang AD, Noel C, et al. Evolution of immunoglobulin and mannose binding

- protein levels after renal transplantation: association with infectious complications. *Transpl Int*. 2008;21:57-64.
25. Farmer DG, Kattan OM, Wozniak LJ, Marcus E, Ponthieux S, Hwang V, et al. Incidence, timing, and significance of early hypogammaglobulinemia after intestinal transplantation. *Transplantation*. 2013;95:1154-9.
 26. Yoshizumi T, Shirabe K, Ikegami T, Yamashita N, Mano Y, Yoshiya S, et al. Decreased immunoglobulin G levels after living-donor liver transplantation is a risk factor for bacterial infection and sepsis. *Transpl Infect Dis*. 2014;16:225-31.
 27. Wood P. Primary antibody deficiency syndromes. *Ann Clin Biochem*. 2009;46:99-108.
 28. Orígüen J, Fernández-Ruiz M, Lumbreras C, Orellana MA, López-Medrano F, Ruiz-Merlo T, et al. Potential role of post-transplant hypogammaglobulinemia in the risk of *Clostridium difficile* infection after kidney transplantation: a case-control study. *Infection*. 2015;43:413-22.
 29. Muñoz P, Palomo J, Yáñez J, Bouza E. Clinical microbiological case: a heart transplant recipient with diarrhea and abdominal pain. Recurring *C. difficile* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2001;7:451-2, 458-9.
 30. Muñoz P, Giannella M, Alcalá L, Sarmiento E, Fernández-Yáñez J, Palomo J, et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in heart transplant recipients: is hypogammaglobulinemia the answer? *J Heart Lung Transplant*. 2007;26:907-14.
 31. Crough T, Khanna R. Immunobiology of human cytomegalovirus: from bench to bedside. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22:76-98, Table of Contents.
 32. Lass-Flörl C, Roilides E, Löffler J, Wilflingseder D, Romani L. Minireview: host defence in invasive aspergillosis. *Mycoses*. 2013;56:403-13.
 33. Avery RK, Blumberg EA. Hypogammaglobulinemia: time to reevaluate? *Am J Transplant*. 2013;13:2517-8.
 34. Aguilar C, Malphettes M, Donadieu J, Chandresris O, Coignard-Biehler H, Catherinot E, et al. Prevention of infections during primary immunodeficiency. *Clin Infect Dis*. 2014;59:1462-70.
 35. Carbone J, Sarmiento E, del Pozo N, Rodríguez-Molina JJ, Navarro J, Fernández-Yáñez J, et al. Restoration of humoral immunity after intravenous immunoglobulin replacement therapy in heart recipients with post-transplant antibody deficiency and severe infections. *Clin Transplant*. 2012;26:E277-83.
 36. Carbone J, Palomo J, Fernández-Yáñez J, Sarmiento E. Subcutaneous immunoglobulin replacement therapy in a heart transplant recipient with severe recurrent infections. *Heart Lung Vessel*. 2015;7:256-9.
 37. Claustre J, Quétant S, Camara B, France M, Schummer G, Beudouch P, et al. Nonspecific immunoglobulin replacement in lung transplantation recipients with hypogammaglobulinemia: a cohort study taking into account propensity score and immortal time bias. *Transplantation*. 2015;99:444-50.
 38. Lederer DJ, Philip N, Rybak D, Arcasoy SM, Kawut SM. Intravenous immunoglobulin for hypogammaglobulinemia after lung transplantation: a randomized crossover trial. *PLoS One*. 2014;9:e103908.
 39. Florescu DF, Kalil AC, Qiu F, Grant W, Morris MC, Schmidt CM, et al. Does increasing immunoglobulin levels impact survival in solid organ transplant recipients with hypogammaglobulinemia? *Clin Transplant*. 2014;28:1249-55.
 40. Bonilla FA. Adverse effects of immunoglobulin G therapy: thromboembolism and haemolysis. *Clin Exp Immunol*. 2014;178 Suppl 1:72-4.
 41. Ramírez E, Romero-Garrido JA, López-Granados E, Borobia AM, Pérez T, Medrano N, et al. Symptomatic thromboembolic events in patients treated with intravenous-immunoglobulins: results from a retrospective cohort study. *Thromb Res*. 2014;133:1045-51.
 42. Ehrnthaller C, Ignatius A, Gebhard F, Huber-Lang M. New insights of an old defense system: structure, function, and clinical relevance of the complement system. *Mol Med*. 2011;17:317-29.
 43. Merle NS, Noe R, Halbwachs-Mecarelli L, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement System Part II: Role in Immunity. *Front Immunol*. 2015;6:257.
 44. Takada A, Imamura Y, Takada Y. Relationships between the haemolytic activities of the human complement system and complement components. *Clin Exp Immunol*. 1979;35:324-8.
 45. Minchinton RM, Dean MM, Clark TR, Heatley S, Mullighan CG. Analysis of the relationship between mannose-binding lectin (MBL) genotype, MBL levels and function in an Australian blood donor population. *Scand J Immunol*. 2002;56:630-41.
 46. Ip WK, Takahashi K, Ezekowitz RA, Stuart LM. Mannose-binding lectin and innate immunity. *Immunol Rev*. 2009;230:9-21.
 47. Garred P, Larsen F, Seyfarth J, Fujita R, Madsen HO. Mannose-binding lectin and its genetic variants. *Genes Immun*. 2006;7:85-94.
 48. Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, Varela-Peña P, Morales JM, García-Reyne A, San Juan R, et al. Hypocomplementemia in kidney transplant recipients: impact on the risk of infectious complications. *Am J Transplant*. 2013;13:685-94.
 49. Sarmiento E, del Pozo N, Gallego A, Fernández-Yáñez J, Palomo J, Villa A, et al. Decreased levels of serum complement C3 and natural killer cells add to the predictive value of total immuno-

Revisiones

- globulin G for severe infection in heart transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2012;14:526-39.
50. Carbone J, Micheloud D, Salcedo M, Rincón D, Bañares R, Clemente G, et al. Humoral and cellular immune monitoring might be useful to identify liver transplant recipients at risk for development of infection. *Transpl Infect Dis.* 2008;10:396-402.
51. Asgari E, Zhou W, Sacks S. Complement in organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2010;15:486-91.
52. Manuel O, Tarr PE, Venetz JP, Trendelenburg M, Meylan PR, Pascual M. Meningococcal disease in a kidney transplant recipient with mannose-binding lectin deficiency. *Transpl Infect Dis.* 2007;9:214-8.
53. Verschuren JJ, Roos A, Schaapherder AF, Mallat MJ, Daha MR, de Fijter JW, et al. Infectious complications after simultaneous pancreas-kidney transplantation: a role for the lectin pathway of complement activation. *Transplantation.* 2008;85:75-80.
54. Bouwman LH, Roos A, Terpstra OT, de Knijff P, van Hoek B, Verspaget HW, et al. Mannose binding lectin gene polymorphisms confer a major risk for severe infections after liver transplantation. *Gastroenterology.* 2005;129:408-14.
55. Cervera C, Balderramo D, Suárez B, Prieto J, Fuster F, Linares L, et al. Donor mannose-binding lectin gene polymorphisms influence the outcome of liver transplantation. *Liver Transpl.* 2009;15:1217-24.
56. Manuel O, Pascual M, Trendelenburg M, Meylan PR. Association between mannose-binding lectin deficiency and cytomegalovirus infection after kidney transplantation. *Transplantation.* 2007;83:359-62.
57. de Rooij BJ, van der Beek MT, van Hoek B, Vossen AC, Rogier Ten Hove W, Roos A, et al. Mannose-binding lectin and ficolin-2 gene polymorphisms predispose to cytomegalovirus (re)infection after orthotopic liver transplantation. *J Hepatol.* 2011;55:800-7.
58. Kwakkel-van Erp JM, Paantjens AW, van Kessel DA, Grutters JC, van den Bosch JM, van de Graaf EA, et al. Mannose-binding lectin deficiency linked to cytomegalovirus (CMV) reactivation and survival in lung transplantation. *Clin Exp Immunol.* 2011;165:410-6.
59. Sagedal S, Thiel S, Hansen TK, Mollnes TE, Rollag H, Hartmann A. Impact of the complement lectin pathway on cytomegalovirus disease early after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23:4054-60.
60. Liman P, Babel N, Schachtner T, Unterwalder N, König J, Hofmann J, et al. Mannose-binding lectin deficiency is not associated with increased risk for polyomavirus nephropathy. *Transpl Immunol.* 2012;26:123-7.
61. Masur H, Brooks JT, Benson CA, Holmes KK, Pau AK, Kaplan JE, et al. Prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: Updated Guidelines from the Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health, and HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2014;58:1308-11.
62. Zonios DI, Falloon J, Bennett JE, Shaw PA, Chaitt D, Baseler MW, et al. Idiopathic CD4⁺ lymphocytopenia: natural history and prognostic factors. *Blood.* 2008;112:287-94.
63. Mohty M. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond. *Leukemia.* 2007;21:1387-94.
64. Morris EC, Rebello P, Thomson KJ, Peggs KS, Kyriakou C, Goldstone AH, et al. Pharmacokinetics of alemtuzumab used for in vivo and in vitro T-cell depletion in allogeneic transplantations: relevance for early adoptive immunotherapy and infectious complications. *Blood.* 2003;102:404-6.
65. Issa NC, Fishman JA. Infectious complications of antilymphocyte therapies in solid organ transplantation. *Clin Infect Dis.* 2009;48:772-86.
66. Kalil AC, Florescu MC, Grant W, Miles C, Morris M, Stevens RB, et al. Risk of serious opportunistic infections after solid organ transplantation: interleukin-2 receptor antagonists versus polyclonal antibodies. A meta-analysis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2014;12:881-96.
67. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Danziger-Isakov L, et al. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation.* 2013;96:333-60.
68. De la Torre-Cisneros J, Fariñas MC, Castón JJ, Aguado JM, Cantisán S, Carratalá J, et al. GESITRA-SEIMC/REIPI recommendations for the management of cytomegalovirus infection in solid-organ transplant patients. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29:735-58.
69. Baden LR, Bensinger W, Angarone M, Casper C, Dubberke ER, Freifeld AG, et al. Prevention and treatment of cancer-related infections. *J Natl Compr Canc Netw.* 2012;10:1412-45.
70. De Castro N, Xu F, Porcher R, Pavie J, Molina JM, Peraldi MN. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in renal transplant recipients occurring after discontinuation of prophylaxis: a case-control study. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16:1375-7.
71. Struijk GH, Gijsen AF, Yong SL, Zwinderman AH, Geerlings SE, Lettinga KD, et al. Risk of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients long after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26:3391-8.
72. Brunot V, Pernin V, Chartier C, Garrigue V, Vetromile F, Szwarc I, et al. An epidemic of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in a renal

- transplantation center: role of T-cell lymphopenia. *Transplant Proc.* 2012;44:2818-20.
73. Iriart X, Challan Belval T, Fillaux J, Esposito L, Laverigne RA, Cardeau-Desangles I, et al. Risk factors of *Pneumocystis pneumonia* in solid organ recipients in the era of the common use of posttransplantation prophylaxis. *Am J Transplant.* 2015;15:190-9.
74. Borstnar S, Lindic J, Tomazic J, Kandus A, Pikelj A, Prah J, et al. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in renal transplant recipients: a national center experience. *Transplant Proc.* 2013;45:1614-7.
75. Pérez-Ordoño L, Hoyo I, Sanclemente G, Ricart MJ, Cofan F, Pérez-Villa F, et al. Late-onset *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in solid organ transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2014;16:324-8.
76. Carter JT, Melcher ML, Carlson LL, Roland ME, Stock PG. Thymoglobulin-associated CD4⁺ T-cell depletion and infection risk in HIV-infected renal transplant recipients. *Am J Transplant.* 2006;6:753-60.
77. Calarota SA, Zelini P, de Silvestri A, Chiesa A, Comolli G, Sarchi E, et al. Kinetics of T-lymphocyte subsets and posttransplant opportunistic infections in heart and kidney transplant recipients. *Transplantation.* 2012;93:112-9.
78. Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, Allende LM, Andrés A, García-Reyne A, Lumbreras C, et al. Kinetics of peripheral blood lymphocyte subpopulations predicts the occurrence of opportunistic infection after kidney transplantation. *Transpl Int.* 2014;27:674-85.
79. Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, San Juan R, Allende LM, Paz-Artal E, Aguado JM. Low Natural Killer cell counts and onset of invasive fungal disease after solid organ transplantation. *J Infect Dis.* 2016;213:873-4.
80. Ducloux D, Carron PL, Rebibou JM, Aubin F, Fournier V, Bresson-Vautrin C, et al. CD4 lymphocytopenia as a risk factor for skin cancers in renal transplant recipients. *Transplantation.* 1998;65:1270-2.
81. Ducloux D, Carron PL, Motte G, Ab A, Rebibou JM, Bresson-Vautrin C, et al. Lymphocyte subsets and assessment of cancer risk in renal transplant recipients. *Transpl Int.* 2002;15:393-6.
82. Thibaudin D, Alamartine E, Mariat C, Absi L, Berthou F. Long-term kinetic of T-lymphocyte subsets in kidney-transplant recipients: influence of anti-T-cell antibodies and association with posttransplant malignancies. *Transplantation.* 2005;80:1514-7.
83. Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, Allende LM, Andrés A, Paz-Artal E, Aguado JM. Assessing the risk of de novo malignancy in kidney transplant recipients: role for monitoring of peripheral blood lymphocyte populations. *Transplantation.* 2014;98:e36-7.
84. Smith CA, Gruss HJ, Davis T, Anderson D, Farrah T, Baker E, et al. CD30 antigen, a marker for Hodgkin's lymphoma, is a receptor whose ligand defines an emerging family of cytokines with homology to TNF. *Cell.* 1993;73:1349-60.
85. Falini B, Stein H, Pileri S, Canino S, Farabbi R, Martelli MF, et al. Expression of lymphoid-associated antigens on Hodgkin's and Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. An immunocytochemical study on lymph node cytopins using monoclonal antibodies. *Histopathology.* 1987;11:1229-42.
86. Schlaf G, Altermann WW, Rothhoff A, Seliger B. Soluble CD30 serum level: an adequate marker for allograft rejection of solid organs? *Histol Histopathol.* 2007;22:1269-79.
87. Pellegrini P, Totaro R, Contasta I, Berghella AM, Carolei A, Adorno D. CD30 antigen and multiple sclerosis: CD30, an important costimulatory molecule and marker of a regulatory subpopulation of dendritic cells, is involved in the maintenance of the physiological balance between TH1/TH2 immune responses and tolerance. The role of IFN β -1a in the treatment of multiple sclerosis. *Neuroimmunomodulation.* 2005;12:220-34.
88. Rossi FM, Degan M, Mazzocut-Zecchin L, di Francia R, Aldinucci D, Pinto A, et al. CD30L up-regulates CD30 and IL-4 expression by T cells. *FEBS Lett.* 2001;508:418-22.
89. Harlin H, Podack E, Boothby M, Alegre ML. TCR-independent CD30 signaling selectively induces IL-13 production via a TNF receptor-associated factor/p38 mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism. *J Immunol.* 2002;169:2451-9.
90. Hansen HP, Dietrich S, Kisseleva T, Mokros T, Mentlein R, Lange HH, et al. CD30 shedding from Karpas 299 lymphoma cells is mediated by TNF-alpha-converting enzyme. *J Immunol.* 2000;165:6703-9.
91. Saini D, Ramachandran S, Nataraju A, Benschhoff N, Liu W, Desai N, et al. Activated effector and memory T cells contribute to circulating sCD30: potential marker for islet allograft rejection. *Am J Transplant.* 2008;8:1798-808.
92. Chen Y, Tai Q, Hong S, Kong Y, Shang Y, Liang W, et al. Pretransplantation soluble CD30 level as a predictor of acute rejection in kidney transplantation: a meta-analysis. *Transplantation.* 2012;94:911-8.
93. Pelz S, Opelz G, Daniel V, Wiesel M, Süsal C. Evaluation of posttransplantation soluble CD30 for diagnosis of acute renal allograft rejection. *Transplantation.* 2003;75:421-3.

Revisiones

94. Süsal C, Pelzl S, Dohler B, Opelz G. Identification of highly responsive kidney transplant recipients using pretransplant soluble CD30. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13:1650-6.
95. Grenzi PC, Campos EF, Silva HT, Jr., Felipe CR, Franco MF, Soares MF, et al. Post-transplant soluble CD30 levels are associated with early subclinical rejection in kidney transplantation. *Transpl Immunol.* 2015;32:61-5.
96. Wang D, Wu W, Yang S, Wang Q, Tan J. Post-transplant monitoring of soluble CD30 level as predictor of graft outcome: a single center experience from China. *Transpl Immunol.* 2012;27:146-50.
97. Süsal C, Pelzl S, Opelz G. Strong human leukocyte antigen matching effect in nonsensitized kidney recipients with high pretransplant soluble CD30. *Transplantation.* 2003;76:1231-2.
98. Rajakariar R, Jivanji N, Varagunam M, Rafiq M, Gupta A, Sheaff M, et al. High pre-transplant soluble CD30 levels are predictive of the grade of rejection. *Am J Transplant.* 2005;5:1922-5.
99. Wang D, Wu WZ, Chen JH, Yang SL, Wang QH, Zeng ZX, et al. Pre-transplant soluble CD30 level as a predictor of not only acute rejection and graft loss but pneumonia in renal transplant recipients. *Transpl Immunol.* 2010;22:115-20.
100. Nikaein A, Spiridon C, Hunt J, Rosenthal J, Anderson A, Eichhorn E, et al. Pre-transplant level of soluble CD30 is associated with infection after heart transplantation. *Clin Transplant.* 2007;21:744-7.
101. Spiridon C, Nikaein A, Lerman M, Hunt J, Dickerman R, Mack M. CD30, a marker to detect the high-risk kidney transplant recipients. *Clin Transplant.* 2008;22:765-9.
102. Cohen JI. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med.* 2000;343:481-92.
103. Baldanti F, Grossi P, Furione M, Simoncini L, Sarasini A, Comoli P, et al. High levels of Epstein-Barr virus DNA in blood of solid-organ transplant recipients and their value in predicting post-transplant lymphoproliferative disorders. *J Clin Microbiol.* 2000;38:613-9.
104. Doesch AO, Konstandin M, Celik S, Kristen A, Frankenstein L, Sack FU, et al. Epstein-Barr virus load in whole blood is associated with immunosuppression, but not with post-transplant lymphoproliferative disease in stable adult heart transplant patients. *Transpl Int.* 2008;21:963-71.
105. Bakker NA, Verschuuren EA, Erasmus ME, Hepkema BG, Veeger NJ, Kallenberg CG, et al. Epstein-Barr virus-DNA load monitoring late after lung transplantation: a surrogate marker of the degree of immunosuppression and a safe guide to reduce immunosuppression. *Transplantation.* 2007;83:433-8.
106. Snow AL, Martínez OM. Epstein-Barr virus: evasive maneuvers in the development of PTLD. *Am J Transplant.* 2007;7:271-7.
107. Ahya VN, Douglas LP, Andreadis C, Arnoldi S, Svoboda J, Kotloff RM, et al. Association between elevated whole blood Epstein-Barr virus (EBV)-encoded RNA EBV polymerase chain reaction and reduced incidence of acute lung allograft rejection. *J Heart Lung Transplant.* 2007;26:839-44.
108. San-Juan R, de Dios B, Navarro D, García-Reyne A, Lumbreras C, Bravo D, et al. Epstein-Barr virus DNAemia is an early surrogate marker of the net state of immunosuppression in solid organ transplant recipients. *Transplantation.* 2013;95:688-93.
109. Bamoulid J, Courivaud C, Coaquette A, Chalopin JM, Gaiffe E, Saas P, et al. Subclinical Epstein-Barr virus viremia among adult renal transplant recipients: incidence and consequences. *Am J Transplant.* 2013;13:656-62.
110. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;241:92-7.
111. Takahashi K, Iwasa Y, Hijikata M, Mishiro S. Identification of a new human DNA virus (TTV-like mini virus, TLMV) intermediately related to TT virus and chicken anemia virus. *Arch Virol.* 2000;145:979-93.
112. Okamoto H. History of discoveries and pathogenicity of TT viruses. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2009;331:1-20.
113. Maggi F, Fornai C, Zaccaro L, Morrica A, Vatteroni ML, Isola P, et al. TT virus (TTV) loads associated with different peripheral blood cell types and evidence for TTV replication in activated mononuclear cells. *J Med Virol.* 2001;64:190-4.
114. Simmonds P, Davidson F, Lycett C, Prescott LE, MacDonald DM, Ellender J, et al. Detection of a novel DNA virus (TTV) in blood donors and blood products. *Lancet.* 1998;352:191-5.
115. Feyzioglu B, Teke T, Ozdemir M, Karabrahimoglu A, Dogan M, Yavsan M. The presence of Torque teno virus in chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7:3461-6.
116. Zhong S, Yeo W, Tang MW, Lin XR, Mo F, Ho WM, et al. Gross elevation of TT virus genome load in the peripheral blood mononuclear cells of cancer patients. *Ann N Y Acad Sci.* 2001;945:84-92.
117. Shibayama T, Masuda G, Ajisawa A, Takahashi M, Nishizawa T, Tsuda F, et al. Inverse relationship between the titre of TT virus DNA and the CD4 cell count in patients infected with HIV. *AIDS.* 2001;15:563-70.

118. Gallian P, Berland Y, Olmer M, Raccah D, de Micco P, Biagini P, et al. TT virus infection in French hemodialysis patients: study of prevalence and risk factors. *J Clin Microbiol.* 1999;37:2538-42.
119. Focosi D, Macera L, Boggi U, Nelli LC, Maggi F. Short-term kinetics of torque teno virus viraemia after induction immunosuppression confirm T lymphocytes as the main replication-competent cells. *J Gen Virol.* 2015;96:115-7.
120. Béland K, Dore-Nguyen M, Gagné MJ, Patey N, Brassard J, Álvarez F, et al. Torque Teno virus in children who underwent orthotopic liver transplantation: new insights about a common pathogen. *J Infect Dis.* 2014;209:247-54.
121. Focosi D, Macera L, Pistello M, Maggi F. Torque Teno virus viraemia correlates with intensity of maintenance immunosuppression in adult orthotopic liver transplant. *J Infect Dis.* 2014;210:667-8.
122. Gorzer I, Haloschan M, Jaksch P, Klepetko W, Puchhammer-Stockl E. Plasma DNA levels of Torque teno virus and immunosuppression after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2014;33:320-3.

Monitorización inmunológica postrasplante renal: ¿tiene impacto clínico?

