



**VALIDACIÓN DE MARCADORES DE
PRONÓSTICO EN LA EVOLUCIÓN INICIAL DEL
TRASPLANTE RENAL.**



**FACULTAD DE MEDICINA.
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**

**VALIDACIÓN DE
MARCADORES DE
PRONÓSTICO EN LA
EVOLUCIÓN INICIAL DEL
TRASPLANTE RENAL**

GUADALUPE TABERNEIRO FERNÁNDEZ.

SALAMANCA, 2015



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

Departamento de Fisiología y Farmacología

LA DOCTORA DÑA. MARÍA JESÚS MONTE RÍO, DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

CERTIFICA:

Que el presente trabajo, elaborado por la Licenciada en Medicina y Cirugía, Guadalupe Tabernero Fernández para optar al Grado de Doctor, con el título "**Validación de marcadores de pronóstico en la evolución inicial de trasplante renal**", ha sido realizado bajo la dirección de las Doctoras Dña. Ana Isabel Morales Martín y Dña. Marta Prieto Vicente, en el Departamento de Fisiología y Farmacología de la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, expide y firma el presente certificado en Salamanca, a 10 de Diciembre de 2015

Fdo.: Dra. Dña. María Jesús Monte Río.



UNIVERSIDAD
DE SALAMANCA

Departamento de Fisiología y Farmacología

LA DOCTORA DÑA. ANA ISABEL MORALES MARTÍN, PROFESORA TITULAR DE TOXICOLOGÍA DEL DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA, Y LA DOCTORA DÑA. MARTA PRIETO VICENTE, PROFESORA CONTRATADA DOCTORA DE TOXICOLOGÍA DEL DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

CERTIFICAN:

Que el presente trabajo, titulado "**Validación de marcadores de pronóstico en la evolución inicial de trasplante renal**", presentado por la Licenciada en Medicina Guadalupe Taberero Fernández, para optar al Grado de Doctor, ha sido realizado bajo su dirección en el Área de Toxicología del Departamento de Fisiología y Farmacología de la Universidad de Salamanca, consideran que cumple las condiciones necesarias y autorizan su presentación con el fin de que pueda ser defendido ante el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, expiden y firman el presente certificado en Salamanca, a 10 de diciembre de 2015

Fdo: Dra. Dña. Ana Isabel Morales Martín

Fdo.: Dra. Dña. Marta Prieto Vicente

Esta tesis doctoral ha sido parte de un proyecto de investigación financiado por la Consejería de Sanidad de la Junta de Castilla y León (Referencia: BIO/SA69/14) con la cuantía de 14.607E.

En el proyecto ha colaborado el siguiente grupo de investigadores a parte la doctoranda

- Marta Prieto Vicente, con DNI 07974211L.
- Ana Isabel Morales Martín con DNI 11764194Q.
- Moisés Pescador Garriel, con DNI 07879300Y.
- Laura Prieto García con DNI 70885489H.
- Miguel Fontecha Barriuso con DNI 16620892B.
- Elena Ruiz Ferreras con DNI 71015215R.

“ No siempre los más altos llegan más arriba, no siempre los más rápidos llegan antes, no siempre los más fuertes son los que ganan la batalla. Pero los que más entrenan, más se esfuerzan y más creen en el equipo son los que más veces conseguirán la victoria”.

Pau Gasol.

AGRADECIMIENTOS

Durante este tiempo que he estado haciendo la tesis doctoral, he aprendido a valorar mucho el trabajo de los investigadores experimentales, ya que dedican muchísimo tiempo y esfuerzo en su labor diaria, incluso a veces sin obtener los resultados deseados, a pesar de todas las horas de trabajo y la ilusión que depositan en el día a día, siendo una parte fundamental del desarrollo de la Medicina y de todas las Ciencias de Salud.

Aunque ha sido una etapa dura, de sacrificio, (en la que a veces me sentía culpable si no estaba haciendo otra cosa que no fuera la tesis), ha sido un periodo más de aprendizaje en mi vida, en la que he conocido a gente que me ha apoyado, me ha ayudado, y ha confiado en mí desde el principio. Y que hace que mi carrera esté un poquito más completa, sobre todo la parte investigadora.

Quiero agradecer a Ana Isabel Morales, directora de esta tesis su optimismo, su comprensión, su paciencia y su ánimo en todo momento, y a Marta Prieto, la otra directora, todo el tiempo que le he robado, todas sus sonrisas a pesar de mis momentos de desesperación, y toda la ayuda que me ha prestado, sin la cuál esta tesis no hubiera salido adelante.

Además quiero dar las gracias:

A todos los pacientes trasplantados, por haberme dejando extraerles sangre y haber traído dos tubos de orina a la consulta durante 3 meses.

A todas las enfermeras y auxiliares del Servicio de Nefrología, por recogerme las muestras de los enfermos cuando estaban ingresados.

A Lola Andrés, la enfermera de la Consulta de Trasplante, por ayudarme todos los días "con el estudio" y decirme creatininas por teléfono.

A los residentes del Servicio de Nefrología, por ayudarme a llevar las muestras al Biobanco, y por dejarme trabajar en la tesis cuando estaba con ellos de guardia, si ésta lo permitía.

A María Jesús, responsable del Biobanco del CAUSA, por su amabilidad y disponibilidad en todo momento, y por todos los email que me ha mandado con la información que yo necesitaba.

A todos mis compañeros del Servicio de Nefrología, por darme tiempo cuando había un pequeño ratito en el Servicio, facilitarme teléfonos y contactos de interés, creer que esto podía salir adelante, animarme y avisarme siempre que no había trasplante para llevarme el ordenador y sacar alguna hora de trabajo por la mañana si ésta se daba bien.

A Elena Ruiz Ferreras, por ser parte de este proyecto, y querer llevar muestras al biobanco incluso cuando no las había.

A Moisés Pescador por toda su ayuda con la estadística y explicarme los resultados como si estuviera tratando de encestar tiros libres.

A todos mis amigos, por apoyarme en el esfuerzo, y ayudarme a continuar, aunque les tuviera que decir cuando había planes, "no puedo, tengo que trabajar en la tesis".

A mis hermanos Carlos y José Matías, a mis cuñadas, Ana y Cristina, y a mis sobrinos, Pablo y Marta, por estimularme a empezar, por ayudarme a continuar, y por hacerme reír cuando más lo necesitaba.

A Nevil, ya que esto no hubiera salido adelante sin ti. Y por eso, voy a escribirlo en inglés. Thank you for being my CM. Thank you for all the time you have spent with the graphs, the spreadsheet, the sections, and all the times you have told me.. "you need to do your thesis" Thank you CM. You're part of this, and you know it. You will remember Ulverston for the project and I will remember Ulverston for this -our-project!.

A mis padres, por estar siempre conmigo, en los buenos y malos momentos, ayudarme si el desánimo era el "compañero del día", y demostrarme día a día con su ejemplo, que el trabajo y el esfuerzo constante, es la única manera de conseguir lo que te propones.

A mis padres, a mis hermanos y
cuñadas, a mis sobrinos y a Nevil.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- ACV: accidente cerebrovascular.
- AP-1: proteína 1
- APC: célula presentadora de antígeno
- ARA II: antagonista del receptor de la angiotensina II
- ATG: Globulina Antilinfocitaria
- BUN: *blood urea nitrogen*
- CAUSA: Complejo Asistencial Universitario de Salamanca
- CICr: Aclaramiento de creatinina
- CMIA: Inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas
- CsA: Ciclosporina
- DHODH: dihidroorato deshidrogenasa
- DM: Diabetes Mellitus
- EDTA: ácido etildiaminotetraacético.
- EEM: error estándar de la media.
- ELISA: *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*
- ERC: Enfermedad Renal Crónica
- FKBP-12: *FK binding protein*
- FRI: función retrasada del injerto
- HRP: *Horse radish peroxidase*
- IBSAL: Instituto Biosanitario de Salamanca
- IECA: inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina.
- I-mtor: Inhibidor de m-tor
- IL: Interleuquina
- IMC: índice de masa corporal
- IMDPH: idenosina monofosfato deshidrogenasa
- JAK-3: Janus Kinasa
- JNK: quinasa N terminal c-jun
- KIM: *kidney molecular injury-1*
- M-tor: *mamalian target of rapamicina*
- MAP: proteína activada por mitógenos

Abreviaturas

- MDRD: *Modification of Diet in Renal Disease*
- MMF: Micofenolato mofetil
- MNP-GlcNAc: 2-metoxi-4-(2nitrovinilo)-fenil 2-acetamido- 2-deoxi- β -D-glucopiranosido
- MPA: Ácido Micofenólico
- MPS: micofenolato de sodio
- NAG: N-acetil-d-glucosaminidasa
- NFAT: factor nuclear de transcripción de las células T
- NF-kB: factor kb nuclear de la proteinquinasa
- NGAL: *neutrophil gelatinase associated lipocaine*
- NTA: necrosis tubular aguda
- ONT: Organización Nacional de Trasplante
- PI-3K: fosfosinotol 3 kinasa
- RCF: *relative centrifugal force*
- SRL: Sirolimus
- TAC: Tacrólimus
- TCE: traumatismo craneoencefálico.
- TG: Timoglobulina
- TGF- β : transforming growth factor- β
- TMB: tetrametilbenzidina
- TR: Trasplante Renal
- TRS: tratamiento renal sustitutivo

| | |
|--|-------------|
| 1. INTRODUCCIÓN | Págs. 2-45 |
| 1.1. Evolución histórica del Trasplante Renal y de los fármacos inmunosupresores. | Págs. 2-5 |
| 1.2. Mecanismo de acción de los diferentes fármacos inmunosupresores y efectos secundarios | Págs. 6-15 |
| 1.2.1. Corticoides | Págs. 7-8 |
| 1.2.2. Inhibidores de la Calcineurina | Págs. 8-10 |
| 1.2.3. Inhibidores de la síntesis de purinas | Págs. 10-11 |
| • <i>Azatioprina</i> | |
| • <i>Mofetil micofenolato y Ácido Micofenólico</i> | |
| 1.2.4. Inhibidores de la señal m-tor | Págs. 11-12 |
| 1.2.5. Agentes biológicos inmunosupresores | Págs. 13-15 |
| • <i>Anticuerpos monoclonales y policlonales</i> | |
| ○ OKT3 | |
| ○ Timoglobulina | |
| ○ Alemtuzumab | |
| • <i>Anticuerpos monoclonales inhibidores de los receptores de la interleuquina-2 (anti IL-2 o antiCD25)</i> | |
| • <i>Inmunoglobulinas Humanas Intravenosas</i> | |
| 1.3. Alteración de la función renal en el paciente trasplantado | Págs. 16-35 |
| 1.3.1. Complicaciones vasculares del injerto renal. | Pág. 16 |

Índice

| | |
|--|-------------|
| 1.3.2. Factores mecánicos: obstrucción de la vía urinaria o alteraciones urológicas. | Págs.16-17 |
| 1.3.3. NTA o función retrasada del injerto | Págs. 17-22 |
| 1.3.4. Rechazo Agudo | Págs. 22-32 |
| • <i>Rechazo Agudo Celular</i> | |
| • <i>Rechazo Agudo Humoral</i> | |
| 1.3.5. Nefrotoxicidad | Págs. 32-35 |
| 1.4. Diagnóstico de daño renal agudo | Págs. 36-45 |
| 1.4.1. Marcadores diagnósticos habituales en la práctica clínica | |
| | Págs. 36-39 |
| 1.4.1 a) <i>Creatinina plasmática</i> | Pág. 36 |
| 1.4.1 b) <i>Urea</i> | Págs. 36-37 |
| 1.4.1 c) <i>Filtrado glomerular</i> | Págs. 37-38 |
| 1.4.1 d) <i>Análisis de orina</i> | Pág. 38-39 |
| 1.4.1 e) <i>Estudio histopatológico del riñón</i> | Pág. 39 |
| 1.4.1 f) <i>Composición de la orina y marcadores de daño renal</i> | Pág. 39 |
| 1.4.2. Marcadores sensibles y tempranos de daño renal agudo | |
| | Págs. 40-45 |
| 1.4.2 a) <i>NAG</i> | Págs. 41-42 |

Índice

| | |
|--|--------------|
| 1.4.2 b) <i>NGAL</i> | Págs. 42 |
| 1.4.2 c) <i>KIM-1</i> | Págs. 43-45 |
| 2. HIPÓTESIS y OBJETIVOS | Págs. 48-49 |
| 3. MATERIAL Y MÉTODOS | Págs. 52-61 |
| 3.1. Criterios de inclusión de los pacientes | Pág. 52 |
| 3.2. Criterios de exclusión de los pacientes. | Pág. 52 |
| 3.3. Fechas de inclusión de los pacientes. | Págs. 52-55 |
| 3.4. Recogida de muestras. | Pág.56 |
| 3.5. Conservación y procesamiento de muestras. | Pág. 56 |
| 3.5.1. Conservación de muestras de sangre | |
| 3.5.2. Conservación de muestras de orina | |
| 3.6. Parámetros analíticos solicitados de la población estudiada. | |
| | Págs. 56-60 |
| 3.7. Seguimiento clínico. | Págs. 60-61 |
| 3.7.1. Datos del donante | |
| 3.7.2. Datos del receptor | |
| 3.8. Análisis estadístico. | Pág. 61 |
| 4. RESULTADOS | Págs. 64-120 |
| 4.1. Resultados descriptivos. | Págs. 64-83 |
| 4.1.1. Pacientes incluidos en el estudio | Pág. 64 |
| 4.1.2. Tipos de Trasplante Renal | Págs. 64-65 |

Índice

| | |
|--|--------------|
| 4.1.3. Sexo de los donantes | Págs. 66-67 |
| 4.1.4. Edad de los donantes | Págs. 67-68 |
| 4.1.5. Causas de muerte de los donantes | Págs. 68-69 |
| 4.1.6. Sexo de los receptores | Págs. 69-70 |
| 4.1.7. Edad de los receptores | Págs. 70-71 |
| 4.1.8. Causas de Insuficiencia Renal Crónica de los receptores | Págs. 71-72 |
| 4.1.9. Tipo de inmunosupresión | Págs. 72-75 |
| 4.1.10. Tiempo de isquemia fría | Págs. 75-76 |
| 4.1.11. Niveles de inmunosupresores | Pág. 77 |
| 4.1.12. Rechazo y tipos de rechazo | Págs. 77-79 |
| 4.1.13. Necrosis Tubular Aguda | Págs. 79-80 |
| 4.1.14. Rechazo Agudo y Necrosis Tubular Aguda | Págs. 81-82 |
| 4.1.15. Administración de fármacos y agentes nefrotóxicos. | Págs. 82-83 |
| 4.2. Análisis de los datos. | Págs. 84-120 |
| 4.2.1. Relación de los marcadores urinarios con la creatinina plasmática. | Págs. 84-88 |
| 4.2.1 a) <i>Relación de la NAG urinaria con la creatinina plasmática.</i> | |
| 4.2.1 b) <i>Relación de la NGAL urinaria con la creatinina plasmática.</i> | |
| 4.2.1 c) <i>Relación del KIM-1 urinario con la creatinina plasmática.</i> | |

4.2.2. Relación de los marcadores urinarios con los tipos de trasplante. Págs. 88-91

4.2.2 a) *Relación de la NAG urinaria con los tipos de trasplante.*

4.2.2 b) *Relación de la NGAL urinaria con los tipos de trasplante.*

4.2.2 c) *Relación del KIM-1 urinario con los tipos de trasplante.*

4.2.3. Relación de los marcadores urinarios con los diferentes eventos en el post-trasplante inmediato. Págs. 92-120

4.2.3 a) *Relación de la NAG urinaria con los diferentes eventos en el post-trasplante inmediato.* Págs. 92-98

- Relación de la NAG urinaria con los tipos de Trasplante Renal.
- Relación de la NAG urinaria con Rechazo Agudo.
- Relación de la NAG urinaria con Necrosis Tubular Aguda.
- Relación de la NAG urinaria con Rechazo Agudo y Necrosis Tubular Aguda.
- Relación de la NAG urinaria con el tiempo de isquemia fría.
- Relación de la NAG urinaria con la administración de agentes nefrotóxicos.
- Relación de la NAG urinaria con el tiempo de estabilización.

4.2.3 b) *Relación de la NGAL urinaria con los diferentes eventos en el post-trasplante inmediato.* Págs. 99-111

- Relación de la NGAL urinaria con los tipos de Trasplante Renal.
- Relación la NGAL urinaria con Rechazo Agudo.
- Relación de la NGAL urinaria con Necrosis Tubular Aguda.
- Relación de la NGAL urinaria con Rechazo Agudo y Necrosis Tubular Aguda.

Índice

- Relación de la NGAL urinaria con el tiempo de isquemia fría.
- Relación de la NGAL urinaria con la administración de agentes nefrotóxicos.
- Relación de la NGAL urinaria con el tiempo de estabilización.

4.2.3 c) *Relación del KIM-1 urinario con los diferentes eventos en el post-trasplante inmediato.* Págs. 112-120

- Relación del KIM-1 urinario con los tipos de Trasplante Renal.
- Relación del KIM-1 urinario con Rechazo Agudo.
- Relación del KIM-1 urinario con Necrosis Tubular Aguda
- Relación del KIM-1 urinario con Rechazo Agudo y Necrosis Tubular Aguda
- Relación del KIM-1 urinario con tiempo de isquemia fría
- Relación del KIM-1 urinario con administración de agentes nefrotóxicos.
- Relación del KIM-1 urinario con el tiempo de estabilización.

5. DISCUSIÓN

Págs. 124-138

6. CONCLUSIONES

Pág. 142

7. BIBLIOGRAFÍA

Págs. 146-165

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Evolución histórica del Trasplante Renal y los inmunosupresores.

El trasplante de órganos, y en especial el Trasplante Renal (TR), ha supuesto un gran avance en los últimos 50 años, siendo quizá uno de los mayores "hitos" del siglo XX. Desde que se realizó el primer TR en Boston, (EE.UU.), entre dos gemelos idénticos en el año 1954 ⁽¹⁾ ha mejorado mucho la técnica quirúrgica, el tratamiento médico posterior a la cirugía, se han desarrollado mejores fármacos inmunosupresores, y ha disminuido la incidencia de infecciones entre estos enfermos. El TR es el tratamiento de elección para todos aquellos que sufren Enfermedad Renal Crónica (ERC), y su condición física lo permite, ya que aumenta la supervivencia cuando se compara con aquellos que permanecen en lista de espera y más aún con respecto a los que reciben tratamiento renal sustitutivo (TRS) con hemodiálisis o diálisis peritoneal ⁽²⁾.

Según datos de la Organización Nacional de Trasplante (ONT), España es líder mundial en donación y trasplante de órganos. En el año 2014, se volvió a batir un record histórico, realizándose un total de 4.360 trasplantes de órganos sólidos, de los cuales 2.678 fueron trasplantes renales. También se ha evolucionado mucho en las diferentes categorías de TR, ya que si hasta el año 2003 prácticamente solo se realizaba trasplante de donante cadáver y el trasplante de donante vivo era testimonial, ahora ha aumentado esta modalidad, (trasplante de donante vivo), habiéndose realizado 423 en el año 2014, incluyendo trasplante cruzado (43 de los 423) y con donante en asistolia tipo II y tipo III de Maastricht, con 191 donantes el año pasado. Esto hace que aumenten las variables que hay que controlar, para obtener una mejor supervivencia, tanto del injerto como de los pacientes trasplantados.

Uno de los puntos importantes para poder lograr una mayor supervivencia, es ofrecer a cada paciente el tratamiento inmunosupresor más adecuado según sus características. Existen varios agentes

Introducción

terapéuticos que pueden ayudar a lograr este objetivo. El primer intento de inmunosupresión fue la irradiación total del organismo. Posteriormente, aparecieron fármacos como la Azatioprina, desde los años 60 que se usaba asociada a Corticoides. La incidencia de Rechazo Agudo (RA) con esta combinación era del 80%. Desde la mitad de los años 70 se pudo disponer de los anticuerpos policlonales antitimocíticos (ATG) y globulina antilinfocítica (ALG), que se utilizaron para el tratamiento del rechazo corticorresistente utilizando como protocolo de base Azatioprina y Corticoides. Los resultados de los primeros años mostraron una supervivencia del injerto del 50% y una mortalidad, principalmente de causa infecciosa, del 10-20%. El cambio fundamental en los resultados del TR en los años 80 fue debido a la introducción de la Ciclosporina (CsA) como inmunosupresor básico asociado a Corticoides. La tasa de RA disminuyó hasta el 40-50% y la supervivencia del injerto al año aumentó al 80% con una mortalidad más baja, debido a la disminución de la dosis de Corticoides y a los avances quirúrgicos y médicos mencionados. El tratamiento habitual consistía en doble terapia: Corticoides a dosis bajas, y CsA, y en ocasiones se usaba una triple terapia con Azatioprina como agente coadyuvante. El principal problema de la CsA es su efecto nefrotóxico, tanto agudo y reversible, como crónico, con gran influencia en la supervivencia del injerto a largo plazo. En el año 1985 estuvo disponible el primer anticuerpo monoclonal utilizado en la práctica clínica: el OKT3. Se utilizó como tratamiento del RA corticorresistente con gran eficacia, pero con importantes efectos secundarios, como el síndrome de la primera dosis por liberación de citoquinas. Algunos grupos lo utilizaron como tratamiento de inducción ^(3, 4, 5, 6,7).

En el año 1992 se diseñó un estudio con Micofenolato Mofetil (MMF), considerado el mejor diseñado hasta entonces, con una disminución en la incidencia de rechazo, cuando se combinaba con Corticoides y CsA, de hasta de un 17%, con relativamente pocos efectos secundarios ⁽⁸⁾. Casi a la vez que el MMF apareció Tacrólimus (FK506,

Introducción

TAC) como una alternativa a la CsA. TAC asociado a Corticoides (en algunos casos con Azatioprina) mostraba una reducción significativa del RA comparado con CsA, si bien no mostraban diferencias los resultados de supervivencia al año ⁽⁹⁾. Gracias a estos resultados, se fue aumentando paulatinamente el uso del TAC en TR. Posteriormente comenzaron a usarse como agentes de inducción dos anticuerpos monoclonales: Basiliximab y Dacluzimab, que demostraron disminuir la tasa de RA y ser muy seguros ^(10,11).

Después de varias investigaciones, y tras la aparición del estudio Symphony ⁽¹²⁾ la triple terapia consistente en Corticoides, TAC y MMF se aceptó de manera universal por la mayoría de los grupos que realizaban TR, al obtener excelentes resultados tanto en RA (en torno a un 15%) como en supervivencia (95% del injerto y 100% del paciente), por lo que actualmente se considera la terapia estándar en TR. A finales de 1999, apareció un nuevo fármaco, Sirolimus (SRL), un inhibidor de mtor (i-mtor), que fue aceptado en EE.UU y Europa unos meses más tarde como inmunosupresor eficaz en TR. Combinado con Corticoides y CsA, redujo la tasa de RA ⁽¹³⁾. Un poco más tarde se ha desarrollado otro fármaco similar, también i-mTor, denominado Everolimus (ERL). Otros fármacos que han aparecido en los últimos años, han sido el Ácido Micofenólico (MPA) similar al MMF, con cubierta entérica que también se usa en TR ⁽¹⁴⁾, y el TAC de liberación retardada, que han permitido ampliar el arsenal terapéutico de la inmunosupresión. Como ya se comentó previamente, actualmente se usa una terapia estándar en la mayoría de los centros, con TAC, MMF y Corticoides, pero prácticamente todos los grupos usan agentes de inducción, como Basiliximab, o Timoglobulina (TG), ya que han cambiado las características de los donantes (cada vez los donantes son más añosos, con criterios expandidos, asistolia, etc.) y receptores. El aumento de la esperanza de vida y de la supervivencia tanto de injerto como de pacientes, ha hecho que nos encontremos cada vez más receptores que optan a un segundo, tercer y en casos excepcionales,

Introducción

hasta un cuarto trasplante ⁽¹⁵⁾, por lo que presentan mucho más riesgo inmunológico. Otros fármacos que se han desarrollado para la inducción en el TR son Alemtuzumab (anticuerpos anti CD52), TG, más en EE.UU y globulina antilinfocitaria (ATG) en Europa. Además de todos estos medicamentos, existen otros que se han usado para la prevención y el tratamiento del RA mediado por anticuerpos, como el Rituximab, anticuerpo monoclonal humanizado anti-CD20, también usado para la enfermedad linfoproliferativa post-trasplante, así como el Bortezomib, inhibidor del proteasoma, y el Eculizumab, un anticuerpo monoclonal anti-C5a ^(16, 17).

1.2. Mecanismos de acción de los diferentes fármacos inmunosupresores.

La mayoría de los fármacos citados previamente actúan sobre la célula T, bien deplecionando linfocitos, alterando el tráfico de los mismos, o bloqueando las tres señales existentes para la activación de linfocitos.

Las tres señales son las siguientes:

Señal 1: es una respuesta antígeno específica desencadenada por la célula presentadora de antígeno (APC) activando el complejo TCR-CD3 (receptor de la célula T).

Señal 2: es una respuesta no antígeno específica activada por la unión de receptor B7 de la APC en el receptor CD28 de la célula T.

Estas dos señales activan 3 vías, la de la calcineurina, la de la proteína kinasa activada por mitógenos (MAP) y la del factor nuclear kB (NF-kB) que a su vez activa el factor nuclear de transcripción de las células T (NFAT) activando la proteína 1 (AP-1) y el NF-kB respectivamente. El resultado es la expresión de CD154, que a su vez estimula las células presentadoras de antígeno, la cadena alfa del receptor de la interleuquina-2 (IL-2, CD25) y la IL-2. Los receptores para varias citoquinas (IL-2, IL-4, IL-7, IL-15 e IL-21) comparten la cadena alfa, que se une a la Janus Kinasa, (JAK-3). IL-2 y IL-3 estimulan la Señal 3 a través de la vía del fosfosinotol 3 kinasa (PI-3K) y a la vía molecular de la rapamicina (*mamalian target of rapamicina*: m-tor) que inicia el ciclo celular. Los linfocitos necesitan la síntesis de purinas y pirimidinas para su replicación, regulados por la idenosina monofosfato deshidrogenasa (IMDPH) y la dihidroorato deshidrogenasa (DHODH) (Figura 1) ⁽¹⁸⁾.

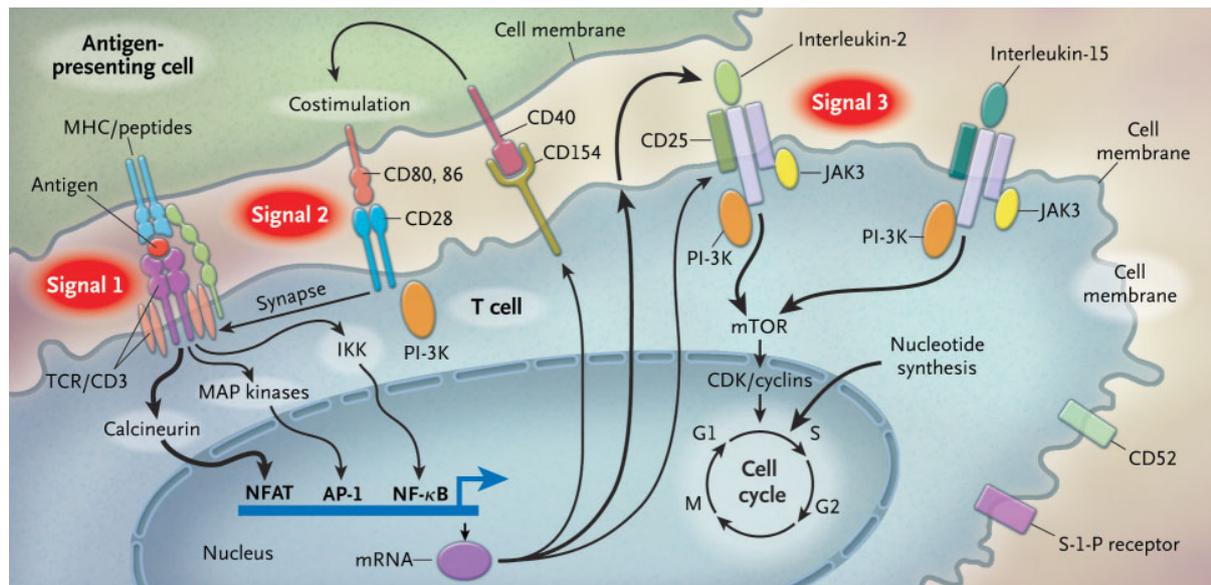


Figura 1: Vías de acción de los fármacos inmunosupresores.

HALLORAN P, *Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. N Engl J Med* 2004.351:2715-29 ⁽¹⁸⁾.

1.2.1. Corticoides:

Las acciones tan diversas de los Corticoides se deben a que la mayoría de los mamíferos tienen tejidos con receptores de Corticoides dentro del citoplasma celular y por tanto pueden actuar sobre ellos. Principalmente bloquean la célula T y la expresión de las citoquinas derivadas de la APC. Inhiben la función dendrítica de las APC, que es la más importante. Inhiben la síntesis de IL-1 e IL-6 ⁽¹⁹⁾, lo cual conduce al bloqueo de la diferenciación y proliferación de los linfocitos T. A su vez, su gran capacidad antiinflamatoria depende de la inhibición de la síntesis de otros mediadores de la inflamación como el IFN-gamma y óxido nítrico (Figura 2). Las citoquinas son las responsables de la fiebre asociada en ocasiones a RA, que se resuelve a su vez administrando altas dosis de Corticoides. Los Corticoides producen múltiples y diversos efectos secundarios: linfopenia, y el resto, conocidos de manera universal son derivados de su efecto intenso antiinflamatorio, inmunosupresor, y hormonal sobre los diferentes tejidos: hipertricosis, necrosis avascular, osteoporosis, hiperlipidemia, diabetes esteroidea y alteraciones neuropsiquiátricas ⁽²⁰⁾.

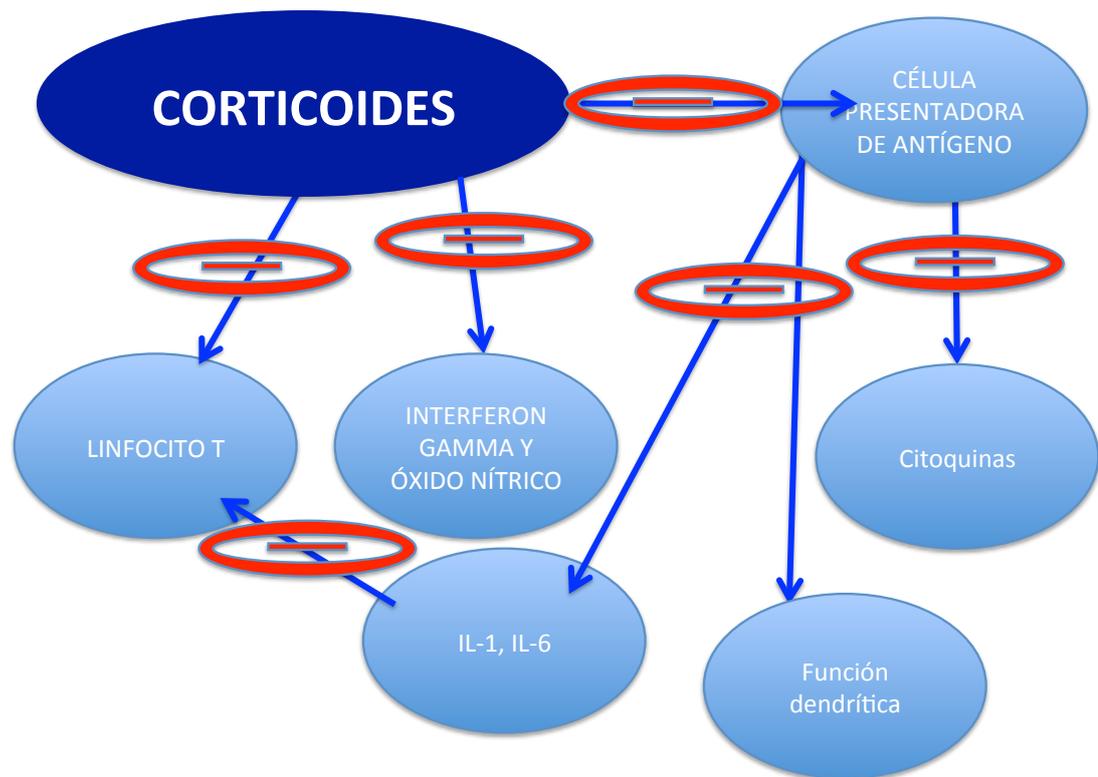


Figura 2: Mecanismo de acción de los Corticoides.

1.2.2: Inhibidores de la calcineurina:

Los principales inhibidores de la calcineurina son la CsA y el TAC. La CsA es un endecapéptido de estructura cíclica que se aisló a partir del hongo *Tolypocladium Inflatum Gams*. Su acción inmunosupresora se debe a la formación de un complejo de CsA con un receptor proteico del citoplasma, la ciclofilina. El complejo CsA-ciclofilina inhibe la acción de la calcineurina (proteínfosfatasa 2B). El TAC es un macrólido aislado a partir del *Streptomyces Tsukubaensis*. El TAC se une también a una inmunofilina del citosol que se denomina FKBP-12 (*FK binding protein*). El complejo TAC-FKBP inhibe la calcineurina con mayor potencia que la CsA. Al inhibir a la calcineurina ambas drogas bloquean la transcripción de los NFAT, permaneciendo las células T en reposo (se bloquea el paso de G0 a G1 después del estímulo de la célula T), impidiendo la síntesis de IL-2 y receptores de la IL-2, IL-4 e IFN-gamma, entre otros. Del bloqueo de la calcineurina se derivan los efectos de CsA y TAC sobre moléculas

Introducción

reguladoras de la activación de los linfocitos T, tales como NF-kB, JNK (quinasa N terminal c-jun), elk-1 y la sintetasa del óxido nítrico ⁽²¹⁾. (Figura 3).

Se han descrito otras acciones que parecen no depender de la inhibición de la calcineurina. Concretamente, y en especial la CsA, aumenta la expresión de *transforming growth factor-β* (TGF-β). Este mecanismo participa también en el efecto inmunosupresor de la CsA, ya que el TGF-β inhibe la proliferación de los linfocitos T estimulados con IL-2. A su vez, el TGF-β es un factor de crecimiento fibroblástico que participa en la fibrosis del intersticio renal asociada al tratamiento con CsA ⁽²²⁾. El principal inconveniente tanto de la CsA como del TAC es su nefrotoxicidad, la cual depende a su vez de la inhibición de la calcineurina, ya que ésta participa en el control vasomotor de los vasos renales a través de la síntesis de óxido nítrico y endotelina ⁽²³⁾.

Los efectos secundarios principales de la CsA además de la nefrotoxicidad, son el síndrome hemolítico-urémico, hipertensión, neurotoxicidad, hiperplasia gingival, hipertricosis, Diabetes Mellitus (DM) post-trasplante, hiperlipidemia, al igual que los del TAC, pero éste provoca en menor medida hirsutismo, hiperplasia gingival, hipertensión e hiperlipemia, aunque más incidencia de DM post-trasplante y neurotoxicidad ⁽²⁴⁾. Del TAC existen en la actualidad dos formas farmacocinéticas diferentes, una con administración cada 12 horas, y otra, de liberación retardada, que se administra cada 24 horas ⁽²⁵⁾.

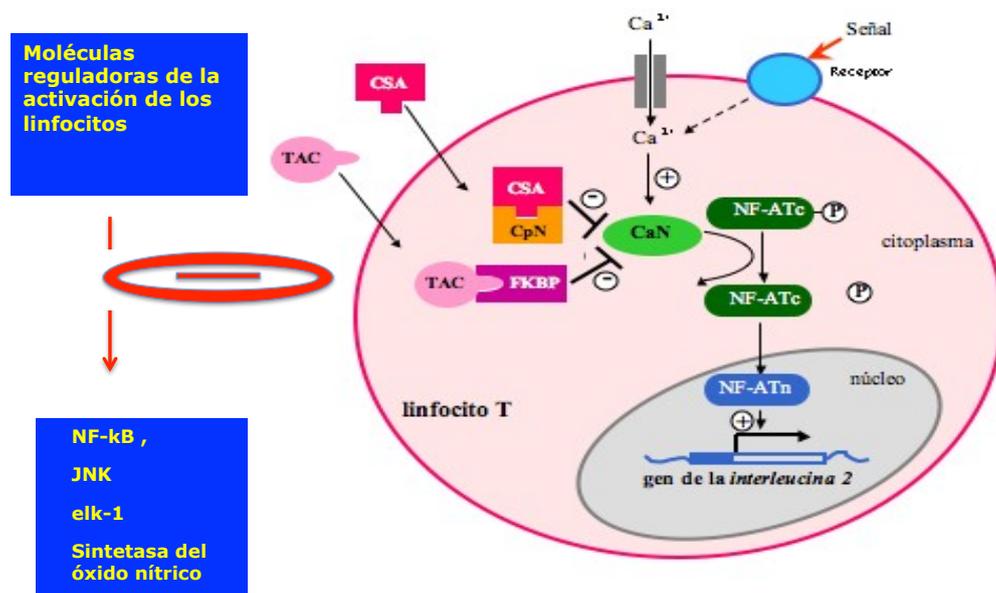


Figura 3: Mecanismo de acción de CsA y TAC. *Figura extraída y modificada de Expert Reviews in Molecular Medicine, 2000, Cambridge University Press* ⁽²⁶⁾

1.2.3. Inhibidores de la síntesis de purinas:

- *Azatioprina:*

La Azatioprina es un antimetabolito, un imidazol que se metaboliza en el hígado a 6-mercaptopurina y a ácido 6-tianosínico (metabolito activo). Inhibe la síntesis de las purinas y su acción antiproliferativa la realiza impidiendo la síntesis de ácidos nucleicos. Es una droga mielosupresora, útil en la prevención del RA, pero no en el tratamiento del mismo. Los efectos secundarios de la Azatioprina son principalmente hematológicos, leucopenia y trombopenia, por lo que es necesario controlar a los pacientes con hemograma seriado cuando reciben este fármaco.

Introducción

- *Mofetil micofenolato (MMF) y micofenolato de sodio (MPS):*

El MMF y el MPS están indicados en la profilaxis del RA del TR. El MPA, principio activo de ambos fármacos, es un inhibidor no-competitivo y reversible de la enzima IMPDH. Este enzima cataliza la conversión de inosina a guanina monofosfato. Su inhibición interfiere la síntesis *de novo* de guanina y la replicación de ADN. El MPA inhibe las dos isoformas de la IMPDH, la constitutiva y la inducible. Sin embargo su actividad inhibidora es cinco veces más potente sobre la isoforma inducible, que es la que se expresa cuando la célula se activa. La actividad antiproliferativa del MPA se dirige de manera preferente hacia los linfocitos T y B, los cuales dependen de la vía *de novo* para la síntesis de purinas ⁽²⁷⁾.

Los efectos secundarios principales son gastrointestinales: diarrea, náuseas, dispepsia y vómitos. Pueden provocar hemorragia digestiva y pueden estar asociados a infección por citomegalovirus. Leucopenia, trombopenia y anemia pueden ser originados por el micofenolato. Es más raro que provoquen enfermedades linfoproliferativas y la leucoencefalopatía multifocal ha sido descrita en muy raras ocasiones. No son nefrotóxicos, ni neurotóxicos, ni hepatotóxicos ⁽²⁸⁾.

1.2.4: Inhibidores de la señal m-tor:

La Rapamicina o SRL es un antibiótico macrólido producido por el *Streptomyces Hygroscopicus*, un actinomiceto aislado originalmente en Rapa Nui. El Everolimus (ERL), es un análogo de la rapamicina, el 40-O-(hidroxietil)-rapamicina. La diferencia fundamental respecto a SRL es su vida media. La del SRL es de 60 horas y se administra cada 24 horas, la de ERL es de 22 horas y debe administrarse cada 12 horas. Al igual que el TAC y la CsA los inhibidores de m-TOR son prodrogas que se unen a una inmunofilina citoplasmática para ejercer su acción, siendo esta inmunofilina la FKBP12, es decir la misma a la que se une el TAC. Sin embargo, su efecto no depende de la inhibición de la actividad de la calcineurina. Al contrario que el TAC, el complejo SRL/ERL-FKBP se une al

Introducción

m-TOR y el complejo resultante inhibe la proliferación celular mediada por el complejo IL-2/receptor IL-2, así como la respuesta celular T y B a otras citoquinas como IL-11, G-CSF y eritropoyetina. Es decir, a diferencia del TAC y CsA, SRL y ERL bloquean la progresión del ciclo celular de la fase G1 a la S. Estas drogas además, no bloquean la apoptosis del linfocito T inducida por IL-2, mecanismo que explicaría su efecto sinérgico con el bloqueo de la señal coestimuladora ⁽²⁹⁾, (Figura 4). Actúan de manera sinérgica tanto con CsA como con TAC, obligando al uso de bajas dosis de estos para evitar el desarrollo de nefrotoxicidad. Sus principales efectos adversos son: anemia, leucopenia, aunque menos que con MMF, plaquetopenia, hiperlipidemia (tanto aumento de colesterol como de triglicéridos), retraso de la cicatrización de la herida, proteinuria y neumonitis ⁽³⁰⁾. SRL y ERL pueden tener efectos antineoplásicos y protectores arteriolares.

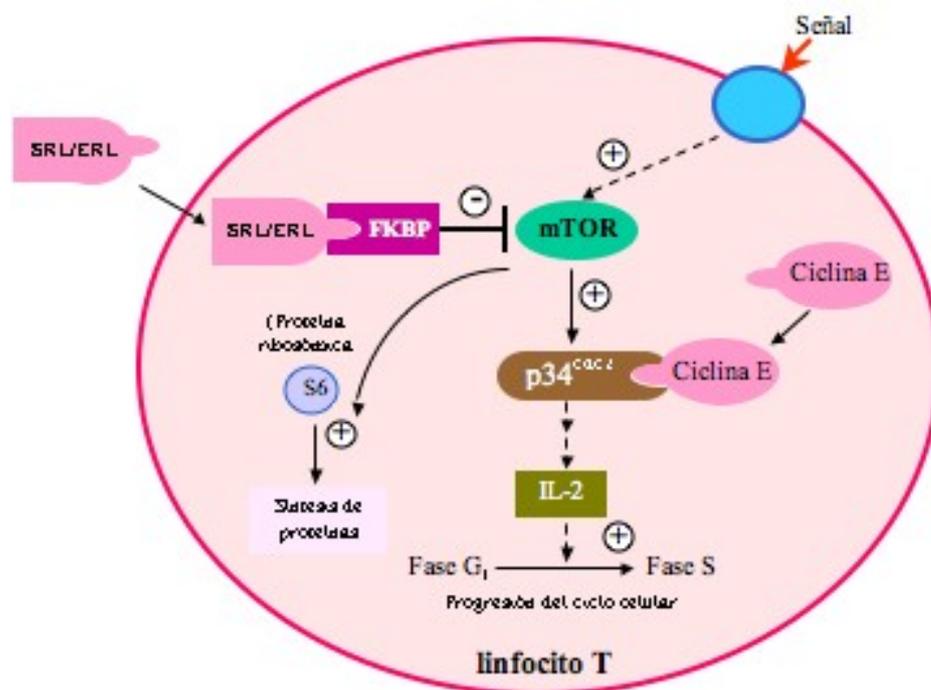


Figura 4: Mecanismo de acción de SRL/ERL

Figura extraída y modificada de *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 2000, Cambridge University Press⁽²⁶⁾

1.2.5 Agentes biológicos inmunosupresores:

- *Anticuerpos monoclonales y policlonales*

- OKT3:

El OKT3 es un anticuerpo monoclonal murino CD3 depletor de linfocitos, que se ha usado desde 1987 pero ha sido prácticamente sustituido por la TG debido a su menor efecto tóxico. Su administración reduce el número de linfocitos T circulantes e induce modulación antigénica CD3 en los linfocitos T periféricos y del injerto renal. Un uso prolongado de OKT3 puede provocar enfermedad linfoproliferativa post-trasplante. También provoca un síndrome de liberación de citoquinas, por lo que hay que administrar pre-medicación cuando se administra, al igual que con TG ⁽³¹⁾.

- Timoglobulina (TG):

La TG es un anticuerpo policlonal derivado de los timocitos de conejos con tejido humano linfoide, que actúan sobre la Inmunoglobulina G y reducen los anticuerpos que actúan sobre los linfocitos y las plaquetas. El mecanismo de acción no se conoce muy bien aún, pero el efecto inmunosupresor se debe a que actúan sobre diferentes marcadores de las células T ⁽³²⁾. El efecto sobre los linfocitos es tan prolongado, que la linfopenia se puede mantener durante un año. Ambos fármacos (OKT3 y TG), producen leucopenia y plaquetopenia, y provocan un síndrome de liberación de citoquinas, consistente en fiebre, escalofríos, artralgias y que obliga a pautar premedicación (Paracetamol, antihistamínicos y Corticoides) con la finalidad de prevenir dicho síndrome.

Un efecto secundario importante de los dos medicamentos, es el linfoma, aunque no es muy frecuente, y otro son las infecciones por virus oportunistas, como el Virus *Epstein Barr* y el Citomegalovirus, por lo que es conveniente administrar profilaxis para evitar la infección por dichos microorganismos durante un tiempo variable ⁽³³⁾.

○ Alemtuzumab:

El Alemtuzumab es un anticuerpo monoclonal humano, que actúa contra los linfocitos que expresan CD52, provocando una intensa depleción linfocitaria ⁽³⁴⁾. De momento, no está disponible en España.

- *Anticuerpos monoclonales inhibidores de los receptores de la interleuquina-2 (anti IL-2 o antiCD25):*

Estos anticuerpos se unen a los linfocitos T activados que expresan el receptor de la IL-2 en su superficie. Por tanto, se diferencian con el OKT3 o la TG en que éstos actúan en todos los linfocitos. Los principales son el Daclizumab y el Basiliximab, el más usado hoy día en la clínica diaria. Tienen una vida media más larga en sangre periférica y no tienen efecto de "primera dosis" a diferencia del OKT3 o la TG. La vida media es superior a siete días, y se suelen administrar dos dosis en la primera semana post-trasplante, (el día 0 y el cuarto postoperatorio). Como ya se ha mencionado antes, son medicamentos sin prácticamente efectos secundarios. En alguna ocasión se ha descrito una reacción anafiláctica con Basiliximab ⁽³¹⁾.

○ Rituximab:

El Rituximab es un anticuerpo monoclonal contra el antígeno CD20 de los linfocitos B. Provoca una rápida depleción de los linfocitos B tras su administración. La recuperación de los linfocitos B tarda unos 6 meses tras su administración. Se ha usado como tratamiento para diferentes entidades (artritis reumatoide, leucemia linfática crónica y vasculitis Anca positivas), además de usarse en TR en protocolos de desensibilización y en pacientes con rechazo mediado por anticuerpos. Puede provocar hipotensión durante su primer uso, y reacción anafiláctica, por lo que es conveniente el uso de paracetamol y difenhidramina antes de usarse. A largo plazo puede provocar enfermedad linfoproliferativa, aunque es raro que ocurra ⁽³⁵⁾.

- *Inmunoglobulinas humanas intravenosas:*

Las inmunoglobulinas humanas intravenosas son preparados de gammaglobulinas humanas que en un principio se usaron para el tratamiento de diversas inmunodeficiencias, y actualmente tienen un gran número de indicaciones, entre otras, la desensibilización en pacientes trasplantados, y el tratamiento del rechazo mediado por anticuerpos. El mecanismo de acción es complejo, pero en enfermos sensibilizados disminuye o elimina los anticuerpos HLA dependientes de los linfocitos T y células B. Los efectos secundarios son poco frecuentes (5%) pero pueden ocasionar fiebre, escalofríos, cefaleas, náuseas, mialgias, artralgias que se resuelven parando la infusión o disminuyendo la dosis administrada. Pueden provocar complicaciones trombóticas incluyendo infarto de miocardio e incluso fracaso renal agudo ⁽³⁶⁾.

1.3. Alteración de la función renal en el paciente trasplantado.

A continuación se detallan las diferentes incidencias que pueden sucederle al receptor de TR desde el post-trasplante inmediato, denominándolo como el periodo que abarca desde la salida del paciente del escenario quirúrgico hasta su alta hospitalaria y las primeras semanas post-trasplante. Éste es un periodo delicado, con una elevada frecuencia de potenciales complicaciones, y en el que se producen cambios evolutivos rápidos que exigen también una rápida adaptación de los cuidados del paciente.

1.3.1. Complicaciones vasculares del injerto renal.

Las complicaciones vasculares del injerto son una complicación muy importante en la evolución inicial del TR, que a su vez condicionarán la función o no del mismo, ya que si no se solucionan a tiempo, ocasionarán la pérdida del injerto (suponen un tercio de las pérdidas dentro de los 3 primeros meses). Ocurren entre un 2-6% de los casos ⁽³⁷⁾. Principalmente son trombosis o infartos arteriales, estenosis de la arteria renal, fístulas arteriovenosas y problemas crónicos arteriales. Se diagnostican por ecografía y gammagrafía de perfusión, y si hay dudas se realizan pruebas radiológicas más invasivas como arteriografía, resonancia magnética nuclear o angiotomografía computerizada (angioTAC) o arteriografía. El tratamiento es bien quirúrgico, o bien por radiología intervencionista, y si no se actúa con rapidez, puede ocasionar la pérdida del injerto obligando a realizar trasplantectomía y vuelta del paciente a TRS.

1.3.2. Factores mecánicos: obstrucción de la vía urinaria o alteraciones urológicas.

La obstrucción de la vía urinaria es muy infrecuente en TR, ya que los pacientes regresan de la intervención quirúrgica con sonda vesical y en la gran parte de las operaciones de la era actual se deja puesto un

catéter doble jota o "pig-tail" que va desde el uréter a la vejiga bien de manera intra o extravésical ⁽³⁸⁾ y evita que suceda esta complicación. Se diagnostica a través de una prueba no invasiva de imagen como una ecografía. Se han descrito marcadores urinarios de pronóstico de función renal, de los que posteriormente se hablará en este manuscrito, en pacientes trasplantados con obstrucción de la vía urinaria, incluso después de haberse resuelto la misma ⁽³⁹⁾.

Existen otras complicaciones, como las fugas o fístulas urinarias, que se diagnostican habitualmente por el aumento de débito en el drenaje y al analizar el líquido del mismo, éste es compatible con un análisis bioquímico similar al del plasma. Se soluciona en algunas ocasiones con sonda vesical y en otras ocasiones, hay que reintervenir al paciente para solucionar este defecto ⁽⁴⁰⁾. Suele alterar la función renal, pero la causa, es extrínseca al injerto.

1.3.3. Necrosis Tubular Aguda o función retrasada del injerto.

La función retrasada del injerto (FRI) es un término clínico ampliamente utilizado en el ámbito asistencial e incluso en la literatura científica, y que sin embargo no tiene una definición universal ni estricta. En general, nos referimos a FRI como aquella situación clínica en la que el trasplante no se sigue de forma inmediata de la adecuada función del injerto renal y el sustrato histológico que lo justifica es la necrosis tubular aguda (NTA). Sin embargo hay que señalar que existen muchas maneras de definir lo que se considera "función no adecuada del injerto", y existen también diversas entidades que pueden causar retraso funcional del injerto a parte de la NTA.

De cualquier modo la FRI es una complicación frecuente pero de gran impacto en el TR ya que incrementa la morbilidad del post-trasplante inmediato, dificulta el manejo clínico, incrementa la estancia hospitalaria, y compromete los resultados a largo plazo. La FRI se ha relacionado con la mortalidad, el RA y la supervivencia del injerto ⁽⁴¹⁾. Es un factor de

Introducción

riesgo independiente para la disminución de supervivencia del injerto a un año post-trasplante, y tiene un impacto especialmente desfavorable sobre la vida media del injerto cuando NTA y rechazo se presentan de forma conjunta, sugiriendo un efecto sinérgico de ambas complicaciones ⁽⁴²⁾.

Aún admitiendo que el retraso de la función del injerto puede tener un amplio rango de expresión clínica, abarcando desde la anuria hasta una disminución de los niveles de creatinina sérica más lenta de lo esperado, la definición más ampliamente aceptada de FRI es la necesidad de TRS durante la primera semana post-trasplante. Esta definición se enfrenta al problema de que la indicación de TRS en esta fase no está protocolizada, y por tanto pueden existir amplias variaciones en su utilización entre diferentes centros sin que por ello las tasas reales de FRI sean diferentes. Partiendo de la definición mencionada las tasas actuales esperadas de FRI se encuentran aproximadamente en un 1-5% para el donante vivo, 20-30% en el donante cadáver por muerte encefálica, y hasta el 60% en el donante en asistolia.

Es muy importante comprender el mecanismo fisiopatológico de la isquemia reperusión, ya que este conocimiento permitirá tener mejores resultados de cara a la supervivencia del injerto.

La isquemia renal, debida a la inestabilidad hemodinámica del donante o asociada a los procesos de extracción y preservación del órgano, desencadena en primer término un aumento del tono vascular en respuesta a la caída de la presión arterial. Si este mecanismo se muestra ineficaz, la isquemia mantenida desencadena una serie de eventos nocivos en la superficie vascular de la célula endotelial. Por una parte, diversos mediadores proinflamatorios activan los receptores *toll-like* de la inmunidad innata, que a su vez estimulan la síntesis de moléculas MHC-1, incrementando la inmunogenicidad de la célula endotelial. Por otra parte, la acumulación de sustancias reactivas de oxígeno y la acidosis desencadenan la fosfolipólisis, y con ello el daño de la membrana de la

Introducción

célula endotelial y la deposición de fibrina mediada por la trombina. En la célula tubular la hipoxia resultante de la isquemia conlleva la degradación del ATP y la formación de superóxido, y la acumulación de ADP que activa AMPK, frenando el metabolismo celular. Sin ATP disponible, se detiene la actividad de la bomba transportadora Na/K ATPasa, derivando en la acumulación de K intracelular y Na intersticial. En estas condiciones la acumulación de radicales libres de oxígeno, una vez sobrepasados los sistemas celulares dirigidos a su neutralización (fundamentalmente la actividad de hemoxigenasa-1), conduce a la interrupción de los procesos metabólicos intracelulares, la alteración del gradiente transcelular de solutos y la disrupción de la superestructura de la célula tubular.

Durante la reperfusión el daño se continúa con la activación de la cascada del complemento mediante la unión de C5b al complejo de ataque de membrana y de C5a a su receptor. En respuesta a la formación de sustancias reactivas de oxígeno los leucocitos se acumulan sobre la superficie endotelial y a su vez, el estrés celular incrementa la expresión de β -integrinas, de receptores de membrana de tipo P-selectina, y de quimocinas como MCP-1, favoreciendo también el reclutamiento de células de inmunidad innata y su diapédesis. Estas células a su vez, especialmente los macrófagos, estimulan la síntesis de citoquinas en células dendríticas residentes, que activarán linfocitos T y reclutarán células de la inmunidad adaptativa sin necesidad de que medie un proceso de presentación de aloantígenos. Las células tubulares próximas secretarán citoquinas proinflamatorias y expresarán moléculas de adhesión que facilitarán la penetración de las células inflamatorias más allá de la pared vascular. Como resultado de todo ello se incrementa la exposición y expresión de antígenos exógenos por las células dendríticas que culminará finalmente en la transformación de linfocitos T-*naive* en linfocitos T efectoras. Por otra parte, el restablecimiento de la suplenencia de oxígeno causará su acumulación en exceso, puesto que no va a ser posible su utilización eficiente debido a la carencia de precursores de los

Introducción

nucleósidos. Finalmente, la acción combinada del óxido nítrico y el peroxinitrato daña la doble hélice de DNA, induce peroxidación lipídica, y conduce a la muerte celular programada (apoptosis) y no programada (necrosis), (Figura 5) ⁽⁴³⁾.