M.^a José Pérez Sáez¹, Ángel Alonso Melgar², Frederic Cofan Pujol³, Pedro Errasti Goenaga⁴, Álvaro Molina Ordás⁵, María O. López-Oliva⁶, David Ramos Escorihuela⁷, Cristina Canal Girol⁸, Julia Fijo López-Viota⁹, Álex Gutiérrez Dalmau¹⁰, Luisa Jimeno García¹¹, Rafael Romero Burgos¹², Elena Román Ortiz¹³, Natalia Polanco¹⁴, Edoardo Melilli¹⁵, Rosa Sánchez Hernández¹⁶

¹ Servicio de Nefrología, Hospital del Mar, Barcelona

² Servicio de Nefrología Pediátrica, Hospital Universitario La Paz, Madrid

³ Servicio de Nefrología y Trasplante Renal, Hospital Clínic, Barcelona

⁴ Servicio de Nefrología, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona

⁵ Servicio de Nefrología, Hospital General de Segovia, Segovia

⁶ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario La Paz, Madrid

⁷ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario La Fe, Valencia

⁸ Unidad de Trasplante Renal, Servicio de Nefrología, Fundació Puigvert, Barcelona

⁹ Área de Pediatría, Unidad de Nefrología Pediátrica, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla

¹⁰ Unidad de Trasplante Renal, Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza

¹¹ Servicio de Nefrología, Hospital Virgen de la Arrixaca, Murcia

¹² Servicio de Nefrología, Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, A Coruña

¹³ Servicio de Nefrología Pediátrica, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia

¹⁴ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

¹⁵ Servicio de Nefrología, Hospital Universitari de Bellvitge, Barcelona

¹⁶ Servicio de Nefrología, Hospital General de Villalba, Madrid

Nefrología Sup Ext 2016;7(2):38-50

INTRODUCCIÓN

En trasplante renal (TR), la importancia de los anticuerpos antiantígenos leucocitarios humanos (anti-HLA por sus siglas en inglés, *anti-human leukocyte antigen*) dirigidos frente al donante quedó patente hace casi 50 años, cuando Patel y Terasaki mostraron las consecuencias de trasplantarse con una prueba cruzada positiva¹. El impacto de los anticuerpos donante específicos (ADE) pretrasplante en la supervivencia del injerto ha sido bien descrito en la literatura y caracterizar a los pacientes en función de su riesgo inmunológico, cuyo mayor peso recae en la presencia de

anticuerpos anti-HLA circulantes, ha sido la práctica habitual de las unidades de trasplante.

Sin embargo, a pesar de que desde los años ochenta se sugiere la importancia de los anticuerpos formados postrasplante² y desde los noventa varios estudios demuestran una sólida relación entre la detección precoz de ADE y la existencia de una forma de rechazo agudo especialmente severa³⁻⁵, su monitorización a medio y largo plazo no está extendida ni protocolizada. Esto puede deberse a tres razones fundamentalmente: el peso del rechazo agudo celular en las primeras épocas, la falta de técnicas sensibles, específicas y coste-efectivas para su determinación, y la ausencia de tratamientos específicos contra el daño humoral crónico clínico, patología con la que se asocian con frecuencia estos anticuerpos circulantes.

Correspondencia: M.^a José Pérez Sáez

Servicio de Nefrología.

Hospital del Mar, Barcelona.

mperezsaez@parcdesalutmar.cat

Con el desarrollo de las técnicas de fase sólida para la determinación de anticuerpos en suero, en los últimos años hemos asistido a una importante expansión de la investigación en este campo: desde la descripción de la simple existencia de estos anticuerpos *de novo* y su potencial impacto en el injerto renal, hasta las tendencias más actuales que intentan determinar cuáles de estos anticuerpos son realmente determinantes en la disfunción renal.

Otras técnicas para monitorizar la respuesta inmunológica postrasplante han sido investigadas o están en desarrollo, aunque su uso está incluso menos extendido.

El objetivo de este documento de consenso es dilucidar si la monitorización inmunológica postrasplante renal tiene impacto clínico, cuestión difícil de resolver teniendo en cuenta que se desconocen las medidas terapéuticas eficaces que pueden aplicarse como consecuencia de esta monitorización.

MONITORIZACIÓN DE ANTICUERPOS HLA Y NO HLA

Definición, frecuencia, momento de aparición e impacto en la supervivencia del injerto de los anticuerpos anti-HLA

Los ADE dirigidos frente a antígenos del donante más estudiados son los anticuerpos anti-HLA, que pueden estar presentes pretrasplante o aparecer *de novo* en cualquier momento tras el TR. Para que estos ADE puedan considerarse *de novo* es importante un estudio pretrasplante adecuado, con técnicas suficientemente sensibles. En la era de la detección de anticuerpos mediante técnicas basadas en la citotoxicidad, probablemente pasaban desapercibidos ADE presentes en el momento del trasplante. Desde la generalización del uso de técnicas de fase sólida para la detección de los anticuerpos anti-HLA, varios trabajos han documentado la incidencia de aparición de estos anticuerpos *de novo* postrasplante⁶⁻¹⁷ (tabla 1). La variabilidad en la incidencia de los ADE *de novo* (del 2% hasta casi el 20% en el primer año postrasplante) depende de diversos factores, como el riesgo inmunológico del paciente, el tipo de inmunosupresión re-

cibida, la frecuencia de monitorización pretrasplante, la técnica de detección (análisis de inmunoabsorción ligada a enzimas [ELISA por sus siglas en inglés, *enzyme linked immunosorbent assay*], prácticamente abandonada, o Luminex), las variaciones de la técnica (diversos kits comerciales, procedimientos diferentes entre laboratorios), el punto de corte en la intensidad media de fluorescencia (MFI por sus siglas en inglés, *median fluorescence intensity*) escogido para definirlo como ADE, el tipo de valor empleado para su valoración (MFI cruda o normalizada) o los antígenos conocidos del donante (tipajes C, DQ-B, DQ-A y DP incluidos) (*nivel de evidencia alto*). Si se define como ADE pretrasplante el que se presenta en estudio de antígeno aislado con un título de MFI superior a 1.000, por ejemplo, la aparición del ADE *de novo* puede ser muy precoz debido a una respuesta de células B de memoria ante un antígeno conocido al haber infravalorado anticuerpos con MFI bajos^{9,10,12,14}. Sin embargo, si se definen los ADE pretrasplante con MFI bajos, como 500, la aparición de ADE *de novo* será menos frecuente y más tardía¹¹. En pacientes de bajo riesgo inmunológico y con terapia inmunosupresora consistente en tacrolimus, ácido micofenólico y esteroides, la incidencia de aparición de ADE *de novo* es del 2-10% al año. Aunque la cinética de aparición es variable, pueden detectarse desde el primer año postrasplante y los más frecuentes son de clase II, particularmente anti-DQ¹⁰.

En cuanto a factores asociados a la aparición de ADE *de novo*, tres estudios encontraron relación directa entre el número de disidentidades HLA entre donante y receptor (especialmente en clase II) y la aparición de anticuerpos tras el TR^{11,12,18}. Otros factores, como los episodios de rechazo agudo^{19,20}, los eventos inflamatorios^{21,22}, el trasplante¹³, la no adherencia al tratamiento¹¹, la edad joven y el sexo femenino^{11,12,18,20}, se asocian también al desarrollo de ADE *de novo* (*nivel de evidencia alto*). Episodios inflamatorios como un rechazo agudo celular (clínico o subclínico) modifican la expresión de antígenos HLA por parte de las células endoteliales (barrera de protección del injerto; de hecho, un endotelio quiescente no expresa antígenos HLA de clase II) y potencialmente la consecuente activación T-dependiente de las células B para la producción de anticuerpos. Sin embargo, también es posible que la secuencia temporal sea la inversa, y con la aparición de los

Tabla 1. Principales estudios publicados sobre la determinación de anticuerpos donante específicos postrasplante renal

Autor/año (Diseño)	n	Inmunosupresión	Punto de corte MFI	Momento de aparición	Incidencia/ Prevalencia	Impacto en la supervivencia del injerto
Lachmann 2009 ⁶ (Transversal)	1014	CsA, 43%; TAC, 35%; AZA, 16%; MMF, 34%	MFI > 500	No aplicable	30% (mediana tiempo pos-TR 5 años)	49 frente a 83% a 5,5 años Impacto de HLA no DE No diferencia según clase ADE
Cooper 2011 ⁷ (Prospectivo)	244	TAC + MMF + EST, 79%	MFI > 500	90% primeros 6 meses	27% a 19 meses	Misma supervivencia si se excluyen los pacientes con ADE <i>de novo</i> sin RA
Ginevri 2012 ⁸ (Prospectivo)	82	CsA, 32%; TAC, 68% + MMF + EST (100% inducción)	MFI > 1.000	24 meses	23% a 4,3 años	
Willicombe 2012 ⁹ (Prospectivo)	505	Alemtuzumab + TAC	MFI > 300	10 meses	18% a 30 meses	Anti-DQ y anti-B se asocian a pérdida del injerto y RA 24-42% reducción supervivencia a 30-36 meses
De Vos 2012 ¹⁰ (Prospectivo, monitorización sistemática)	347	TAC + MMF + EST (100% inducción)	MFI > 2.000	6,1 meses	18% a 26 meses	Misma supervivencia si se excluyen los pacientes con ADE <i>de novo</i> sin RA
Wiebe 2012 ¹¹ (Prospectivo, monitorización sistemática)	315	CsA, 21%; TAC, 79% + MMF + EST (32% inducción)	MFI > 300	51 meses	1.º año -> 2% (no < 6º mes) 10 años -> 28%	OR, 6,4 para pérdida del injerto (29% a 3 años) Clase I+II > pérdida que clase II aislada
Everly 2013 ¹² (Prospectivo, monitorización sistemática)	189	CsA, 69%; TAC, 30% + MMF + EST (100% inducción)	MFI > 1.000	17 meses	1.º año -> 11,2% 20 años -> 25%	20-39% pérdida a 3 años No diferencia según clase ADE
Loupy 2013 ¹³ (Prospectivo, monitorización sistemática)	1016	TAC + MMF + EST, 100% (100% inducción)	MFI > 500	12 meses	31%	HR, 4,78 (2,69-8,49) HR, 4 si C1q positivo -> positivo HR, 11 si C1q negativo -> positivo
De Kort 2013 ¹⁴ (Prospectivo)	559	Alemtuzumab + TAC, 79% Daclizumab + TAC + MMF, 21%	MFI > 300-500	3,8 meses	12,4% a 34 meses	

Tabla 1. (cont.)

Autor/año (Diseño)	n	Inmunosupresión	Punto de corte MFI	Momento de aparición	Incidencia/ Prevalencia	Impacto en la supervivencia del injerto
Kim 2014 ¹⁵ (Prospectivo)	146	TAC + EST (basiliximab y MMF si re-TR)	NO punto de corte	4 meses	35% (47% de ellos desaparecen)	Sin diferencias
De Vos 2014 ¹⁶ (Prospectivo, monitorización sistemática)	503	TAC/CsA + MMF + EST (100% inducción)	MFI > 2.000	6,1 meses	24% a 31 meses	Misma supervivencia si se excluyen los pacientes con ADE <i>de novo</i> sin RA
Heilman 2014 ¹⁷ (Prospectivo, monitorización sistemática)	245	TAC + MMF (100% inducción; si policlonal, STOP EST día 5)	MFI > 999	Primeros 12 meses	18% a 12 meses	Sin diferencias a 30 meses

ADE: anticuerpo donante específico; AZA: azatioprina; CsA: ciclosporina A; DE: donante específico; EST: esteroides; HLA: antígenos leucocitarios humanos; HR: *hazard ratio*; MFI: intensidad de fluorescencia media; MMF: micofenolato de mofetilo; OR: *odds ratio*; RA: rechazo agudo; TAC: tacrolimus; TR: trasplante renal.

ADE *de novo* se produzca el daño histológico (fundamentalmente inflamación microvascular) y la alteración de la función renal¹⁴ (*nivel de evidencia bajo*).

Las consecuencias de la aparición de ADE *de novo* no están claramente establecidas. Se ha descrito una mayor incidencia de rechazo agudo (anterior y posterior a la aparición de los anticuerpos) y peor supervivencia del injerto renal en pacientes que desarrollan anticuerpos tras el trasplante^{9-13,23} (*nivel de evidencia alto*), siendo este fenómeno más frecuente con anticuerpos frente a antígenos HLA de clase II y en concreto con anti-DQ donante específicos de aparición tardía⁹⁻¹¹ (*nivel de evidencia moderado*). El impacto en la supervivencia del injerto es controvertido y mientras que diversos estudios sugieren que es independiente del rechazo agudo¹¹⁻¹³, otros no han podido desvincular el impacto de la presencia del anticuerpo en el suero del propio rechazo, de manera que la influencia de los anticuerpos desaparece en aquellos pacientes que no habían tenido un rechazo^{7,10}. Asimismo, una MFI inicial elevada, el aumento de esta durante los primeros 24 meses postrasplante y la persistencia frente a la desaparición de los ADE *de novo* también se han asociado a peor función renal^{15,17,24} (tabla 1) (*nivel de evidencia moderado*).

Aunque los anticuerpos anti-HLA no donante específicos podrían tener un papel específico en la supervivencia del injerto⁶, trabajos recientes no confirman estos datos¹³.

Tipos de anticuerpos anti-HLA

El gran avance que ha supuesto el desarrollo de las técnicas de fase sólida para mejorar la determinación y la caracterización de los anticuerpos anti-HLA tanto pre como postrasplante, está dando paso a estudios cuyo objetivo es determinar cuáles son los anticuerpos con capacidad patogénica.

Diversos estudios han analizado la capacidad de los anticuerpos anti-HLA de fijar complemento en la plataforma Luminex®, tanto pre como postrasplante, para relacionarla con los resultados del TR (rechazo, supervivencia, etc.). Se han utilizado para ello diversas técnicas: el test de fijación del componente C4d en muestras pretrasplante²⁵, el test del componente C1q¹³ y el test del componente C3d²⁶. En líneas generales, la capacidad de fijar complemento de los anticuerpos anti-HLA *de novo* postrasplante se asocia a mayor capacidad patogénica de los mismos (*nivel de evidencia moderado*). El estudio

más importante describe una cohorte de más de 1.000 pacientes con TR; los que desarrollaron ADE al año del trasplante presentaron una supervivencia del injerto inferior en comparación con aquellos que no lo hicieron (el 54 frente al 93% a 5 años)¹³. Sin embargo, este hecho solo se confirmaba si los ADE eran capaces de fijar complemento (C1q), con un riesgo casi cinco veces superior de pérdida del injerto en el análisis multivariante. Es decir, la afinidad por C1q de los anticuerpos se asocia a una peor supervivencia del injerto (*nivel de evidencia moderado*). Dos hechos relevantes más se extraen de este estudio. Por un lado, los pacientes que presentaban peor supervivencia del injerto son aquellos con ADE C1q negativos en el pretrasplante que se convierten en C1q positivos en el postrasplante y, además, los anticuerpos con las MFI más elevadas son los que presentaban mayor capacidad de fijar complemento (*nivel de evidencia moderado*). Además de asociarse a peor supervivencia del injerto, la presencia de ADE C1q positivos se relacionó con una mayor incidencia de rechazo agudo, inflamación microvascular y depósito de C4d¹³. Otros trabajos han reproducido estos hallazgos en cohortes de pacientes más limitadas²⁷⁻²⁹.

Otro test que mide la capacidad de fijar complemento de los ADE es el test de C3d. La afinidad por C3d de los anticuerpos parece asociarse a peor pronóstico en la supervivencia del injerto, bien en pacientes con rechazo mediado por anticuerpos²⁶, bien en receptores pediátricos no sensibilizados previamente³⁰ (*nivel de evidencia bajo*).

Finalmente, otra característica asociada a la capacidad de fijar complemento y, por tanto, determinante de la patogenicidad de los anticuerpos es el subtipo de inmunoglobulina. Existen cuatro subclases de inmunoglobulina G (IgG), con distintas capacidades de activar complemento: la IgG1 y la IgG3 son más potentes que la IgG2 y la IgG4. Los ADE *de novo* IgG1 y 3 se han asociado a una peor supervivencia del injerto renal^{28,31,32} (*nivel de evidencia bajo*), aunque también existen otros trabajos que han relacionado los ADE isotipo IgM³¹ o subclase IgG4³³ con rechazo mediado por anticuerpos y fracaso del injerto. En el mejor de estos estudios, el tipo de ADE IgG3, el nivel de la MFI y la capacidad de fijar C1q se asociaron en un modelo multivariante a pérdida del injerto³².

Inmunosupresión y anticuerpos

Los estudios que analizan la incidencia de aparición de ADE *de novo* tras el TR presentan una variabilidad importante en cuanto a la inmunosupresión utilizada, tanto de inducción como de mantenimiento. Por consiguiente, establecer qué pauta de inmunosupresión se asocia con la menor incidencia de ADE *de novo* es difícil, al menos desde un punto de vista empírico.

Los inhibidores de la calcineurina (ICN) redujeron de forma muy significativa la incidencia de rechazo agudo y mejoraron la supervivencia del injerto a corto plazo, superior al 90% en el primer año. Sin embargo, los beneficios a más largo plazo de los ICN se han cuestionado clásicamente debido a su toxicidad. El debate actual se centra en la dicotomía entre la necesidad de una potente inmunosupresión basada en los ICN como la mejor forma potencial de evitar el desarrollo de ADE postrasplante y el rechazo humoral, y el hecho cierto de que la primera causa de pérdida del injerto renal es el fallecimiento del paciente con injerto funcional, con la necesidad ineludible de reducir el riesgo cardiovascular, las infecciones graves y las neoplasias malignas, favorecidas asimismo por los ICN.

Los inhibidores de la vía de la diana de la rapamicina en mamíferos (m-TOR por sus siglas en inglés, *mammalian target of rapamycin*), im-TOR, plantean una combinación diferente a la clásica ICN-ácido micofenólico-esteroides. Con estrategias de conversión de los ICN a los im-TOR o con combinaciones ICN + im-TOR, se pretende, por un lado, reducir la toxicidad de los ICN a largo plazo y mejorar el perfil de riesgo cardiovascular, de infecciones y de neoplasias, por otro. La tabla 2 muestra los principales resultados en cuanto al desarrollo de ADE de los estudios de conversión precoz y tardía de los ICN a los im-TOR^{18,34-38}. En cuanto a la conversión precoz a los im-TOR sin ICN (durante el primer año postrasplante, usualmente entre el tercer y cuarto mes), esta se asocia a una mayor aparición de ADE *de novo* en algunos estudios (*nivel de evidencia bajo*), siendo solo estadísticamente significativa en el trabajo de Liefeldt et al¹⁸. Este estudio presenta sesgos considerables, el más importante de los cuales es que la mayoría de los pacientes

Tabla 2. Principales estudios publicados relacionando im-TOR con la aparición de anticuerpos donante específicos

Autor/año	Diseño de estudio	n	Tiempo hasta la conversión	Seguimiento	Inmunosupresión de mantenimiento	Análisis univariante o multivariante*	
						ADE de novo	p
Conversión precoz (< 1 año) de los ICN a los im-TOR							
Lebranchu 2010 ³⁴	Prospectivo; randomizado	77	3 meses	48 meses	CsA o CsA convertida a SRL (MPA y EST)	12,3% SRL	ns
Liefeldt 2012 ¹⁸	Subanálisis de los pacientes incluidos en un único centro en dos ensayos controlados aleatorizados	127	3-4 meses	3,5 años (mediana)	CsA o CsA convertidos a EVR (MPA y EST –con 60% de suspensión de esteroides a 12 meses–)	HR = 2,67 EVR frente a CsA	0,035*
De Sandes-Freitas 2015 ³⁵	Prospectivo; randomizado	90	3 meses	24 meses	TAC convertidos a SRL (MMF y EST)	18 frente a 7,3%	0,201
Conversión tardía (> 1 año) de los ICN a los im-TOR							
Kamar 2013 ³⁶	Retrospectivo; caso-control	61	22 meses (mediana)	35 meses	CsA/TAC convertidos a EVR (MMF y EST)	9,8 frente a 5%	ns
Croze 2014 ³⁷	Retrospectivo; cohortes	270	1,3 años (media)	3,8 años (media)	TAC convertidos a SRL ± EST hasta mes 3	HR = 2,4 SRL frente a TAC	0,036*
Ruiz 2014 ³⁸	Retrospectivo; cohortes	35	69 meses [3-375] (mediana)	2 años	ICN convertidos a im-TOR ± MMF/AZA ± EST	8,6 frente a 0% controles (n = 10)	ns

ADE: anticuerpos donante específicos; AZA: azatioprina; CsA: ciclosporina A; EST: esteroides; EVR: everolimus; HR: *hazard ratio*; ICN: inhibidores de la calcineurina; im-TOR: inhibidores de diana de la rapamicina en mamíferos (m-TOR); MMF: micofenolato de mofetilo; MPA: ácido micofenólico; ns: no significativo; SRL: sirolimus; TAC: tacrolimus.

convertidos también suspendieron el tratamiento con corticoides³⁹. En cuanto a los estudios de conversión tardía, la aparición de ADE también es más frecuente en los pacientes que se convierten de ICN a im-TOR, nuevamente con tan solo un estudio con significación estadística y todos ellos de diseño retrospectivo. Los ADE pueden no ser *de novo*, presentándose especialmente en aquellos pacientes con anticuerpos preconversión³⁸ (*ni-*

vel de evidencia bajo). Por tanto, la conversión a una pauta libre de ICN debería realizarse en pacientes de bajo riesgo inmunológico, sin anticuerpos pretrasplante y con monitorización estrecha de los mismos tras la conversión (*nivel de evidencia bajo*).

Por otro lado, y aunque con un solo ensayo clínico publicado y prematuramente interrumpido por la tasa de recha-

zo agudo y desarrollo de ADE *de novo* en el brazo sin ICN, parece claro que la retirada precoz de ICN (dentro de los 6 primeros meses pos-TR) sin introducción de im-TOR (quedando en régimen ácido micofenólico-esteroides) se asocia a mayor aparición de ADE *de novo*⁴⁰ (*nivel de evidencia moderado-alto*).

Anticuerpos no anti-HLA

El impacto de los anticuerpos dirigidos frente a antígenos no HLA en la función y supervivencia del injerto renal no está bien establecido. El hecho de que los gemelos univitelinos HLA idénticos requieran inmunosupresión y la existencia de rechazos agudos de histología compatible con daño mediado por anticuerpos, sin hallazgo en suero de ADE anti-HLA, apoyan la existencia de antígenos no HLA que podrían activar la inmunidad celular y, en consecuencia, la producción de anticuerpos no anti-HLA en el receptor dirigidos contra ellos. No obstante, la falta de técnicas de detección validadas, el posible factor de confusión de la presencia factible de anticuerpos anti-HLA no detectados y la falta de especificidad documentada contra el donante han limitado el avance en esta área.

Los anticuerpos no HLA son llamados en términos generales «anticuerpos anticélulas endoteliales» (AECA por sus siglas en inglés, *antiendothelial cell antibodies*), ya que el endotelio es la barrera primaria de defensa del trasplante. Estos antígenos pueden ser polimórficos y capaces de provocar alorrespuesta, como las proteínas A y B relacionadas con el complejo mayor de histocompatibilidad I (MICA y MICB) o con limitado polimorfismo (autoanticuerpos) como el receptor 1 de la angiotensina II y muchos otros.

Existen trabajos que relacionan la presencia de anticuerpos anti no HLA con resultados del trasplante como el rechazo agudo y la supervivencia del injerto⁴¹⁻⁴⁴, mientras que otros no han encontrado asociación independiente^{45,46}. Parece que los pacientes que presentan anticuerpos anti-HLA y no HLA (ambos) muestran peor supervivencia del injerto⁴⁷ (*nivel de evidencia bajo*). Identificar qué antígenos de las células endoteliales inducen la producción de anticuerpos clínicamente significativos⁴⁸ o determinar es-

pecificidades contra el donante de anticuerpos anti-MIC (complejo mayor de histocompatibilidad I) en pacientes de riesgo⁴⁹ constituyen objetivos recientes de investigación.

Sin embargo, no existe evidencia suficiente que apoye la monitorización sistemática de anticuerpos anti no HLA postrasplante. Ante el hallazgo histológico de un rechazo mediado por anticuerpos en ausencia de anticuerpos anti-HLA detectables en suero, se debería considerar la búsqueda de anticuerpos no HLA (*nivel de evidencia bajo*).

Recomendaciones

¿Cómo tengo que monitorizar a los pacientes? (figura 1)

Se recomienda realizar el cribado de los anticuerpos anti-HLA postrasplante mediante una técnica de fase sólida en la plataforma Luminex (*nivel de evidencia alto*) y si este cribado resulta positivo, se realizará la determinación de antígeno aislado.

En cuanto al punto de corte considerado para la positividad del anticuerpo, cualquier valor de la MFI puede ser positivo respecto al control negativo interno de cada laboratorio, aunque este sea de 450, 600 o 13.000. El punto de corte con impacto clínico no está definido, por lo que es necesario consensuarlo con el Servicio de Inmunología de cada hospital. De modo general, se considerará positivo un anticuerpo si la MFI es mayor a 1.000-1.500, siendo el significado dudoso si la MFI se encuentra entre 500 y 1.000 (*nivel de evidencia bajo*).

Ante el hallazgo de un ADE postrasplante, se sugiere realizar una técnica complementaria de fijación de complemento (mediante el test de C1q o de C3d) si está disponible en el hospital, ya que podría ayudar a la toma de decisiones clínicas (*nivel de evidencia bajo*).

Ante el hallazgo de un ADE *de novo*, se valorará la realización de una biopsia renal, aunque este no se acompañe de deterioro de la función renal o proteinuria (*nivel de evidencia bajo*).

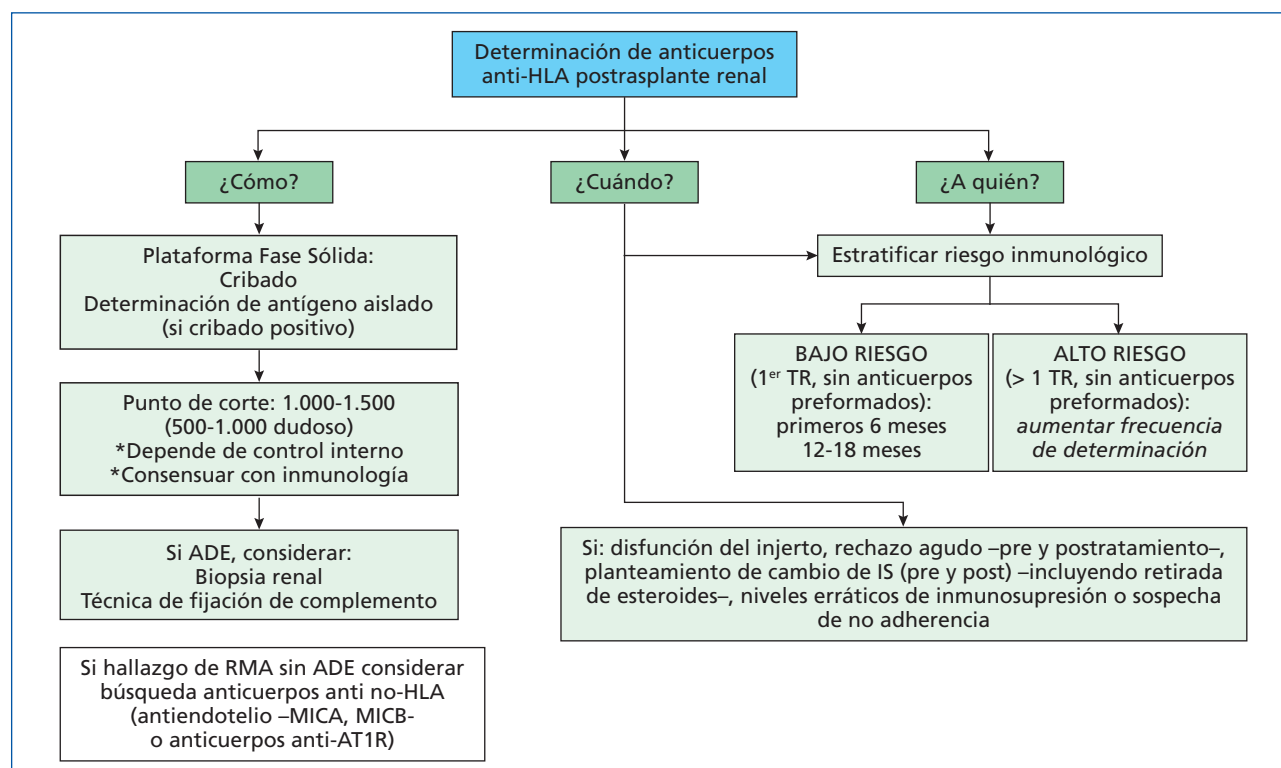


Figura 1. ADE: anticuerpo donante específico; HLA: antígenos leucocitarios humanos; IS: inmunosupresión. RMA: rechazo mediado por anticuerpos.

Ante la presencia de lesiones histológicas sugestivas en gran medida de ser mediadas por anticuerpos, pero con anticuerpos anti-HLA circulantes no detectables por técnicas de fase sólida, se valorará la búsqueda de anticuerpos no HLA como anticuerpos antiendotelio (MICA, MICB, anticuerpos anti-AT1R) (*nivel de evidencia bajo*).

¿Cuándo y a quién debo monitorizar? (figura 1)

Durante el estudio pretrasplante debe estratificarse el riesgo inmunológico de los pacientes en lista de espera y realizarse monitorización de los anticuerpos anti-HLA postrasplante de acuerdo con este riesgo:

- En pacientes de bajo riesgo inmunológico (primer TR sin anticuerpos anti-HLA pretrasplante) se recomiendan dos evaluaciones, durante los primeros 6 meses y a los 12-18 meses postrasplante.
- En pacientes de alto riesgo inmunológico (retrasplante o presencia de anticuerpos anti-HLA pretrasplante) se re-

comienda aumentar la frecuencia de determinación de los ADE.

Asimismo, se recomienda la determinación de anticuerpos anti-HLA o el aumento en la frecuencia de determinación de los mismos ante las siguientes situaciones:

- Complicaciones inmunológicas del injerto: disfunción del injerto, rechazo agudo –antes y después del tratamiento–.
- Cambios o inestabilidad en la inmunosupresión: planteamiento de cambio de inmunosupresión –incluyendo retirada de esteroides, determinando anticuerpos antes y después–, niveles erráticos de inmunosupresión o sospecha de no adherencia.
- Realización de una biopsia del injerto de «protocolo».

La necesidad de una monitorización estrecha del desarrollo de anti-HLA *de novo* debe relativizarse teniendo en cuenta la ausencia de una actitud terapéutica eficaz que pueda revertir o controlar su impacto *a posteriori*.

MONITORIZACIÓN DE LA RESPUESTA T

Con la introducción de los ICN, y más aún combinados con potentes antiproliferativos, el rechazo agudo mediado por células T ha experimentado un descenso del 40% al 10-15% durante el primer año postrasplante⁵⁰. Las pérdidas inmunológicas de los injertos se deben fundamentalmente a un daño crónico mediado por anticuerpos, bien preformados o bien desarrollados postrasplante, en el que el peso de la célula T parece, al menos hasta ahora, menor⁵¹.

Sin embargo, siendo la célula T el principal mediador del rechazo agudo y considerando la baja incidencia actual del mismo, la monitorización de su alorreactividad postrasplante podría abrir la puerta del control sobre un exceso o un defecto de la inmunosupresión que aplicamos a nuestros pacientes y conducimos hasta la deseada inmunosupresión «a la carta». Entre las técnicas disponibles para determinar esta alorreactividad, las más ampliamente utilizadas son la caracterización fenotípica de las subpoblaciones linfocitarias T mediante la citometría de flujo y la determinación de la liberación de trifosfato de adenosina (ATP por sus siglas en inglés, *adenosine triphosphate*), con el método Immuknow, o la secreción de citocinas (con un inmunospot ligado a enzimas [ELISpot por su denominación en inglés, *enzyme-linked immunospot*]) por parte del linfocito T⁵².

Immuknow

El Immuknow® (Cylex Ltd., Estados Unidos) es un test aprobado en 2002 por la United States Food and Drug Administration (FDA) que fue desarrollado como biomarcador de dosis de inmunosupresión. Se trata de un test que mide la liberación de ATP por parte del linfocito T cuando este se expone a un estímulo no específico⁵³. En teoría, los valores de ATP medido serán más altos si el linfocito T está poco inhibido por la inmunosupresión y serán más bajos en el contexto de sobreinmunosupresión. Numerosos estudios, la mayoría de naturaleza retrospectiva, han asociado valores altos de ATP con rechazo agudo y valores bajos con infecciones oportunistas en el paciente trasplantado⁵⁴⁻⁵⁷ (*nivel de evidencia bajo*). No obstante, el estudio con mayor número de pacientes publicado hasta la fecha⁵⁸

y un metaanálisis sobre todos los estudios publicados⁵⁹ no encontraron asociación entre el Immuknow y la capacidad predictiva de rechazo agudo (infrainmunosupresión) o infecciones (sobreinmunosupresión), por lo que no se recomienda la monitorización sistemática de la respuesta de la célula T postrasplante mediante este test.

ELISpot T

El ELISpot de interferón gamma (IFN- γ) o ELISpot T es una técnica validada, con un valor predictivo negativo alto, que permite identificar frecuencias de células T circulantes de memoria reactivas frente a antígenos del donante⁶⁰⁻⁶⁵ (*nivel de evidencia alto*). Los linfocitos presentes en la sangre periférica del receptor son incubados y enfrentados durante 18-24 horas a antígenos de células del donante, de modo que se permite que se produzca el alorreconocimiento y la consecuente liberación de citocinas, que es lo que finalmente mide el test⁶³. En el postrasplante, existen varios estudios que han correlacionado el ELISpot T con el rechazo agudo y la función del injerto^{62,64,65}.

No obstante, a falta de estudios prospectivos aleatorizados, no existe suficiente evidencia para recomendar realizar sistemáticamente un ELISpot T a los pacientes trasplantados para monitorizar la respuesta alogénica celular.

MONITORIZACIÓN DE LA RESPUESTA B

Si la monitorización de la respuesta celular T se encuentra en una fase preliminar que dificulta tomar decisiones diagnóstico-terapéuticas basadas en ella, aún más experimental es el estudio de la respuesta celular B⁶⁶. Existen diferentes técnicas que permiten tanto la identificación de subpoblaciones linfocitarias B (citometría de flujo), como la evaluación de la funcionalidad de las células B (ELISpot B), que han mostrado interesantes asociaciones con un mayor riesgo de rechazo⁶⁷ (*nivel de evidencia bajo*).

No obstante, estas técnicas se encuentran en fase de experimentación o validación, por lo que no existe evidencia suficiente que apoye su utilización actualmente en la práctica clínica.

MICROARRAYS

Se ha relacionado la determinación de la expresión de distintos genes en sangre periférica con la posibilidad de predecir la aparición de rechazo agudo o tolerancia inmunológica y, aunque los resultados preliminares de un conjunto de transcriptos concretos (test de respuesta de órganos sólidos [kSORT por sus siglas en inglés, *kidney solid organ response test*]) utilizados mediante un algoritmo estadístico específico (kSAS, por sus siglas en inglés *kSORT analysis suite*) tienen una buena correlación con rechazo agudo, son necesarios estudios prospectivos aleatorizados⁶⁸⁻⁷¹ (*nivel de evidencia bajo-moderado*).

OTROS

Se han descrito otros biomarcadores serológicos⁷²⁻⁷³ y en orina⁷⁴⁻⁷⁶ con capacidad predictiva de rechazo agudo. No obstante, no disponemos de evidencia suficiente que apoye la determinación de ninguno de ellos para la monitorización inmunológica postrasplante (*nivel de evidencia bajo*).

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med*. 1969;280:735-9.
- Martin S, Dyer PA, Mallick NP, Gokal R, Harris R, Johnson RW. Posttransplant antidonor lymphocytotoxic antibody production in relation to graft outcome. *Transplantation*. 1987;44:50-3.
- Halloran PF, Wadgymar A, Ritchie S, Falk J, Solez K, Srinivasa NS. The significance of the anti-class I antibody response. I. Clinical and pathologic features of anti-class I-mediated rejection. *Transplantation*. 1990;49:85-91.
- Crespo M, Pascual M, Tolckoff-Rubin N, Mauyyedi S, Collins AB, Fitzpatrick D, et al. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: I. Incidence, serology and clinical characteristics. *Transplantation*. 2001;71:652-8.
- Racusen LC, Colvin RB, Solez K, Mihatsch MJ, Halloran PF, Campbell PM, et al. Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant*. 2003;3:708-14.
- Lachmann N, Terasaki PI, Budde K, Liefeldt L, Kahl A, Reinke P, et al. Anti-human leukocyte antigen and donor-specific antibodies detected by luminex posttransplant serve as biomarkers for chronic rejection of renal allografts. *Transplantation*. 2009;87:1505-13.
- Cooper JE, Gralla J, Cagle L, Goldberg R, Chan L, Wiseman AC. Inferior kidney allograft outcomes in patients with de novo donor-specific antibodies are due to acute rejection episodes. *Transplantation*. 2011;91:1103-9.
- Ginevri F, Nocera A, Comoli P, Innocente A, Cioni M, Parodi A, et al. Posttransplant de novo donor-specific HLA antibodies identify pediatric kidney recipients at risk for late antibody-mediated rejection. *Am J Transplant*. 2012;12:3356-62.
- Willicombe M, Brookes P, Sergeant R, Santos-Nunez E, Steggar C, Galliford J, et al. De novo DQ donor-specific antibodies are associated with significant risk of antibody-mediated rejection and transplant glomerulopathy. *Transplantation*. 2012;94:172-7.
- DeVos JM, Gaber AO, Knight RJ, Land GA, Suki WN, Gaber LW, et al. Donor-specific HLA-DQ antibodies may contribute to poor graft outcome after renal transplantation. *Kidney Int*. 2012;82:598-694.
- Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, Karpinski M, Ho J, Storsley LJ, et al. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant*. 2012;12:1157-67.
- Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, Ozawa M, Parker K, Briley KP, et al. Incidence and impact of de novo donor-specific alloantibody in primary renal allografts. *Transplantation*. 2013;95:410-7.
- Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, Prugger C, Duong van Huyen JP, Mooney N, et al. Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival. *N Engl J Med*. 2013;369:1215-26.
- De Kort H, Willicombe M, Brookes P, Dominy KM, Santos-Nunez E, Galliford JW, et al. Microcirculation inflammation associates with outcome in renal transplant patients with de novo donor-specific antibodies. *Am J Transplant*. 2013;13:485-92.
- Kim JJ, Balasubramanian R, Michaelides G, Wittenhagen P, Sebire NJ, Mamode N, et al. The clinical spectrum of de novo donor-specific antibodies in pediatric renal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2014;14:2350-8.
- Devos JM, Gaber AO, Teeter LD, Graviss EA, Patel SJ, Land GA, et al. Intermediate-term graft loss after renal transplantation is associated with both donor-specific antibody and acute rejection. *Transplantation*. 2014;97:534-40.

17. Heilman RL, Nijim A, Desmarteau YM, Khamash H, Pando MJ, Smith ML, et al. De novo donor-specific human leukocyte antigen antibodies early after kidney transplantation. *Transplantation*. 2014;98:1310-5.
18. Liefeldt L, Brakemeier S, Glander P, Waiser J, Lachmann N, Schönemann C, et al. Donor-specific HLA antibodies in a cohort comparing everolimus with cyclosporine after kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2012;12(5):1192-8.
19. Loupy A, Vernerey D, Tinel C, Aubert O, Duong van Huyen JP, Rabant M, et al. Subclinical rejection phenotypes at 1 year post-transplant and outcome of kidney allografts. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26:1721-31.
20. Crespo M, Yélamos J, Redondo D, Muntasell A, Pérez-Sáez MJ, López-Montañés M, et al. Circulating NK-cell subsets in renal allograft recipients with anti-HLA donor-specific antibodies. *Am J Transplant* 2015;15:806-14.
21. Locke JE, Zachary AA, Warren DS, Segev DL, Houp JA, Montgomery RA, et al. Proinflammatory events are associated with significant increases in breadth and strength of HLA-specific antibody. *Am J Transplant*. 2009;9:2136-9.
22. Katerinis I, Hadaya K, Duquesnoy R, Ferrari-Lacraz S, Meier S, van Delden C, et al. De novo anti-HLA antibody after pandemic H1N1 and seasonal influenza immunization in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2011;11:1727-33.
23. Yamamoto T, Watarai Y, Takeda A, Tsujita M, Hiramitsu T, Goto N, et al. De novo anti-HLA DSA characteristics and subclinical antibody-mediated kidney allograft injury. *Transplantation*. 2015. [Epub ahead of print].
24. Dieplinger G, Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, Briley KP, Bolin P, et al. Changes in successive measures of de novo donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies intensity and the development of allograft dysfunction. *Transplantation*. 2014;98:1097-104.
25. Hönger G, Wahrmann M, Amico P, Hopfer H, Böhmig GA, Schaub S. C4d-fixing capability of low-level donor-specific HLA antibodies is not predictive for early antibody-mediated rejection. *Transplantation*. 2010;89:1471-5.
26. Sicard A, Ducreux S, Rabeyrin M, Couzi L, McGregor B, Badet L, et al. Detection of C3d-binding donor-specific anti-HLA antibodies at diagnosis of humoral rejection predicts renal graft loss. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26:457-67.
27. Yell M, Muth BL, Kaufman DB, Djamali A, Ellis TM. C1q binding activity of de novo donor-specific HLA antibodies in renal transplant recipients with and without antibody-mediated rejection. *Transplantation*. 2015;99:1151-5.
28. Freitas MCS, Rebellato LM, Ozawa M, Nguyen A, Sasaki N, Everly M, et al. The role of immunoglobulin-G subclasses and C1q in de novo HLA-DQ donor-specific antibody kidney transplantation outcomes. *Transplantation*. 2013;95:1113-9.
29. Calp-Inal S, Ajaimy M, Melamed ML, Savchik C, Masiakos P, Colovai A, et al. The prevalence and clinical significance of C1q-binding donor-specific anti-HLA antibodies early and late after kidney transplantation. *Kidney Int*. 2016;89:209-16.
30. Comoli P, Cioni M, Tagliamacco A, Quartuccio G, Innocente A, Fontana I, et al. Acquisition of C3d-binding activity by de novo donor-specific HLA antibodies correlates with graft loss in nonsensitized pediatric kidney recipients. *Am J Transplant*. 2016;16:2106-16.
31. Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, Briley KP, Bolin P, Kendrick WT, et al. Impact of IgM and IgG3 anti-HLA alloantibodies in primary renal allograft recipients. *Transplantation*. 2014;97:494-501.
32. Lefaucheur C, Viglietti D, Bentlejewski C, Duong van Huyen JP, Vernerey D, Aubert O, et al. IgG donor-specific anti-human HLA antibody subclasses and kidney allograft antibody-mediated injury. *J Am Soc Nephrol*. 2016;27:293-304.
33. Khovanova N, Daga S, Shaikhina T, Krishnan N, Jones J, Zehnder D, et al. Subclass analysis of donor HLA-specific IgG in antibody-incompatible renal transplantation reveals a significant association of IgG4 with rejection and graft failure. *Transpl Int*. 2015;28:1405-15.
34. Lebranchu Y, Toupance O, Touchard G, Thervet E, Etienne I, Westeel P, et al. Impact of early conversion at 3 months from cyclosporine (CsA) to sirolimus (SRL) in association with mycophenolate mofetil (MMF) on renal function – «Results at 48 months of follow up of a multicenter randomized controlled trial: the concept study». *Am J Transplant*. 2010;10(4 Supl):1-607.
35. De Sandes-Freitas TV, Felipe CR, Campos EF, de Lima MG, Soares MF, de Franco MF, et al. Subclinical lesions and donor-specific antibodies in kidney transplant recipients receiving tacrolimus-based immunosuppressive regimen followed by early conversion to sirolimus. *Transplantation*. 2015;99:2372-81.
36. Kamar N, Del Bello A, Congy-Jolivet N, Guilbeau-Frugier C, Cardeau-Desangles I, Fort M, et al. Incidence of donor-specific antibodies in kidney transplant patients following conversion to an everolimus-based calcineurin inhibitor-free regimen. *Clin Transplant*. 2013;27:455-62.
37. Croze LE, Tetaz R, Roustit M, Malvezzi P, Janbon B, Jouve T, et al. Conversion to mammalian target of rapamycin inhibitors increases risk of de novo donor-specific antibodies. *Transpl Int*. 2014;27:775-83.
38. Ruiz San Millán JC, López-Hoyos M, San Segundo D, Quintela E, Rodrigo E, Gómez-Alamillo C, et al. Predictive factors of allosen-