Además de la isquemia-reperfusión inherente a todo trasplante, la muerte cerebral es de por sí un inductor de un estado inflamatorio, que en muchas ocasiones se inicia mucho antes de la extracción del órgano. La lesión inicial es debida a la alteración del tono vascular fruto de una profunda disregulación simpática. A ello se añade una respuesta inflamatoria gobernada por la estimulación autocrina de las células endoteliales, que sobreexpresan moléculas de adhesión, incrementando la acumulación de leucocitos y neutrófilos, y con ello el daño inflamatorio en los tejidos.

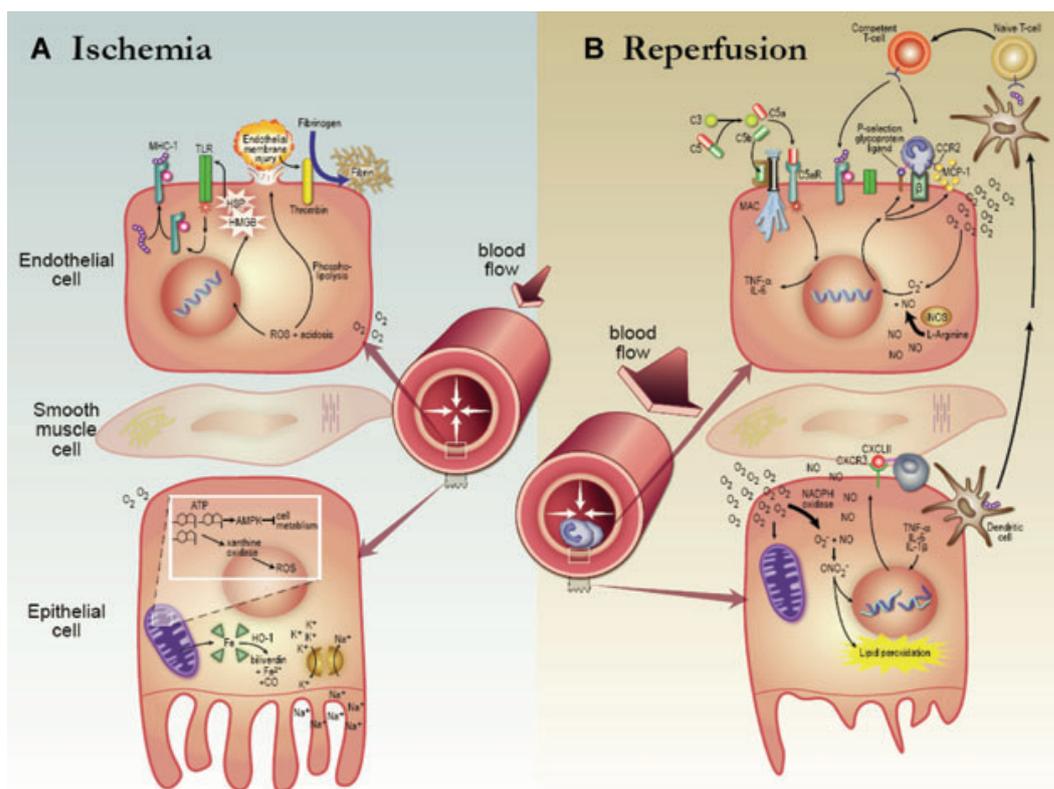


Figura 5. Daño renal por isquemia-reperfusión.

Adaptado de Siedlecki A et al. Delayed graft function in the kidney transplant.

Am J Transplant. 2011(11):2279-96 ⁽⁴³⁾.

Introducción

Existen muchos factores de riesgo que pueden favorecer el desarrollo de NTA. Entre los más importantes se encuentran el tiempo de isquemia fría y el tiempo de isquemia caliente, la creatinina del donante, la historia de hipertensión en el mismo, y el tipo de donación. Por parte del receptor influyen el índice de masa corporal (IMC), el tiempo en diálisis, el número de incompatibilidades HLA, no ser el primer trasplante, la DM, el sexo masculino o la raza negra ⁽⁴⁴⁾.

Ante un paciente trasplantado renal, que no presenta descenso de productos nitrogenados y tiene buena perfusión renal, confirmado por pruebas de imagen (ecografía doppler y renograma isotópico principalmente), las posibilidades diagnósticas que se plantean en este enfermo, y motivo por el que plantearemos realizar una biopsia renal, son el RA y la NTA. En la biopsia renal de la NTA, observaremos signos de apoptosis y/o necrosis del epitelio tubular junto al proceso de regeneración de este epitelio con el fin de restablecer la función del injerto. También puede verse la denudación del epitelio tubular con aplanamiento y descamación de las células tubulares, que aparecen en el interior de la luz formando cilindros, y a la vez, la presencia de signos regenerativos de dicho epitelio, con frecuentes mitosis, microvacuolización anisométrica y núcleos prominentes ⁽⁴⁵⁾, (Figuras 6 y 7).

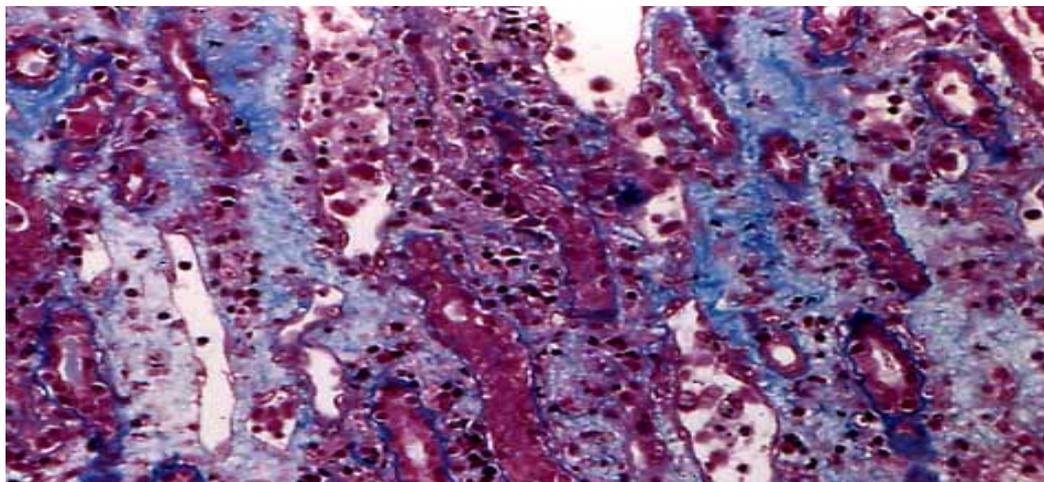


Figura 6: Túbulos con signos de NTA. Importante descamación.

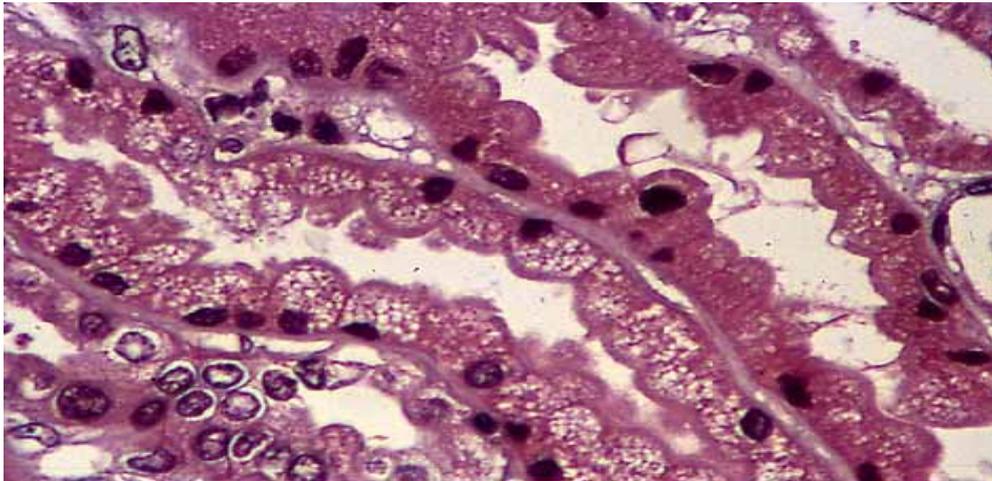


Figura 7: Túbulo proximal con microvacuolización isométrica.

Se han descrito marcadores urinarios como el NGAL, del que se hablará posteriormente, que están aumentados en injertos con NTA y que pueden ser predictores de la función renal a largo plazo ⁽⁴⁶⁾.

1.3.4. Rechazo Agudo.

El RA es el fenómeno inmunológico que ocasiona deterioro agudo de la función del injerto relacionado con cambios histológicos específicos en él ⁽³¹⁾. Puede aparecer de manera precoz o tardía, y si es tardío generalmente tiene peor pronóstico. El RA es más frecuente en los 3 primeros meses post-trasplante, aunque puede ocurrir de forma tardía en cualquier momento de la vida del injerto. El RA tardío es relativamente infrecuente y habitualmente con impacto negativo en la supervivencia del injerto ⁽⁴⁷⁾. Puede aparecer en pacientes que reciben una adecuada inmunosupresión, pero lo habitual es que ocurra en pacientes con mala adherencia al tratamiento o coincidiendo con cambios en el protocolo inmunosupresor. También puede aparecer, a veces, sobreimpuesto al cuadro de disfunción crónica del injerto histológicamente probado. También se ha descrito un RA subclínico, considerado como aquel que presenta daño histológico pero sin clínica de rechazo, que se recomienda tratar como un RA, según las guías KDIGO ⁽⁴⁸⁾.

Introducción

Existen determinados factores que pueden hacer que los receptores sometidos a TR tengan una mayor predisposición a sufrir un RA, siendo estas características propias del receptor: edad joven, raza afroamericana, sexo femenino, retrasplante, alto IMC, infección por VIH o VHC, incompatibilidad HLA, título de anticuerpos donante específicos, o bien del donante: edad avanzada, muerte encefálica, emparejamiento por edad o género donante-receptor, donante en asistolia, tiempo de isquemia fría, si bien no todos los estudios demuestran alto grado de evidencia y asociación con cada uno de los factores (49). Fundamentalmente, existen dos tipos de rechazo, de los que ahora hablaremos con más detalle: *RA Celular* y *RA Humoral*.

Rechazo Agudo Celular:

Es aquel que se produce mediado por la inmunidad celular. Se produce como consecuencia del reconocimiento por parte de los linfocitos T de determinados antígenos de histocompatibilidad del donante. El reconocimiento (señal 1) seguido de la activación de señales de coestimulación (señal 2) favorece la liberación de moléculas mediadoras de la inflamación, citocinas, etc., que contribuyen a la selección de células mononucleadas en el injerto trasplantado en una respuesta inflamatoria y por tanto la disfunción del mismo.

El RA Celular supone un 75-80% de todos los rechazos. Generalmente la clínica consiste en elevación de la creatinina sérica y los productos nitrogenados, siendo estos marcadores tardíos, ya que indican necesariamente un daño histológico. Puede aparecer disminución de la diuresis, oligoanuria, incremento de las cifras de presión arterial y empeoramiento de la proteinuria. Tiempo atrás, existían signos clásicos como fiebre y dolor en la zona del injerto, que ahora son infrecuentes o prácticamente han desaparecido, debido al uso de una potente inmunosupresión. El diagnóstico, una vez descartada la obstrucción de la vía urinaria, y comprobada la adecuada perfusión del injerto, debe

Introducción

realizarse a través de una biopsia renal, y según los hallazgos histológicos clasificaremos el tipo de rechazo, que también determinará el tratamiento y el pronóstico. La clasificación actual utilizada es la clasificación de Banff ⁽⁵⁰⁾ que cada dos años sufre modificaciones, siendo revisada por diferentes grupos de trabajo. El rechazo celular generalmente viene determinado por afectación intersticial (i), tubulitis (t) o afectación vascular-arteritis (v). En el RA celular tipo I o RA intersticial destaca la presencia de un infiltrado intersticial de células mononucleares (linfocitos T, monocitos y macrófagos), ocasionalmente eosinófilos, y rotura de la membrana basal tubular (tubulitis) por las células infiltrantes. No es infrecuente el hallazgo de infiltrados mononucleares sin tubulitis en riñones funcionantes, aunque por sí mismos no son suficientes para llegar al diagnóstico de RA. Los rechazos agudos celulares tipos II y III con afectación vascular (15-30%) se caracterizan por la inflamación del endotelio capilar, necrosis fibrinoide arteriolar, trombos de fibrina en los capilares glomerulares y necrosis cortical en los casos más graves. La participación glomerular se asocia con un peor pronóstico. Se acompaña de un grado variable de infiltrado celular mononuclear intersticial.

La clasificación del RA celular o mediado por linfocitos T es la siguiente, (aunque puede coincidir con otras categorías de rechazo) que se mostrarán posteriormente cuando se hable de todos los tipos de rechazo. Corresponde a la categoría 4 de la clasificación de Banff. ⁽⁵⁰⁾ (Tabla 1)

| | |
|-----|--|
| IA | Casos con infiltración intersticial significativa (> 25% del parénquima afectado i2 o i3) y focos de moderada tubulitis (t2) |
| IB | Casos con infiltración intersticial significativa (>25% del parénquima afectado i2 o i3) y focos de severa tubulitis (t3) |
| IIA | Casos con leve o moderada arteritis intimal (v1) |
| IIB | Casos con severa arteritis intimal que afecta al 25% de la luz (v2) |

Tabla 1. Clasificación del Rechazo Agudo celular.

Existe una categoría (3 en la clasificación general de Banff) denominada como cambios borderline o RA borderline, en la que no hay afectación vascular y que se manifiesta como tubulitis (t1, t2 o t3) con mínima infiltración intersticial (i0 o i1) o infiltración intersticial (i2 o i3) con leve tubulitis (t1).

El tratamiento del RA celular o borderline consiste en administrar bolos intravenosos de Corticoides ⁽⁵¹⁾, con dosis variables según los centros y generalmente con buena respuesta, aunque ésta dependerá del tipo histológico del rechazo, y si no hay respuesta, se suele administrar TG o anticuerpos monoclonales ⁽⁵²⁾.

Rechazo Agudo Humoral:

El RA humoral, es afortunadamente, menos frecuente que el RA celular, y además de existir cambios histológicos en el injerto, suelen estar presentes anticuerpos circulantes donante específicos y depósito de anticuerpo anti-C4d. Tiene peor pronóstico que el RA celular o borderline. La identificación del RA humoral en la biopsia renal es más problemática, por tres razones fundamentales. En primer lugar, no existen alteraciones histopatológicas específicas. En segundo lugar, las alteraciones pueden no ser representativas y de mínima intensidad y, en tercer lugar, pueden coexistir con un RA celular ⁽⁵³⁾. Halloran *et al* (1990, 1992) ^(54, 55), a principios de 1990, describieron la tríada disfunción del injerto, neutrófilos en capilares peritubulares y presencia de anticuerpos antidonante de tipo HLA tipo I, que definía una entidad nueva distinta al rechazo celular agudo clásico y al rechazo hiperagudo. Feutch ⁽⁵⁶⁾, en el año 1993, describe la importancia de los depósitos de C4d, como marcador que manifiesta un mecanismo humoral de rechazo del injerto. Éste es un producto de degradación del factor del complemento C4, que se activa normalmente en la vía clásica y que forma una unión covalente con los elementos tisulares en el lugar de activación que es estable y duradera, características por las cuales es útil como marcador diagnóstico, (Figura 8) ⁽⁵⁷⁾. Posteriormente, Trpkov *et al* (1996) ⁽⁵⁸⁾ describen una serie de

marcadores histológicos, entre los que destacan la vasculitis severa, que incluye necrosis fibrinoide, glomerulitis, trombos en capilares, infartos y presencia de polimorfonucleares neutrófilos en capilares peritubulares que, junto con la presencia de anticuerpos antidonante anti-HLA clase I, se definen como específicos de rechazo mediado por anticuerpos. Estudios publicados por el grupo de Colvin (2002) ⁽⁵⁹⁾ confirman y amplían estas características histológicas que definen al RA Humoral. Entre estos marcadores histológicos cabe destacar la necrosis fibrinoide, tanto glomerular como arterial, ya que su presencia es casi patognomónica, a pesar de su baja incidencia en la biopsia ⁽⁶⁰⁾ y, además, indica un peor pronóstico ⁽⁵⁹⁾.

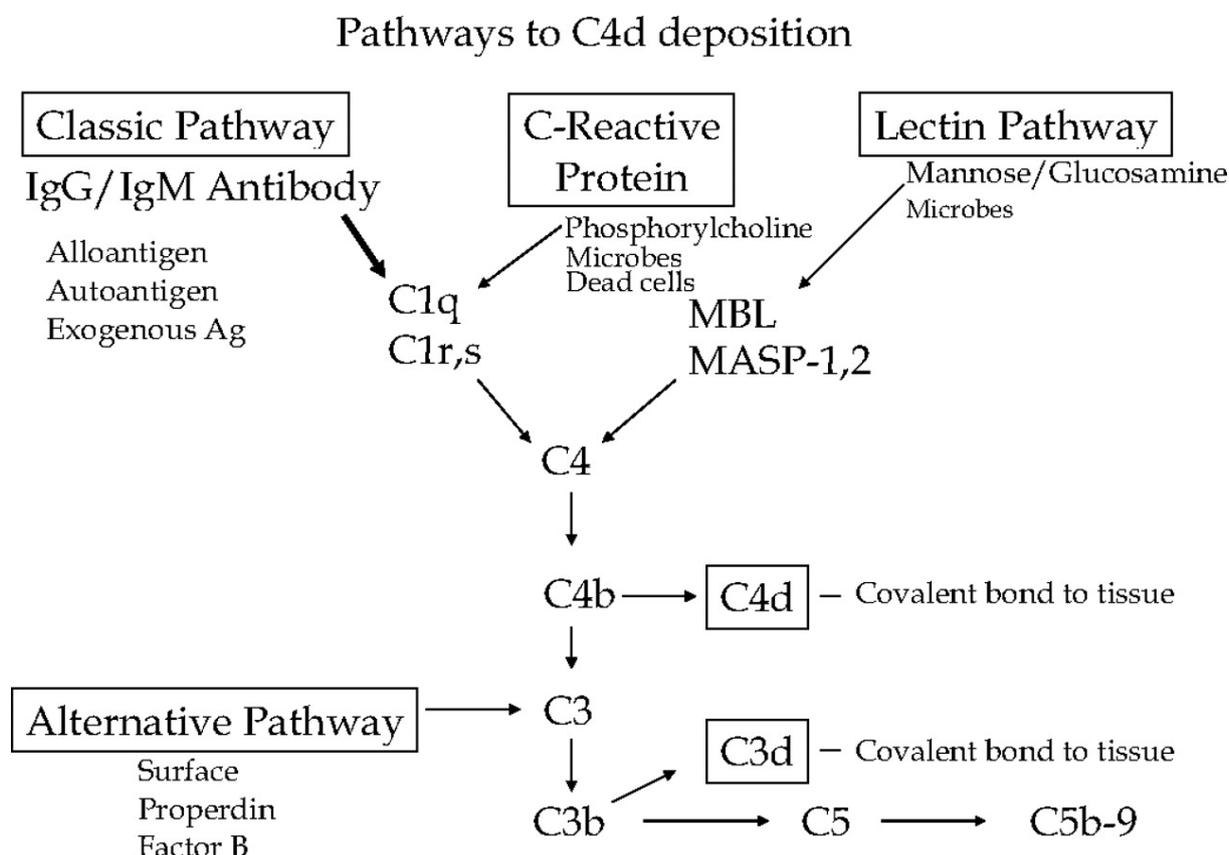


Figura 8. Vías de depósito del C4d.

Adaptado de J Robert B. Colvin. Antibody-Mediated Renal Allograft Rejection: Diagnosis and Pathogenesis . J Am Soc Nephrol 18: 1046-1056, 2007 ⁽⁵⁷⁾.

Introducción

Existen determinados factores que hacen que un individuo sometido a TR tenga mayor predisposición a sufrir un RA humoral mediado por anticuerpos. Los principales son los descritos en la Tabla 2.

| |
|--|
| Presencia de anticuerpos donante específicos pretrasplante. |
| Retrasplante. |
| Mujeres que han tenido embarazos, sobre todo multíparas. |
| Pacientes sometidos a múltiples transfusiones. |
| Mujeres que reciben un injerto de donante vivo, bien del padre de sus hijos, o de alguno de sus hijos. |

Tabla 2: Factores de mayor predisposición para RA humoral.

La clínica del RA humoral generalmente es más severa que la del RA celular. Suele existir oligoanuria y necesidad de diálisis, aunque los análisis clínicos no pueden diferenciarlo ya que hay aumento de productos nitrogenados al igual que en el rechazo celular. Es frecuente encontrar eosinofilia y proteinuria. El diagnóstico se confirmará una vez realizada la biopsia y con la presencia o no de los anticuerpos donante específicos.

Existen 3 formas clínicas de presentación del RA humoral ⁽⁶¹⁾:

- Una correspondiente al llamado RA acelerado, suele producirse en la primera semana, cursa con oligoanuria, tras una buena evolución de la función renal tras el trasplante, y se debe a mecanismos humorales puros.
- Otra que suele presentarse a partir de la primera semana post-trasplante, se confunde con el RA celular clásico, y suele presentar datos mixtos de RA celular y humoral en la biopsia.
- Un 20% de los pacientes puede presentar este rechazo como NTA y se cree que puede ser por la presencia de anticuerpos preformados no detectados previamente al trasplante.

Una vez determinados todos estos parámetros, y ante la sospecha clínico analítica de estar ante un RA, se realizará la prueba diagnóstica

gold standard, que es la biopsia renal dirigida por ecografía. Una vez obtenido el informe anatomopatológico se clasificará el resultado según la clasificación de Banff ⁽⁵⁰⁾. La última actualización es del año 2013 ⁽⁶²⁾.

Clasificación de Banff 1997, actualizada en 2009 ⁽⁵⁰⁾:

1. Normal.

2. Daño mediado por anticuerpos:

- Deben demostrarse anticuerpos donante específicos, C4d positivo y patología del injerto.
- Puede existir C4d sin evidencia morfológica de rechazo: C4d positivo, anticuerpos circulantes específicos, sin signos de RA o crónico celular o mediado por anticuerpos (g0, cg0, ptc 0 y no laminación en los capilares peritubulares, nula NTA o mínima inflamación). En este caso se considerará sospechoso de RA mediado por anticuerpos.
- Casos con cambios borderline pueden considerarse indeterminados.
- Rechazo mediado por anticuerpos: C4d, anticuerpos donante específicos y daño morfológico tisular:
 - I: NTA mínima
 - II: Capilaritis o glomerulitis (ptc/g>0) o trombosis
 - III. Afectación vascular– v3
- Rechazo crónico mediado por anticuerpos: c4d positivo, presencia de anticuerpos circulantes donante específicos, evidencia morfológica de daño crónico tisular, como dobles contornos glomerulares y capilaritis peritubular y desdoblamiento de la membrana basal, y/o fibrosis intersticial o atrofia tubular o engrosamiento fibroso de las arterias.

3. Cambios borderline: sospechosos de RA mediado por células T (puede coincidir con categorías 2, 5 y 6)

Esta categoría se usa cuando no hay arteritis, pero hay tubulitis, (t1, t2 o t3) o mínima infiltración intersticial (i0, o i1) o infiltración intersticial (i1 o i2) con moderada tubulitis (t1).

4. Rechazo mediado por células T (puede coincidir con categorías 2, 5 y 6). Tipos:

IA: Casos con infiltración intersticial significativa (> 25% del parénquima afectado i2 o i3) y focos de moderada tubulitis (t2)

IB: Casos con infiltración intersticial significativa (>25% del parénquima afectado i2 o i3) y focos de severa tubulitis (t3)

IIA: Casos con leve o moderada arteritis intimal (v1)

IIB: Casos con severa arteritis intimal que afecta al 25% de la luz (v2)

III: Casos con arteritis transmural y/o lesión fibrinoide arterial y necrosis de las células musculares con inflamación linfocitaria. (v3)

- Rechazo crónico activo mediado por células T. Nefropatía crónica del injerto (fibrosis arterial intimal con infiltración mononuclear y fibrosis, y formación de neo-íntima).

5. Fibrosis intersticial y atrofia tubular sin evidencia de ninguna etiología, puede incluir esclerosis vascular y glomerular no específica, pero graduada según diferentes tipos de afectación túbulo-intersticial. Grado

- I. Fibrosis intersticial media y atrofia tubular (< 25% del área cortical)
- II. Fibrosis intersticial moderada y atrofia tubular (26–50% del área cortical)
- III. Fibrosis intersticial severa y atrofia tubular o pérdida de la misma (>50% del área cortical.)

6. Otros: cambios no atribuidos al rechazo, agudo o crónico. Pueden incluir aisladamente: glomerulitis, capilaritis periglomerular o lesiones vasculares. Puede coincidir con categorías 2, 3, 4 y 5. También puede haber NTA.

Los cambios de la última actualización del 2013⁽⁶²⁾ consisten en una revisión del rechazo mediado por anticuerpos (RA humoral). Estas actualizaciones son las siguientes.

Introducción

Rechazo Agudo activo mediado por anticuerpos: todas las entidades tienen que estar presentes para el diagnóstico:

1. Evidencia histológica de daño tisular incluyendo una o más de las siguientes:
 - a. Inflamación microvascular ($g > 0$ y / o $ptc > 0$)
 - b. Arteritis intimal o transmural. ($V > 0$)
 - c. Microangiopatía trombótica, en ausencia de ninguna otra causa.
 - d. Daño agudo tubular sin evidencia de ninguna otra causa.
2. Evidencia de daño actual o reciente por anticuerpos sobre el endotelio vascular incluyendo al menos uno de los siguientes:
 - a. C4d en capilares peritubulares (C4d2 o C4d3 por inmunofluorescencia en secciones congeladas o C4d > 0 o por inmunohistoquímica en secciones de parafina)
 - b. Al menos inflamación microvascular moderada ($g + ptc > 2$)
 - c. Expresión aumentada de genes de transcripción en la biopsia e indicativos de daño tisular, si están validados.
3. Presencia serológica de anticuerpos donante específicos. (HLA u otros antígenos).

Rechazo Crónico Activo mediado por anticuerpos.

Las tres entidades tienen que estar presentes para el diagnóstico.

1. Evidencia morfológica de daño crónico tisular, incluyendo una o más de las siguientes alteraciones:
 - a. Glomerulopatía del trasplante $cg > 0$.
 - b. Evidencia de microangiopatía trombótica , multilaminación en los capilares peritubulres (se necesita microscopía electrónica).
 - c. Fibrosis intimal arterial de reciente diagnóstico, excluyendo otras causas.
2. Evidencia de daño actual o reciente por anticuerpos sobre el endotelio vascular incluyendo al menos uno de los siguientes:

Introducción

- a. C4d en capilares peritubulares (C4d2 o C4d3 por inmunofluorescencia en secciones congeladas o C4d>0 o por inmunohistoquímica en secciones de parafina)
 - b. Al menos moderada inflamación microvascular (g + ptc>2)
 - c. Expresión aumentada de genes de transcripción en la biopsia e indicativos de daño tisular, si están validados.
3. Presencia serológica de anticuerpos donante específicos. (HLA u otros antígenos).