- sitization in renal transplant patients switched from calcineurin to mTOR inhibitors. *Transpl Int.* 2014;27:847-56.
39. Pascual J, Arns W. Does everolimus increase donor-specific HLA antibodies in kidney transplant recipients? *Am J Transplant.* 2012;12:2561-2.
 40. Hricik DE, Formica RN, Nickerson P, Rush D, Fairchild RL, Poggio ED, et al. Adverse outcomes of tacrolimus withdrawal in immunquiescent kidney transplant recipients. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26:3114-22.
 41. Zou Y, Stastny P, Süsal C, Döhler B, Opelz G. Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N Engl J Med.* 2007;357:1293-1300.
 42. Terasaki PI, Ozawa M, Castro R. Four-year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies on kidney graft survival. *Am J Transplant.* 2007;7:408-15.
 43. Sánchez Zapardiel E, Castro Panete MJ, Castillo Rama M, Morales P, Lora-Pablos D, Valero-Hervás D, et al. Harmful effect of preformed anti-MICA antibodies on renal allograft evolution in early posttransplantation period. *Transplantation.* 2013;96:70-8.
 44. Dragun D, Müller DN, Bräsen JH, Fritsche L, Nieminen-Kelhä M, Dechend R, et al. Angiotensin II type-1 receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med.* 2005;352:558-569.
 45. Lemy A, Andrien M, Wissing KM, Ryhahi K, Vandersarren A, Racapé J, et al. Major histocompatibility complex class 1 chain-related antigen A antibodies: sensitizing events and impact on renal graft outcomes. *Transplantation.* 2010;90:168-74.
 46. Lemy A, Andrien M, Lionet A, Labalette M, Noel C, Hiesse C, et al. Posttransplant major histocompatibility complex class I chain-related gene A antibodies and long-term graft outcomes in a multicenter cohort of 779 kidney transplant recipients. *Transplantation.* 2012;93:1258-64.
 47. Taniguchi M, Rebellato LM, Cai J, Hopfield J, Briley KP, Haisch CE, et al. Higher risk of kidney graft failure in the presence of anti-angiotensin II type-1 receptor antibodies. *Am J Transplant.* 2013;13:2577-89.
 48. Jackson AM, Sigdel TK, Delville M, Hsieh SC, Dai H, Bagnasco S, et al. Endothelial cell antibodies associated with novel targets and increased rejection. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26:1161-75.
 49. Ming Y, Hu J, Luo Q, Ding X, Luo W, Zhuang Q, et al. Acute antibody-mediated rejection in presence of MICA-DSA and successful renal re-transplant with negative-MICA virtual crossmatch. *Plos One.* 2015;10:e0127861.
 50. Disponible en: http://srtr.transplant.hrsa.gov/annual_reports/2012/pdf/01_kidney_13.pdf
 51. Sellarés J, de Freitas DG, Mengel M, Reeve J, Einecke G, Sis B, et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant.* 2012;12:388-99.
 52. Mehrotra A, Leventhal J, Purroy C, Cravedi P. Monitoring T cell alloreactivity. *Transplant Rev.* 2015;29:53-9.
 53. Kowalski R, Post D, Schneider MC, Britz J, Thomas J, Deierhoi M, et al. Immune cell function testing: an adjunct to therapeutic drug monitoring in transplant patient management. *Clin Transplant.* 2003;17:77-88.
 54. He J, Li Y, Zhang H, Wei X, Zheng H, Xu C, et al. Immune function assay (ImmuKnow) as a predictor of allograft rejection and infection in kidney transplantation. *Clin Transplant.* 2013;27:E351-8.
 55. Gralla J, Huskey J, Wiseman AC. Trends in immune function assay (ImmuKnow; Cylex™) results in the first year post-transplant and relationship to BK virus infection. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27:2565-70.
 56. Myslik F, House AA, Yanko D, Warren J, Caumartin Y, Rehman F, et al. Preoperative Cylex assay predicts rejection risk in patients with kidney transplant. *Clin Transplant.* 2014;28:606-10.
 57. Wang XZ, Jin ZK, Tian XH, Xue WJ, Tian PX, Ding XM, et al. Increased intracellular adenosine triphosphate level as an index to predict acute rejection in kidney transplant recipients. *Transplant Immunology.* 2014;30:18-23.
 58. Huskey J, Gralla J, Wiseman AC. Single time point immune function assay (ImmuKnow) testing does not aid in the prediction of future opportunistic infections or acute rejection. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6:423-9.
 59. Ling X, Xiong J, Liang W, Schroder PM, Wu L, Ju W, et al. Can immune cell function assay identify patients at risk of infection or rejection? A meta-analysis. *Transplantation.* 2012;93:737-43.
 60. Näther BJ, Nickel P, Bold G, Presber F, Schönemann C, Pratschke J, et al. Modified ELISPOT technique - Highly significant inverse correlation of post-Tx donor-reactive IFN γ -producing cell frequencies with 6 and 12 months graft function in kidney transplant recipients. *Transplant Immunology.* 2006;16:232-7.
 61. Bestard O, Crespo E, Stein M, Lúcia M, Roelen DL, de Vaal YJ, et al. Cross-validation of IFN- γ Elispot assay for measuring alloreactive memory/effector T cell responses in renal transplant recipients. *Am J Transplant.* 2013;13:1880-90.
 62. Bestard O, Cruzado JM, Lucia M, Crespo E, Casis L, Sawitzki B, et al. Prospective assessment of antidonor cellular alloreactivity is a tool for guidance of immunosuppression in kidney transplantation. *Kidney Int.* 2013;84:1226-36.

63. Mashishi T, Gray CM. The ELISPOT assay: an easily transferable method for measuring cellular responses and identifying T cell epitopes. *Clin Chem Lab Med*. 2002;40:903-10.
64. Hricik DE, Rodriguez V, Riley J, Bryan K, Tary-Lehmann M, Greenspan N, et al. Enzyme linked immunosorbent spot (ELISPOT) assay for interferon-gamma independently predicts renal function in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2003;3:878-84.
65. Bestard O, Nickel P, Cruzado JM, Schoenemann C, Boenisch O, Sefrin A, et al. Circulating alloreactive T cells correlate with graft function in longstanding renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19:1419-29.
66. Crespo M, Heidt S, Redondo D, Pascual J. Monitoring B cell subsets and alloreactivity in kidney transplantation. *Transplant Rev*. 2015;29:45-52.
67. Lúcia M, Luque S, Crespo E, Melilli E, Cruzado JM, Martorell J, et al. Preformed circulating HLA-specific memory B cells predict high risk of humoral rejection in kidney transplantation. *Kidney Int*. 2015;8:874-87.
68. Li L, Khatri P, Sidgel T, Tran T, Ying L, Vitalone MJ, et al. A peripheral blood diagnostic test for acute rejection in renal transplantation. *Am J Transplant*. 2012;12:2710-8.
69. Roedder S, Sigdel T, Salomonis N, Hsieh S, Dai H, Bestard O, et al. The kSORT assay to detect renal transplant patients at high risk for acute rejection: results of the multicenter AART study. *Plos Med*. 2014;11:e1001759.
70. Roedder S, Li L, Alonso MN, Hsieh SC, Vu MT, Dai H, et al. A three-gene assay for monitoring immune quiescence in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26:2042-53.
71. Dorr C, Wu B, Guan W, Muthusamy A, Sanghavi K, Schladt DP, et al. Differentially expressed gene transcripts using RNA sequencing from the blood of immunosuppressed kidney allograft recipients. *Plos One*. 2015;10:e0125045.
72. Vaidya S, Partlow D, Barnes T, Thomas P, Gugliuzza K. Soluble CD30 concentrations in ESRD patients with and without panel reactive HLA antibodies. *Clin Transplant*. 2006;20:461-4.
73. Domingues EM, Matuck T, Graciano ML, Souza E, Rioja S, Falci MC, et al. Panel reactive HLA antibodies, soluble CD30 levels, and acute rejection six months following renal transplant. *Clin Transplant*. 2010;24:821-9.
74. Suthanthiran M, Schwartz JE, Ding R, Abecassis M, Dadhania D, Samstein B, et al. Urinary-cell mRNA profile and acute cellular rejection in kidney allografts. *New Engl J Med*. 2013;369:20-31.
75. Hricik DE, Nickerson P, Formica RN, Poggio ED, Rush D, Newell KA, et al. Multicenter validation of urinary CXCL9 as a risk-stratifying biomarker for kidney transplant injury. *Am J Transplant*. 2013;13:2634-44.
76. Rabant M, Amrouche L, Lebreton X, Aulagnon F, Benon A, Sauvaget V, et al. Urinary C-X-C motif chemokine 10 independently improves the noninvasive diagnosis of antibody-mediated kidney allograft rejection. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26:2840-51.

Monitorización farmacológica de inmunosupresores

Ana María Fernández¹, Marisa Agüera Morales², Miguel Ángel Muñoz Cepeda³, Francisco Manuel González Roncero⁴, Inmaculada Lorenzo⁵, Alicia Mendiluce Herrero⁶, Antonio Franco Esteve⁷, Teresa García Álvarez⁸, Gonzalo Gómez Marqués⁹, Enrique Luna¹⁰, Ángel Alonso Hernández¹¹, Osorio Moratalla¹²

¹ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid

² Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba

³ Servicio de Nefrología, Hospital Virgen de la Salud, Toledo

⁴ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla

⁵ Servicio de Nefrología, Hospital General de Albacete, Albacete

⁶ Servicio de Nefrología, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid

⁷ Servicio de Nefrología, Hospital General de Alicante, Alicante

⁸ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Puerta del Mar, Cádiz

⁹ Servicio de Nefrología, Hospital Son Dureta, Palma de Mallorca

¹⁰ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Infanta Cristina, Badajoz

¹¹ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Juan Canalejo, A Coruña

¹² Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada

Nefrología Sup Ext 2016;7(2):51-62

INTRODUCCIÓN

En España, en el año 2013, el porcentaje de pacientes con injerto funcional fue del 52% del total de pacientes con tratamiento renal sustitutivo. Este porcentaje se ha incrementado paulatinamente de forma que en el año 2000 los pacientes con trasplante renal representaban solo el 42% y, considerando el incremento anual del número de trasplantes renales, es de suponer que este porcentaje seguirá aumentando en los años venideros¹.

La inmunosupresión del paciente trasplantado renal ha sido y sigue siendo el pilar básico para mantener el injerto funcional y ha evolucionado de manera notable desde los inicios del trasplante renal. Sin embargo, los fármacos inmunosupresores no están exentos de efectos secundarios y la monitorización de estos fármacos mediante medición de niveles en la sangre o la determinación directa o indirecta de su acción farmacológica es importante para man-

tener el delicado equilibrio entre su acción inmunosupresora y sus efectos adversos.

El clínico que usa habitualmente estos fármacos necesita herramientas que le ayuden a utilizarlos de manera adecuada en cada individuo y por ello el grupo Prometeo realizó en el año 2015 una revisión de la monitorización de los aspectos inmunológicos, histológicos y farmacológicos del trasplante renal.

En el presente artículo, se revisa la situación actual de la monitorización farmacológica de los inmunosupresores, realizando, para cada uno de ellos, una breve introducción de su metabolismo y mecanismo de acción.

METODOLOGÍA

La metodología ha sido la habitual del grupo Prometeo:

- a) Revisión bibliográfica en PubMed, Medline, Cochrane Database of Systematic Reviews, etc., con las siguientes palabras clave para cada inmunosupresor: niveles, AUC, farmacocinética.

Correspondencia: Ana María Fernández
Servicio de Nefrología.
Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid.
afrodriguez@salud.madrid.org

- b) Selección bibliográfica según criterios de calidad metodológica, antigüedad de la publicación y cobertura de los diferentes aspectos del tema revisado, realizando finalmente una selección de 73 artículos.
- c) Revisión bibliográfica por los miembros del grupo.
- d) Debate en el grupo y recogida final de evidencias en un consenso valorado según la escala GRADE (por sus siglas en inglés, *grading of recommendations assessment, development, and evaluation*).

GLOSARIO DE TÉRMINOS

AUC (*area under the curve* o área bajo la curva): es un parámetro farmacocinético que refleja la cantidad total de fármaco que alcanza la circulación sistémica. Es la medida más importante de la biodisponibilidad y relaciona las variaciones de la concentración plasmática de un fármaco en función del tiempo. Se determina mediante una función integral de las concentraciones plasmáticas en distintos puntos.

C0: concentración en niveles valle. Habitualmente a las 12 horas de la toma del fármaco.

C2: determinación a las dos horas de la toma del fármaco. No tiene por qué coincidir con la concentración máxima.

Cmax: máximo nivel alcanzado tras la toma oral.

AZATIOPRINA

Es un derivado imidazólico de la 6-mercaptopurina, que bloquea el metabolismo de las purinas. Tiene una biodisponibilidad cercana al 50% y se ha usado desde los inicios del trasplante renal en inmunosupresión doble asociada a prednisona y, más tarde, en inmunosupresión triple asociada a ciclosporina.

Es un fármaco inmunosupresor clásico que prácticamente no se indica *de novo* en los protocolos de inmunosupresión actual. Desde sus inicios en trasplante renal, se ha utilizado sin monitorizar su acción farmacológica; sin embargo, se han descrito varias dianas de monitorización terapéuti-

ca en distintas patologías, entre ellas en trasplante renal. Las dianas de monitorización farmacológica a las que nos referimos son la actividad de la tioguanina metiltransferasa en hematíes y la tiopurina metiltransferasa, también en hematíes. La actividad de esta última depende de su expresión génica, que tiene cuatro fenotipos distintos y que también puede ser monitorizada²⁻⁴.

En la tabla 1 se resumen los datos publicados recientemente en trasplante renal.

Como se puede comprobar, los estudios realizados midiendo la actividad de las dos enzimas son observacionales, están realizados con escaso número de pacientes y, aunque se ha descrito una cierta relación con la incidencia de rechazo agudo, los datos publicados son insuficientes, en algunos estudios, contradictorios y aportan escaso nivel de evidencia científica, por lo que no recomendamos la monitorización sistemática de la azatioprina en el trasplante renal. En otras enfermedades como la enfermedad de Crohn, leucemia etc., se ha utilizado la expresión de los genes que regulan la actividad de la tiopurina metiltransferasa para identificar la falta de adherencia, predecir mielotoxicidad y evaluar la resistencia terapéutica⁵.

Tabla 1. Dianas enzimáticas de monitorización terapéutica de la azatioprina

6-tioguanina nucleótido en hematíes²⁻⁴	Tiopurina metiltransferasa en hematíes^{2,5}
Tres estudios observacionales 507 pacientes	Dos estudios observacionales 104 pacientes
Se ha usado para monitorización de dosis altas	Depende de la expresión génica: cuatro fenotipos descritos
Menos incidencia de rechazo	Relación con rechazo variable según los estudios
Niveles no claramente establecidos, 100-200 p _{cmol} /l	Actividad media, 17,3 U (5,6-27,8)
	Se utiliza en enfermedad inflamatoria intestinal, leucemia, etc.

ANTICALCINEURÍNICOS

Ciclosporina en microemulsión

La ciclosporina es un fármaco lipofílico que se introdujo en el ámbito del trasplante renal en la década de los ochenta. Actúa como un profármaco que se activa al unirse a un receptor intracelular (la inmunofilina) e inhibe la actividad fosfatasa de la calcineurina. Tiene una biodisponibilidad variable y se metaboliza por el citocromo P450. Cuando se comenzó a utilizar en el campo del trasplante renal supuso un auténtico avance, puesto que se redujo de manera notable la tasa de rechazo agudo^{6,7}.

A mediados de los noventa se introdujo una modificación en la formulación de la ciclosporina que se presentó en forma de microgotas (ciclosporina neoral), lo que aumentó su biodisponibilidad y redujo la variabilidad farmacocinética y los inconvenientes derivados de su administración oral. Desde entonces, es la formulación de ciclosporina de uso convencional.

Con respecto a la monitorización farmacológica de la ciclosporina en microemulsión, los ensayos clínicos que incluyen estudios de farmacocinética (que se han realizado siempre en los 3 primeros meses postrasplante) concluyen lo siguiente:

- El AUC a las 12 horas es un buen predictor de rechazo agudo y de pérdida del injerto.
- La C_{max} se correlaciona bien con su efecto inmunosupresor.
- Las primeras 4 horas tras la toma del fármaco son las de mayor variabilidad intraindividual, por lo que la determinación del AUC a las 4 horas se correlaciona bien con el AUC a las 12 horas.
- La C₂ predice mejor que la C₀ el AUC a las 4 horas.

Como consecuencia de estos estudios, a finales de los noventa y a comienzos de la década del 2000, diversos grupos, como el comité de expertos de Vancouver, el grupo de consenso internacional y el grupo de expertos europeos, recomendaron la utilización de la C₂ para monitorizar clínicamente la ciclosporina neoral⁸⁻¹².

Sin embargo, la utilización de la C₂ solo está respaldada por la evidencia en ensayos clínicos en el postrasplante inmediato, a lo que se unen varios inconvenientes de índole práctica, puesto que los niveles bajos de C₂ no permiten discernir entre los pacientes que adsorben lentamente la ciclosporina, los que la adsorben poco o los que tienen baja dosificación del fármaco, por lo que si un paciente tiene niveles bajos, requiere una determinación adicional para conocer su situación y tomar una decisión terapéutica. Además, solo hay 15 minutos de margen para la extracción, que debe hacerse siempre entre los 105 y los 135 minutos después de la toma de la dosis por la mañana.

Estos inconvenientes, unidos a la falta de evidencia de monitorización de la C₂ en el trasplante tardío y a la aparición posterior de algunos estudios observacionales contradictorios, han llevado a su abandono progresivo. Más aún, los ensayos clínicos posteriores se han basado en la monitorización de la C₀, que es la que se usa actualmente¹³⁻¹⁵.

En la tabla 2 se muestran los niveles de C₂ y de C₀ empleados en distintos ensayos cuando se han usado asociadas a antimetabolitos. Además, en dicha tabla se incluyen las recomendaciones sobre los niveles de ciclosporina realizadas por el grupo Prometeo, que analizó la influencia de la inmunosupresión en la función renal y que han sido recientemente publicadas¹⁶. En cuanto a los niveles terapéuticos que se deben utilizar en asociación con antimetabolitos, es de gran importancia conocer los niveles empleados en el estudio Symphony durante el postrasplante inmediato y en el primer año postrasplante¹⁷.

En la tabla 3 se muestran los niveles en asociación con los inhibidores de la diana de la rapamicina en mamíferos (m-TOR por sus siglas en inglés, *mammalian target of rapamycin*), los im-TOR.

Como se puede observar en dicha tabla, los niveles de ciclosporina de inicio eran más elevados que los actuales. Esta tendencia es común desde el inicio de la ciclosporina y viene refrendada por el metaanálisis realizado por Sharif que compara el rechazo agudo y la supervivencia de pacientes e injerto en estrategias de minimización asociando anticalcineurínicos con micofenolato de mofetilo (MMF) e im-TOR o usándolos en asociación con esteroides, y

Tabla 2. Niveles de ciclosporina en ensayos clínicos de asociación con antimetabolitos y niveles propuestos por el grupo Prometeo

C2	Niveles diana (ng/ml)	Niveles alcanzados (ng/ml)
Estudio MOZART (Neoral/MMF-AZA)	M1: 1.800	M1: 1.700
	M2: 1.500	M2: 1.400
	M3: 1.300	M3: 1.400
	M4-7: 900-1.100	M6: 900
	M8-12: 700-900	M12: 800
Estudio CONZERTO (con basiliximab)*	M1: 1.700	M1: 1.600
	M2: 1.500	M2: 1.200
	M3-6: 800-1.000	M6: 900
C0		
Estudio internacional Cs neoral con basiliximab⁸	S1: 200-450	S1: 290
	S2-4: 200-400	M3: 240-260
	M2-12: 150-300	
Symphony sin inducción¹⁷	M0-3: 150-300	M1: 260
	M3-12: 100-200	M3: 200
		M12: 140
Symphony con inducción¹⁷	M1-12: 50-100	M1: 120
		M12: 100
Recomendación grupo Prometeo¹⁶ CsA + MF ± EST	M1: 150-250	
	M2-3: 150-200	
	M3-6: 150-200	
	M6-12: 100-150	
	> M12: 75-125	

AZA: azatioprina; Cs: ciclosporina A; EST: esteroides; M: mes; MF: micofenolato; MMF: micofenolato de mofetilo; S: semana.

*Modificado de la referencia bibliográfica 12.

concluye textualmente: «Las estrategias de reducción de anticalcineurínicos se asocian con menos función renal retrasada, mejoría en la función renal y menos diabetes *de novo*. Los estudios más recientes no muestran aumento de

Tabla 3. Niveles de ciclosporina (ng/ml) en asociación con los im-TOR en ensayos clínicos y niveles propuestos por el grupo Prometeo

C2		
Estudio RAD A2306	M1: 1.100	M1: 1.100
Everolimus sin inducción*	M2: 800	M2: 900
	M3: 600	M3: 700
	M4-6: 400	M4-M6: 600
Estudio RAD 2307	M1-2: 600	M1: 700
Everolimus con inducción*	M3-6: 400	M3: 600
		M6: 400
C0		
Miller, 2002**	M1: 200-250	
Cs/sirolimus	M3-12: 150-200	
Mühlbacher et al, 2014	M1-M3: 125-200	
Sirolimus: grupo de minimización⁵⁴	> M3: 75-100	
Recomendación grupo Prometeo¹⁶	M1: 150-200	
	M2-3: 100-200	
	M3-6: 100-150	
	M6-12: 75-125	
	> M12: 50-160	

M: mes.

*Modificado de la referencia bibliográfica 12.

**Modificado de la referencia bibliográfica 53.

la tasa de rechazo. En conclusión, este metaanálisis sugiere que reducir la exposición al anticalcineurínico inmediatamente después del trasplante puede mejorar los objetivos clínicos»¹⁸.

Tacrolimus y tacrolimus de liberación prolongada

El tacrolimus es un potente inhibidor de la calcineurina que tiene una amplia variabilidad intraindividual, que oscila entre el 10 y el 40% según los estudios, e interindividual, que se ha estimado entre el 20 y el 60%. Tiene una

biodisponibilidad del 25-40% y, al igual que la ciclosporina, se metaboliza por el citocromo P450 3A4. La exposición al fármaco aumenta con el tiempo postrasplante¹⁹⁻²¹.

Con muy pocas excepciones, está ampliamente aceptado en la literatura que la C₀ tiene buena correlación con el AUC, de forma que la determinación de los niveles valle se usa en la práctica clínica habitual. Aunque la C₀ tiene buena correlación con el AUC, algunos autores han encontrado que esta correlación se modifica y disminuye con el tiempo^{22,23}.

Al igual que con otros inmunosupresores, los niveles óptimos del fármaco dependen de la asociación inmunosupresora utilizada, del estado inmunológico del receptor y del tiempo pasado desde el trasplante. En la tabla 4 se muestran los niveles propuestos por la conferencia de consenso para el uso de tacrolimus y en la tabla 5 las recomendaciones del comité de expertos del grupo Prometeo al que se ha hecho referencia previamente^{16,17,24}.

Sin embargo, la utilidad de la monitorización del tacrolimus ha quedado recientemente cuestionada por los resultados publicados por Bohuamar et al, que han realizado un análisis de tres ensayos clínicos (el FDCC [*fixed dose vs. concentration controlled*], el Symphony y el Opticept) en los que se reúnen 1.304 pacientes con monitorización de los niveles de tacrolimus en distintos puntos. En este análisis *post hoc* se ha evaluado la capacidad para predecir el rechazo agudo de las concentraciones de tacrolimus en los días 3, 6 y 14, y en los meses 1 y 6, separando a los pacientes según los niveles de tacrolimus y analizando el porcentaje de rechazo agudo en cada uno de los grupos. En los pacientes de estos ensayos clínicos, no han encontrado mayor incidencia de rechazo en los que tenían niveles más

bajos; tampoco en el análisis multivariante los niveles de tacrolimus influyeron significativamente en la aparición de rechazo²⁵. Además, al igual que ocurre con la ciclosporina, la monitorización del fármaco a largo plazo tampoco ha sido evaluada en ensayos clínicos, por lo que el nivel de evidencia de las recomendaciones de monitorización a largo plazo es bajo.

Variabilidad terapéutica del tacrolimus y resultados a largo plazo

La monitorización de los niveles de tacrolimus a largo plazo viene condicionada por la clara relación existente entre la adherencia y la pérdida del injerto.

Se ha estimado que la variabilidad intraindividual en pacientes estables se encuentra entre el 15 y el 30%, y, en una revisión realizada por Shuker, se ha encontrado que puede estar condicionada por distintos factores, entre ellos la técnica de medición, el período de ayuno corto o nulo, la diarrea, las interacciones con otros fármacos, la adherencia y el uso de fármacos genéricos²⁶.

Un estudio realizado en el Hospital General de Toronto en 356 pacientes estables con más de un año de trasplante renal, seguidos entre los años 2000 y 2011, ha encontrado un incremento del 27% del riesgo de rechazo agudo, glomerulopatía o pérdida del injerto por cada aumento de la variabilidad superior a una desviación estándar²⁷. Otros estudios han hallado los mismos resultados²⁸.

Varios estudios han mostrado que la forma de liberación prolongada aumenta la adherencia al fármaco y disminuye

Tabla 4. Recomendaciones de niveles de tacrolimus (ng/ml) de la conferencia de consenso en el uso del tacrolimus*

	Sin inducción	Triple con anti-IL2	Con policlonales	Minimización de esteroides	Asociación con im-TOR
M0-3	10-15	3-7	5-10	10-15	3-7
M4-12	5-15	3-7	5-10	8-12	3-7
M > 12	5-10	3-7	5-10	5-10	3-7

IL-2: interleucina 2; im-TOR: inhibidores de la diana de la rapamicina en mamíferos; M: mes.

*Modificado de la referencia bibliográfica 24.

Tabla 5. Recomendaciones de niveles de tacrolimus (ng/ml) del grupo Prometeo*

	MMF + esteroides	Asociación con im-TOR
M0	8-12	7-10
M2-3	8-10	7-9
M4-6	7-10	6-8
M7-12	5-10	5-7
M > 12	5-8	4-6

im-TOR: inhibidores de la diana de la rapamicina en mamíferos; M: mes; MMF: micofenolato de mofetilo.

*Modificado de la referencia bibliográfica 16.

los costes derivados de la pérdida del injerto, y posiblemente también disminuya la variabilidad terapéutica del tacrolimus, como sugiere el amplio estudio de conversión realizado en España²⁹⁻³¹. Pero el efecto a largo plazo necesita ser demostrado.

Recomendaciones KDIGO (*kidney disease: improving global outcomes*) para la monitorización de los anticalcineurínicos³²

Se recomienda medir los niveles de anticalcineurínicos (nivel de evidencia 1B) y se sugiere medirlos al menos:

- Cada 2 días en el postrasplante inmediato hasta que se haya logrado el objetivo terapéutico (nivel de evidencia 2C).
- En cualquier momento en que haya un cambio en la medicación del paciente que pueda afectar a los niveles sanguíneos.
- En cualquier momento en que haya un deterioro de la función renal que pueda indicar nefrotoxicidad o rechazo.

Métodos de monitorización farmacológica:

- Ciclosporina: se sugiere monitorizar la ciclosporina mediante la C₂, la C₀ o el AUC abreviada (0-4 horas) (nivel de evidencia 2D).
- Tacrolimus: se sugiere monitorizar el tacrolimus usando niveles valle a las 12 horas (C₀) (nivel de evidencia 2C).

El grupo Prometeo asume estas recomendaciones, pero, además, propone monitorizar a largo plazo ambos fármacos, tal como se hace en la práctica clínica habitual.

Esta recomendación se basa en la amplia variabilidad intraindividual de ambos fármacos, en la relación de su adsorción con la comida, en su nefrotoxicidad, en sus frecuentes interacciones medicamentosas y en el creciente papel de la adherencia al tratamiento como causa de pérdida del injerto, por lo que creemos que la monitorización en fase estable debe ir dirigida a disminuir la variabilidad interindividual y a mejorar la adherencia, con el objetivo último de mejorar la supervivencia del injerto a largo plazo.

MICOFENOLATO DE MOFETILO Y ÁCIDO MICOFENÓLICO

El principio activo es el ácido micofenólico, pero los primeros ensayos clínicos se hicieron con micofenolato de mofetilo (MMF). Actúan inhibiendo selectivamente la proliferación de los linfocitos B y T, porque inhiben la acción de la inositol monofosfato deshidrogenasa (IMPDH), que es fundamental para la síntesis del nucleótido guanosina. Desde los primeros ensayos clínicos en trasplante renal se han empleado dosificándolos de manera fija, sin monitorización de los niveles en sangre. Aunque su biodisponibilidad es alta, en diversos estudios se ha encontrado que disminuye al aumentar la dosis, quizás en relación con la saturación del proceso de adsorción³³.

Los determinantes más importantes de su variabilidad son la función renal, los niveles de albúmina y el anticalcineurínico asociado, observándose un aumento del AUC del MMF que depende del tiempo cuando se asocia a tacrolimus, por lo que, pasados 3 meses desde el trasplante, la dosis plena del MMF/ácido micofenólico es inferior cuando se asocia a tacrolimus³⁴.

Para monitorizar la actividad del fármaco se ha analizado en diversos estudios el AUC, que se ha correlacionado con parámetros de eficacia y seguridad, con lo que se han establecido unos valores del AUC entre 30 y 60. También se han realizado estudios con monitorización de los niveles

valle, en los que se han relacionado los niveles con el rechazo agudo, así como con efectos hematológicos³⁴⁻³⁷.

Sin embargo, la utilidad de los niveles valle para monitorizar la eficacia del fármaco no ha sido corroborada en todos los estudios, por lo que se han publicado múltiples intentos de simplificación del AUC, en los que se ha encontrado que existe mejor correlación con el AUC cuando se utiliza la determinación con tres o cuatro puntos: 1-3-9 horas o 1-2-3-6 horas³⁷⁻³⁹.

La conferencia de consenso sobre monitorización de micofenolato que publicó sus conclusiones en 2010 estima que la monitorización con el AUC con un número de extracciones limitadas es mejor modo de determinación que los niveles valle, ya que se asocia con la eficacia en el postraplante inmediato, aunque no es suficientemente válida para predecir los efectos adversos⁴⁰.

Recientemente se han publicado los resultados de un metaanálisis de cuatro ensayos clínicos realizados entre 2007 y 2011 en los que se reúnen 1.755 pacientes en los que se ha comparado la utilización de MMF en dosis fijas con la utilización con monitorización terapéutica, en tres ensayos con el AUC y en uno con niveles valle.

Los resultados de este metaanálisis favorecen la utilización de MMF con dosis fijas, puesto que no se ha conseguido demostrar un aumento de la eficacia del fármaco cuando se ha monitorizado el AUC o los niveles y, en cambio, se ha observado un aumento significativo de la incidencia de procesos infecciosos en los grupos de monitorización⁴¹.

Dada la escasa relación de los niveles de MMF y de ácido micofenólico con la eficacia y la seguridad del fármaco, se ha intentado en diversos estudios medir la actividad de la IMPDH y correlacionarla con parámetros de eficacia y seguridad.

Hemos revisado los datos de tres estudios, realizados por Bremer, Molinaro y Raggi respectivamente, que analizan la actividad de esta enzima en pacientes trasplantados renales tratados con micofenólico. En estos estudios se concluye que existe una gran variabilidad intra e interindivi-

dual en la actividad de la IMPDH, que existe poca relación entre la actividad de la enzima y los niveles del fármaco, y que parece existir una relación negativa entre la actividad de la IMPDH pretrasplante y el riesgo de rechazo agudo. Todas estas conclusiones son preliminares y no permiten afirmar que la IMPDH sea útil en la monitorización de estos fármacos. También se ha analizado la expresión del ácido ribonucleico mensajero (mRNA por sus siglas en inglés, *messenger ribonucleic acid*) de la IMPDH con unos resultados similares, sin que se haya conseguido demostrar relación entre la expresión de m-RNA y la actividad de IMPDH⁴²⁻⁴⁴.

Como consecuencia de todos estos estudios, podemos concluir que, en la actualidad, no disponemos de una buena herramienta de monitorización del ácido micofenólico y, en consecuencia, no recomendamos la monitorización sistemática del fármaco. La utilidad de la monitorización de sus niveles podría quedar reducida a la valoración de la adherencia.

FÁRMACOS INHIBIDORES DE LA M-TOR: EL SIROLIMUS Y EL EVEROLIMUS

Se unen a la ciclofilina proteína de unión a FK506 (FK-BP por sus siglas en inglés, *FK506 binding protein*), que también es utilizada por el tacrolimus, y a través de esta unión inhiben la m-TOR. La inhibición de la m-TOR, entre otras muchas acciones, bloquea la acción de la interleucina 2 (IL-2) y detiene el ciclo de división celular en la fase G1 (*gap 1*). Ambos fármacos se metabolizan por el citocromo P450 3A4 y por la glicoproteína P, lo que condiciona en parte que aumente su exposición cuando se usan asociados a anticalcineurínicos. El aumento de exposición cuando se asocian a anticalcineurínicos es mayor con el sirolimus y la ciclosporina^{45,46}.

Tanto el everolimus como el sirolimus tienen el mismo mecanismo de acción. Sin embargo, existen algunas diferencias farmacocinéticas entre ambos fármacos que se describen en la tabla 6.

En la clínica, la monitorización de los im-TOR se hace usando la C₀, que ha mostrado buena correlación con el

Tabla 6. Diferencias farmacocinéticas entre el sirolimus y el everolimus

	Sirolimus	Everolimus
Vida media (h)	60	28-35
Variabilidad intraindividual (%)	64	27
Variabilidad intraindividual (%)	60	31

AUC, tanto con la rapamicina como con el everolimus. No obstante, los métodos de determinación de estos fármacos están en continua renovación y llama la atención la gran cantidad de artículos aparecidos en la literatura evaluando diversos métodos de determinación de niveles en sangre, algunos de ellos comunes a la rapamicina y el everolimus⁴⁷⁻⁵⁰. Este año se han publicado los primeros resultados de la monitorización farmacodinámica de los im-TOR midiendo a través de la citometría la actividad quinasa de la p70S6K. Esta determinación se encuentra aún en fase experimental y desconocemos si se incorporará a la práctica clínica rutinaria⁵¹.

ASOCIACIÓN CON ANTICALCINEURÍNICOS

La asociación de la ciclosporina y el sirolimus aumenta notablemente el AUC de ambos fármacos, lo que obliga a administrar el sirolimus de forma retardada con respecto a la administración de la ciclosporina (4 horas).

La asociación del sirolimus con el tacrolimus también provoca un aumento de la exposición de ambos fármacos, de forma que el aumento de dosis del sirolimus ocasiona un aumento de exposición al tacrolimus y viceversa: el aumento de dosis del tacrolimus aumenta la exposición al sirolimus. En cualquier caso, la interacción que tiene el sirolimus con el tacrolimus es inferior a la que tiene con la ciclosporina.

En cuanto a la asociación del everolimus con el tacrolimus, no hay acuerdo en todos los estudios. En unos, el everolimus parece hacer descender mínimamente la exposición al tacrolimus de forma dependiente de la dosis, precisándose dosis mayores de tacrolimus al aumentar la dosis de everolimus. De modo inverso, la reducción de la

dosis de tacrolimus reduce en un 14% la exposición al everolimus. En otros estudios no se ha encontrado ninguna interacción relevante⁴⁷.

Cuando el everolimus se asocia a la ciclosporina, tiene 2,5 veces más exposición que cuando se asocia al tacrolimus, por lo que la dosis estándar de everolimus asociado al tacrolimus es mayor que cuando se asocia a la ciclosporina⁴⁷.

Los primeros ensayos clínicos con sirolimus se llevaron a cabo en comparación con la ciclosporina y la dosificación se estableció sobre la base de unos niveles terapéuticos de 30 ng/ml en el postrasplante inmediato, seguidos de 15 ng/ml en dosis de mantenimiento⁵². En la actualidad sabemos que estos niveles son muy elevados y que se acompañan de una tasa importante de efectos adversos. En ensayos posteriores se han utilizado dos estrategias: la estrategia de asociar con dosis plena de anticalcineurínico y la de la minimización del anticalcineurínico^{53,54}. El metaanálisis previamente comentado realizado por Sharif concluye que las estrategias de minimización del anticalcineurínico favorecen la supervivencia del paciente y del injerto. Los niveles de rapamicina en estos estudios son notablemente inferiores y oscilan entre 3 y 12 ng/ml. En la tabla 7 se muestran los niveles de distintos ensayos clínicos y los propuestos por el grupo Prometeo.

Con el everolimus, las estrategias de desarrollo del fármaco han sido con minimización de la ciclosporina, con la que se han establecido unos niveles terapéuticos de everolimus entre 3 y 8 ng/ml. En asociación con el tacrolimus, los estudios US09 y ASSET han comparado dos estrategias de minimización del tacrolimus con buenos resultados. Hay en marcha un ensayo clínico con gran número de pacientes que creemos que ayudará a establecer de forma definitiva la dosificación y los niveles de everolimus en asociación con el tacrolimus⁵⁵⁻⁵⁷.

La mayoría de los ensayos clínicos realizados con estos fármacos se han llevado a cabo con pacientes de riesgo inmunológico bajo, por lo que las recomendaciones de los niveles que se muestran en la tabla solo son aplicables a este grupo de enfermos.

Tabla 7. Niveles de im-TOR (ng/ml) propuestos en ensayos clínicos y por el grupo Prometeo

	Sirolimus	Everolimus⁵⁵⁻⁵⁷
Asociado a anticalcineurínico*		3-8
Miller	Inicio: 8-10 Mantenimiento: 6-8	
Gonwa	Inicio: 4-12 Mantenimiento: 4-12	
Grupo Prometeo¹⁶	M1: 3-6 M2-3: 3-6 M4-6: 3-6 M7-12: 5-7 > M12: 5-8	
Asociado a MMF*		
Durrbach	Inicio: 10-12	
Lebranchu	Inicio: 10-15	
Pescovitz	Inicio: 10-25	
Glantz	Inicio: 12-20	
Grupo Prometeo¹⁶	M1: 8-12 M2-3: 8-10 M4-6: 7-10 M7-12: 5-10 > M12: 5-8	8-10 6-8 6-8 5-7 3-6

MMF: micofenolato de mofetilo.

*Modificado de la referencia bibliográfica 53.

Las KDIGO recomiendan monitorizar los im-TOR con un nivel de evidencia 2C. Desde el grupo Prometeo asumimos estas recomendaciones.

CONSIDERACIONES ESPECIALES DE APLICACIÓN A TODOS LOS INMUNOSUPRESORES

Creemos que, para valorar correctamente los niveles de un fármaco, el clínico debe estar habituado y conocer el ma-

nejo de las muestras y el método de determinación de su laboratorio y sus controles de calidad, puesto que un porcentaje desconocido de la variabilidad al fármaco podría estar en relación con los métodos de laboratorio.

Asimismo, es importante conocer el tiempo exacto de la determinación valle que estamos evaluando interrogando al paciente sobre la hora de la última toma.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sociedad Española de Nefrología [portal en Internet]. Santander: Senefro; ©2015. Registro de enfermos renales. Disponible en: www.senefro.org
2. Bergan S, Rugstad HE, Bentsdal O, Stokke O. Monitoring of azathioprine treatment by determination of 6-thioguanine nucleotide concentrations in erythrocytes. *Transplantation*. 1994;58:803-8.
3. Bergan S, Rugstad HE, Klemensdal B, Giverhaug T, Bentsdal O, Sødal G, et al. Possibilities for therapeutic drug monitoring of azathioprine: 6-thioguanine nucleotide concentrations and thiopurine methyltransferase activity in red blood cells. *Ther Drug Monit*. 1997;19:318-26.
4. Bergan S, Rugstad HE, Bentsdal O, Sødal G, Hartmann A, Leivestad T, et al. Monitored high-dose azathioprine treatment reduces acute rejection episodes after renal transplantation. *Transplantation*. 1998;66:334-9.
5. Chouchana L, Narjoz C, Roche D, Golmard JL, Pineau B, Chatellier G, et al. Interindividual variability in TPMT enzyme activity: 10 years of experience with thiopurine pharmacogenetics and therapeutic drug monitoring. *Pharmacogenomics*. 2014;15:745-57.
6. Trevillan P. Therapeutic drug monitoring. *Nephrology*. 2007;12:S56-S65.
7. Citterio PF. Evolution of the Therapeutic Drug Monitoring of Cyclosporine Transplantation Proc. 2004;36(2 Supl):420S-425S.
8. International Neoral Renal Transplantation Group. Randomized, international study of cyclosporine microemulsion absorption

- profiling in renal transplantation with basiliximab immunoprophylaxis. *Am J Transplant.* 2002;2:157-66.
9. Canadian Neoral Renal Transplantation Study Group. Absorption profiling of cyclosporine microemulsion (neoral) during the first 2 weeks after renal Transplantation. *Transplantation.* 2001;72:1024-32.
 10. Keown P, Kahan BD, Johnston A, Levy G, Dunn SP, Cittero F, et al. Optimization of Cyclosporine Therapy With New Therapeutic Drug Monitoring Strategies: Report From the International Neoral TDM Advisory Consensus Meeting (Vancouver, November 1997). *Transplantation Proc.* 1998;30:1645-9.
 11. Levy G. Patient management by Neoral C2 monitoring: an international consensus statement. *Transplantation.* 2002;73: S12-S18.
 12. Nashan B. Use of Neoral C2 monitoring: a European consensus. *Transplant International.* 2005;18:768-78.
 13. M. Billaud. C2 versus C0 Cyclosporine Monitoring: Still Not the End. *Tranplantation.* 2005;80:542.
 14. Birsan T. C2 versus C0 Cyclosporine Monitoring: The End for Us. *Tranplantation.* 2005;80:544.
 15. Kokuhi T, Fukushima K, Ushigome H, Yoshimura N, Sugioka N. Dose adjustment strategy of cyclosporine A in renal transplant patients: evaluation of anthropometric parameters for dose adjustment and C0 vs. C2 monitoring in Japan, 2001-2010. *Int J Med Sci.* 2013;10:1665-73.
 16. Crespo JF, Amenábar JJ, Ariceta G, Bernis C, Calvo N, Cañas L, et al. Inmunosupresión y función renal a largo plazo. ¿Hay evidencias? *Nefrología.* 2015;6:74-83.
 17. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gurkan A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med.* 2007;357:2562-75.
 18. Sharif A, Shabir S, Chand S, Cockwell P, Ball S, Borrows R. Meta-Analysis of Calcineurin-Inhibitor-Sparing Regimens in Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22:2107-18.
 19. Balbontin FG, Kiberd B, Squires J, Singh D, Fraser A, Belitsky P, et al. Tacrolimus Monitoring by Simplified Sparse Sampling Under the Concentration Time Curve. *Transplantation Proc.* 2003;35: 2445-8.
 20. Saint-Marcoux F, Woillard JB, Jurado C, Marquet P. Lessons from routine dose adjustment of tacrolimus in renal transplant patients based on global exposure. *Ther Drug Monit.* 2013;35:322-7.
 21. Ben Fredj N, Chaabane A, Chadly Z, Hammouda M, Aloui S, Boughattas NA, et al. Tacrolimus therapeutic drug monitoring in Tunisian renal transplant recipients: Effect of post-transplantation period. *Transplant Immunol.* 2003;28:198-202.
 22. Andreu F, Colom H, Grinyó JM, Torras J, Cruzado JM, Lloberas N. Development of a population PK model of tacrolimus for adaptive dosage control in stable kidney transplant patients. *Ther Drug Monit.* 2015;37:246-55.
 23. Aouam K, Chadli Z, Hammouda M, Fredj NB, Aloui S, May ME, et al. Development of limited sampling strategies for the estimation of tacrolimus area under the curve in adult kidney transplant recipients according to the posttransplantation time. *Ther Drug Monit.* 2015;37:524-30.
 24. Wallemacq P, Armstrong VW, Brunet M, Haufroid V, Holt DW, Johnston A, et al. Opportunities to Optimize Tacrolimus Therapy in Solid Organ Transplantation: Report of the European Consensus Conference. *Ther Drug Monit.* 2009;31:139-152.
 25. Bouamar R, Shuker N, Hesselink DA, Weimar W, Ekberg H, Kaplan B, et al. Tacrolimus predose concentrations do not predict the risk of acute rejection after renal transplantation: a pooled analysis from three randomized-controlled clinical trials. *Am J Transplant.* 2013;13:1253-61.
 26. Shuker N, van Gelder T, Hesselink DA. Intra-patient variability in tacrolimus exposure: Causes, consequences for clinical management. *Transplant Rev (Orlando)* 2015;29:78-84.
 27. Sapir-Pichhadze R, Wang Y, Famure O, Li Y, Kim SJ. Time-dependent variability in tacrolimus trough blood levels is a risk factor for late kidney transplant failure. *Kidney Int.* 2014;85: 1404-11.
 28. O'Regan JA, Canney M, Connaughton DM, O'Kelly P, Williams Y, Collier G, et al. Tacrolimus trough-level variability predicts long-term allograft survival following kidney transplantation. *J Nephrol.* 2016;29:269-76.
 29. Kuypers DR, Peeters PC, Sennesael JJ, Kianda MN, Vrijens B, Kristanto P, et al. Improved adherence to tacrolimus once-daily formulation in renal recipients: a randomized controlled trial using electronic monitoring. *Transplantation.* 2013;95:333-40.
 30. Muduma G, Odeyemi I, Smith-Palmer J, Pollock RF. Budget impact of switching from an immediate-release to a prolonged-release formulation of tacrolimus in renal transplant recipients in the UK based on differences in adherence. *Patient Prefer Adherence.* 2014;8:391-9.
 31. Guirado L, Cantarell C, Huertas EG, Fructuoso AS, Fernández A, Gentil MA, et al. Efficacy and safety of conversion from twice – daily to once-daily tacrolimus in a large cohort of stable kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2011;11:1965-71.
 32. Chapman JR. The KDIGO clinical practice guidelines for the care of kidney transplant recipients. *Transplantation.* 2010;89: 644-5.