Depósito de C4d sin evidencia de rechazo.

Las tres entidades tienen que estar presentes para el diagnóstico.

1. C4d en capilares peritubulares (C4d2 o C4d3 por inmunofluorescencia en secciones congeladas o C4d>0 o por inmunohistoquímica en secciones de parafina)
2. g $\frac{1}{4}$ 0, ptc $\frac{1}{4}$ 0, cg $\frac{1}{4}$ 0 (por microscopía óptica o electrónica si está disponible), v $\frac{1}{4}$ 0. no microangiopatía trombótica, no multilaminación capilar peritubular de la membrana basal, no NTA (si no hay causa para ello).
3. No Rechazo Agudo celular mediado por células T (Banff 97 tipo IA o mayor) o cambios borderline.

Una vez diagnosticado el RA mediado por anticuerpos, ha de iniciarse tratamiento, que consistirá principalmente en actuar sobre 3 puntos diferentes:

- Eliminación de anticuerpos y de otros mediadores del daño humoral (complemento).
- Evitar la síntesis de anticuerpos.
- Control de la respuesta inmune, tanto humoral como celular.

Para ello podremos utilizar las siguientes estrategias ^(63, 64, 65, 66, 67, 68)

- Continuar con la misma inmunosupresión (TAC, MMF y Corticoides

- generalmente).
- Realización de recambios plasmáticos y reposición con albúmina 5% o inmunoadsorción con la finalidad de eliminar los anticuerpos que ocasionan el daño histológico.
 - Gammaglobulina policlonal en dosis bajas (<500 mg/kg de peso del paciente) cuando se combina con recambios plasmáticos y en dosis altas (1-2 g/kg) cuando se emplea de modo aislado. Entre los efectos de la globulina se encuentra su capacidad de fijar anticuerpos y retirarlos de la circulación.
 - Tratamiento de rescate, de forma predominante en casos refractarios al tratamiento con recambios plasmáticos y/o gammaglobulina. Se han empleado anticuerpos antiCD20 (Rituximab) o antiproteasoma (Bortezomib). También es empleado Eculizumab, inhibidor de la fracción C5 del complemento, aunque especialmente se usa en prevención de RA humoral tras terapias de desensibilización.
 - Algunos grupos han usado la esplenectomía como tratamiento para el RA mediado por anticuerpos, cuando éste ha sido refractario a las líneas de tratamiento mencionadas previamente (69,70).

No hay que descartar el uso de los anticuerpos antilinfocitarios en el tratamiento del RA humoral, ya que en muchas ocasiones presentan datos mixtos de RA celular y humoral.

1.3.5 Nefrotoxicidad:

La nefrotoxicidad en TR, es un efecto adverso que puede suceder debido a múltiples causas, pero se trata de evitar siempre que la situación clínica lo permita, y no se administran en la actividad asistencial diaria, fármacos nefrotóxicos (aminoglucósidos, glicopéptidos tipo Vancomicina, o antivirales como Aciclovir o Foscarnet) u otras sustancias nocivas para

el injerto renal, como el contraste yodado. Sin embargo, la mayoría de los individuos sometidos a TR, reciben desde casi el inicio fármacos inmunosupresores (CsA o TAC) que pueden ser nefrotóxicos, si los niveles terapéuticos no están en rango adecuado. El fallo del injerto renal se produce principalmente por hipoperfusión causada por vasoconstricción de las arteriolas aferentes. Cada dosis oral es seguida por una disminución transitoria del flujo plasmático renal y de la tasa de filtración glomerular. También disminuye el coeficiente de ultrafiltración glomerular, posiblemente debido a un aumento de la contractilidad mesangial ⁽³¹⁾.

Varios estudios indican que la disfunción vascular es consecuencia de un aumento de factores vasoconstrictores como endotelina y tromboxano y la activación del sistema renina-angiotensina, así como de una reducción de los factores vasodilatadores como la prostaciclina, prostaglandina E2 y óxido nítrico. Además, la formación de radicales libres juega un papel en la nefrotoxicidad aguda de los inhibidores de la calcineurina, así como en la activación del sistema simpático en los riñones nativos. Por último, la disfunción tubular reversible también es reconocida como una característica de la nefrotoxicidad aguda de los inhibidores de la calcineurina. Aunque tanto la CsA como el TAC son nefrotóxicos, la mayoría de los estudios se refieren a CsA ya que ha sido utilizado más ampliamente. Sin embargo, existen algunos estudios que describen un menor efecto nefrotóxico con TAC que con CsA ⁽⁷¹⁾.

Calne *et al* (1979) ⁽⁷²⁾, fueron los primeros en demostrar la nefrotoxicidad debida a los inhibidores de la calcineurina. Porter and Bennett (1986) ⁽⁷³⁾ describen que la toxicidad renal asociada a la CsA, es diferente a la que provocan otras drogas. Principalmente es un fenómeno vasomotor. Clínicamente se presenta como un deterioro agudo excesivo de la función del injerto, reversible habitualmente, aunque el descenso del filtrado glomerular también puede ser crónico, progresivo o no progresivo. La exposición excesiva a los inhibidores de la calcineurina, produce efectos adversos tubulares en el manejo del ácido úrico

Introducción

(hiperuricemia), potasio (hiperpotasemia), fósforo y en el intercambio de hidrogeniones (acidosis hiperclorémica), así como alteraciones en la excreción del litio y del sodio (provocando su retención y edema). Otros marcadores de disfunción tubular como la N-acetil-d-glucosaminidasa (NAG), la gelatinasa neutrófila asociada a lipocaína- derivado del inglés *neutrophil gelatinase associated lipocaine* (NGAL), y la molécula de daño renal 1, derivado del inglés *kidney molecular injury-1* (KIM-1), se han asociado con descenso del filtrado glomerular inducido por la CsA A ⁽⁷⁴⁾. La lesión histológica principal es un arteriopatía consistente en hialinosis arteriolar que puede progresar a fibrosis siendo ésta la principal limitación del uso crónico de la CsA ⁽⁷⁵⁾. Otras lesiones histológicas producidas por el uso de los inhibidores de la calcineurina, son la vacuolización tubular, y la microangiopatía trombótica, (Figura 9).

El diagnóstico de la nefrotoxicidad por los inhibidores de la calcineurina se realiza por la monitorización de los niveles, según los protocolos de cada centro. Para prevenir o tratar la nefrotoxicidad provocada por estos fármacos se podrán usar diferentes alternativas, como evitarlos desde el inicio, retirarlos completamente una vez pasado el periodo con mayor probabilidad de rechazo, continuar con ellos a dosis muy bajas (siempre monitorizando niveles para evitar el RA), administrar inhibidores del CYP3A como el ketoconazol, calcioantagonistas, óxido nítrico, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAS), espironolactona, estatinas, anticuerpos antiTGFbeta, o suplementación de magnesio, aunque de las últimas opciones no se encuentran estudios disponibles o si existen son escasos ⁽⁷¹⁾.

Introducción

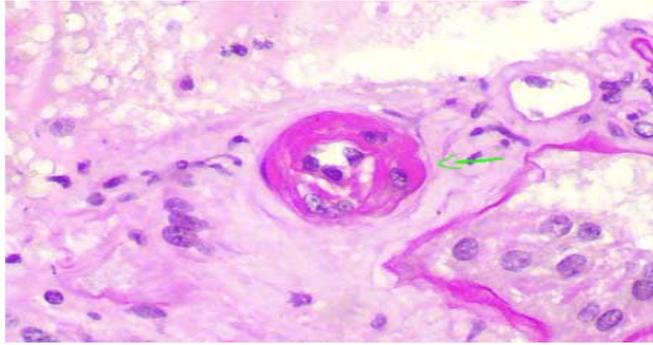


Figura 9: Toxicidad por inhibidores de la calcineurina: depósitos hialinos arteriolares, de característica nodular.

1.4. DIAGNÓSTICO DE DAÑO RENAL AGUDO

1.4.1. Marcadores diagnósticos habituales en la práctica clínica.

Actualmente, existen diferentes métodos utilizados para evaluar el daño renal. Se pueden realizar desde análisis cualitativos y ensayos bioquímicos, hasta estudios anatómo-patológicos, de mayor complejidad. A continuación se describen los más utilizados de manera habitual.

1.4.1 a) Creatinina plasmática:

La creatinina es un compuesto orgánico que se genera a partir de la creatina. Es un producto de desecho del metabolismo normal de los músculos, que se filtran por el glomérulo y se excretan por la orina, aunque es secretada en pequeña cantidad por el túbulo proximal. En la práctica clínica, la determinación de la creatinina junto con el filtrado glomerular, es el método más usado como diagnóstico de insuficiencia renal (aguda o crónica) ya que una elevación plasmática de la creatinina, indica mal funcionamiento de estos órganos. Por tanto, es un indicador indirecto del filtrado glomerular. El valor normal de la creatinina está entre 0.7 y 1.2 mg/dl, aunque depende del método de laboratorio que se utilice.

1.4.1 b) Urea:

La urea es el principal producto del metabolismo de las proteínas y constituye alrededor del 50% de los solutos contenidos en la orina. La concentración de urea en sangre oscila entre 10 y 40 mg/dl y solo aumenta de manera significativa cuando se ha perdido más del 50% de la función renal. Puede determinarse también el nitrógeno ureico en sangre o BUN (derivado de las cifras en inglés "*blood urea nitrogen*"), que es aproximadamente la mitad del valor de la urea (entre 5 y 20 mg/dl). Sin embargo, la concentración de urea o BUN en sangre es una medida bastante imprecisa de la función renal, ya que depende del aporte

proteico en la dieta, del catabolismo de las proteínas, y del volumen de diuresis. Habitualmente, la elevación de la urea y la creatinina, son proporcionales, aunque existen algunas situaciones clínicas, como el sangrado digestivo, o el uso excesivo de diuréticos, que elevaran más la urea que la creatinina ⁽⁷⁶⁾.

1.4.1 c) Filtrado glomerular:

Hoy en día, no existe ninguna manera de medir de manera exacta el filtrado glomerular, el cual nos indica el grado de funcionamiento renal. Existen medidas que nos ayudan y estiman el filtrado glomerular, como el aclaramiento de creatinina. El aclaramiento de creatinina es el volumen de plasma liberado de dicha sustancia a su paso por el riñón en unidad de tiempo. El motivo por el que no existe una medida exacta y precisa de filtrado glomerular, es que todas las herramientas disponibles, dependen de la creatinina, que como ya se explicó, se secreta mínimamente por el túbulo proximal. Experimentalmente, se puede usar el aclaramiento de inulina, pero ésta es una sustancia exógena, por lo que no es factible realizar el aclaramiento de inulina en la clínica diaria. Además lo ideal para calcular el aclaramiento de creatinina, sería disponer del volumen de orina de 24 horas de los pacientes, pero la recogida de orina de 24h suele ser incómoda, por lo que generalmente se usan fórmulas de cálculo del aclaramiento de creatinina. La fórmula del aclaramiento de creatinina (ClCr) con orina de 24 horas es la siguiente:

$$\text{Cl Cr} = \frac{\text{Vol o} \times \text{Cr o}}{\text{Cr p}} \quad / \quad 1440 \text{ min}$$

Fórmula del ClCr: Vol o: volumen de orina de 24 horas, Cr o: creatinina en orina. Cr p: Creatinina plasmática.

Las fórmulas más utilizadas son las fórmula de MDRD (*“Modification of Diet in Renal Disease”*) de la que existen varias versiones (MDRD-6, MDRD-4 y MDRD-4 IDMS), la ecuación de Cockcroft-Gault, y la fórmula CKD-EPI, cada una de ellas utiliza diferentes variables, teniendo en cuenta la creatinina y la edad, y según el cálculo que se elija para determinar el filtrado glomerular, serán necesarios datos como el peso, la talla, la urea, la albúmina o la raza, entre otros. También se usa la fórmula de Schwartz para determinar el ClCr en niños ⁽⁷⁷⁾.

1.4.1 d) *Análisis de orina:*

El análisis habitual de orina incluye proteinuria, sedimento urinario y cultivo de orina. Si existe proteinuria (>150mg en 24 horas), se considera patológica, y según la cifra podrá orientar hacia un tipo de patología u otra. Por lo general la proteinuria indica daño glomerular, aunque puede existir proteinuria tubular cuando está disminuida la capacidad de reabsorción de las proteínas filtradas normalmente. El sedimento de orina es un análisis sencillo que nos determinará si existen hematíes (normal < 3 hematíes/campo), leucocitos (normal < 5 leucocitos/campo) y cilindros hialinos (formados por la precipitación en la luz de los segmentos distales de la nefrona de proteínas secretadas por el túbulo renal: (*“proteína de Tamm-Horsfall”*)). En condiciones normales la orina tiene muy pocos cilindros hialinos. Sin son hemáticos, granuloso o cerosos son siempre patológicos. Si existe alguno de estos datos, deberá investigarse la causa. También pueden verse en el sedimento células epiteliales y cristales. El cultivo de orina ha de realizarse para descartar una infección de orina, ya que si existe, el sedimento y análisis de orina no serán valorables ⁽⁷⁸⁾.

1.4.1 e) Estudio histopatológico del riñón:

Este estudio es muy útil para identificar la localización, naturaleza e intensidad de la lesión que provoca el daño renal. Aunque es el método diagnóstico definitivo, es una técnica invasiva, no exenta de complicaciones. La observación de preparaciones de tejido renal, procesadas y teñidas proporciona una idea de las estructuras más afectadas. Mediante estudios histoquímicos e inmunocitoquímicos se pueden detectar la presencia o ausencia de antígenos marcadores de daño renal.

1.4.1 f) Composición de la orina y marcadores de daño renal:

La lesión renal también se puede detectar por la presencia de una serie de compuestos en la orina además de las proteínas ya citadas previamente, como glucosa o electrolitos. Una elevada concentración de glucosa, siendo normal su concentración plasmática, puede ser indicativa de defectos en la reabsorción de azúcares en el túbulo proximal causados por un tóxico.

La eliminación en orina de enzimas localizadas en el borde en cepillo de las células, como la fosfatasa alcalina y la gamma-glutamilttransferasa se debe a lesiones del borde en cepillo, mientras que la excreción de lactato deshidrogenasa, glutatión transferasa y la alanina-aminopeptidasa, pueden reflejar una lesión celular más generalizada. La mayor parte de estas enzimas tienen valor moderado como marcadores urinarios, debido a problemas de estabilidad e inhibición por otros componentes de la orina.

1.4.2 Marcadores sensibles y tempranos de daño renal agudo.

El daño renal agudo, en la práctica clínica, se determina habitualmente por la creatinina y/o el filtrado glomerular. Sin embargo, la creatinina, es un marcador tardío, ni sensible ni específico, al igual que la urea, que su elevación se produce cuando ya han pasado al menos 24-48 horas de daño renal ⁽⁷⁹⁾. En este capítulo hablaremos de diferentes biomarcadores urinarios que son predictivos e indicativos de daño renal agudo.

Un biomarcador es un producto biológico que se mide objetivamente y puede ser indicativo de un proceso biológico normal, patológico, o una respuesta a un tratamiento farmacológico ⁽⁸⁰⁾. El biomarcador ideal debería ser fácil de medir, no invasivo, determinándolo en muestras de sangre u orina, en un laboratorio accesible, cerca de la cama del paciente, con una medición rápida y que nos diera diferentes valores que nos permitieran realizar una estratificación del riesgo de daño renal agudo y capaces de discernir diferentes etiologías de este proceso. En las últimas décadas, se han desarrollado biomarcadores, que son capaces de diagnosticar daño renal agudo, de manera más sensible, precisa y precoz que el daño que se determina por la elevación de la creatinina o la disminución del filtrado glomerular.

Aunque existen diferentes marcadores de daño renal como el TGF- β , la Cistatina-C, IL-18, la Alfa-1 o Alfa-2 globulina o la β 2microglobulina, entre otros, a continuación se detallan los utilizados en este trabajo: NAG, NGAL y KIM-1.

1.4.2 a) NAG:

Es una enzima lisosomal que está presente en el túbulo proximal. Es la más estudiada y la más caracterizada de todas las enzimas urinarias. Se mide en orina y si la actividad de la misma está aumentada indica daño renal tubular y aumento del stress oxidativo. Es sensible y específica, puede estar aumentada tras la exposición a nefrotóxicos, cuando hay FRI, en los procesos glomerulares, en la nefropatía diabética, y tras procedimientos como los bypass cardiacos ^(81, 82). Westhuyzen *et al* (2003) ⁽⁸³⁾ describen que los niveles urinarios de NAG, junto con otras enzimas, fueron muy sensibles para detectar fracaso renal agudo en una población de adultos con enfermedades críticas, ya que se elevaron entre 12 horas y 4 días antes que la creatinina. Chew *et al* (1993) ⁽⁸⁴⁾ publican un peor pronóstico (definiéndolo como necesidad de tratamiento renal sustitutivo, muerte en el hospital) en los pacientes admitidos en una Unidad de Cuidados Intensivos, con niveles más elevados de NAG en el momento del ingreso en dicha unidad. Tiene una desventaja, ya que se ha descrito que la actividad de la NAG se inhibe por la urea, por cierto número de metales pesados, y por nefrotóxicos ^(85, 86). Existen algunos estudios en los que no se ha demostrado que la determinación de NAG sea más precisa que la creatinina sérica y/o la urea ⁽⁷⁹⁾, sin embargo debido a la posibilidad de usar la NAG como marcador pronóstico en fracaso renal agudo en humanos, se podría incluir la determinación de dicha enzima en investigaciones a largo plazo para determinar el valor pronóstico de la NAG. En un estudio publicado por Ewa Kwiatkowska *et al* (2014) ⁽⁸⁷⁾ se confirma que el nivel de NAG en muestras de orina recogidas el primer día post-trasplante, es predictor de FRI. Si las muestras se recogían tres meses después del trasplante el nivel urinario de NAG era un factor pronóstico de funcionamiento del injerto renal. Una actividad elevada de NAG se asociaba con peor funcionamiento del injerto a largo plazo, el grado de proteinuria en el postoperatorio y atrofia glomerular en las muestras de las biopsias renales. Monitorizar la NAG en

orina podría ser útil para evaluar el daño del túbulo proximal y predecir el pronóstico del injerto a largo plazo.

1.4.2 b) NGAL:

Es una proteína compuesta por 176 aminoácidos, de 25 kilodalton, aislada en 2003 por Mishra *et al* (2004) ⁽⁸⁸⁾ perteneciente a la familia de las lipocaínas (proteínas estructurales secretadas), que se une de manera covalente a la gelatinasa derivada de los neutrófilos. Es sintetizada durante la maduración de los granulocitos en la médula ósea, pero también puede producirse en células epiteliales en el seno de inflamación o malignidad ⁽⁸⁹⁾. Es el biomarcador más estudiado en fracaso renal agudo y en disfunción del injerto. Habitualmente se detectan niveles muy bajos de NGAL en diversos tejidos humanos, como el riñón, el estómago, el corazón y los pulmones. Está aumentada en el suero de pacientes con infecciones bacterianas, en el esputo de enfermos con asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica y en el fluido bronquial de los pacientes enfisematosos ⁽⁹⁰⁾. Se filtra totalmente por el glomérulo y se absorbe por el túbulo proximal. Su expresión aumentada en orina indica daño del túbulo proximal, y se eleva en 2-4h. El daño renal causa fallo de absorción de la NGAL filtrada, y lo que es más importante, incrementa la síntesis de NGAL en la nefrona distal, aumentando la excreción urinaria de la misma. En adultos que han recibido TR de donante cadáver la elevación de NGAL en orina se han considerado predictiva de FRI de manera significativa ⁽⁹¹⁾. En biopsias de trasplantes renales obtenidas una hora tras la anastomosis vascular, se ha visto una correlación significativa entre el depósito de NGAL y el desarrollo de NTA ⁽⁹²⁾. En el campo del daño renal agudo, NGAL es un marcador emergente de predisposición. Sin embargo, en los estudios publicados hasta la fecha, aunque son con número pequeño de pacientes, si parece que la NGAL es la enzima más sensible y específica en pacientes no complicados con fracaso renal. La medida de NGAL puede estar influenciada por diferentes variables, como el daño renal previo, o infecciones sistémicas y urinarias ⁽⁹³⁾.

1.4.2c) *KIM-1*:

Es una glicoproteína transmembrana de tipo 1 que tiene un dominio fácilmente detectable en orina, descubierto por Ichimura (1998)⁽⁹⁴⁾, que de forma habitual se expresa mínimamente en el tejido renal, se determina en orina, y se eleva entre 12 y 24 horas tras el insulto renal (Figura 10),⁽⁹⁵⁾. Indica fallo de la regulación en el túbulo proximal, y es indicativa de daño renal isquémico o nefrotóxico, por tanto el KIM-1 podría considerarse un marcador precoz y no invasivo de daño tubular en el fracaso renal agudo. Se localiza en el cromosoma humano 5q31, tiene 359 aminoácidos y existen algunos homólogos (KIM-3, KIM-4). Su expresión puede estar aumentada si hay mucha exposición a CsA. En estudios en humanos y animales se ha demostrado que es un indicador precoz de daño renal agudo, más sensible que otros biomarcadores y enzimas tubulares, así como en el seno de la exposición a cisplatino y en la isquemia reperusión, KIM-1 ha demostrado ser más sensible que la urea y la creatinina, la glucosuria y la proteinuria e incluso que la NAG⁽⁸⁹⁾. En trasplante, la expresión de KIM-1 está relacionada con el daño del injerto, y se expresa en la células epiteliales tubulares antes de que se eleven los parámetros bioquímicos en sangre y sucedan los cambios morfológicos⁽⁹⁶⁾. Van Timmeren *et al*⁽⁹⁷⁾, en 2009, demuestran en un estudio prospectivo, que la excreción de KIM-1 es un factor predictor de pérdida del injerto, independiente de la edad del donante, el aclaramiento de creatinina, y la proteinuria, con un riesgo similar al valor clínico de la proteinuria, y puede servir de ayuda para identificar como pacientes de riesgo aquellos que presentan elevación urinaria de KIM-1, y poder intervenir sobre los mismos.

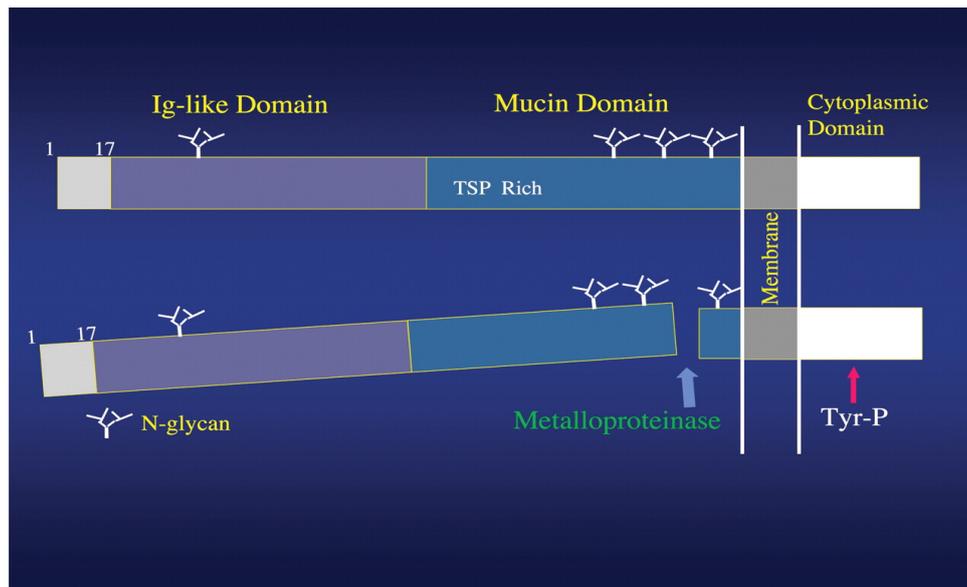


Figura 10. Estructura de KIM-1.

Joseph V. Bonventre. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009;24: 3265-3268 ⁽⁹⁵⁾

La identificación precoz de estos marcadores en TR podría ser de gran utilidad, ya que si supiéramos que existe un daño del injerto antes de la elevación de la creatinina, podríamos evitar técnicas invasivas como una biopsia, o realizar tratamiento precoz de un RA. Sin embargo aún no se ha encontrado el biomarcador ideal que cubra todas las necesidades en el curso de la evolución del TR. La biopsia renal sigue siendo el “*gold standard*” para la identificación del daño renal agudo o crónico y la elevación de la creatinina, que nos obliga a realizar la biopsia, es un evento tardío del daño renal. Estos biomarcadores que se han mencionado nos ofrecen unos valores predictivos aceptables en estudios en animales y en menor número en investigaciones en humanos, aunque la mayoría están descritos en fracaso renal agudo y muy pocos son los descritos en TR ⁽⁹⁸⁾. Sin embargo, también se ha discutido que los marcadores urinarios podrían representar una fuga de la circulación sistémica y correlacionarse más con la proteinuria que con daño tisular ⁽⁹⁹⁾.

A continuación se puede ver una figura esquemática del momento en que los diferentes marcadores de daño renal se expresan, y cómo la urea y la creatinina son marcadores tardíos del mismo ⁽⁸⁹⁾. (Figura 11).

Introducción

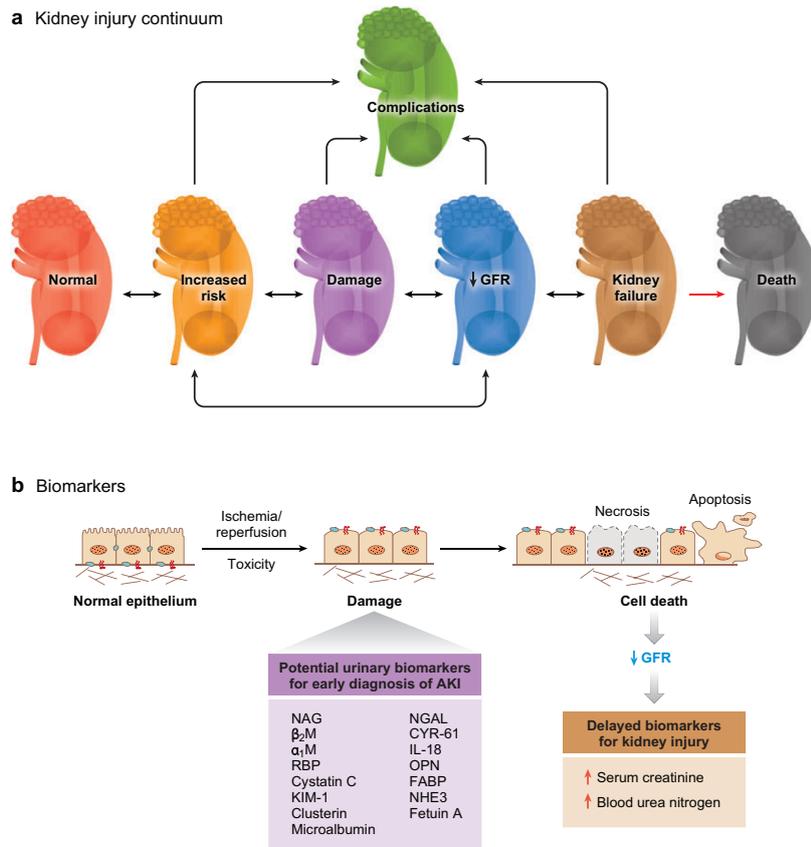


Figura 11. Daño continuo renal y diferentes biomarcadores de daño renal precoz. *Adaptado de Vishal S. Vaidya, et al. Biomarkers of Acute Kidney Injury. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2008. 48:463–93. (89)*

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS:

A pesar de sus inconvenientes, la creatinina sigue siendo el parámetro estándar para el diagnóstico de daño renal en la clínica diaria. Por ello, la biopsia del injerto renal en TR es la única herramienta válida para determinar la causa de este daño. No obstante, esta técnica es un procedimiento invasivo con una potencial morbimortalidad. Por este motivo existe gran interés en identificar nuevos marcadores de diagnóstico precoz, mediante técnicas no invasivas, que evidencien las diferentes causas de disfunción en el TR con mayor precisión.

En este sentido, en la última década se ha identificado, validado y desarrollado una nueva generación de marcadores sensibles y tempranos en orina, capaces de detectar el daño renal agudo en sus fases iniciales. La mayoría de ellos son componentes o derivados metabólicos, compuestos de degradación o restos de ellos que se eliminan por la orina tras el daño o la respuesta reparadora del organismo.

En el contexto del trasplante, nuestra hipótesis es que marcadores tempranos como NAG, NGAL y KIM-1, pudieran diagnosticar el daño renal de manera precoz, y relacionarse con las principales complicaciones del TR en su evolución inicial (3 meses).

Los objetivos son los siguientes:

1. Crear un banco de muestras de sangre y orina de pacientes trasplantados, en su periodo inicial de 3 meses, recogidas cada 48 horas en la primera semana y posteriormente de manera semanal constituyendo una media de 15-17 muestras por enfermo, que puedan ser usadas para futuros estudios, que surjan a raíz de los resultados descritos en el presente trabajo.
2. Determinar si los biomarcadores urinarios, NAG, NGAL y KIM-1, son capaces de diagnosticar el daño renal de manera precoz, y ver si los

Hipótesis y objetivos

mismos, pueden relacionarse con las principales complicaciones del TR en su evolución inicial (3 meses).

2.1. Estudiar la evolución de los marcadores (NAG, NGAL y KIM-1) tras el trasplante y su posible utilidad predictiva. Comparar la evolución de los biomarcadores urinarios con la evolución de la función renal medida por la creatinina plasmática.

2.2. Determinar si NAG, NGAL y KIM-1 son diferentes en cada grupo de TR según los pacientes incluidos (TR de donante cadáver, TR de donante vivo o doble trasplante renal y páncreas)

2.3. Determinar si los biomarcadores previamente citados se relacionan con el RA, la NTA, el RA y la NTA al mismo tiempo, la duración del tiempo de isquemia fría, la administración de agentes nefrotóxicos y el tiempo de estabilización de la función renal inicial.

MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Este proyecto de investigación se ha realizado en la Unidad de Toxicología de la Universidad de Salamanca y en el Servicio de Nefrología del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca (CAUSA), ambos pertenecientes al IBSAL (Instituto Biosanitario de Salamanca).

3.1. Criterios de inclusión de los pacientes.

Se reclutaron pacientes de más de 18 años, que fueran a recibir un TR, de donante vivo o cadáver, o doble trasplante riñón y páncreas en el Hospital Clínico Universitario de Salamanca. El Hospital Clínico de Salamanca es área de referencia de TR de cadáver para las provincias de Salamanca, Ávila, Zamora y Burgos, trasplantando enfermos de todas estas provincias, y recibiendo donantes de las mismas. Es área de referencia de toda la comunidad de Castilla y León de TR de donante vivo y área de referencia de trasplante pancreático para la Comunidad de Castilla y León, Extremadura y centro de referencia nacional para este tipo de trasplante.

Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado que se depositó en el Biobanco de muestras del CAUSA (Figura 12), previa aprobación del Comité Ético del hospital.

3.2. Criterios de exclusión de los pacientes.

El único criterio de exclusión fue que los enfermos no quisieran entrar en el estudio.

3.3. Fechas de inclusión de los pacientes.

Desde el 27 de julio de 2013 hasta el 27 de enero de 2015, se recogieron muestras de sangre y orina de 24 horas de 70 pacientes que habían recibido TR de cadáver (52), TR de donante vivo (9) o doble TR y pancreático (9).



Hospital Virgen de la Vega
Paseo de San Vicente 58-182 semisótano
37007-Salamanca. SPAIN
TF/Fax: +34 923 270 594



DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Apellidos _____ NHC _____
Nombre _____ Fecha _____

Finalidad

Le rogamos que lea este consentimiento informado entendiendo su contenido y el objeto del mismo y que haga todas las preguntas que estime oportunas.

Este documento tiene como objeto solicitar su autorización escrita para la donación de parte de la muestra sobrante de tejido o de líquido durante su proceso diagnóstico, operatorio o postoperatorio para poderlos utilizar en proyectos de investigación relacionados directa o indirectamente con su enfermedad.

La donación de muestras al Biobanco del Hospital Universitario de Salamanca, en adelante Biobanco-HUSA, no supone para usted ningún riesgo o molestia adicional ya que las muestras proceden de las que forzosamente se le tienen que tomar a lo largo de su proceso diagnóstico.

El Biobanco es un centro de conservación de muestras que pueden ser tejidos, fluidos biológicos, ADN, ARN, células, etc. con un gran valor en la investigación de enfermedades.

El almacenamiento de las muestras en el Biobanco-HUSA permite a los científicos disponer de muestras para investigar:

- ⊕ Qué genes influyen en el desarrollo de determinadas enfermedades o en la protección frente a las mismas.
- ⊕ Obtención de conocimientos que permitan el desarrollo de nuevas estrategias, métodos diagnósticos y terapias aplicables a pacientes.
- ⊕ Marcadores biológicos que permitan el diagnóstico de algunas enfermedades con mayor rapidez y con menos molestias para el paciente.

Carácter de la donación y derechos

Las donaciones, por disposición legal, son altruistas por lo que usted no obtendrá ningún beneficio económico por las mismas.

Podrá conocer para qué proyectos de investigación han sido utilizadas sus muestras y datos personales. Si usted lo solicita de manera expresa, tendrá a su disposición la información relativa a la utilización de su muestra en los proyectos de investigación a los que se haya cedido pero **no** se le comunicará, en general, ningún resultado personal obtenido del estudio de las mismas, dado que la manera en la que se emplearan sus datos, muestras así como el diseño de los proyectos de investigación en los que puedan ser empleados, no permiten la obtención de datos individualizados. No obstante, si en algún proyecto en el que se fueran a emplear sus muestras se obtuviera alguna información, derivada de los análisis genéticos, relativa a su salud o a la de su familia, tiene el derecho a ser informado sobre la misma si usted lo solicita expresamente. Le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo a sus familiares.

Usted puede decidir libremente sobre su muestra y solicitar, sin especificar el motivo, la eliminación de todas las muestras donadas al Biobanco-HUSA y sus datos asociados (**Revocación del Consentimiento**). Esto **no supone ningún cambio en la relación con su médico ni perjuicio alguno en su diagnóstico, tratamiento y/o seguimiento**. No se podrá extender su decisión a ningún dato resultante de las investigaciones que se hayan llevado a cabo hasta ese momento.



Hospital Virgen de la Vega
Paseo de San Vicente 58-182 semisótano
37007-Salamanca. SPAIN
TF/Fax: +34 923 270 594



Descripción del proceso

Será necesario recoger datos de su historia clínica y es posible que se le solicite rellenar un cuestionario de salud en el que se pedirán datos personales relacionados con hábitos de vida, historia médica, ambiente donde vive y trabaja, entre otros. Estos datos se emplearán en los proyectos de investigación junto con sus muestras. Es posible que sea necesario en el futuro contactar con usted para obtener datos adicionales y para ello se le solicita su autorización expresa.

Sus muestras serán almacenadas en el Biobanco-HUSA. Este Biobanco está integrado en una red de Biobancos hospitalarios coordinada por el Instituto de Salud Carlos III y que tiene como objetivo almacenar muestras de pacientes que puedan ser empleadas en proyectos de investigaciones nacionales e internacionales.

Dado que sus muestras se cederán a diversos proyectos de investigación, es posible que alguno de ellos emplee animales de laboratorio. Estos son necesarios para proteger la salud humana. Con los conocimientos científicos que tenemos ahora, no es posible su sustitución por otros sistemas de experimentación. Será tarea de los comités y autoridades correspondientes, vigilar que esos proyectos de investigación cumplan las leyes y eviten el posible sufrimiento de los animales pero usted puede negarse a ceder sus muestras a esos proyectos, tal y como le solicitamos en este consentimiento.

De acuerdo con la Ley de Investigación Biomédica 14/2007, los datos clínicos y las muestras almacenadas en el Biobanco-HUSA podrán ser empleadas en estudios de investigación biomédica realizados por este u otros centros, nacionales y extranjeros siempre que los comités de Ética y Científico del Biobanco lo aprueben. Por esta misma ley y dado que el Biobanco-HUSA está integrado en una red nacional de Biobancos que podría colaborar con redes internacionales de Biobancos, se le solicitará expresamente que de su autorización para que sus muestras y datos asociados sean compartidos con Biobancos distintos al Biobanco-HUSA garantizando la confidencialidad de sus datos.

Protección de datos y confidencialidad

Sus datos personales serán confidenciales y procesados de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal y la legislación vigente relativa a investigación biomédica. Sus muestras y sus datos personales serán sometidas a un proceso de codificación y se harán anónimas para los investigadores, de tal forma que nunca puedan conocer su identidad. Sus datos personales serán incorporados a una base de datos de carácter confidencial inscrita en la Agencia Española de Protección de Datos, conforme a la ley 15/1999, cuyo titular es el Hospital Universitario de Salamanca.

Como donante, usted tiene el derecho a realizar cualquier modificación o eliminación de sus datos poniéndose en contacto con el Director del Biobanco-HUSA, Pso/ San Vicente 58-182, 37007-Salamanca.

Declaración del donante

He sido informado por el personal clínico/investigador abajo mencionado y he comprendido:

1. La finalidad de la conservación, el lugar de conservación y la garantía del cumplimiento de la legalidad vigente.
2. La posibilidad de ceder a terceros las muestras para futuros proyectos de investigación que cumplan con las exigencias éticas y científicas exigidas por los comités correspondientes así como cualquier exigencia legal que sea aplicable.
3. La posibilidad de ceder muestras y datos clínicos a otros Biobancos nacionales y extranjeros para ser empleadas en proyectos de investigación biomédica, salvaguardando mi confidencialidad.
4. Que las muestras y datos personales serán proporcionados a los investigadores de tal manera que resulte imposible mi identificación.

Material y métodos



Hospital Virgen de la Vega
Paseo de San Vicente 58-182 semisótano
37007-Salamanca. SPAIN
TF/Fax: +34 923 270 594



5. Que en cualquier momento puedo revocar mi consentimiento y exigir eliminar las muestras y mis datos personales almacenados en el Biobanco-HUSA.

6. Que no tendré acceso a los resultados específicos de los estudios realizados con las muestras pero que podre solicitar información genérica sobre los proyectos en los que se han empleado las muestras y los datos asociados. En el caso de que se obtuviera alguna información relativa a mi salud o la de mi familia puedo solicitar que se me proporcione.

En pleno uso de mis facultades accedo a:

Que las muestras y mis datos personales asociados puedan ser empleados con fines de investigación y almacenados en el Biobanco-HUSA de acuerdo con las condiciones expuestas _____

SI NO

Que si fuera necesario, se contacte conmigo para obtener datos adicionales _____

SI NO

Que mis muestras puedan cederse a proyectos de investigación en los que se empleen animales de laboratorio _____

SI NO

Solicito:

Recibir información relativa a mi salud o la de mis familiares en el caso de que se obtenga algun resultado genético que pueda afectar a las mismas _____

SI NO

Firma _____

Declaración del personal clínico/investigador de que ha informado debidamente al donante

Nombre _____ Fecha _____

Firma _____

Revocación del consentimiento

Yo _____ revoco el consentimiento para el almacenamiento y utilización de las muestras y datos asociados donados por mi voluntariamente y arriba firmado en el Biobanco-HUSA.

Fecha _____

Firma _____

Figura 12. Consentimiento informado del estudio

3.4. Recogida de muestras.

Se obtuvieron 10 ml de sangre y 10 ml de orina de 24 horas, de todos los pacientes incluidos en el estudio el día del trasplante y los días +1, +3, +5 y +7 post-trasplante y posteriormente una vez a la semana durante los tres primeros meses tras el trasplante.

3.5. Conservación y procesamiento de muestras.

Las muestras de sangre y orina se conservaron en el Biobanco del CAUSA.

3.5.1: Conservación de muestras de sangre:

Las muestras de sangre antes de centrifugarse tuvieron el coágulo formado (que se formó dejándolas 30 minutos a temperatura ambiente). Una vez en el Biobanco, se centrifugaron en una centrífuga *Eppendorf* 5804R de rotor basculante, a 2500 rcf (*“relative centrifugal force”*) 10 minutos a temperatura ambiente, se dividieron en alícuotas en tubos de 1,5 ml y se congelaron a -80°C.

3.5.2: Conservación de las muestras de orina:

Las muestras de orinas se centrifugaron en una centrífuga *Eppendorf* 5430 de rotor de ángulo fijo a 4000 rcf 10 minutos a 4°C, se dividieron en alícuotas en tubos de 2 ml y se congelaron a -80°C .

3.6. Parámetros analíticos solicitados de la población estudiada

En las analíticas realizadas por el Servicio de Bioquímica del Hospital Universitario de Salamanca se solicitaron, entre otras, las siguientes determinaciones: concentración de creatinina y urea plasmática, proteinuria y datos hematimétricos. Por otra parte, se obtuvieron los niveles de inmunosupresores (CsA o TAC) realizados en el Servicio de Farmacia. Estas analíticas fueron prescritas por los facultativos como parte del proceso asistencial de los pacientes. El resto de determinaciones analíticas se llevaron a cabo en la Unidad de Toxicología (USAL). Dichas

Material y métodos

determinaciones fueron las siguientes: determinación de la actividad enzimática en la orina de la enzima relacionada con el daño renal NAG, (mediante un Kit comercial), y de las moléculas NGAL (ELISA) y KIM-1 (ELISA).

3.6.1: Creatinina:

La creatinina se realizó por la reacción de *Jaffé* ⁽¹⁰⁰⁾, mediante el *Cobas C 311/501* de Roche/Hitachi®.

3.6.2: Urea:

La urea se realizó mediante un test cinético con ureasa y glutamato deshidrogenasa en el que la urea es hidrolizada por la ureasa a amonio y carbonato ⁽¹⁰¹⁾, por el analizador *Cobas C C311* también de Roche/Hitachi®.

3.6.3: Proteinuria:

La determinación de proteínas en orina se determinó por un método turbidimétrico con los mismos analizadores.

3.6.4: Datos hematimétricos:

Los datos hematimétricos, se realizaron por el analizador automático *CELL-DYN Sapphire*, que cuenta, mide y clasifica las células por la combinación de métodos de citometría de flujo: impedancia eléctrica, dispersión óptica y fluorescencia.

3.6.5. Tacrólimus y Ciclosporina:

El TAC se realizó por determinación cuantitativa en sangre humana mediante inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) con *ARCHITECT isystem* de *Abbot*. La CsA también se realizó por CMIA de la misma manera.

3.6.6. Análisis de NAG:

El análisis de la NAG se realizó según el protocolo del kit comercial Dyazime®.

La actividad urinaria de NAG se determinó por la medición cinética y espectrofotométrica de la velocidad de aparición del producto de una reacción de escisión enzimática directa de un sustrato sintético de NAG. Así la NAG hidroliza 2-metoxi-4-(2nitrovinilo)-fenil-2-acetamido-2-deoxi-β-D-glucopiranosido (sustrato) a 2-metoxi-4-(2'-nitrovinilo)-fenol (producto). La formación de este producto se detecta mediante el desarrollo del color a 505 nm tras la adición de tampón alcalino. Posteriormente se calculó la ecuación de la recta de regresión "Concentración versus Absorbancia" a partir de la cual se calculó la concentración en cada muestra por interpolación inversa.

3.6.7 Análisis de NGAL:

El análisis de NGAL se hizo mediante un kit rápido de Bioporto Diagnostics® consistente en un ELISA ("Enzyme-linked Immunosorbent Assay"). El experimento se realizó en micropocillos recubiertos con un anticuerpo monoclonal contra NGAL humana. La NGAL unida al recubrimiento se detecta mediante un anticuerpo monoclonal conjugado con peroxidasa de rábano, (HRP, del inglés *Horse Radish Peroxidase*) y finalmente se incubó con un sustrato formador de color. La reacción enzimática se detuvo químicamente y se leyó la intensidad de color en cada pocillo a 450nm utilizando un lector ELISA (lector de placas *Multiskan FC, Thermo Scientific*). Los resultados obtenidos con los calibradores se emplearon para dibujar una curva de calibración en la que se extrapolaron las concentraciones de NGAL en las muestras problema.

3.6.8. Análisis de KIM-1:

EL análisis de KIM-1 se hizo por un kit de ELISA de Enzo Life Sciences® (Figura 13). El kit usa un anticuerpo monoclonal para inmovilizar en una placa de microtitulación el KIM-1 unido a las muestras. Después de un periodo corto de incubación el exceso de muestra se lavó y se añadió un anticuerpo monoclonal con biotina. Este anticuerpo se unió al KIM-1 que se había depositado en el pocillo. Después de otro periodo corto de incubación el exceso de anticuerpo se lavó y se añadió HRP conjugada con estreptavidina, que unió la biotina del anticuerpo monoclonal. Una vez que la incubación fue completa, el exceso de conjugado se lavó y se añadió solución de TMB (tetrametilbenzidina). Se produjo una reacción que cataliza HRP y se generó un color azul. Posteriormente se añadió una solución paralizante para detener la reacción del sustrato. La cantidad de señal que mostraba fue directamente proporcional al nivel de KIM-1 en la muestra. Con el calibrador proporcionado por el fabricante, se calculó la curva de absorbancia con el software del lector de placas *Multiskan FC (Thermo Scientific)* y se extrapolaron las muestras problema.

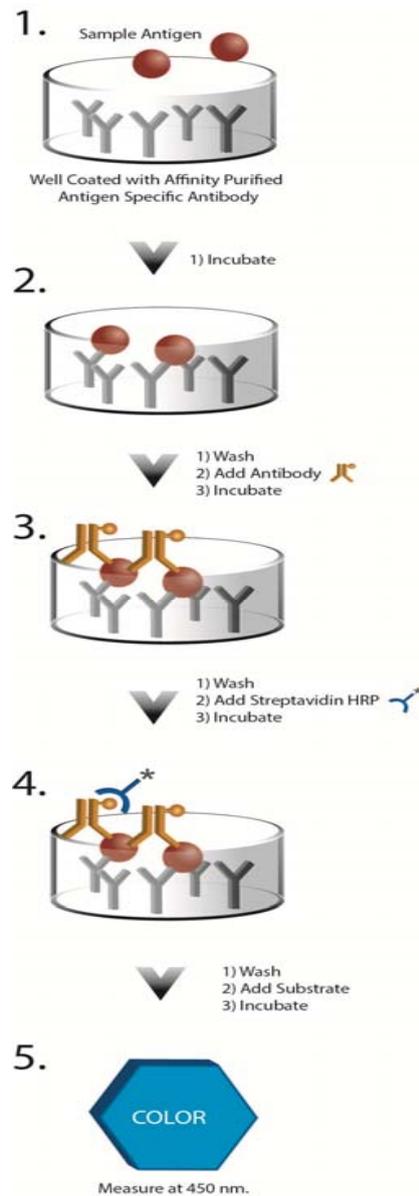


Figura 13. Resumen esquemático de la determinación de KIM-1 mediante ELISA de Enzo Life Sciences®

3.7. Seguimiento clínico.

Se recogieron los siguientes datos de las historias clínicas.

3.7.1. Datos del donante:

- Edad del donante
- Sexo del donante

Material y métodos

- Tipo de donante (cadáver, vivo o doble renal-páncreas)

3.7.2. Datos del receptor:

- Causa de la Insuficiencia Renal Crónica de los receptores.
- Tipo de tratamiento inmunosupresor.
- Número de trasplante.
- Rechazo y tipo de rechazo.
- NTA o FRI (considerándolo como necesidad de hemodiálisis la primera semana post-trasplante).
- Administración de agentes nefrotóxicos.
- Tiempo de isquemia fría.
- Determinaciones analíticas:
 - Urea y creatinina plasmática
 - Aclaramiento de creatinina por la fórmula CKD-EPI
 - Niveles de inmunosupresores (TAC o CsA)
 - Datos hematimétricos: hemoglobina, hematocrito, leucocitos y plaquetas.

3.8. Análisis estadístico

Se usó el programa SPSS *Statistics* versión 20 para Windows. Las variables cuantitativas se expresaron en media más menos error estándar. Las variables cualitativas se expresaron en porcentajes de pacientes y en número absoluto. Se usó el test de Chi cuadrado (χ^2) para realizar análisis de frecuencias esperadas, considerando un valor estadísticamente significativo si $p < 0,05$.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Resultados descriptivos.

4.1.1. Pacientes incluidos en el estudio:

En el estudio se incluyeron 70 pacientes, de los que finalmente se analizaron las muestras de orina de 68. Los motivos de exclusión fueron, uno: aparición de sepsis con oliguria, que impidió la recogida de muestras; y otro, que no se realizó el seguimiento habitual en nuestra consulta.



Figura 14: Pacientes incluidos en el estudio.

4.1.2. Tipos de Trasplante Renal:

La mayoría de los receptores recibieron un injerto renal de donante cadáver (52), 9 recibieron doble trasplante renal-páncreas, y 9 recibieron un injerto renal de un donante vivo.

Resultados

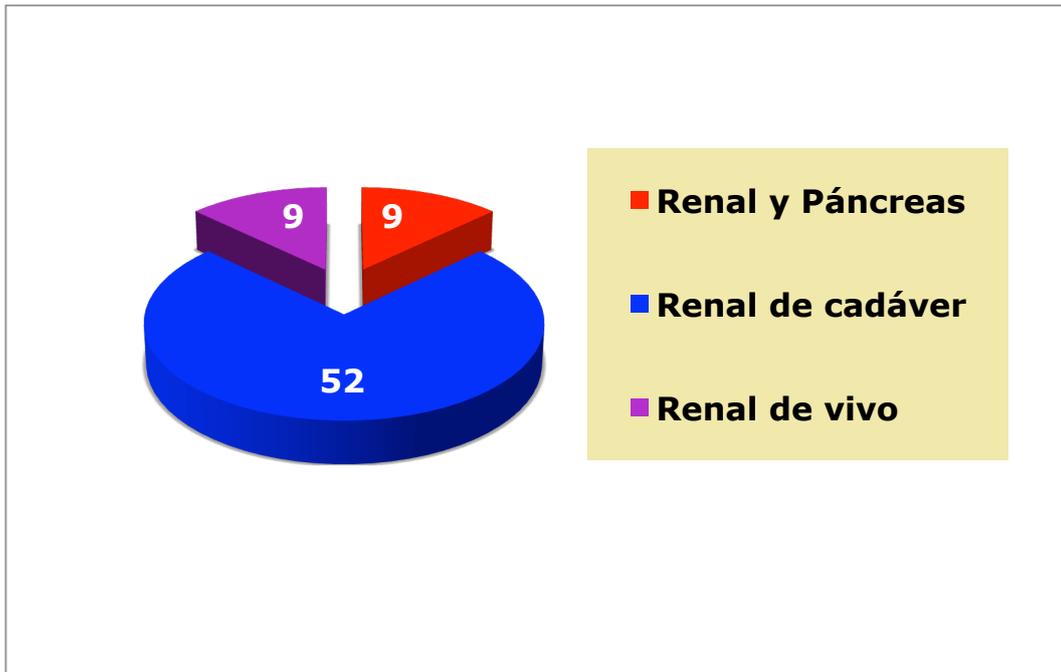


Figura 15. Tipos de Trasplante Renal.

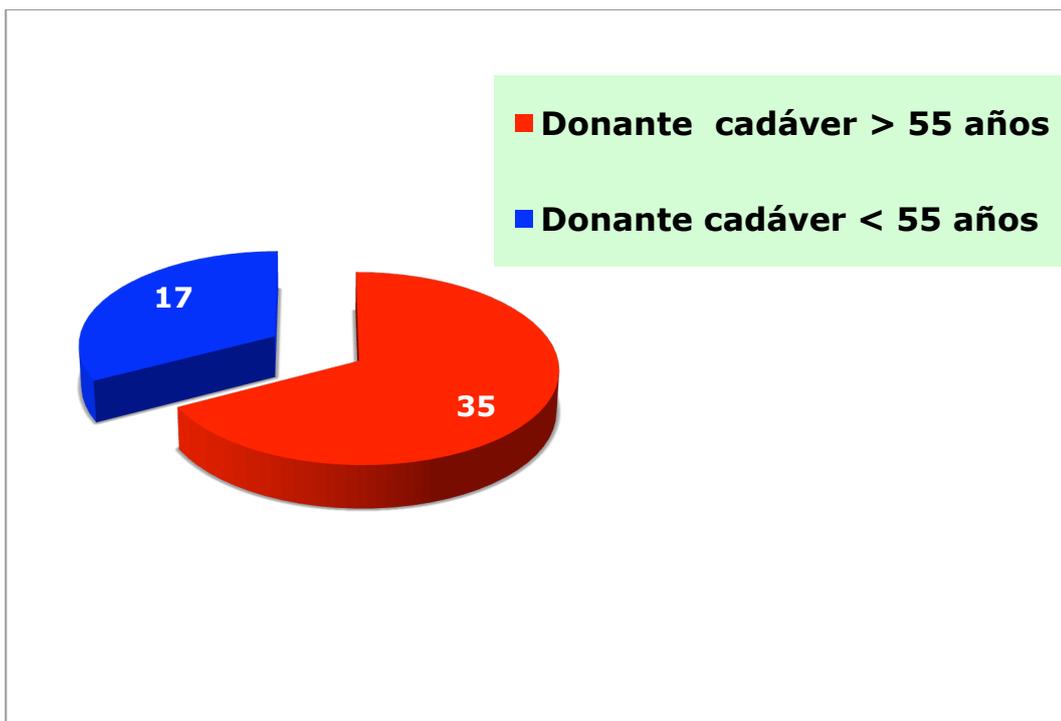


Figura 16. Número de trasplantes de cadáver según donante > ó < de 55 años.

Se realizó una división según el tipo de donante y/o trasplante. Estos grupos fueron los siguientes:

1º) cadáver < de 55 años. (17)

Resultados

2º) cadáver > de 55 años. (35)

3º) trasplante de páncreas-riñón. Nos referiremos a él como trasplante de páncreas. (9)

4º) trasplante de donante vivo. (9)

La división con donantes mayores y menores de 55 años se realizó porque en los trasplantados renales con donantes mayores de esta edad, se realiza una introducción retardada del anticalcineurínico, para evitar el efecto nefrotóxico de este inmunosupresor en pacientes de mayor edad.

4.1.3. Sexo de los donantes:

De los donantes, 39 fueron mujeres (56%) y 31 varones (44%).