33. Staatz CE, Tett SE. Pharmacology and toxicology of mycophenolate in organ transplant recipients. An update. *Arch Toxicol*. 2014;88:1351-89.
34. Van Gelder T. Mycophenolate blood level monitoring: Recent Progress. *Am J Transplant*. 2009;9:1495-9.
35. Kuypers DR, de Jonge H, Naesens M, de Looor H, Halewijnck E, Dekens M, et al. Current target ranges of mycophenolic acid exposure and drug-related adverse events: a 5-year, open-label, prospective, clinical follow-up study in renal allograft recipients. *Clin Ther*. 2008;30:673-83.
36. Brunet M, Martorell J, Oppenheimer F, Vilardell J, Millán O, Carrillo M, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolic acid in stable renal transplant recipients treated with low doses of mycophenolate mofetil. *Transpl Int*. 2000;13 Supl 1:S301-5.
37. Van Gelder T, Hilbrands LB, Vanrenterghem Y, Weimar W, de Fijter JW, Squifflet JP, et al. A randomized double-blind, multicenter plasma concentration controlled study of the safety and efficacy of oral mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection after kidney transplantation. *Transplantation*. 1999;68:261-6.
38. Lampón N, Tutor-Crespo MJ, Romero R, Tutor JC. Diagnostic efficiency of truncated area under the curve from 0 to 2 h (AUC₀₋₂) of mycophenolic acid in kidney transplant recipients receiving mycophenolate mofetil and concomitant tacrolimus. *Clin Chem Lab Med*. 2011;49:1167-70.
39. Pawinski T, Luszczynska P, Durlik M, Majchrzak J, Baczkowska T, Chrzanowska M, et al. Development and Validation of Limited Sampling Strategies for the Estimation of Mycophenolic Acid Area Under the Curve in Adult Kidney and Liver Transplant Recipients Receiving Concomitant Enteric-Coated Mycophenolate Sodium and Tacrolimus. *Ther Drug Monit*. 2013;35:760-9.
40. Kuypers DR, le Meur Y, Cantarovich M, Tredger MJ, Tett SE, Cattaneo D, et al. Consensus Report on Therapeutic Drug Monitoring of Mycophenolic Acid in Solid Organ Transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5:341-58.
41. Wang X, Qin X, Wang Y, Huang Z, Li X, Zeng Q, et al. Controlled-dose versus fixed-dose mycophenolate mofetil for kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Transplantation*. 2013;96:361-7.
42. Bremer S, Mandla R, Vethe NT, Rasmussen I, Rootwelt H, Line P, et al. Expression of IMPDH1 and IMPDH2 After Transplantation and Initiation of Immunosuppression. *Transplantation*. 2008;85:55-61.
43. Molinaro M, Chiarelli LR, Biancone L, Castagneto M, Boschiero L, Pisani F, et al. Monitoring of inosine monophosphate dehydrogenase activity and expression during the early period of mycophenolate mofetil therapy in de novo renal transplant patients. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2013;28:109-17.
44. Raggi MC, Siebert SB, Steimer W, Schuster T, Stangl MJ, Abendroth DK. Customized Mycophenolate Dosing Based on Measuring Inosine-Monophosphate Dehydrogenase Activity Significantly Improves Patients' Outcomes After Renal Transplantation. *Transplantation*. 2010;90:1536-41.
45. Zhou H, Luo Y, Huang S. Updates of mTOR inhibitors. *Anticancer Agents Med Chem*. 2010;10:571-81.
46. Kalluri HV, Hardinger KL. Current state of renal transplant immunosuppression: Present and future. *World J Transplant*. 2012;2:51-6.
47. Shihab F, Christians U, Smith L, Wellen JR, Kaplan B. Focus on mTOR inhibitors and tacrolimus in renal transplantation: Pharmacokinetics exposure-response relationships and clinical outcomes. *Transpl Immunol*. 2014;31:22-32.
48. Moes DJ, Press RR, de Fijter JW, Guchelaar HJ, den Hartigh J. Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Outperforms Fluorescence Polarization Immunoassay, in Monitoring Everolimus Therapy in Renal Transplantation. *Ther Drug Monit*. 2010;32:413-9.
49. Bouzas L1, Tutor JC. Determination of blood everolimus concentrations in kidney and liver transplant recipients using the sirolimus antibody conjugated magnetic immunoassay (ACMIA). *Clin Lab*. 2011;57:403-6.
50. Dasgupta A, Davis B, Chow L. Evaluation of QMS Everolimus Assay Using Hitachi 917 Analyzer: Comparison With Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. *Ther Drug Monit*. 2011;33:149-54.
51. Kahan BD. Efficacy of sirolimus compared with azathioprine for reduction of acute renal allograft rejection: a randomised multicentre study. The Rapamune US Study Group. *Lancet* 2000;356:194-202.
52. Hoerning A, Wilde B, Wang J. Pharmacodynamic Monitoring of Mammalian Target of Rapamycin Inhibition by Phosphoflow Cytometric Determination of p70S6 Kinase Activity. *Transplantation*. 2015;99:210-9.
53. Webster AC, Lee VW, Chapman JR, Craig JC. Target of Rapamycin Inhibitors (Sirolimus and Everolimus) for Primary Immunosuppression of Kidney Transplant Recipients: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Trials Transplantation. *Transplantation*. 2006;81:1234-48.

54. Mühlbacher F, Neumayer HH, del Castillo D, Stefoni S, Zygmunt AJ, Budde K. European Rapamune Cyclosporine Minimization Study Group. The efficacy and safety of cyclosporine reduction in de novo renal allograft patients receiving sirolimus and corticosteroids: results from an open-label comparative study. *Transpl Int.* 2014;27:176-86.
55. Chan L, Hartmann E, Cibrik D, Cooper M, Shaw LM. Optimal everolimus concentration is associated with risk reduction for acute rejection in de novo renal transplant recipients. *Transplantation.* 2010;90:31-7.
56. Lorber MI. Therapeutic drug monitoring for everolimus in kidney transplantation using 12-month exposure, efficacy, and safety data. *Clin Transplant.* 2005;19:145-52.
57. Cibrik D, Silva HT Jr, Vathsala A, Lackova E, Cornu-Artis C, Walker RG, et al. Randomized trial of everolimus-facilitated calcineurin inhibitor minimization over 24 months in renal transplantation. *Transplantation.* 2013;95:933-42.

Monitorización histológica

Francesc Moreso¹, Juan J. Amenábar², Carmen Bernis³, Natividad Calvo⁴, Laura Cañas⁵, José F. Crespo⁶, Patricia Delgado⁷, Roberto Gallego⁸, Manuel A. Rodríguez⁹, Emilio Rodrigo¹⁰, M.^a Luisa Suárez¹¹, Ramón Vilalta¹²

¹ Servicio de Nefrología, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona

² Servicio de Nefrología, Hospital de Cruces, Bilbao

³ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de la Princesa, Madrid

⁴ Servicio de Nefrología, Hospital Clínico San Carlos, Madrid

⁵ Servicio de Nefrología, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona

⁶ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Doctor Peset, Valencia

⁷ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de Canarias, Santa Cruz de Tenerife

⁸ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas de Gran Canaria

⁹ Servicio de Nefrología, Hospital Torrecárdenas, Almería

¹⁰ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander

¹¹ Servicio de Nefrología, Hospital Central de Asturias, Oviedo

¹² Servicio de Nefrología Pediátrica, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona

Nefrología Sup Ext 2016;7(2):63-76

INTRODUCCIÓN

La biopsia renal es una herramienta imprescindible en la monitorización del injerto tras el trasplante renal, ya que nos permite diagnosticar y establecer un tratamiento y un pronóstico ante los episodios de disfunción del injerto. Durante los últimos 25 años se ha llevado a cabo un extenso trabajo con el objetivo de estandarizar la evaluación histológica de las alteraciones del injerto renal. Desde la primera reunión del grupo de Banff, celebrada en 1991¹, se han mantenido reuniones con periodicidad bianual y tras cada reunión se ha realizado una publicación en las revistas de la especialidad donde se ha revisado de forma constante la clasificación con el objetivo de poder incorporar rápidamente las novedades derivadas de los trabajos de distintos grupos de investigación. En el documento que recogió las conclusiones de la reunión de 1997², se describe la representación de glomérulos y de arterias que debe contener la muestra (un mínimo de 10 glomérulos y dos arterias para muestras adecuadas y un mínimo de siete

glomérulos y una arteria para muestras marginales), así como el método de procesamiento de la misma (tres laminillas con hematoxilina y eosina [H&E], tres laminillas con ácido peryódico de Schiff [PAS] o plata y una laminilla con tricómico). Posteriormente, en la reunión de 2001, se incorporó la tinción específica para el componente C4d del complemento en tejido congelado o parafinado³ y, en la actualidad, la última revisión de la clasificación que se halla disponible es la realizada en la reunión de 2013⁴. La evaluación de las lesiones crónicas (fibrosis intersticial, atrofia tubular, hialinosis arteriolar, engrosamiento intimal arterial) es una tarea compleja, ya que estas lesiones también se asocian al envejecimiento, a la hipertensión arterial o a la diabetes. Dado que actualmente se están utilizando injertos renales procedentes de donantes añosos (hasta 80-90 años) y con comorbilidades (hipertensión arterial, diabetes mellitus), se recomienda disponer de una biopsia preimplante para poder realizar una valoración adecuada de la progresión de las mismas.

Desde finales de la década de los ochenta del siglo pasado, distintos grupos de investigación se han dedicado a estudiar la presencia de lesiones agudas y crónicas en los injertos renales con función estable mediante la realización de biopsias, con el objetivo de caracterizar la presencia de

Correspondencia: Francesc Moreso

Servicio de Nefrología.

Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona.

fjmoreso@vhebron.net

lesiones subclínicas (a estas biopsias se las ha llamado biopsias «de protocolo» o «de seguimiento»). El objetivo de la presente revisión es analizar las evidencias disponibles en la actualidad que apoyan esta monitorización histológica del injerto renal, es decir, la realización de biopsias renales en injertos con función estable.

MATERIAL Y MÉTODOS

La selección de artículos que se van a revisar ha sido realizada por uno de los autores (F. M.) con el objetivo de intentar dar respuesta a las siguientes preguntas:

1. ¿Es necesario realizar una biopsia renal preimplante? ¿Se debe utilizar la biopsia preimplante para decidir si el riñón es apto para trasplante, especialmente en los donantes con criterios expandidos? ¿Cuándo realizar trasplante renal dual?
2. ¿Es necesaria la monitorización histológica mediante biopsias de protocolo en todos los trasplantes? ¿O solo es necesaria la monitorización histológica en los trasplantes de alto riesgo inmunológico? ¿O nunca es necesaria?
3. ¿Debe tratarse el rechazo (celular o humoral) subclínico?
4. ¿Es necesaria la monitorización histológica para asegurar que los episodios de rechazo agudo (celular o humoral) han sido adecuadamente revertidos?
5. ¿Deben realizarse biopsias de protocolo antes o después de realizar cambios en la inmunosupresión?
6. ¿Es útil la monitorización histológica para el manejo de la recidiva de la enfermedad renal primaria?
7. ¿Es útil la monitorización histológica para el manejo de la nefropatía por el virus del poliovirus BK?
8. ¿Son útiles los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) o los antagonistas de los receptores de la angiotensina II (ARAI) para frenar la progresión de la fibrosis?

BIOPSIA RENAL PREIMPLANTE

Durante las últimas décadas se ha producido un progresivo aumento de la edad y de la comorbilidad de los do-

nanos para trasplante renal. Según datos de la Organización Nacional de Trasplantes (ONT)⁵, en el año 2014 más del 50% de los donantes cadáver tenían una edad superior a los 60 años y más de un 25% tenían una edad superior a los 70 años. La causa de muerte más frecuente fue el accidente cerebrovascular (63%) y, además, la presencia de hipertensión arterial (50,4%), diabetes mellitus (21,7%) o disfunción renal en el momento de la donación (creatinina sérica > 1,5 mg/dl; 8%) fue muy elevada. Estas características de los donantes se asocian a una elevada tasa de no utilización de los órganos obtenidos, de tal manera que de los 2.986 órganos renales extraídos, 722 (24,8%) fueron rechazados para trasplante. Es destacable que 512 riñones fueron rechazados por las características de los injertos y que en 250 casos lo fueron por obtener un índice histológico elevado que desaconsejaba el trasplante. Incluso en los donantes vivos renales, la edad media es de 51 años y se han aceptado órganos procedentes de donantes de hasta 79 años. Estos riñones procedentes de donantes con criterios expandidos ofrecen peores resultados a medio y largo plazo, debido a la presencia de lesiones preexistentes a las que, en general, nos referimos como «senescencia renal». La senescencia renal se caracteriza por un mayor número de glomérulos esclerosados, glomerulopenia con hipertrofia compensadora de los glomérulos remanentes, expansión del intersticio renal y hialinosis arteriolar. Estos cambios morfológicos se acompañan de una menor función renal e hiperfiltración de los glomérulos patentes. En un estudio reciente⁶, se demuestra que los órganos obtenidos de donantes añosos (edad media de 59 años, un 64% de ellos con antecedentes de hipertensión arterial), presentan, en comparación con un grupo de donantes estándar (46 años de edad media, un 10% con antecedentes de hipertensión arterial), más glomérulos esclerosados (16,8% frente a 1,6%), un menor número de glomérulos patentes (3×10^5 frente a $8,5 \times 10^5$), un mayor volumen glomerular medio ($3,4 \times 10^6 \text{ m}^3$ frente a $2,7 \times 10^6 \text{ m}^3$), un mayor coeficiente de ultrafiltración por glomérulo (11,2 frente a 8,3 ml/[min \times mmHg]) y una mayor expansión del intersticio renal (18 frente a 12%). Con este tipo de donantes, los receptores alcanzan un filtrado glomerular renal un 30% inferior (48 frente a 69 ml/min/1,73 m²) y, en una parte de ellos (> 50%), el filtrado glomerular fue inferior a 40 ml/min/1,73 m². Todos estos datos sugieren que los órganos

precedentes de donantes añosos presentan procesos de adaptación como los del riñón remanente, lo cual podría explicar su peor supervivencia a medio plazo.

Dadas las limitaciones de los resultados alcanzados con los injertos obtenidos de donantes expandidos, se han desarrollado diversos índices para evaluar la viabilidad del injerto. Algunos de ellos solo contienen datos clínicos (edad, hipertensión arterial, causa de la muerte, creatinina sérica, preextracción); otros, solo datos histológicos y algunos han combinado datos de ambas fuentes. Se ha demostrado que una valoración conjunta en el donante de los datos clínicos (hipertensión arterial, creatinina sérica > 150 $\mu\text{mol/l}$, muerte por ictus) e histológicos (glomerulosclerosis global > 10%, fibrosis intersticial > 5%) supone una buena predicción (área bajo la curva = 0,81-0,84) de presentar función renal subóptima al año del trasplante (filtrado glomerular [FG] estimado < 25 ml/min/1,73 m²) o de fracaso del injerto a 5 años^{7,8}. Sin embargo, ninguno de ellos ha sido validado para decidir qué órganos no son adecuados para trasplante.

Por otra parte, los índices complejos (*Maryland aggregate pathology index*), que valoran lesiones en los diversos compartimentos renales (glomérulos, túbulo-intersticio, arteriolas y arterias) se relacionan con la supervivencia del injerto renal, pero son difíciles de realizar por patólogos no entrenados⁹. En nuestro ámbito, se ha publicado un documento de consenso para la evaluación de la biopsia del donante¹⁰. En dicho documento se enfatiza la importancia de disponer de una muestra representativa (> 50 glomérulos entre ambos riñones) y de realizar una valoración conjunta de ambos órganos. Además, se propone un índice que valora la esclerosis glomerular (0 = 0%; 1 = 1-10%; 2 = 11-20%; 3 > 20%) y las lesiones de fibrosis intersticial, atrofia tubular, hialinosis arteriolar y engrosamiento intimal arterial según los criterios de Banff. Esta evaluación permite generar un índice entre 0 y 15, y, según el documento de consenso, se recomienda descartar los riñones con un índice > 7. Recientemente, se ha documentado que este índice adolece de una baja reproducibilidad entre observadores (índice kappa = 0,41) cuando la evaluación de las biopsias se realiza por patólogos no experimentados en patología del trasplante renal¹¹.

Finalmente, con el objetivo de mejorar los resultados a largo plazo de los riñones obtenidos de donantes con criterios expandidos, algunos grupos han propuesto la realización de un trasplante renal dual (ambos riñones implantados en el mismo receptor) en función de los hallazgos histológicos en la biopsia del donante. El estudio realizado por un grupo italiano demostró que la valoración histológica de los órganos obtenidos de donantes con criterios expandidos permite clasificar los riñones como aptos para trasplante renal simple, dual o no implantarlos, asegurando unos resultados a medio plazo no distintos a los de los órganos procedentes de donantes estándar¹². Sin embargo, los umbrales para realizar el trasplante renal simple o dual y para descartar los órganos no han sido suficientemente validados¹³. De todas maneras, en la actualidad, la práctica de este tipo de trasplante en nuestro país es excepcional (cinco casos en 2014), ya que estos órganos se utilizan para trasplante renal simple o son descartados.

BIOPSIAS DE PROTOCOLO Y RIESGO INMUNOLÓGICO

Para monitorizar desde el punto de vista histológico el injerto renal, algunos grupos incluyen en el seguimiento de los pacientes la realización de biopsias renales de protocolo con el objetivo de diagnosticar la presencia de rechazo agudo subclínico (celular o humoral) y valorar la progresión de las lesiones crónicas (glomerulosclerosis, fibrosis intersticial/atrofia tubular, hialinosis arteriolar, vasculopatía del injerto). Además, estas biopsias se han utilizado en diversos ensayos clínicos como variables de eficacia primaria o secundaria con el objetivo de evaluar los cambios morfológicos en trasplantes renales bajo distintas pautas de inmunosupresión¹⁴⁻¹⁶. Cabe destacar que la realización de biopsias de protocolo se ha revelado como un procedimiento seguro cuando se realiza en centros experimentados y que, además, se puede realizar de forma ambulatoria^{15,17,18}.

Desde principios de la década de los noventa, se describió la presencia de lesiones de rechazo agudo celular en las biopsias de protocolo realizadas en injertos con función estable. A esta alteración se la denominó «rechazo agudo

subclínico». Las características inmunológicas del receptor, tales como el grado de sensibilización, el trasplante, el número de incompatibilidades en los antígenos leucocitarios humanos (HLA por sus siglas en inglés, *human leukocyte antigen*) o la presencia de episodios previos de rechazo agudo, así como el tratamiento inmunosupresor, se asocian con la presencia de rechazo agudo subclínico. Estas alteraciones son más frecuentes durante los primeros meses postrasplante y su prevalencia disminuye de forma progresiva a partir del sexto mes. En cambio, la presencia de lesiones crónicas aumenta rápidamente durante el primer año para hacerlo más lentamente a partir de entonces¹⁹. Durante los últimos años, la llegada de nuevas técnicas para determinar la presencia de anticuerpos anti-HLA (Luminex) ha permitido describir patrones morfológicos distintos en pacientes sin anticuerpos anti-HLA donante específicos (bajo riesgo inmunológico) y en pacientes con anticuerpos anti-HLA donante específicos (alto riesgo inmunológico). Los pacientes con anticuerpos anti-HLA no donante específicos parecen comportarse, desde el punto de vista de los hallazgos histológicos, de forma parecida a los pacientes sin anticuerpos anti-HLA, aunque, en estos, el riesgo de desarrollar anticuerpos anti-HLA donante específicos parece ser mayor.

Biopsias de protocolo en pacientes de bajo riesgo inmunológico

En los pacientes de bajo riesgo inmunológico, se ha descrito la presencia de rechazo agudo subclínico celular en proporciones variables, así como la progresión de las lesiones crónicas. El impacto que tienen estas lesiones sobre la evolución del injerto también ha sido motivo de distintos trabajos de investigación. A continuación revisaremos las evidencias en cada uno de estos aspectos de forma aislada.

Rechazo subclínico. En los pacientes sin anticuerpos anti-HLA donante específicos en el momento de la biopsia, la lesión aguda predominante es la del rechazo celular mediado por células T. Desde el punto de vista morfológico, se caracteriza por la presencia de inflamación intersticial (i) asociada a distintos grados de tubulitis (t). En 2/3 de los casos, se alcanza el diagnóstico de cambios *borderline* (\geq

i1t1, pero $<$ i2t2), mientras que en 1/3 de los casos se alcanza el diagnóstico de rechazo agudo celular (\geq i2t2). En cambio, la presencia de rechazo agudo subclínico con endotelialitis ($v \geq 1$) es excepcional¹⁶.

La frecuencia y la gravedad de estas lesiones se correlacionan de forma estrecha con el tratamiento inmunosupresor de mantenimiento. Durante las últimas décadas, con la llegada de pautas de inmunosupresión más potentes, la prevalencia de esta lesión ha disminuido de forma progresiva. Cuando se realizaba tratamiento de mantenimiento con ciclosporina y azatioprina, estas alteraciones estaban presentes en más del 50% de los injertos durante los primeros meses postrasplante. Posteriormente, con las pautas basadas en ciclosporina A en microemulsión asociada con micofenolato de mofetilo (MMF), se redujo al 30% y, finalmente, las pautas de tratamiento actuales basadas en la combinación de tacrolimus con MMF o inhibidores de la diana de la rapamicina en mamíferos (m-TOR por sus siglas en inglés, *mammalian target of rapamycin*), los im-TOR, presentan tasas de rechazo agudo subclínico, durante el primer año, inferiores al 15% (revisión en las referencias 14 y 16).