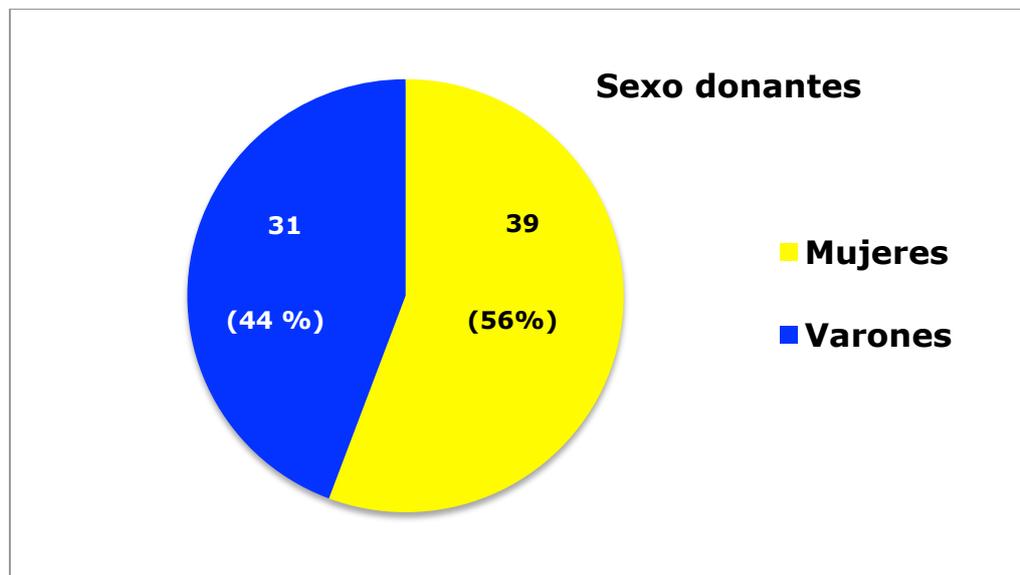


Figura 17. Sexo de los donantes. (Nº absoluto y porcentaje %).

Según los diferentes grupos de trasplante, de los donantes menores de 55 años, 8 fueron mujeres y 9 hombres. Los donantes mayores de 55 años, 25 fueron mujeres y 10 hombres. Los donantes de páncreas 2 fueron mujeres y 7 hombres, y de los donantes vivos 5 fueron mujeres y 4 hombres.

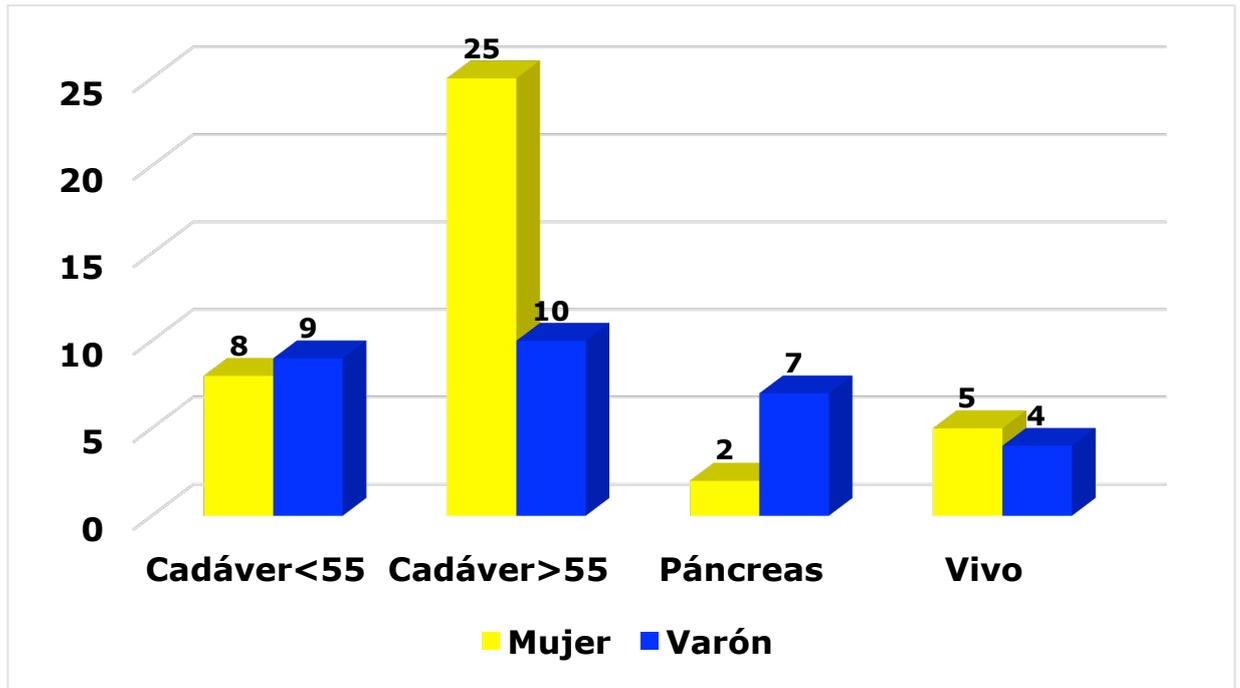


Figura 18. Sexo de los donantes dividido por grupos de trasplante.

4.1.4. Edad de los donantes.

La edad media de los donantes fue de 54,63 años con un EEM de +/- 1,82. Según los grupos establecidos, la edad media de los donantes cadáver menores de 55 años fue de 43,18 +/- 2,55. La de los donantes cadáver mayores de 55 años fue de 66,6 +/- 1,02. La de los donantes de páncreas fue de 35 años +/- 2,9 y la de los donantes vivos 49,56 +/- 3,8 años.

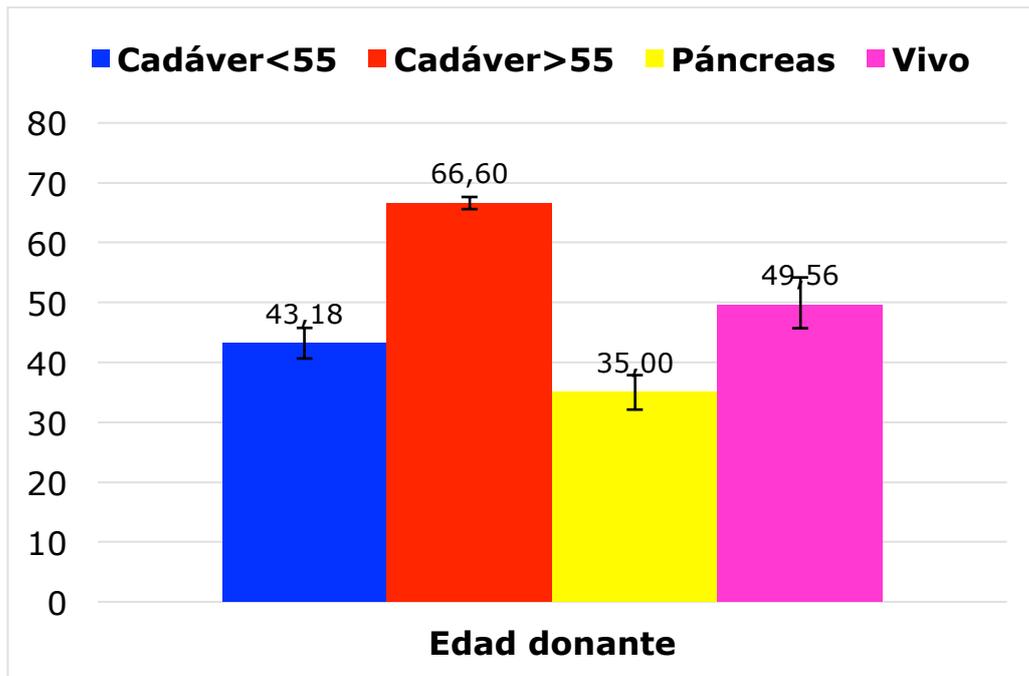


Figura 19. Edad media de los donantes según los grupos de trasplante. (Datos representados como media +/- EEM).

4.1.5. Causas de muerte de los donantes:

Las causas de muerte de los donantes se dividieron en:

- accidentes cerebrovasculares (ACV): 40
- traumatismo craneoencefálico (TCE): 15
- otras causas (4): entre las que se encontraron: asfixia, ahogamiento, y disección aórtica.

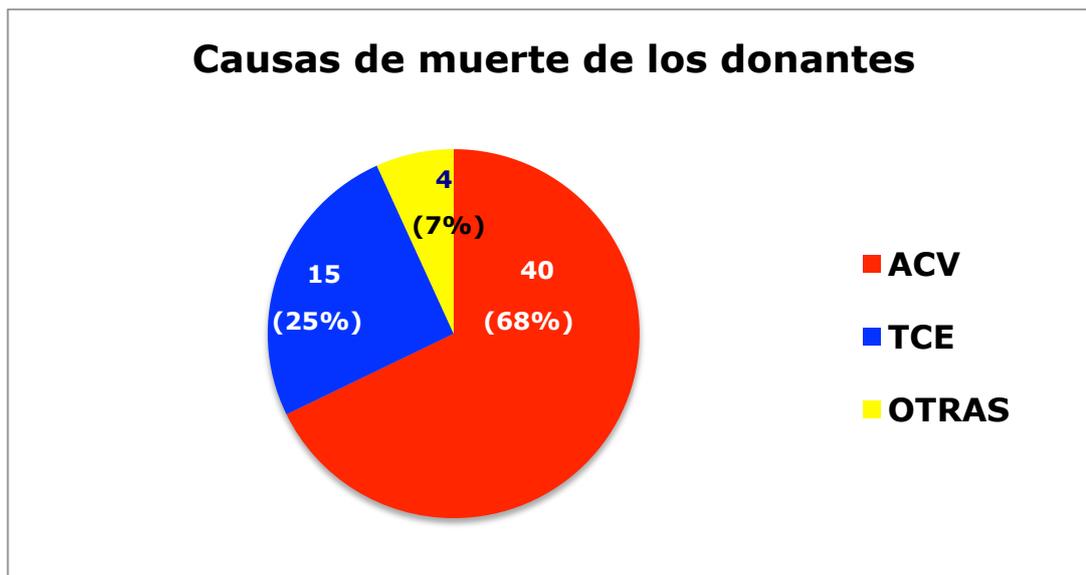


Figura 20. Causas de muerte de los donantes. (Nº absoluto y porcentaje, %).

4.1.6. Sexo de los receptores:

De los receptores de trasplante renal 24 fueron mujeres y 46 varones.

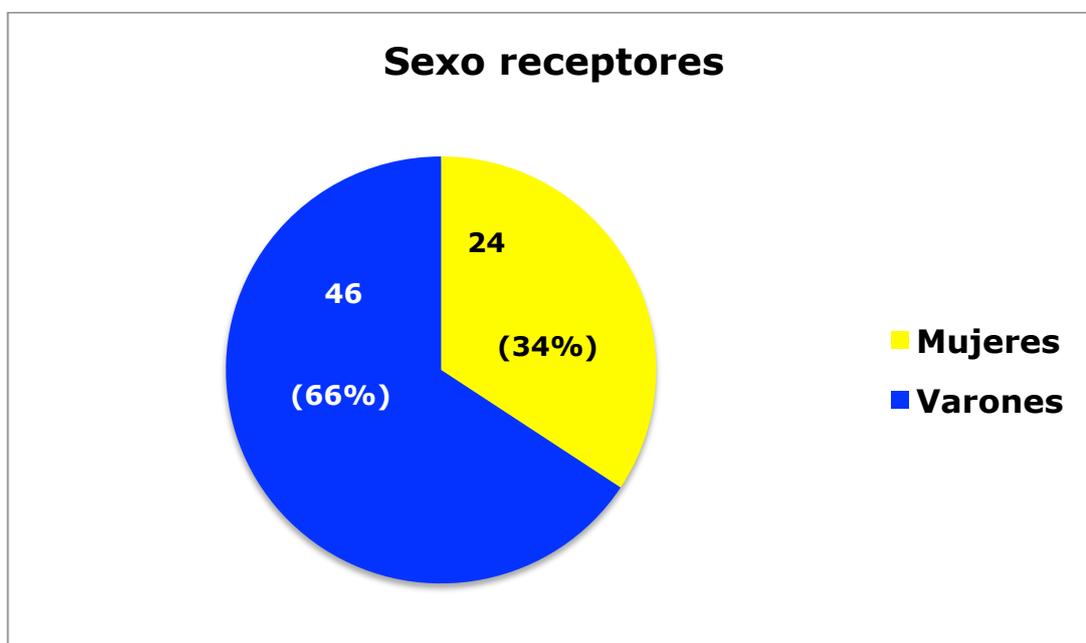


Figura 21. Sexo de los receptores. (Nº absoluto y porcentaje %).

Resultados

Según la división anterior, de los receptores de trasplante renal de cadáver menores de 55 años, 5 fueron mujeres y 12 hombres. Los mayores de 55 años 13 fueron mujeres y 22 hombres. Los trasplantados de riñón páncreas 4 fueron mujeres y 5 hombres, y los trasplantes de donante vivo 2 fueron mujeres y 7 hombres.

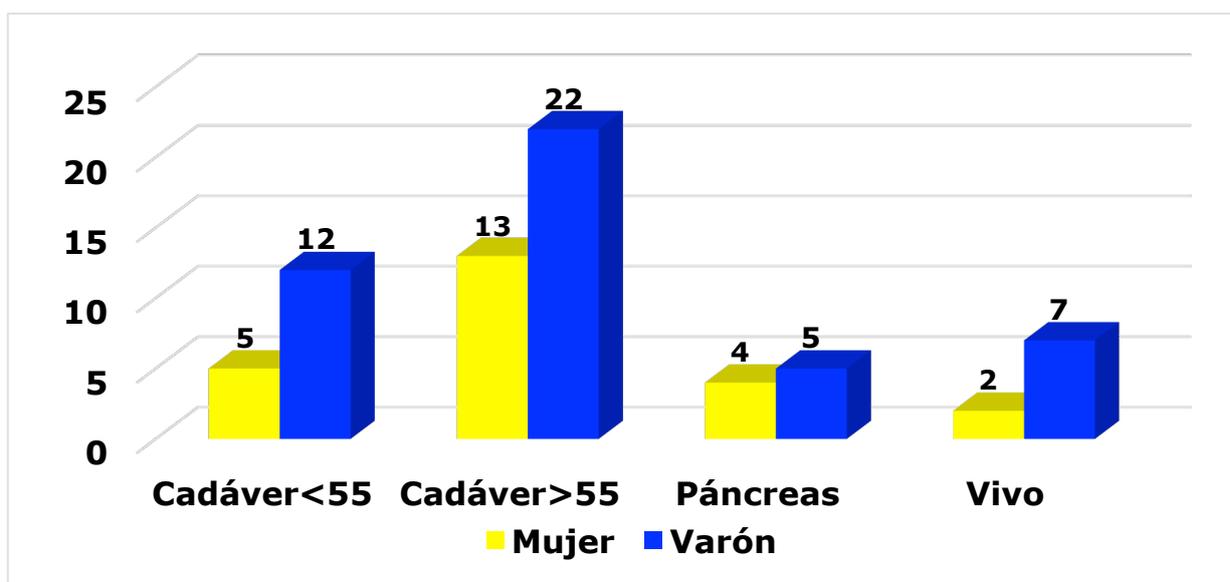


Figura 22. Sexo de los receptores según el tipo de trasplante.

4.1.7. Edad de los receptores:

La edad media de los receptores fue de 55,95 con EEM +/- 1,79. Según los cuatro grupos establecidos, la edad media de los receptores de trasplante de donante cadáver menor de 55 años, fue de 47 +/- 3,5. La edad media de los receptores de trasplante de cadáver mayor de 55 años, fue de 66 +/- 1,28. La de los receptores de trasplante de riñón y páncreas fue de 41,33 +/- 2, y la de los receptores de donante vivo fue de 46,56 +/- 4,64.

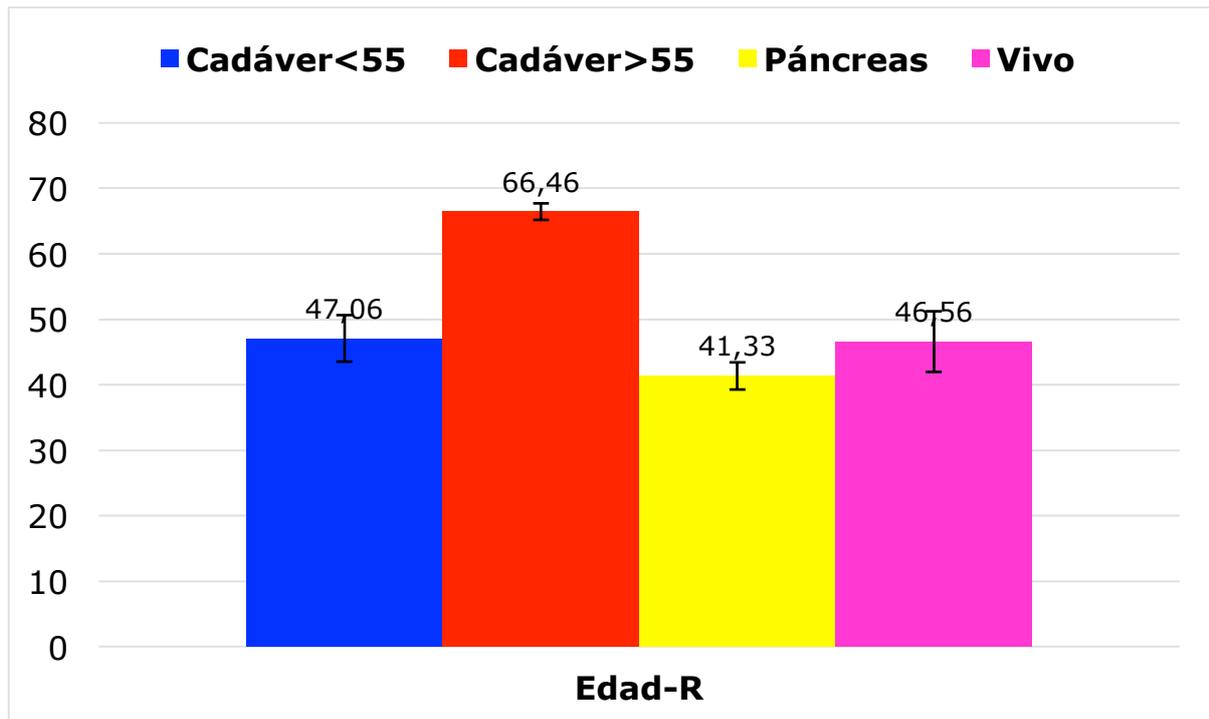


Figura 23. Edad media de los receptores según los tipos de trasplante.

4.1.8. Causas de Insuficiencia Renal Crónica de los receptores:

Las causas de IRC de los receptores fueron variadas, dividiéndose entre Nefropatía Diabética, Enfermedades Glomerulares, Patología Vascular (incluyendo Hipertensión Arterial Maligna y Nefroangioesclerosis), IRC no filiada, Poliquistosis Hepatorrenal Autosómico Dominante, Nefropatías Intersticiales, Síndrome de Alport, Patología Urológica y Síndrome Hemolítico Urémico, según la distribución que se ahora se muestra.

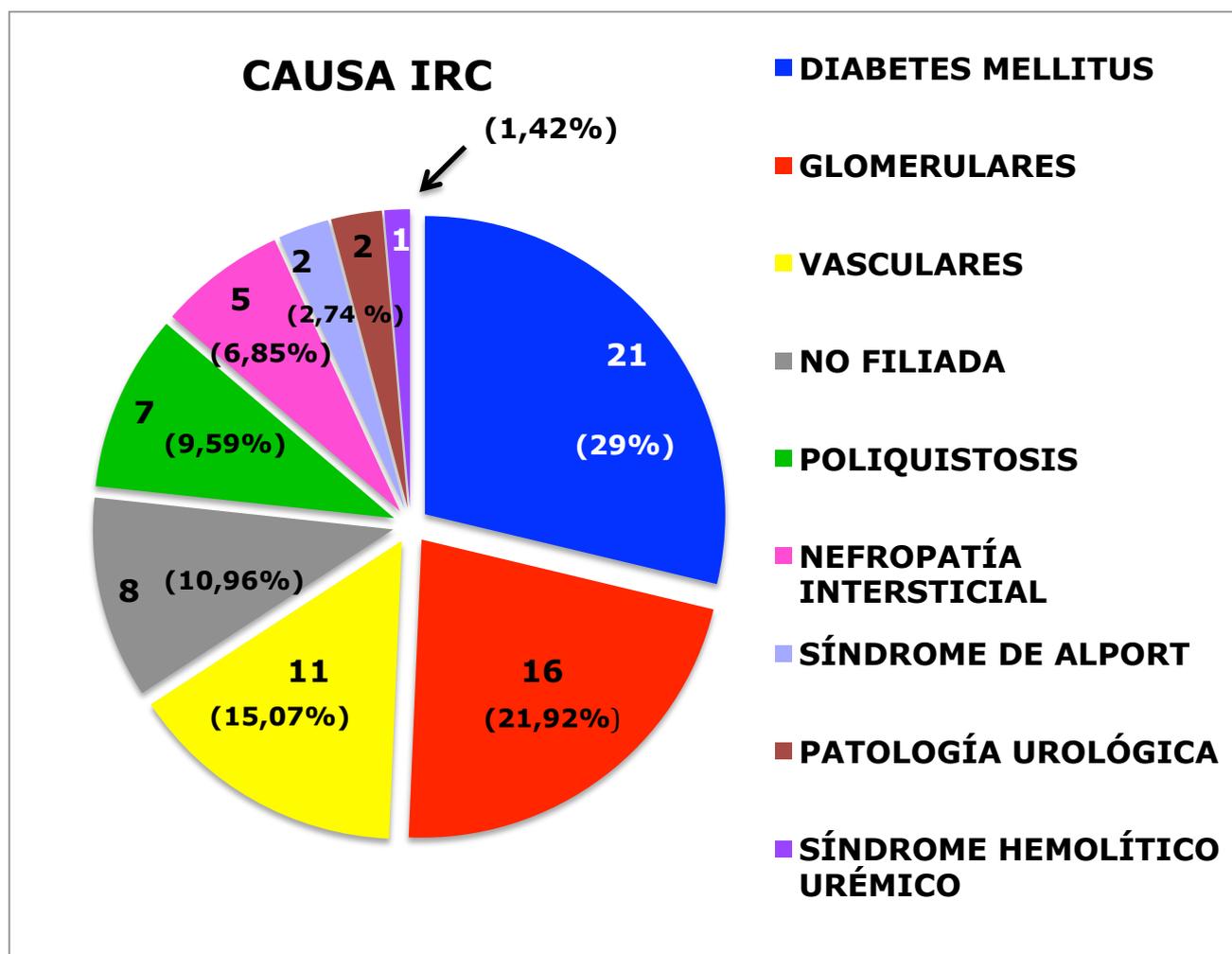


Figura 24. Causas de IRC de los receptores. (Nº absoluto y porcentaje, %).

4.1.9. Tipo de inmunosupresión:

La inmunosupresión administrada a casi todos los pacientes que recibieron TR de cadáver, consistió en cuádruple terapia, con los siguientes fármacos:

- Inducción: Basiliximab (Simulect[®], 20mg los días 0 y +4 post-trasplante).
- TAC (Prograf[®]) con dosis de 0.01 mg/kg de peso dividido en dos tomas diarias (8:30 y 20:30h).
- MMF (CellCept[®]) 1 g cada 12 horas (9 y 21h).
- Corticoides: se administró diferente dosis distinguiendo entre pacientes no diabéticos y pacientes diabéticos:
 - En el caso de los no diabéticos la pauta de esteroides fue:

Resultados

- 500 mg de 6-metilprednisolona el primer día.
- 125 mg de 6-metilprednisolona el segundo día.
- 20 mg de prednisona a partir del 3^{er} día siguiendo una pauta descendente hasta 10 mg de prednisona.
- En el caso de los diabéticos la pauta fue la siguiente:
 - 250 mg de 6-metilprednisolona el primer día.
 - 70 mg de 6-metilprednisolona el 2^o día
 - 10 mg de prednisona a partir del 3^{er} día siguiendo una pauta descendente hasta 5 mg de prednisona.

Ningún paciente tuvo retirada precoz de esteroides.

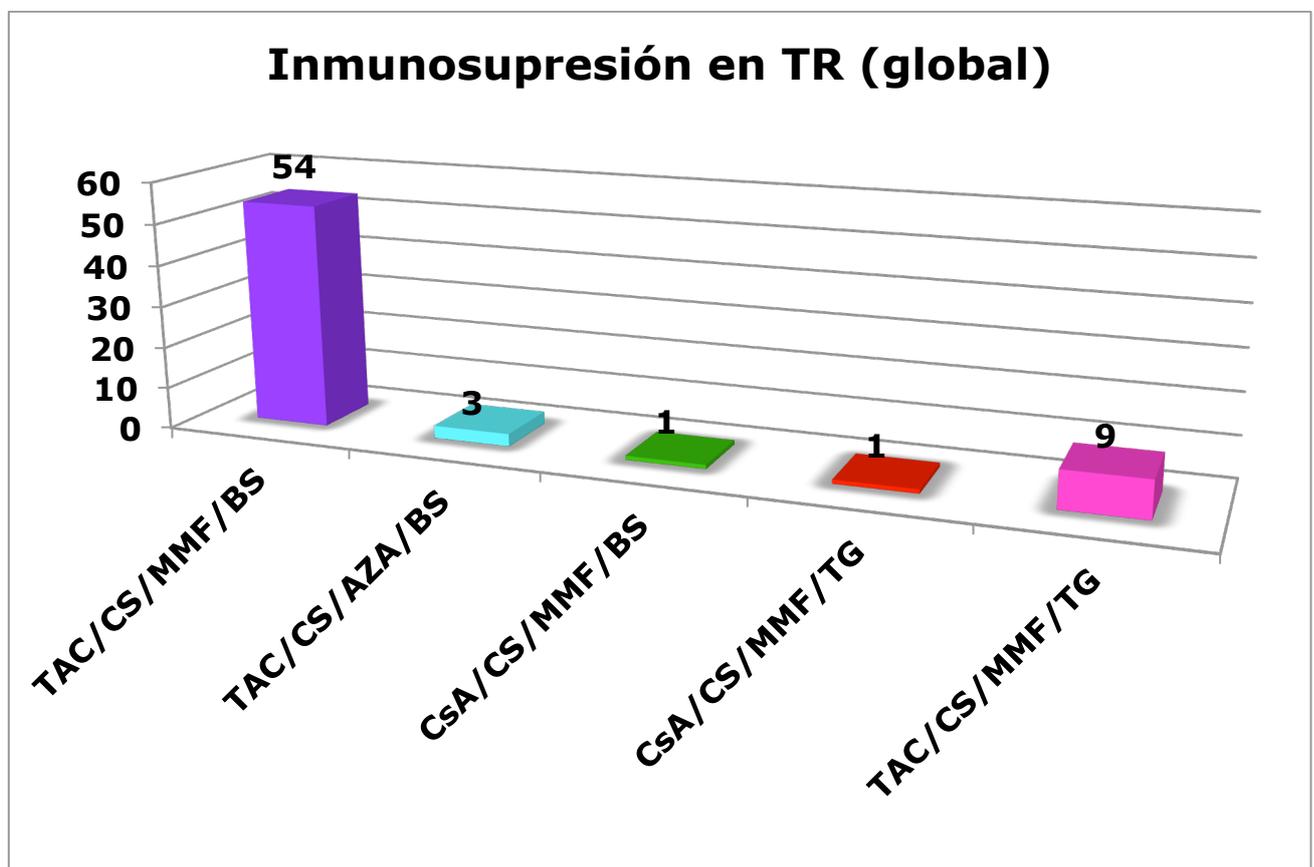


Figura 25. Tipo de inmunosupresión recibida por los TR del estudio. CS: Corticoides. BS: Basiliximab.

Un paciente trasplantado renal de cadáver recibió CsA en vez de TAC, dos recibieron Azatioprina por intolerancia a MMF, y un paciente

Resultados

trasplantado de donante cadáver recibió inducción con TG, por estar sensibilizado con una tasa de anticuerpos HLA > 50%.