La información disponible con pautas de tratamiento libres de anticalcineurínicos es menor. En un grupo de pacientes que recibieron tratamiento de mantenimiento con MMF y corticoides, la prevalencia fue superior al 50%²⁰. Los estudios realizados con im-TOR sin anticalcineurínicos han arrojado resultados contradictorios, probablemente en relación con la reducción progresiva de los niveles diana. En un estudio prospectivo y aleatorizado, que comparaba una pauta basada en tacrolimus, MMF y corticoides ($n = 84$) con una pauta basada en sirolimus, MMF y corticoides ($n = 81$), la prevalencia de episodios de rechazo agudo clínico y subclínico durante el primer año no fue distinta (14 frente a 18%) entre ambas ramas de tratamiento²¹. En cambio, en un subestudio del ensayo clínico CONCEPT (los pacientes fueron aleatorizados a los 3 meses a una pauta basada en sirolimus, MMF y corticoides o a seguir con ciclosporina, MMF y corticoides), las biopsias de protocolo al año mostraron una mayor prevalencia de cambios *borderline* (16,2 frente a 5,1%) y de rechazo subclínico (29 frente a 10,2%) en los pacientes convertidos a sirolimus²². Sin embargo, el inmunofenotipo de este infiltrado intersticial es diferente bajo distintas pautas de trata-

miento y se ha postulado que, en los pacientes tratados con sirolimus, los infiltrados intersticiales ricos en células T reguladoras pueden tener un efecto protector sobre la disfunción crónica del injerto²³.

Progresión de la fibrosis intersticial/atrofia tubular.

Durante el primer año postrasplante se produce un aumento progresivo de las lesiones crónicas, especialmente de la fibrosis intersticial/atrofia tubular (FI/AT), mientras que la progresión de la glomerulosclerosis y las lesiones vasculares es más lenta y tardía¹⁹. Ha sido motivo de distintos trabajos evaluar la contribución de la respuesta inmune y la nefrotoxicidad por anticalcineurínicos en la progresión de estas lesiones crónicas. En un estudio que incluyó a 256 pacientes tratados con tacrolimus, MMF y retirada rápida de corticoides, se demuestra, en las biopsias realizadas durante los primeros 4 meses, que la presencia de cambios *borderline* y de rechazo agudo subclínico (50 y 19 casos, respectivamente) se asocia con una mayor proporción de cambios de FI/TA moderada en la biopsia de protocolo al año (15% en los casos sin rechazo subclínico, 34% en los casos con cambios *borderline* y 53% en los casos con rechazo subclínico)²⁴. Sin embargo, a la progresión de las lesiones de la FI/AT también contribuye de forma significativa el tratamiento con anticalcineurínicos. Se ha demostrado en diversos ensayos clínicos que las pautas de tratamiento libres de anticalcineurínicos, bien sea basadas en im-TOR o en belatacept, se asocian a una menor progresión de la FI/AT que las pautas basadas en ciclosporina²⁵⁻²⁷. En cambio, este beneficio no se pudo demostrar en un ensayo clínico que comparó pacientes tratados con tacrolimus, MMF y corticoides con pacientes tratados con sirolimus, MMF y corticoides, en el que tan solo se observó una menor progresión del engrosamiento vascular intimal en los pacientes tratados con sirolimus²¹. A pesar de estos resultados, que sugieren una menor nefrotoxicidad del tacrolimus que de la ciclosporina, la progresión de las lesiones de la FI/AT al año del trasplante no fue distinta en un ensayo clínico que comparó pacientes tratados con tacrolimus (n = 97) y con ciclosporina (n = 94), aunque la prevalencia de rechazo subclínico a los 6 meses se redujo a la mitad con el tacrolimus (38,8 frente a 15,2%)²⁸. Por otra parte, en un estudio con biopsias seriadas realizadas durante el primer año, se demuestra que los pa-

cientes que se han mantenido con niveles más elevados de tacrolimus (> 12 ng/ml) presentan una menor progresión de las lesiones crónicas²⁹, lo que sugiere que un buen control de la respuesta inmune reduce la progresión de las lesiones de la FI/AT. Finalmente, en otro ensayo clínico, se mostró que la combinación de tacrolimus con sirolimus (n = 50) es más potente que la de tacrolimus con MMF (n = 50) o ciclosporina con sirolimus (n = 50) o MMF (n = 50), ya que se asocia a la menor prevalencia de rechazo subclínico durante el primer año (< 10%) y a una menor prevalencia de lesiones crónicas a los 5 años³⁰. Además, se ha descrito que existe una interacción entre las lesiones preexistentes en el donante y el régimen de tratamiento. Así, en los injertos sin lesiones preexistentes, la combinación de tacrolimus, sirolimus y corticoides se acompaña de una menor progresión de la FI/AT; pero, en cambio, en injertos con lesiones preexistentes, la combinación de tacrolimus, MMF y corticoides se asocia a una menor progresión³¹. Así pues, el impacto que tiene el tratamiento con anticalcineurínicos en la progresión de las lesiones crónicas es difícil de interpretar. En un estudio con biopsias de protocolo a los 3, 24 y 120 meses, se observó que los pacientes tratados con ciclosporina (n = 48) presentaban una mayor progresión de las lesiones crónicas (glomerulosclerosis, fibrosis intersticial, atrofia tubular, engrosamiento intimal y hialinosis arteriolar) que los pacientes sin anticalcineurínicos (n = 93); aunque ninguna de estas lesiones es específica³², ni tan solo los depósitos hialinos en la capa muscular de las arteriolas (68% en los tratados con ciclosporina frente a 28% en los no tratados).

Por lo tanto, podemos concluir que, durante el primer año, distintos insultos contribuyen a la progresión de la FI/AT, tanto el rechazo subclínico como el tratamiento con anticalcineurínicos, y hoy en día todavía no sabemos qué pauta de tratamiento es mejor debido a la interacción entre las distintas variables. Sin embargo, debe destacarse que, en pacientes de bajo riesgo inmunológico, la progresión de la FI/AT entre el primer y quinto año postrasplante es leve con las pautas de inmunosupresión actuales basadas en tacrolimus o im-TOR³³.

Monitorización histológica y evolución del injerto. Se han llevado a cabo distintos trabajos con largas series de

Revisiones

casos con seguimiento superior a los 10 años para evaluar si existe alguna relación entre los hallazgos en las biopsias de protocolo realizadas durante el primer año y el pronóstico del injerto. Estos estudios tienen diversas limitaciones, entre las que cabe destacar los cambios en las pautas de tratamiento a lo largo del tiempo, así como los cambios introducidos en el seguimiento postrasplante, especialmente la introducción de las nuevas técnicas para detectar anticuerpos anti-HLA.

En general, se puede afirmar que la presencia de episodios de rechazo agudo celular subclínico se ha asociado con la aparición de anticuerpos anti-HLA donante específicos *de novo*, con el desarrollo de rechazo crónico mediado por anticuerpos y con el fracaso tardío del injerto^{32,33}. En un estudio que incluyó a 315 pacientes sin anticuerpos anti-HLA pretrasplante, 47 desarrollaron anticuerpos anti-HLA donante específicos (ADE) a los 4,6 años y la aparición de ADE se asoció con el número de incompatibilidades HLA, especialmente de clase II, con los episodios de rechazo clínico y subclínico, y con la no adherencia al tratamiento inmunosupresor³⁴. Los pacientes con ADE presentaron una supervivencia a los 10 años muy inferior a los que no desarrollaron ADE (95 frente a 50%). En otro estudio³⁵, se revisaron más de 500 pacientes con una biopsia de protocolo durante los primeros 6 meses postrasplante y en 109 de ellos se disponía de una biopsia tardía por disfunción realizada a los 7 años del trasplante. En los pacientes que presentaban rechazo crónico mediado por anticuerpos en la biopsia tardía (n = 44), la presencia de rechazo subclínico en la biopsia de protocolo fue el doble de frecuente que en los pacientes que presentaban FI/AT (n = 42) en la biopsia tardía (52,3 frente a 28,6%). En este estudio, los pacientes con rechazo crónico presentaron una supervivencia del injerto inferior que los pacientes con FI/AT (58 frente a 21% a los 20 años del trasplante).

La presencia de lesiones crónicas (FI/AT) se ha relacionado con el fracaso tardío del injerto, especialmente cuando se asocia con lesiones de rechazo subclínico (revisión en 14-16). Una de las series más amplias en cuanto al número de casos (n = 435) y con un seguimiento de 9 años de media²⁰, mostró que los pacientes que en la biopsia de protocolo presentaban rechazo subclínico asociado a FI/AT (n = 65) tenían casi el doble de riesgo de presentar fracaso del

injerto que los pacientes que presentaban una biopsia normal (n = 186), una biopsia con rechazo subclínico aislado (n = 74) o con FI/AT aislada (n = 110).

Biopsias de protocolo en pacientes de alto riesgo inmunológico

En los pacientes con ADE en el momento de la biopsia, la lesión predominante en las biopsias de protocolo precoces es la presencia de inflamación de la microcirculación (glomerulitis y capilaritis peritubular) asociada en alrededor del 50% de los casos a depósitos de C4d en los capilares peritubulares. Las biopsias realizadas al año del trasplante muestran la persistencia de inflamación de la microcirculación, la aparición de glomerulopatía del trasplante y una aceleración en la progresión de la vasculopatía del injerto^{15,36-38}. La presencia de depósitos de C4d es variable entre los distintos estudios: 57% en las 157 biopsias realizadas a los 3 y 12 meses en 80 pacientes por parte del grupo de París³⁶ y entre el 20-30% en las 200 biopsias realizadas a 50 pacientes con prueba cruzada positiva sometidos a tratamiento desensibilizador por el grupo de Baltimore^{39,40}. En los pacientes sometidos a tratamiento desensibilizador se ha mostrado que, en las biopsias tomadas tras la reperusión del injerto, la presencia de depósitos de C4d en los capilares peritubulares es el mejor predictor del posterior desarrollo de rechazo mediado por anticuerpos⁴¹. A pesar de que la inflamación de la microcirculación muestra una mejor asociación con la presencia de ADE y el posterior desarrollo de glomerulopatía del trasplante que los depósitos de C4d³⁶, no debe obviarse que la presencia de C4d como marcador de activación del complemento se ha mostrado como una variable altamente específica del fracaso tardío del injerto en biopsias por indicación⁴².

Los trabajos del grupo de París⁴³ llevados a cabo durante los últimos años han mostrado que la presencia de ADE en el momento de realizar la biopsia de protocolo al año del trasplante se asocia con una peor supervivencia del injerto a 9 años, 90% en los pacientes sin rechazo en la biopsia (n = 727) y 56% en los pacientes con rechazo subclínico mediado por anticuerpos (n = 142). La mayor parte de pacientes con rechazo subclínico mediado por anticuerpos

presentaban ADE preformados y una pequeña proporción, ADE *de novo* (111 frente a 31). En esta serie, los pacientes con rechazo subclínico mediado por células T (n = 132) presentan una supervivencia similar a los pacientes sin rechazo (88%). Cabe destacar que los pacientes con rechazo subclínico mediado por anticuerpos y rechazo subclínico mediado por células T presentan una mayor tendencia a desarrollar glomerulopatía del trasplante a largo plazo que los pacientes con una biopsia sin rechazo (54, 22 y 12%, respectivamente). Los pacientes con rechazo subclínico mediado por células T que desarrollarán glomerulopatía del trasplante son aquellos que presentan ADE *de novo* en el momento de la biopsia (17 de 132).

Biopsias de protocolo en trasplante ABO incompatible.

La práctica del trasplante de donante vivo ABO incompatible tras completar tratamiento desensibilizador se introdujo hace unas cuantas décadas en Japón. Durante los últimos años, este tipo de trasplante se ha extendido a los países occidentales y hoy en día diversas unidades de nuestro país realizan este tipo de trasplante, aunque la implantación del programa nacional de trasplante renal cruzado ha frenado su expansión. Según datos de la ONT, en 2011, el 4,3% de los trasplantes de donante vivo (13 de 312) fueron ABO incompatibles y el 2,2% (7 de 312) fueron cruzados; en cambio, en 2014, el 10,4% fueron cruzados (44 de 423), mientras que el 4,4% fueron ABO incompatibles (19 de 423).

Las experiencias llevadas a cabo en diversos centros muestran que los pacientes que reciben injertos ABO incompatibles presentan con elevada frecuencia (> 80%) depósitos de C4d en los capilares peritubulares sin cambios asociados de rechazo mediado por anticuerpos. Cabe destacar que en las series publicadas, a pesar de que el tratamiento es más intensivo que en los pacientes que reciben injertos ABO compatibles, la presencia de rechazo subclínico mediado por células T es más elevada⁴⁴⁻⁴⁷.

TRATAMIENTO DEL RECHAZO SUBCLÍNICO

Durante la década de los noventa, la introducción del diagnóstico de rechazo subclínico y sus potenciales efectos deletéreos a largo plazo condujo a que se realizara el primer

ensayo clínico, prospectivo y aleatorizado para evaluar si el diagnóstico y tratamiento del rechazo subclínico durante los primeros meses postrasplante contribuía a disminuir la progresión de las lesiones crónicas y la disfunción del injerto. Un grupo de 36 pacientes aleatorizados a ser biopsiados a los 0, 1, 2, 3 y 6 meses postrasplante y a recibir tratamiento con pulsos de corticoides si presentaban rechazo subclínico se comparó con un grupo de 36 pacientes al que solo se biopsió a los 0 y a los 6 meses. Los pacientes del grupo experimental presentaron una menor progresión de las lesiones crónicas en la biopsia a los 6 meses y una mejor función renal a los 2 años⁴⁸. En este estudio, los pacientes recibieron tratamiento de mantenimiento con ciclosporina, azatioprina y corticoides, y la prevalencia de rechazo subclínico fue superior al 30% durante los primeros meses. Posteriormente, el mismo grupo lideró un ensayo clínico similar en pacientes tratados con tacrolimus, MMF y corticoides. En este caso, un grupo de 121 pacientes fue aleatorizado a biopsia a los 0, 1, 2, 3 y 6 meses y recibió tratamiento con pulsos de corticoides si presentaban rechazo subclínico, y se comparó con un grupo de 119 pacientes biopsiados a los 0 y 6 meses. En este estudio, la prevalencia de rechazo subclínico en el grupo experimental fue muy baja (4,6%) y no se pudo demostrar ningún beneficio a los 6 meses en la biopsia renal ni en la función renal en el grupo experimental⁴⁹. Posteriormente, se publicaron los resultados de otro ensayo clínico en el que 52 pacientes fueron aleatorizados a ser biopsiados al mes y a los 3 meses, y 50 pacientes actuaron como grupo control⁵⁰. En este estudio, los pacientes recibieron tratamiento de mantenimiento con ciclosporina asociada a MMF o azatioprina y, por lo tanto, la prevalencia de rechazo subclínico fue más elevada (cambios *borderline* = 11,5 y 14% y rechazo subclínico = 17,3 y 12%, al mes y a los 3 meses, respectivamente). En este ensayo clínico, el tratamiento con pulsos de corticoides a los pacientes con rechazo subclínico y el ajuste de los niveles de ciclosporina a los pacientes con cambios *borderline* se asociaron a una mejor función renal a los 12 meses (creatinina sérica = 1,20 ± 0,33 frente a 1,52 ± 0,41 mg/dl).

Algunos autores han sugerido que la monitorización del injerto durante los primeros meses postrasplante para detectar o descartar la presencia de rechazo subclínico puede contribuir a individualizar el manejo de los pacientes. Así, a los pacientes a los que se diagnostica y trata de episodios

Revisiones

de rechazo subclínico, habría que monitorizarlos con biopsias más seguidas y, en cambio, los pacientes con biopsias sin rechazo se podrían beneficiar de reducciones de la inmunosupresión realizando biopsias más espaciadamente⁵¹. Parece evidente que para incluir estos conceptos en la práctica clínica harían falta ensayos clínicos de difícil diseño.

Existe consenso en la literatura en que el rechazo subclínico mediado por anticuerpos se asocia a un efecto deletéreo sobre la supervivencia del injerto. Sin embargo, hasta la actualidad no se han publicado resultados de ensayos clínicos prospectivos y aleatorizados para evaluar los potenciales beneficios de su tratamiento. Los tratamientos disponibles hasta la actualidad para el rechazo agudo mediado por anticuerpos o para desensibilizar a los pacientes con anticuerpos preformados (eliminación de anticuerpos mediante plasmaféresis o inmunoadsorción, inmunoglobulinas intravenosas, anticuerpos antilinfocitos B, inhibidores del proteasoma como el bortezomib o inhibidores del complemento como el eculizumab) no han sido testados en ensayos clínicos. En la página web clinical.trials.gov consta registrado el ensayo clínico titulado «Eculizumab therapy for subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplantation (TAMARCIN)» (NCT02113891), que fue finalizado antes de iniciar el reclutamiento. Por lo tanto, dado que muchos pacientes con ADE, especialmente con anticuerpos anti-HLA de clase II, van a desarrollar rechazo crónico activo mediado por anticuerpos, parece lógico intentar pautas de tratamiento para eliminar dichos anticuerpos y mejorar la supervivencia del injerto⁴⁰. Sin embargo, las combinaciones de tratamiento y el momento de su instauración están todavía por definir.

MONITORIZACIÓN HISTOLÓGICA DEL RECHAZO AGUDO

La presencia de episodios de rechazo celular o humoral agudo se asocia a una peor supervivencia del injerto. Tras completar el tratamiento se evalúa la respuesta clínica mediante la evolución de la función renal. Pocos trabajos han evaluado si, tras el tratamiento, se produce una normalización de la histología del injerto. En un estudio que incluyó casi 800 trasplantes de bajo riesgo inmunológico y en el que

el 15% de los pacientes presentaron episodios de rechazo celular agudo clínico o subclínico durante el primer año, se objetivó que la presencia de inflamación con fibrosis en la biopsia de protocolo al año (22 frente a 6%), la presencia de glomerulopatía del trasplante (8 frente a 1%) y el desarrollo de ADE de clase II *de novo* (21 frente a 11%) eran más frecuentes en los pacientes con episodios de rechazo celular agudo que en los que no los habían presentado⁵². Este patrón de inflamación con fibrosis se ha asociado, en diversos estudios, con una peor supervivencia del injerto^{20,24}, aunque no disponemos de estudios para evaluar si los cambios en la inmunosupresión pueden modificarlo.

BIOPSIAS DE PROTOCOLO Y CAMBIOS EN LA INMUNOSUPRESIÓN

A lo largo del seguimiento tras el trasplante renal se plantea la necesidad de realizar cambios en el tratamiento inmunosupresor, bien por la aparición de nuevas patologías (neoplasias, infecciones virales) o para disminuir la toxicidad de los fármacos administrados en la prevención del rechazo agudo (corticoides, anticalcineurínicos).

Suspensión de los corticoides

Existen en la literatura múltiples ensayos clínicos y metaanálisis que demuestran que la suspensión de los corticoides con las terapias actuales es segura y, aunque se acompaña de un pequeño aumento de los episodios de rechazo agudo, no parece modificar la supervivencia del injerto a medio plazo⁵³. Hasta la actualidad, en un estudio de reducido tamaño muestral (n = 5), se mostró que en los pacientes sin inflamación en la biopsia de protocolo al año, se pueden retirar los esteroides con seguridad⁵⁴. En la actualidad, en nuestro país, se está llevando a cabo un ensayo clínico para evaluar si en los pacientes sin rechazo subclínico en la biopsia de protocolo, a los 3 meses, se pueden retirar los corticoides de forma segura, con la monitorización de la aparición de ADE *de novo* y la evaluación del injerto con una nueva biopsia de protocolo a los 24 meses («Steroid withdrawal and donor-specific anti-HLA antibodies in renal transplant patients»; NCT02284464).

Suspensión de los anticalcineurínicos

Los anticalcineurínicos, la ciclosporina y el tacrolimus, forman parte del tratamiento de mantenimiento de la mayor parte de injertos renales. Aunque su toxicidad, especialmente su nefrotoxicidad, ha sido ampliamente revisada en la literatura, existen pocos ensayos clínicos que hayan conseguido eliminarlos con éxito dada la elevada prevalencia de episodios de rechazo agudo. Recientemente, se han publicado los resultados de un ensayo clínico en el que receptores de bajo riesgo (donante vivo, ADE negativos pretrasplante) fueron aleatorizados a suspender tacrolimus a los 6 meses del trasplante tras objetivar que en la biopsia de protocolo no había inflamación y los ADE persistían negativos⁵⁵. El ensayo finalizó prematuramente, ya que en la rama experimental se observó una elevada incidencia de rechazo agudo (4 de 14) y de aparición de ADE *de novo* (5 de 14). Previamente se habían publicado resultados similares en un grupo de pacientes que presentaban signos histológicos de nefrotoxicidad y en los que se suspendió la ciclosporina al año del trasplante⁵⁴. Sin embargo, en otro estudio prospectivo, 108 pacientes que recibieron tratamiento con ciclosporina, MMF y corticoides fueron aleatorizados a los 3 meses del trasplante, tras realizar una biopsia de protocolo, a eliminar la ciclosporina o el MMF⁵⁶. Tras la eliminación de la ciclosporina, la aparición de episodios de rechazo agudo fue mayor que tras la suspensión del MMF (22 frente a 5%) y el porcentaje de biopsias al año con depósitos de C4d también fue mayor.

Tomados en su conjunto, estos datos sugieren que la suspensión de los anticalcineurínicos durante el primer año en injertos renales inmunológicamente quiescentes no es segura.

Cambio de anticalcineurínicos por inhibidores de la m-TOR

Existen en la literatura múltiples ensayos clínicos que han evaluado la utilidad de los im-TOR como inmunosupresores en la pauta de mantenimiento de los pacientes trasplantados renales libres de anticalcineurínicos. Se han desarrollado diversas estrategias a lo largo de los años: im-TOR *de novo* sin anticalcineurínicos, con anti-

calcineurínicos *de novo* y suspensión de estos precozmente (entre 3 y 6 meses) o conversiones precoces de anticalcineurínicos a im-TOR. En dos ensayos clínicos recientes que han utilizado la biopsia de protocolo antes y después del cambio de tratamiento, uno con sirolimus y otro con everolimus, se muestra que la conversión precoz (entre 1 y 3 meses) se acompaña de más episodios de rechazo agudo y no disminuye la progresión de la FI/AT en los injertos que no han presentado episodios de rechazo agudo^{57,58}. No se ha evaluado si los hallazgos histológicos en la biopsia preconversión permiten discriminar a los pacientes con mayor riesgo de desarrollar episodios de rechazo agudo posteriormente.

BIOPSIAS DE PROTOCOLO Y RECIDIVA DE LA ENFERMEDAD DE BASE

La recidiva de la enfermedad de base es una de las causas que también contribuyen al fracaso del injerto. Se han realizado diversos estudios que muestran que la recidiva de la patología de base se puede diagnosticar mediante biopsias de protocolo. En una serie de 65 pacientes con nefropatía por inmunoglobulina A (IgA) de base, en la que se disponía de una biopsia de protocolo durante los primeros 2 años, se demostró que la nefropatía IgA recurre de forma subclínica en el 32% de los casos⁵⁹. La recurrencia es menor en los pacientes que reciben un injerto con dos compatibilidades en el *locus* DR y en los pacientes tratados con ciclosporina. Dado que la tasa de pérdida del injerto por esta causa es muy baja (3%), no se ha podido evaluar si distintas pautas de tratamiento en los pacientes con recurrencia mejoran la supervivencia.

La glomerulonefritis membranosa recurre en el 42% de los injertos⁶⁰. La biopsia de protocolo permite un diagnóstico precoz y la instauración de un tratamiento específico (rituximab), con los que se alcanza la remisión completa o parcial en el 75% de los casos. Los autores sugieren que es necesario realizar un ensayo clínico para evaluar si esta terapia es superior al tratamiento estándar. De todas formas, durante los últimos años, disponemos de nuevas herramientas para evaluar la actividad de la nefropatía membranosa, como la cuantificación de los anticuerpos frente al receptor de la fosfolipasa A2. Son necesarios nuevos

estudios para evaluar qué pueden aportar ambas herramientas en la monitorización de la recidiva de esta enfermedad postrasplante y tomar decisiones sobre su tratamiento precoz.

BIOPSIAS DE PROTOCOLO Y NEFROPATÍA POR EL VIRUS DEL POLIOMA BK

Desde su descripción hace más de una década, la nefropatía por el virus del poliovirus BK afecta entre el 2 y el 10% de los injertos en función de las características de los donantes y de los receptores, y de la pauta de tratamiento inmunosupresor. Esta nefropatía se ha asociado con el tratamiento con anticuerpos antilinfocitarios, tacrolimus, MMF y corticoides, que son ampliamente utilizados en la actualidad. Desde hace unos años, disponemos de herramientas no invasivas, como la monitorización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del virus en sangre, que muestra una estrecha correlación con la presencia de nefropatía. En una serie de más de 600 pacientes⁶¹ con monitorización de la viremia por BK y biopsias de protocolo o diagnósticas (93% de los casos), no se observó ningún caso de nefropatía BK en los pacientes sin viremia a lo largo del seguimiento (n = 446) o con viremias inferiores a 10.000 copias/ml (n = 88). En cambio, de los 75 pacientes con viremias BK > 10.000 copias/ml, solo en 8 casos (1,3% del total de la serie) se demostró nefropatía BK en la biopsia de protocolo y la presencia de una viremia > 185.000 copias/ml presentó una elevada sensibilidad (75%) y especificidad (95%) para el diagnóstico de nefropatía BK. Es decir, la monitorización de la viremia permite conocer de forma bastante precisa qué pacientes pueden presentar nefropatía BK y realizar los tratamientos más adecuados para controlar la infección. En aquellos pacientes con viremias intermedias, la realización de una biopsia de protocolo puede contribuir a mejorar su tratamiento.

BIOPSIAS DE PROTOCOLO Y CONTROL DE LA PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS

En la disfunción crónica del injerto, se observa una fibrosis intersticial progresiva con expansión del intersticio re-

nal, que se puede cuantificar como la fracción de volumen intersticial cortical renal mediante técnicas de morfometría o análisis de imágenes. En la nefropatía diabética se ha demostrado que el tratamiento con inhibidores de la enzima de conversión contribuye a frenar la progresión de la fibrosis. En cambio, aproximaciones similares han sido poco frecuentes en el campo del trasplante renal. En un ensayo clínico prospectivo 153 pacientes fueron aleatorizados para determinar si el tratamiento con losartán de 100 mg/día contribuye a reducir la progresión de la FI/AT⁶², para lo que se evaluó la fracción de volumen intersticial cortical renal en la biopsia basal y a los 5 años. Aunque el objetivo primario (doblar la fracción de volumen intersticial o fracaso del injerto por FI/AT) no alcanzó significación estadística, uno de los objetivos secundarios (doblar la fracción de volumen intersticial o fracaso del injerto por cualquier causa) mostró que el tratamiento con losartán puede contribuir a frenar la progresión de la fibrosis en el trasplante renal. Dado que la progresión de la fibrosis fue menor de la esperada, tal como han mostrado otros estudios³³, el ensayo clínico no disponía de suficiente potencia estadística para evaluar los potenciales beneficios de la intervención.

CONCLUSIONES

Durante las últimas décadas, muchos grupos han introducido la monitorización histológica con biopsias de protocolo realizadas en injertos renales estables en el seguimiento de los pacientes trasplantados renales. Dado que el procedimiento es seguro y de bajo coste, puede contribuir a un mejor manejo de los pacientes. Sin embargo, las evidencias existentes hoy en día no permiten en muchas ocasiones una toma de decisiones en función de los hallazgos histológicos. Dada la baja prevalencia de rechazo subclínico en los pacientes de bajo riesgo inmunológico tratados con tacrolimus y MMF, la realización de las biopsias solo puede contribuir de forma marginal a mejorar el pronóstico del injerto. No obstante, en aquellos casos en que se requiera modificar o minimizar el tratamiento inmunosupresor, la biopsia de protocolo puede contribuir a un mejor manejo de los pacientes. En los pacientes de alto riesgo inmunológico, la realización de las biopsias de protocolo permite caracterizar la presencia y evolución del rechazo

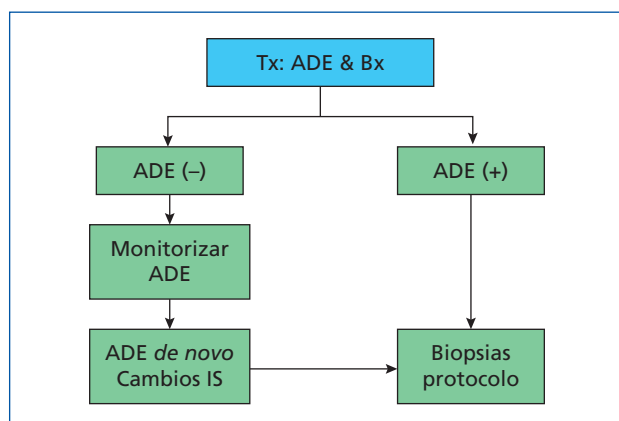


Figura 1. Monitorización inmunológica e histológica de los pacientes trasplantados renales. En el momento del trasplante, se recomienda realizar una determinación de anticuerpos anti-HLA y una biopsia preimplante. En los pacientes sin anticuerpos donante específicos, la monitorización de los mismos puede ser suficiente y solo recomendamos la realización de una biopsia en los pacientes que presenten ADE *de novo* o antes de realizar cambios sustanciales en la inmunosupresión. En los pacientes con anticuerpos donante específicos, la monitorización histológica contribuirá a instaurar los tratamientos específicos necesarios. ADE: anticuerpos donante específicos; Bx: biopsia; IS: inmunosupresión; Tx: trasplante.

subclínico mediado por anticuerpos y puede contribuir a la toma de decisiones para instaurar tratamientos específicos. Así pues, dada la utilidad de la monitorización inmunológica (anticuerpos anti-HLA) en el seguimiento de los pacientes, proponemos en la figura 1 un esquema de monitorización que combina la determinación de anticuerpos y la realización de biopsias.

En resumen, a la espera de nuevos biomarcadores en sangre u orina, la monitorización histológica contribuye a instaurar una inmunosupresión personalizada en los receptores de trasplante renal y es, sin lugar a dudas, una herramienta imprescindible en la investigación clínica^{14,15}.

RECOMENDACIONES DEL GRUPO

Recomendamos disponer de una biopsia preimplante para evaluar lesiones preexistentes, especialmente en donantes

con criterios expandidos (nivel de evidencia moderado). El índice propuesto por el grupo español basado en los criterios de Banff es una herramienta útil para evaluar las lesiones preexistentes, pero no se ha validado el umbral propuesto (descartar órganos con índice > 7).

No recomendamos la monitorización histológica en pacientes de bajo riesgo inmunológico tratados con pautas basadas en tacrolimus combinado con derivados del ácido micofenólico, ya que, hasta la actualidad, no se ha demostrado que aporte beneficios (nivel de evidencia alto).

Recomendamos la monitorización histológica en pacientes con anticuerpos donante específicos preformados (nivel de evidencia moderado), aunque se desconoce si puede contribuir a mejorar el pronóstico del injerto a largo plazo.

Los potenciales beneficios del tratamiento de los episodios de rechazo celular o humoral subclínico no han sido bien establecidos.

Los cambios significativos en el tratamiento inmunosupresor, como la suspensión de los corticoides o el cambio de un anticalcineurínico por un inhibidor de la m-TOR, se asocian a un mayor riesgo de presentar episodios de rechazo agudo. La monitorización histológica antes de la modificación puede contribuir a individualizar el riesgo (nivel de evidencia bajo).

En algunas glomerulopatías primarias, como la nefropatía por IgA o la glomerulonefritis membranosa, la monitorización histológica permite diagnosticar la presencia de recidiva subclínica (nivel de evidencia alto). Sin embargo, su utilidad para instaurar tratamientos específicos no ha sido establecida.

No recomendamos la monitorización histológica para el diagnóstico precoz de la nefropatía por el virus del poliovirus BK, ya que la monitorización de la viremia es mucho más útil (nivel de evidencia alto).

La monitorización histológica sigue siendo una herramienta imprescindible en la investigación clínica en trasplante renal.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB, et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int.* 1993;44:411-22.
- Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int.* 1999;55:713-23.
- Racusen LC, Colvin RB, Solez K, Mihatsch MJ, Halloran PF, Campbell PM, et al. Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant.* 2003;36:708-14.
- Haas M, Sis B, Racusen LC, Solez K, Glotz D, Colvin RB, et al. Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant.* 2014;14: 272-83.
- Organización Nacional de Trasplantes [portal en Internet]. Madrid: Organización Nacional de Trasplantes. Disponible en: <http://www.ont.es/infesp/Paginas/Memorias.aspx>
- Tan JC, Workeneh B, Busque S, Blouch K, Derby G, Myers BD. Glomerular function, structure, and number in renal allografts from older deceased donors. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20: 181-8.
- Anglicheau D, Loupy A, Lefaucheur C, Pessione F, Létourneau I, Côté I, et al. A simple clinic-histopathological composite scoring system is highly predictive of graft outcomes in marginal donors. *Am J Transplant.* 2008;8:2325-34.
- De Vusser K, Lerut E, Kuypers D, Vanrenterghem Y, Jochmans I, Monbaliu D, et al. The predictive value of kidney allograft baseline biopsies for long-term graft survival. *J Am Soc Nephrol.* 2013;24:1913-23.
- Munivenkatappa RB, Schweitzer EJ, Papadimitriou JC, Drachenberg CB, Thom KA, Perencevich EN, et al. The Maryland aggregate pathology index: a deceased donor kidney biopsy scoring system for predicting graft failure. *Am J Transplant.* 2008;8: 2316-24.
- Seron D, Anaya F, Marcén R, del Moral RG, Martul EV, Alarcón A, et al. Guidelines for indicating, obtaining, processing and evaluating kidney biopsies. *Nefrología.* 2008;28:385-96.
- Azancot MA, Moreso F, Salcedo M, Cantarell C, Perelló M, Torres IB, et al. The reproducibility and predictive value on outcome of renal biopsies from expanded criteria donors. *Kidney Int.* 2014;85:1161-8.
- Remuzzi G, Cravedi P, Perna A, Dimitrov BD, Turturro M, Locatelli G, et al. Long-term outcome of renal transplantation from older donors. *N Engl J Med.* 2006;354:343-52.
- Fernández-Lorente L, Riera L, Bestard O, Carrera M, Gomà M, Porta N, et al. Long-term results of biopsy-guided selection and allocation of kidneys from older donors in older recipients. *Am J Transplant.* 2012;12:2781-8.
- Seron D, Moreso F. Protocol biopsies in renal transplantation: Prognostic value of structural monitoring. *Kidney Int.* 2007;72: 690-7.
- Chapman JR. Do protocol transplant biopsies improve kidney transplant outcomes? *Curr Opin Nephrol Hyperten.* 2012;21:580-6.
- Arias M, Seron D, Moreso F, Bestard O, Praga M. Chronic Renal Allograft Damage: Existing Challenges. *Transplantation.* 2011;91 (9 Supl):S10-S15.
- Furness PN, Philpott CM, Chorbajian MT, Nicholson ML, Bosmans JL, Corthouts BL, et al. Protocol biopsy of the stable renal transplant: A multicenter study of methods and complication rates. *Transplantation.* 2003;76:969-73.
- Torres-Rodríguez IB, Castella-Fierro E, Serres-Creixans X, Salcedo-Allende M, Azancot-Rivero MA, Perelló-Carrascosa M, et al. Seguridad y eficacia de la biopsia ambulatoria en trasplante renal. *Nefrología.* 2014;34:749-55.
- Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med.* 2003;349:2326-33.
- Moreso F, Ibernón M, Gomà M, Carrera M, Fulladosa X, Hueso M, et al. Subclinical rejection associated with chronic allograft nephropathy in protocol biopsies as a risk factor for late graft loss. *Am J Transplant.* 2006;6:747-52.
- Larson TS, Dean PG, Stegall MD, Griffin MD, Textor SC, Schwab TR, et al. Complete Avoidance of Calcineurin Inhibitors in Renal Transplantation: A Randomized Trial Comparing Sirolimus and Tacrolimus. *Am J Transplant.* 2006;6:514-22.
- Thierry A, Thervet E, Vuiblet V, Goujon JM, Machet MC, Noel LH, et al. Long-term impact of subclinical inflammation diagnosed by protocol biopsy one year after renal transplantation. *Am J Transplant.* 2011;11:2153-61.

23. Bestard O, Cruzado JM, Rama I, Torras J, Gomà M, Serón D, et al. Presence of FoxP3+ regulatory T cells predicts outcome of subclinical rejection of renal allografts. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19:2020-6.
24. Heilman RL, Devarapalli Y, Chakkera HA, Mekeel KL, Moss AA, Mulligan DC, et al. Impact of subclinical inflammation on the development of interstitial fibrosis and tubular atrophy in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2010;10:563-70.
25. Mota A, Arias M, Taskinen EI, Paavonen T, Brault Y, Legendre C, et al. Sirolimus-based therapy following early cyclosporine withdrawal provides significantly improved renal histology and function at 3 years. *Am J Transplant*. 2004;4:953-61.
26. Flechner SM, Kurian SM, Solez K, Cook DJ, Burke JT, Rollin H, et al. De novo kidney transplantation without use of calcineurin inhibitors preserves renal structure and function at two years. *Am J Transplant*. 2004;4:1776-85.
27. Vincenti F, Larsen C, Durrbach A, Wekerle T, Nashan B, Blanche G, et al. Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *N Eng J Med*. 2005;335:770-81.
28. Rowsahni AT, Scholten EM, Bemelman F, Eikmans M, Idu M, Roos-van Groningen MC, et al. No Difference in Degree of Interstitial Sirius Red-Stained Area in Serial Biopsies from Area under Concentration-over-Time Curves-Guided Cyclosporine versus Tacrolimus-Treated Renal Transplant Recipients at One Year. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17:305-12.
29. Naesens M, Lerut E, Damme BV, Vanrenterghem Y, Kuypers DR. Tacrolimus exposure and evolution of renal allograft histology in the first year after transplantation. *Am J Transplant*. 2007;7:2114-23.
30. Anil Kumar MS, Irfan Saeed M, Ranganna K, Malat G, Sustento-Reodica N, Kumar AM, et al. Comparison of four different immunosuppression protocols without long-term steroid therapy in kidney recipients monitored by surveillance biopsy: five-year outcomes. *Transpl Immunol*. 2008;20:32-42.
31. Gelens MA, Steegh FM, van Hooff JP, van Suylen RJ, Nieman FH, van Heurn LW, et al. Immunosuppressive regimen and interstitial fibrosis and tubules atrophy at 12 months postrenal transplant. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7:1010-7.
32. Snanoudj R, Royal V, Elie C, Rabant M, Girardin C, Morelon E, et al. Specificity of histological markers of long-term CNI nephrotoxicity in kidney-transplant recipients under low-dose cyclosporine therapy. *Am J Transplant*. 2011;11:2635-46.
33. Stegall MD, Park WD, Larson TS, Gloor JM, Cornell LD, Sethi S, et al. The histology of solitary renal allografts at 1 and 5 years after transplantation. *Am J Transplant*. 2011;11:698-707.
34. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, Karpinski M, Ho J, Storsley LJ, et al. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant*. 2012;12:1157-67.
35. Moreso F, Carrera M, Gomà M, Hueso M, Sellares J, Martorell J, et al. Early subclinical rejection as a risk factor for late chronic humoral rejection. *Transplantation*. 2012;93:41-6.
36. Loupy A, Hill GS, Suberbielle C, Charron D, Anglicheau D, Zuber J, et al. Significance of C4d Banff scores in early protocol biopsies of kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies (DSA). *Am J Transplant*. 2011;11:56-65.
37. Hill GS, Nochy D, Bruneval P, Duong van Huyen JP, Glotz D, Suberbielle C, et al. Donor-specific antibodies accelerate arteriosclerosis after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22:975-83.
38. Gloor JM, Sethi S, Stegall MD, Park WD, Moore SB, DeGoey S, et al. Transplant glomerulopathy: subclinical incidence and association with alloantibody. *Am J Transplant*. 2007;7:2124-32.
39. Haas M, Montgomery RA, Segev DL, Rahman MH, Racusen LC, Bagnasco SM, et al. Subclinical Acute Antibody-Mediated Rejection in Positive Crossmatch Renal Allografts. *Am J Transplant*. 2006;6:1-10.
40. Kraus ES, Parekh RS, Oberai P, Lepley D, Segev DL, Bagnasco S, et al. Subclinical Rejection in Stable Positive Crossmatch Kidney Transplant Patients: Incidence and Correlations. *Am J Transplant*. 2009;9:1826-34.
41. Djamali A, Muth BL, Ellis TM, Mohamed M, Fernandez LA, Miller KM, et al. Increased C4d in post-reperfusion biopsies and increased donor specific antibodies at one-week post transplant are risk factors for acute rejection in mild to moderately sensitized kidney transplant recipients. *Kidney Int*. 2013;83:1185-92.
42. Kikić Ž, Kainz A, Kozakowski N, Oberbauer R, Regele H, Bond G, et al. Capillary C4d and Kidney Allograft Outcome in Relation to Morphologic Lesions Suggestive of Antibody-Mediated Rejection. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10: 1435-43.
43. Loupy A, Vernerey D, Tinel C, Aubert O, Duong van Huyen JP, Rabant M, et al. Subclinical rejection phenotypes at 1 year post-transplant and outcome of kidney allografts. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26:1721-31.
44. Gloor JM, Cosio FG, Rea DJ, Wadei HM, Winters JL, Moore SB, et al. Histologic findings one year after positive crossmatch or ABO blood group incompatible living donor kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2006;6:1841-7.
45. Haas M, Rahman MH, Racusen LC, Kraus ES, Bagnasco SM, Segev DL, et al. C4d and C3d staining in biopsies of ABO- and HLA-

- incompatible renal allografts: correlation with histologic findings. *Am J Transplant.* 2006;6:1829-40.
46. Setoguchi K, Ishida H, Shimmura H, Shimizu T, Shirakawa H, Omoto K, et al. Analysis of renal transplant protocol biopsies in ABO-incompatible kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2008;8:86-94.
 47. Oetli T, Halter J, Bachmann A, Guerke L, Infanti L, Oertli D, et al. ABO blood group-incompatible living donor kidney transplantation: a prospective, single-centre analysis including serial protocol biopsies. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24:298-303.
 48. Rush D, Nickerson P, Gough J, McKenna R, Grimm P, Cheang M, et al. Beneficial effects of treatment of early subclinical rejection: a randomized study. *J Am Soc Nephrol.* 1998;9:2129-34.
 49. Rush D, Arlen D, Boucher A, Busque S, Cockfield SM, Girardin C, et al. Lack of benefit of early protocol biopsies in renal transplant patients receiving TAC and MMF: a randomized study. *Am J Transplant.* 2007;7:2538-45.
 50. Kurtkoti J, Sakhujia V, Sud K, Minz M, Nada R, Kohli HS, et al. The Utility of 1- and 3-Month Protocol Biopsies on Renal Allograft Function: A Randomized Controlled Study. *Am J Transplant.* 2008;8:317-23.
 51. Buchmann TN, Wolff T, Bachmann A, Guerke L, Steiger J, Mihatsch MJ, et al. Repeat true surveillance biopsies in kidney transplantation. *Transplantation.* 2012;93:908-13.
 52. El Ters M, Grande JP, Keddiss MT, Rodrigo E, Chopra B, Dean PG, et al. Kidney allograft survival after acute rejection: the value of follow-up biopsies. *Am J Transplant.* 2013;13:2334-41.
 53. Pascual J. Steroid avoidance or withdrawal in kidney transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2011;16:600-5.
 54. Gotti E, Perico N, Perna A, Gaspari F, Cattaneo D, Caruso R, et al. Renal transplantation: can we reduce calcineurin inhibitor/stop steroids? Evidence based on protocol biopsy findings. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14:755-66.
 55. Hricik DE, Formica RN, Nickerson P, Rush D, Fairchild RL, Poggio ED, et al. Adverse Outcomes of Tacrolimus Withdrawal in Immune-Quiescent Kidney Transplant Recipients. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26:3114-22.
 56. Hazzan M, Buob D, Labalette M, Provot F, Glowacki F, Hoffmann M, et al. Assessment of the risk of chronic allograft dysfunction after renal transplantation in a randomized cyclosporine withdrawal trial. *Transplantation.* 2006;82:657-62.
 57. Heilman RL, Cortese C, Geiger XJ, Younan K, Wadei HM, Mai ML, et al. Impact of early conversion from tacrolimus to sirolimus on chronic allograft changes in kidney recipients on rapid steroid withdrawal. *Transplantation.* 2012;93:47-53.
 58. Rostaing L, Hertig A, Albano L, Anglicheau D, Durrbach A, Vuiblet V, et al. Fibrosis progression according to epithelial-mesenchymal transition profile: a randomized trial of everolimus versus CsA. *Am J Transplant.* 2015;15:1303-12.
 59. Ortiz F, Gelpi R, Koskinen P, Manonelles A, Räisänen-Sokolowski A, Carrera M, et al. IgA nephropathy recurs early in the graft when assessed by protocol biopsy. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27:2553-8.
 60. El Zoghby ZM, Grande JP, Fraile MG, Norby SM, Fervenza FC, Cosio FG. Recurrent idiopathic membranous nephropathy: early diagnosis by protocol biopsies and treatment with anti-CD20 monoclonal antibodies. *Am J Transplant.* 2009;9:2800-7.
 61. Elfadawy N, Flechner SM, Liu X, Schold J, Tian D, Srinivas TR, et al. The impact of surveillance and rapid reduction in immunosuppression to control BK virus-related graft injury in kidney transplantation. *Transpl Int.* 2013;26:822-32.
 62. Ibrahim HN, Jackson S, Connaire J, Matas A, Ney A, Najafian B, et al. Angiotensin II blockade in kidney transplant recipients. *J Am Soc Nephrol.* 2013;24:320-7.