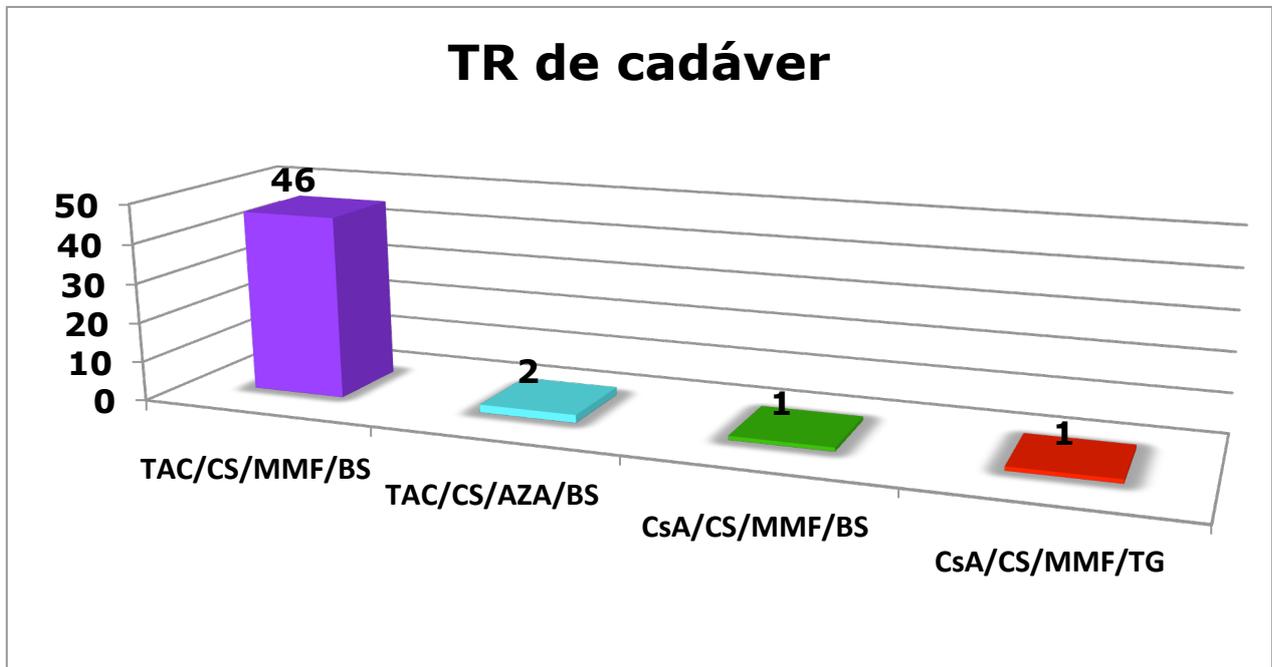


Figura 26. Inmunosupresión en trasplante renal de cadáver.

En el grupo de los trasplantes renales de cadáver, si la edad de los donantes o la de los receptores era mayor de 55 años, la introducción del anticalcineurínico (sólo un paciente con CsA), se hizo el 4º día post-trasplante.

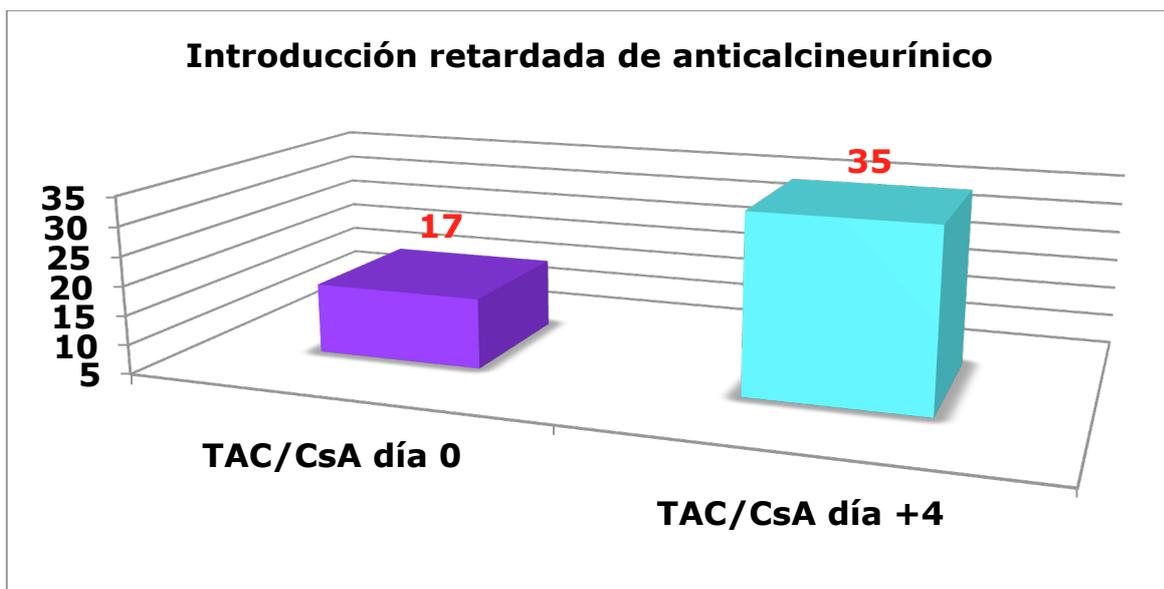


Figura 27. Introducción retardada de anticalcineurínico.

Resultados

Los trasplantes renales de donante vivo recibieron la misma inmunosupresión que los trasplantes renales de donante cadáver, con la diferencia de que los receptores comenzaron a tomar medicación (TAC y MMF) 3 días antes de la intervención quirúrgica.

Un paciente trasplantado de vivo recibió Azatioprina al ser un fármaco que tomaba con anterioridad como tratamiento de la Enfermedad de Crohn que padecía.

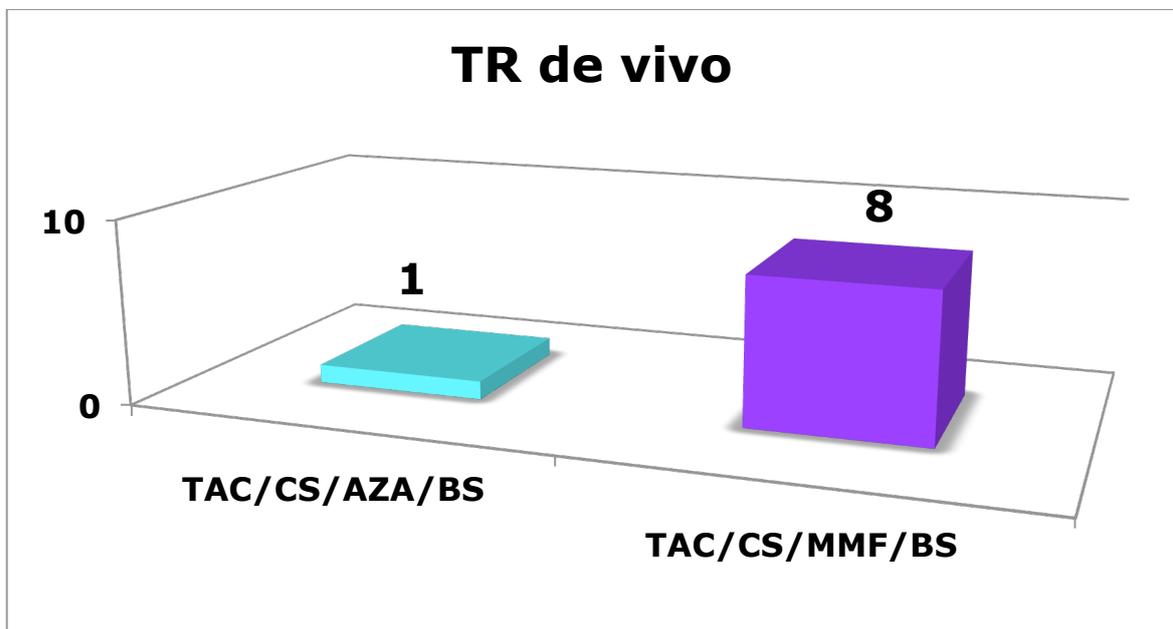


Figura 28: Inmunosupresión en trasplante renal de vivo.

Los receptores que recibieron doble trasplante (renal y páncreas), recibieron la misma inmunosupresión que los trasplantes de cadáver, con la diferencia de que la inducción en todos estos pacientes se realizó con TG.

4.1.10. Tiempo de isquemia fría

El tiempo de isquemia fría global (considerando todos los grupos de pacientes) fue de 855,342 minutos de media (14 horas y 25 minutos), con un EEM de +/- 53,63. El tiempo global de isquemia fría es significativamente menor de lo habitual en TR, debido a que se han

Resultados

incluido trasplantes de vivo y de páncreas en el cálculo total, que hacen disminuir el tiempo medio.

Se consideraron 3 grupos de tiempo de isquemia fría, menor de 120 minutos, entre 120 y 900 minutos, y mayor de 900 minutos

Según los grupos establecidos, el tiempo de isquemia fría fue variable, siendo menor en los trasplantes de vivo (los 9 pacientes tuvieron una isquemia fría inferior a 2 horas), intermedia en los trasplantes dobles de riñón y páncreas (8 pacientes tuvieron una isquemia fría inferior a 15 horas y uno mayor de 15 horas) y mayor en los de cadáver (41 pacientes tuvieron una isquemia fría un tiempo mayor a 15 horas), observándose en estos grupos (cadáver <55 y > 55 años) diferencias significativas con respecto al trasplante de donante vivo.

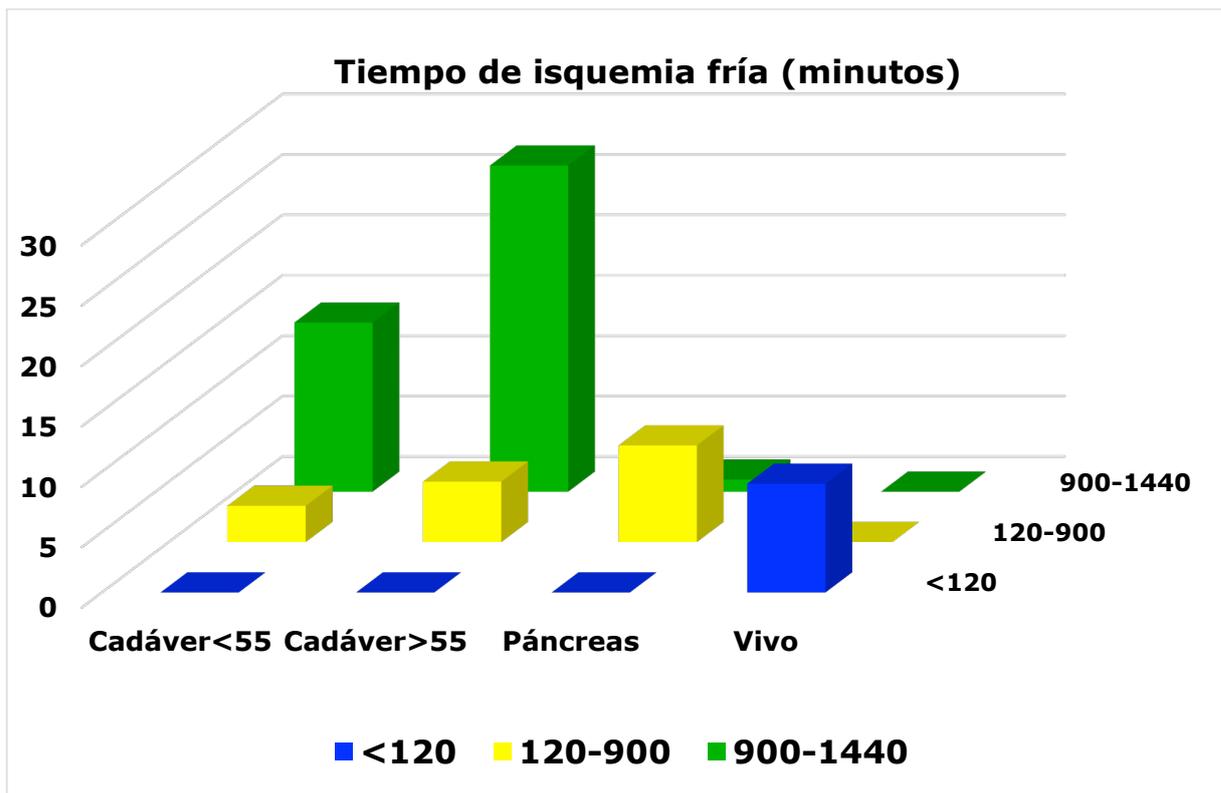


Figura 29: Tiempo de isquemia fría según los grupos de trasplante. (Datos expresados en minutos).

Resultados

4.1.11. Niveles de inmunosupresores.

La media de los niveles de TAC en todos los grupos fue de 6,8 ng/ml con un EEM de +/- 0,2. Solo un paciente recibió CsA.

Los receptores de donante cadáver menores de 55 años tuvieron unos niveles de TAC de 6,8 ng/ml +/- 0,2 y los receptores de donantes mayores de 55 años tuvieron unos niveles de TAC de 6,6 +/- 0,1. En los receptores de doble trasplante la media de TAC fue de 7,1 ng/ml +/- 0,3. Los trasplantes de donante vivo tuvieron una media de TAC de 6,9 ng/ml +/- 0,2.

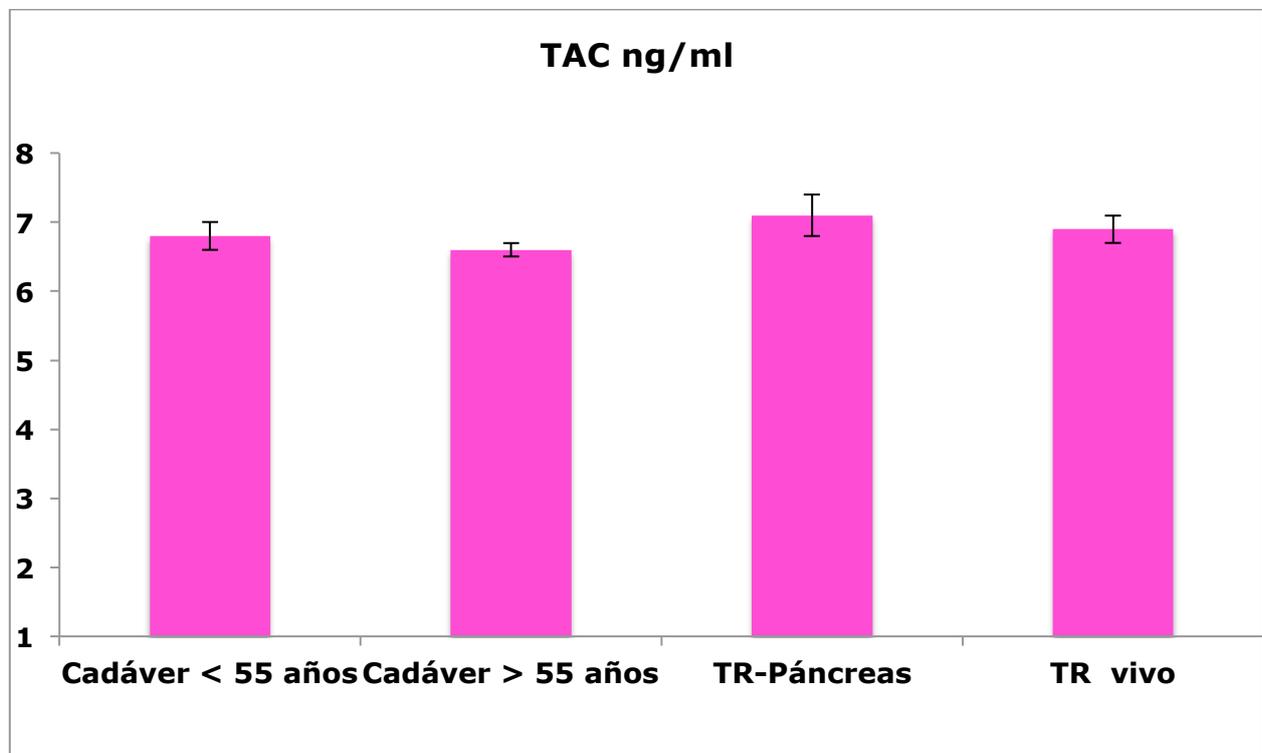


Figura 30: Niveles medios de TAC en los diferentes grupos de TR. (Datos expresados como medias más EEM).

4.1.12. Rechazo Agudo y tipos de rechazo.

Considerando todos los grupos el porcentaje de rechazo fue un 17%. De todos los pacientes incluidos, 12 tuvieron rechazo, y 58 no lo presentaron.

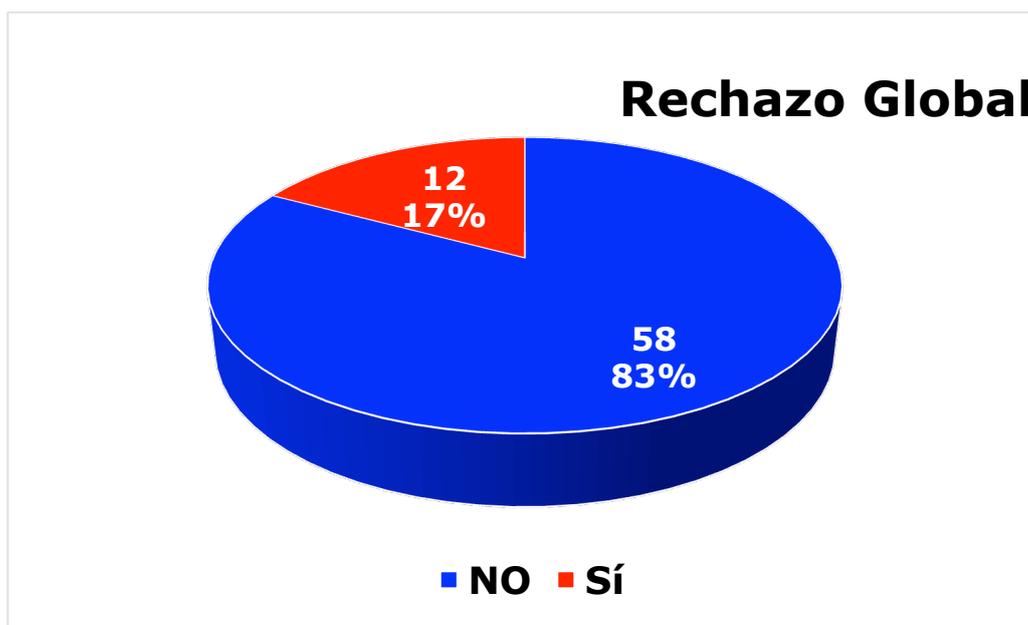


Figura 31. Incidencia de Rechazo Agudo. Datos expresados en nº absoluto y porcentaje, (%).

De los 12 pacientes que tuvieron rechazo, 9 fueron celulares y 3 humorales. De los rechazos celulares, 5 fueron borderline, 1 rechazo IA, 1 rechazo IIA, 1 rechazo IB, 1 fue rechazo celular crónico. Un paciente presentó 1 rechazo mixto celular (III) y humoral. (Tabla 3).

| | | | | | |
|------------------------------|-------|--------|----------|--------------------|--------|
| RECHAZO AGUDO CELULAR | | | 9 | | |
| BORDERLINE: 5 | IA: 1 | IIA: 1 | IB: 1 | CELULAR CRÓNICO: 1 | III: 1 |
| RECHAZO AGUDO HUMORAL | | | 3 | | |

Tabla 3. Clasificación del tipo de RA en el global de los pacientes.

Los pacientes con rechazo borderline o celular se trataron con bolos intravenosos de 6-metilprednisolona (entre 3 y 5 dosis de 250 ó 500 mg según la clasificación del rechazo). Sólo un paciente con RA celular IA recibió TG, por ausencia de respuesta al tratamiento con bolos de esteroides. Los 3 pacientes que presentaron rechazo humoral se trataron con TG, plasmaféresis, e inmunoglobulinas intravenosas. Todos los

Resultados

pacientes respondieron al tratamiento, salvo el enfermo que presentó el rechazo celular crónico y uno de los que tuvo rechazo humoral.

A continuación, se muestran las diferentes tasas de RA en cada uno de los grupos.

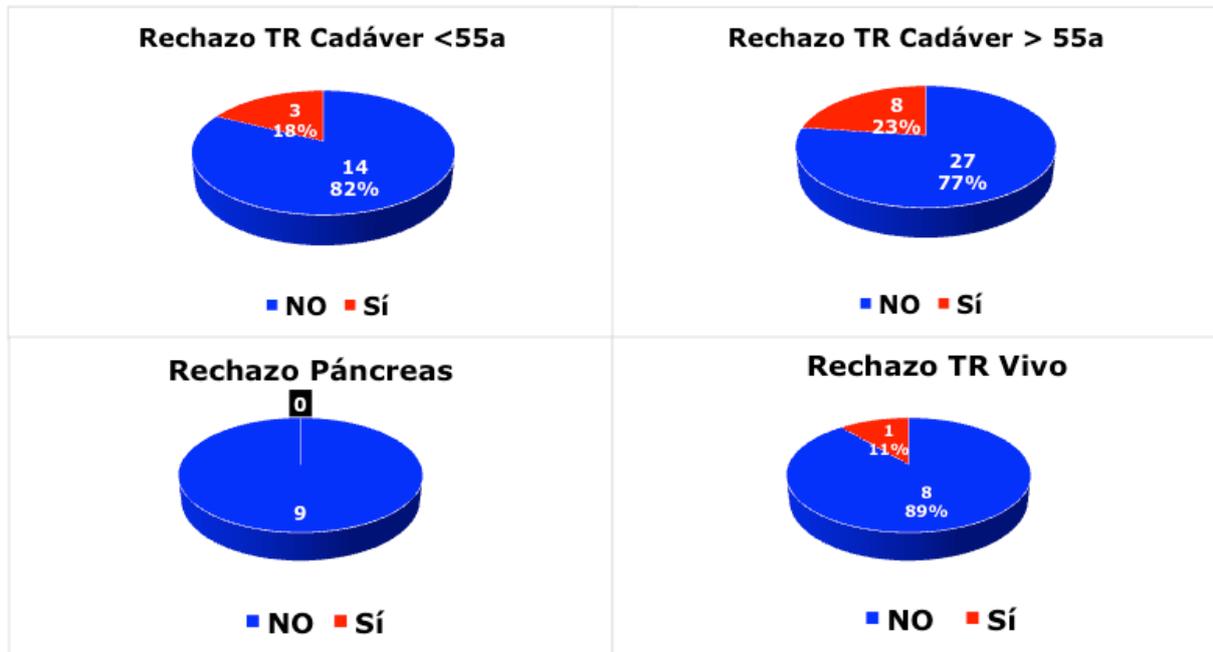


Figura 32. Valores de RA en cada grupo. Datos expresados en nº absoluto y porcentaje, (%).

4.1.13. Necrosis Tubular Aguda (NTA)

De todo el grupo estudiado, 33 % de los pacientes (23), tuvieron NTA, definiendo la misma como necesidad de tratamiento renal sustitutivo (hemodiálisis), la primera semana post-trasplante. El 67% de los enfermos (47), no presentaron NTA.

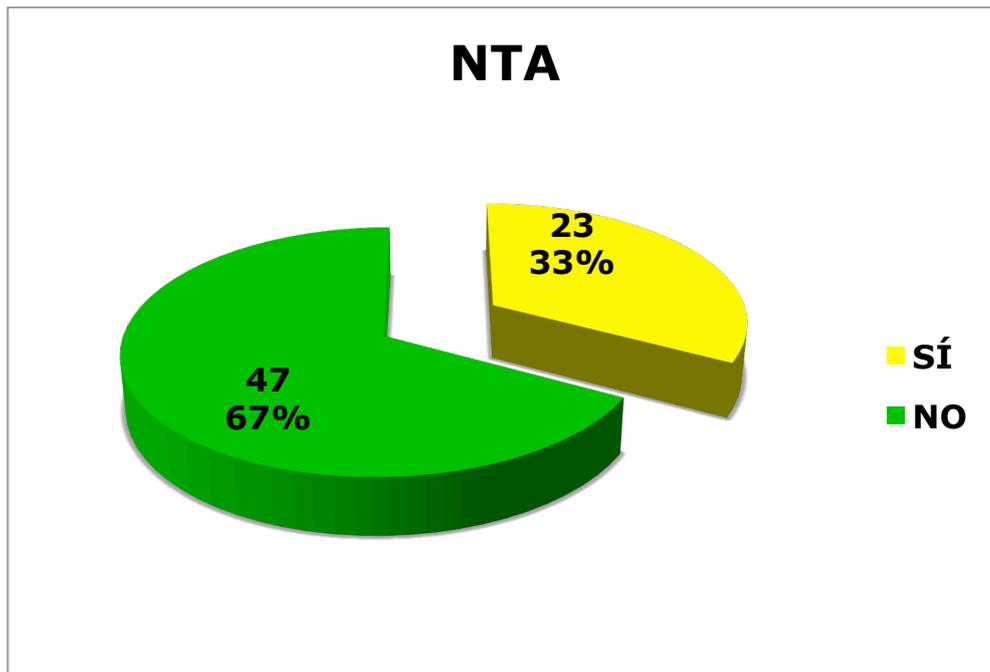


Figura 33. NTA en todo el grupo estudiado. Datos expresados en nº absoluto y porcentaje, (%).

A continuación se muestra la tasa de NTA dividida por grupos.

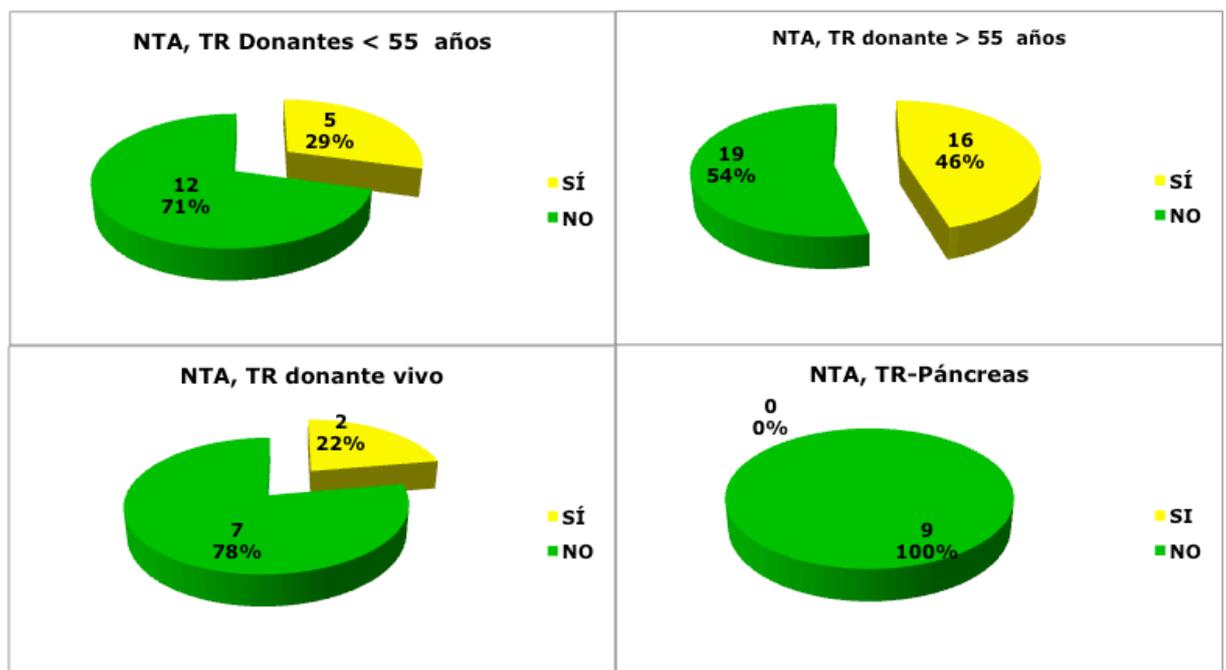


Figura 34. Valores de NTA en los diferentes grupos. Datos expresados en nº absoluto y porcentaje, (%).

Resultados

4.1.14. Rechazo Agudo y NTA.

En todo el estudio realizado, 10 pacientes tuvieron RA y NTA, y fueron 45 enfermos los que no presentaron ninguna de estas dos complicaciones al mismo tiempo.

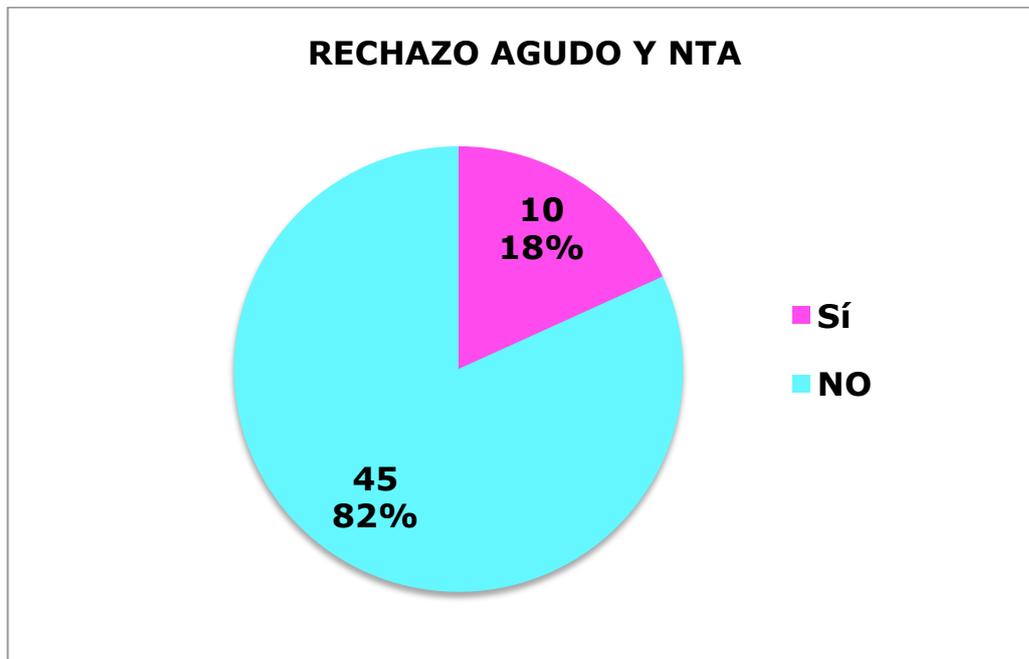


Figura 35. NTA Y RA en el global de los pacientes. Datos expresados en nº absoluto y porcentaje, (%).

A continuación también se detalla, separado por grupos las tasas de RA Y NTA en los grupos establecidos.

Resultados

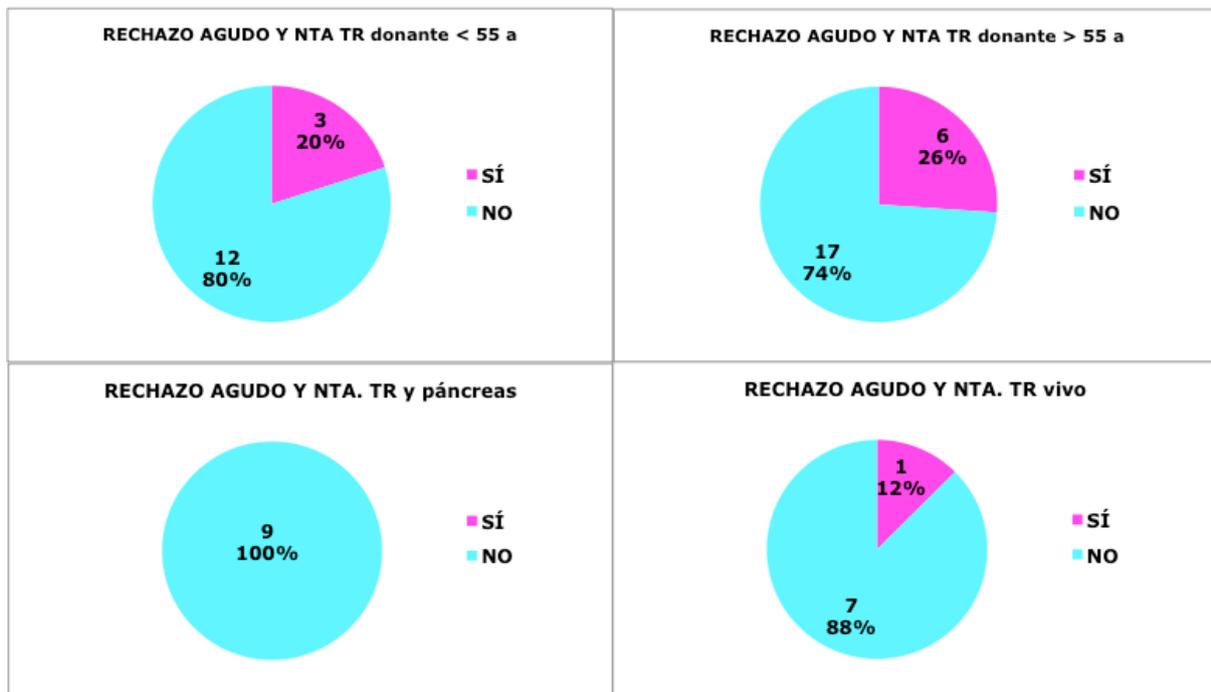


Figura 36. RA y NTA separado por grupos. Datos expresados en nº absoluto y porcentaje, (%).

4.1.15. Administración de fármacos y agentes nefrotóxicos.

De todo el grupo de trasplantados renales, 13 (19%) recibieron algún nefrotóxico, estando entre ellos, antibióticos (Gentamicina, 1 paciente), contraste yodado (3 pacientes), antivirales (Aciclovir, Ganciclovir y Valaciclovir, 5 pacientes), y antagonistas del receptor de la angiotensina II (ARA II) e IECAS, 5 pacientes. Un paciente recibió contraste yodado y Gentamicina.

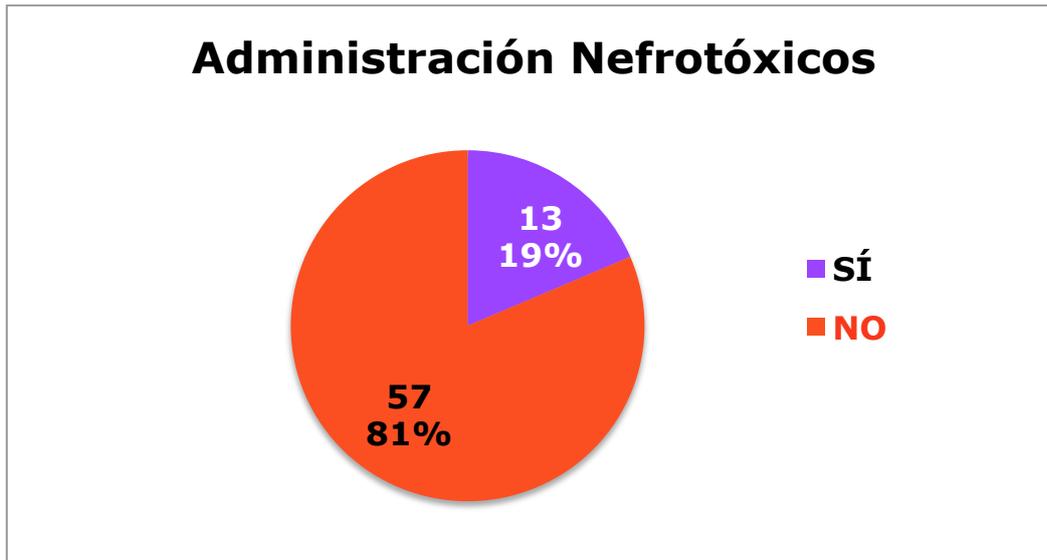


Figura 37. Trasplantados renales con administración de nefrotóxicos. Datos expresados en nº absoluto y porcentaje, (%).

A continuación se detallan la tasa de administración de nefrotóxicos en los diferentes grupos.

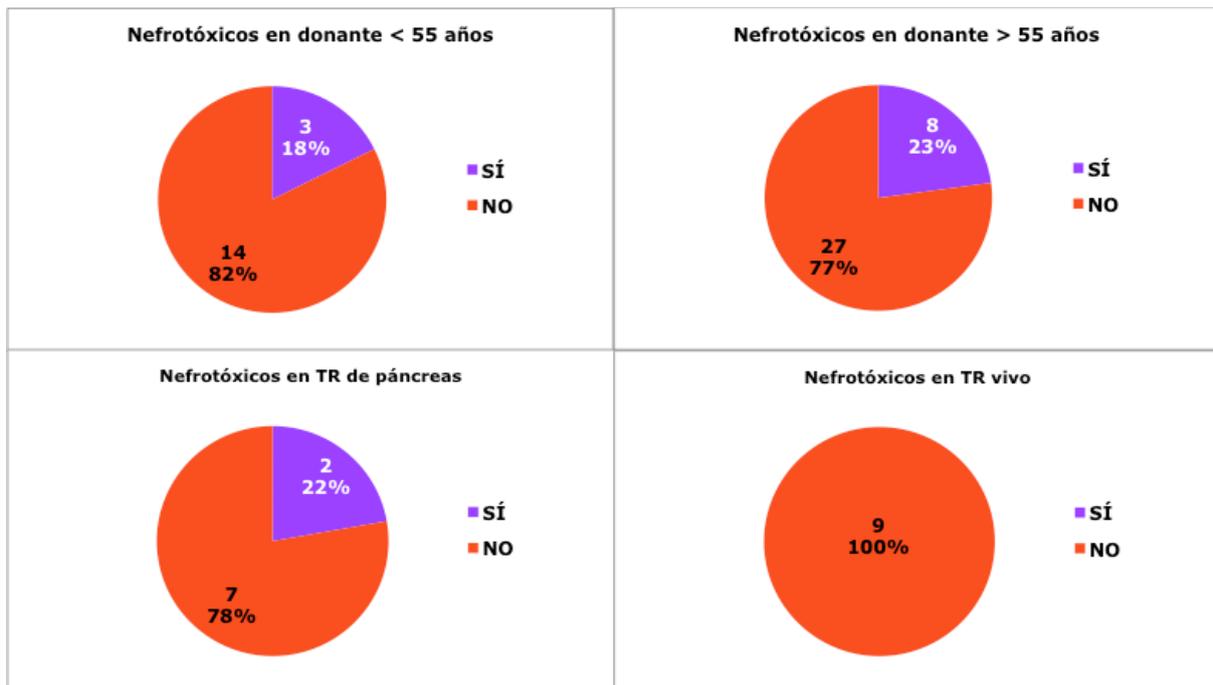


Figura 38. Administración de nefrotóxicos en los diferentes grupos. Datos expresados en nº absoluto y porcentaje, (%).

4.1 Análisis de los datos.

Para el análisis de los datos, se han hecho diferentes relaciones de los valores de los marcadores urinarios (NAG, NGAL y KIM-1), en concentración y excreción en orina de 24 horas, con la evolución de la función renal, medida por las cifras creatinina plasmática en mg/dl. Además se han buscado correlaciones con los diferentes grupos de trasplante (trasplante de donante cadáver mayor y menor de 55 años, trasplante renal y de páncreas, y trasplante de donante vivo) y con los diferentes eventos que suceden en el post-trasplante inmediato (RA, NTA, NTA y RA simultáneamente, isquemia fría, y administración de nefrotóxicos, así como cuando hemos considerado que se ha estabilizado la función renal dentro de los 3 primeros meses). A continuación se procede a detallar cada uno de ellos.

4.2.1 Relación de los marcadores urinarios con la creatinina plasmática.

Se ha realizado la media de todos los marcadores urinarios en todos los pacientes incluidos en el estudio, los días +1, +3, +5 y + 7 post-trasplante, y en el día de la estabilización, considerando el día de la estabilización, el día en el cual la función renal se ha considerado que se ha estabilizado dentro del periodo observado (3 meses). A su vez, se han realizado las medias de la creatinina plasmática en todos los pacientes los mismos días que los marcadores. Los valores de creatinina se han expresado en concentración plasmática y porcentaje. Los valores de los marcadores urinarios se han calculado en concentración y en excreción diaria (corregidos por el volumen de orina de 24 horas) y ambos en porcentaje.

Resultados

4.2.1 a) Relación de la NAG urinaria con la creatinina plasmática.

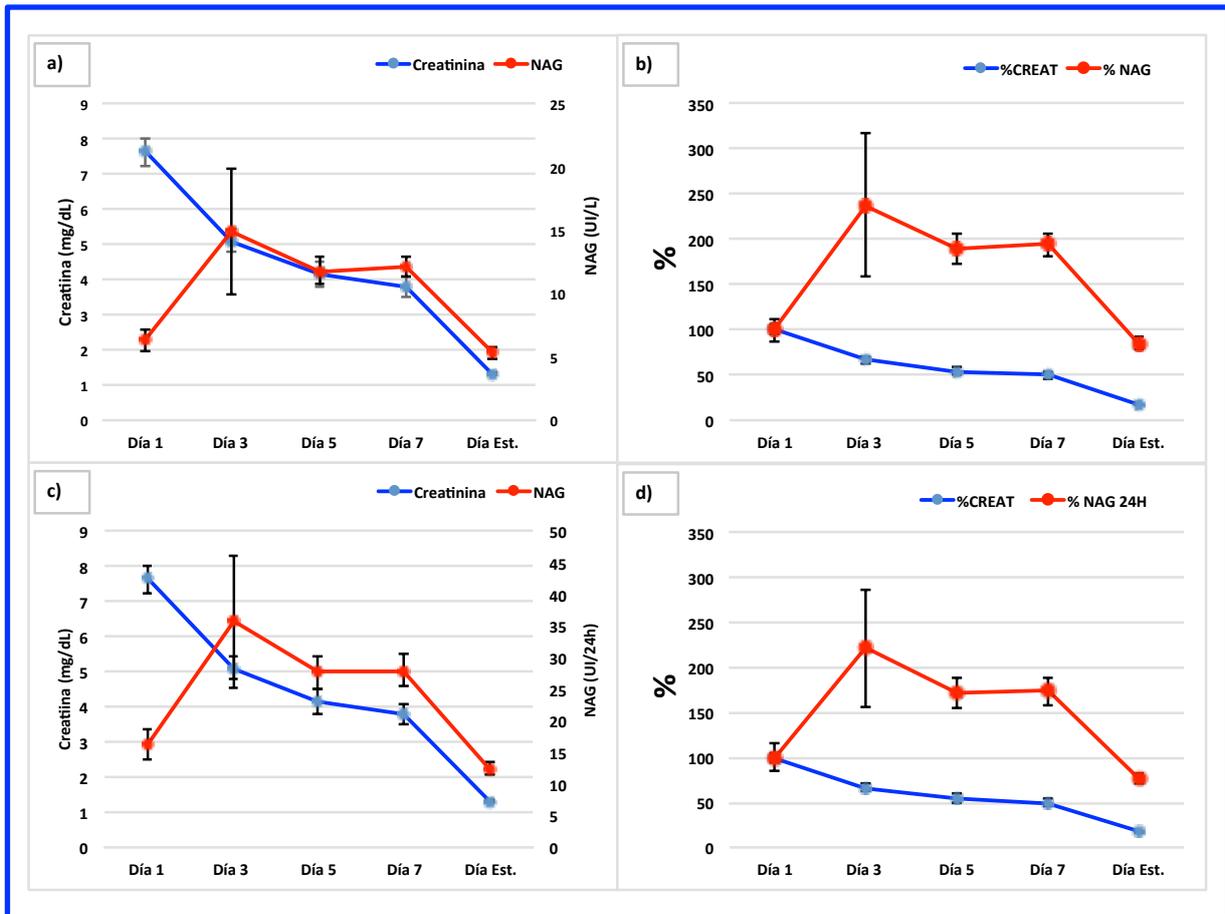


Figura 39. Evolución de la concentración de la creatinina plasmática y de la concentración de NAG urinaria los días +1, +3, +5 y +7 post-trasplante y en el día de la estabilización (considerado el día que la creatinina se estabilizó dentro los 3 primeros meses post-trasplante). Datos representados como medias +/- EEM. a) Valores de creatinina: mg/dl, valores de NAG en UI/L. b) Valores de ambos parámetros en porcentajes (%). c) Valores de creatinina en concentración y valores de NAG en excreción diaria. d) Valores de ambos parámetros en porcentajes.

Esta gráfica muestra un descenso de los valores de creatinina, progresivo, hasta llegar al día de la estabilización. Sin embargo, la evolución de la NAG asciende durante la primera semana, hasta un valor máximo en el día +3 post-trasplante, mientras que la creatinina desciende desde el inicio. Al representar la gráfica en porcentajes, la NAG aumenta un 137%, mientras que la creatinina desciende un 33%. No obstante, hay mucha variabilidad de la NAG en el día +3, como se puede apreciar en el EEM. Esto se evidencia, al representarlo tanto en concentración como en excreción diaria. En el día de la estabilización, hay un descenso de creatinina plasmática, y del marcador urinario, aunque en el caso del

Resultados

marcador es para alcanzar su valor basal. La NAG desciende un 110%, y la creatinina un 32%. La gráfica en porcentajes se realizó para poder tener la misma escala en los ítems medidos.

4.2.1 b) Relación de la NGAL urinaria con la creatinina plasmática.

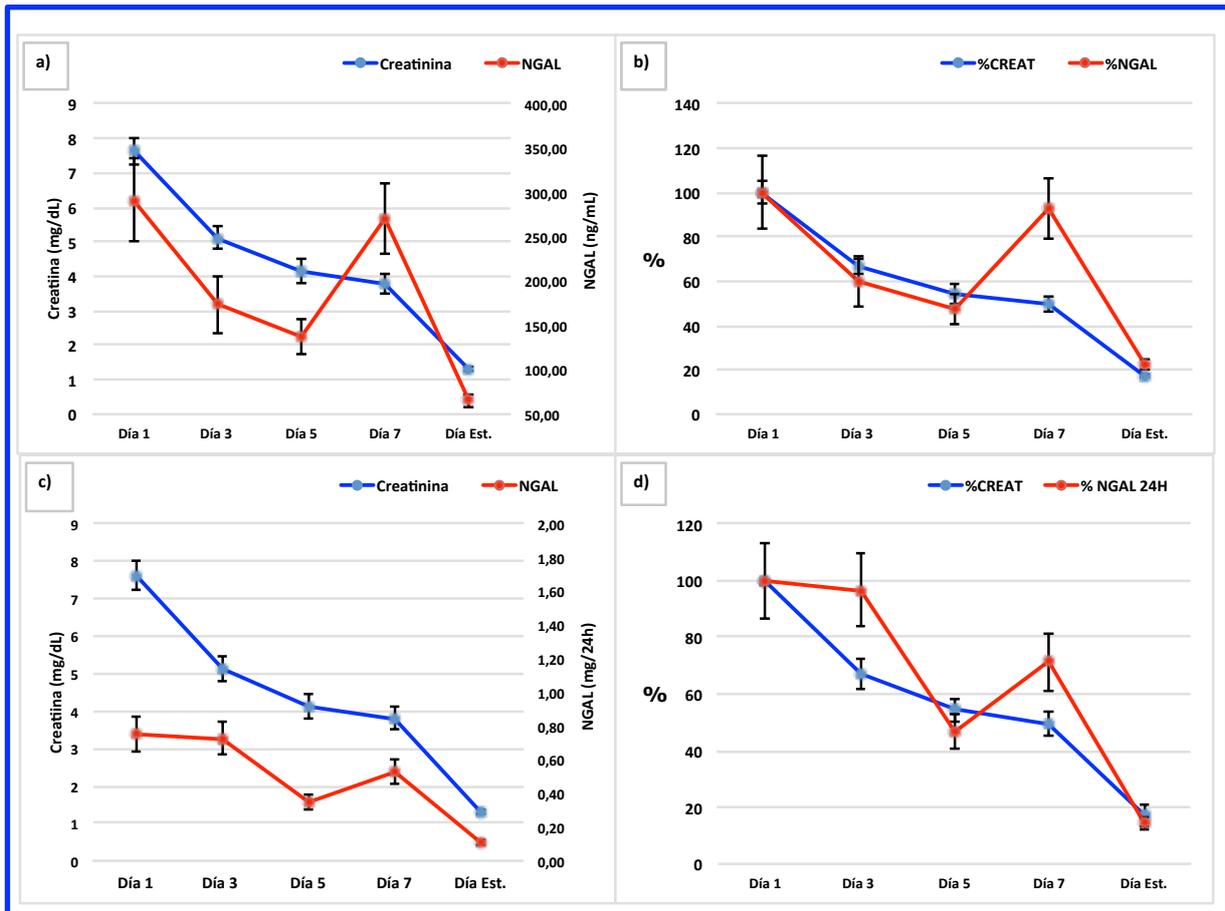


Figura 40. Evolución de la concentración de la creatinina plasmática y de la concentración de NGAL urinaria los días +1, +3, +5 y +7 post-trasplante y en el día de la estabilización (considerado el día que la creatinina se estabilizó dentro los 3 primeros meses post-trasplante). Datos representados como medias +/- EEM. a) Valores de creatinina: mg/dl, valores de NGAL en ng/mL. b) Valores de ambos parámetros en porcentajes (%). c) Valores de creatinina en concentración y valores de NGAL en excreción diaria. d) Valores de ambos parámetros en porcentajes.

Esta gráfica muestra un descenso de los valores de creatinina, progresivo, hasta llegar al día de la estabilización. Sin embargo, la evolución de la NGAL es diferente, ya que existe un ascenso en el día +7 post-trasplante, mientras que la creatinina tiene una tendencia descendente desde el inicio. Al representar la gráfica en porcentajes, la NGAL aumenta un 47% en el día 7, mientras que la creatinina desciende

Resultados

un 5% en ese mismo día. Esto sucede, al representarlo tanto en concentración como en excreción diaria.

4.2.1 c) Relación del KIM-1 urinario con la creatinina plasmática.

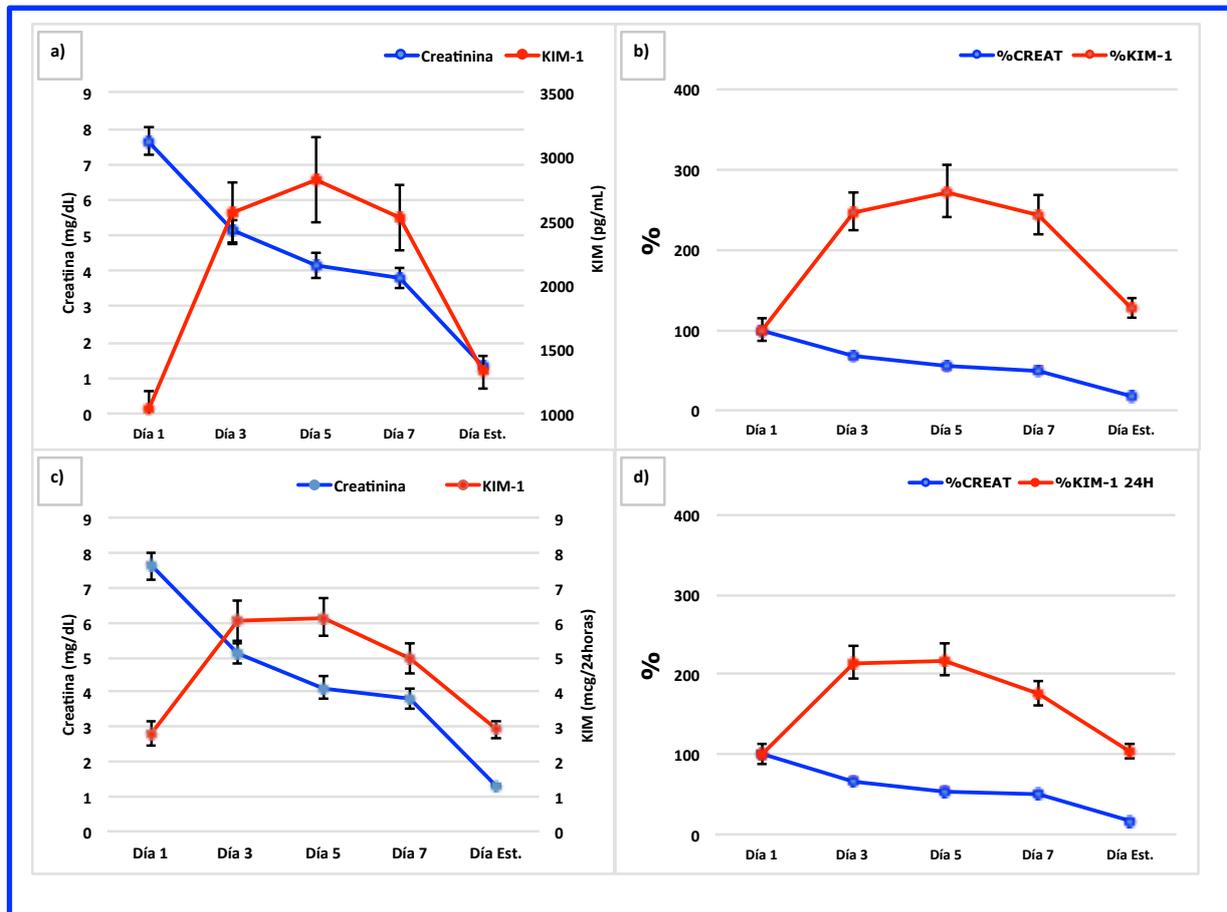


Figura 41. Evolución de la concentración de la creatinina plasmática y de la concentración de KIM-1 urinario, los días +1, +3, +5 y +7 post-trasplante y en el día de la estabilización (considerado el día que la creatinina se estabilizó dentro los 3 primeros meses post-trasplante). Datos representados como medias +/- EEM. a) Valores de creatinina: mg/dl, valores de KIM-1 en pg/mL. b) Valores de ambos parámetros en porcentajes (%). c) Valores de creatinina en concentración y valores de KIM-1 en excreción diaria. d) Valores de ambos parámetros en porcentajes.

Esta gráfica muestra un descenso de los valores de creatinina, progresivo, hasta llegar al día de la estabilización. Sin embargo, la evolución del KIM-1 es ascendente, evidenciándose en el día +3 post-trasplante, mientras que la creatinina desciende desde el principio. Al representar la gráfica en porcentajes, el KIM-1 llega a aumentar un 146%, mientras que la creatinina desciende un 33% respecto a sus

Resultados

valores en el día 1. Esto sucede, al representarlo tanto en concentración como en excreción diaria.

En resumen, cuando se ha comparado la relación de la evolución de la creatinina plasmática con la evolución de todos los marcadores urinarios analizados en la primera semana, se ha observado una tendencia descendente de la creatinina, mientras que los marcadores tienen una tendencia ascendente, que varía según cada marcador: NAG el día +3, NGAL el día +7 y KIM-1 el día +3 post-trasplante, observándose este suceso tanto cuando se expresan los valores de los marcadores en concentración, como en excreción diaria. Por otra parte, es importante destacar que en el momento de la estabilización, NGAL presenta valores inferiores a los encontrados en el día 1 post-trasplante, mientras que los marcadores NAG y KIM-1 presentan valores similares a los que tenían al inicio del trasplante (día 1).

4.2.2 Relación de los marcadores urinarios con los diferentes tipos de trasplante.

En este estudio, se han relacionado los marcadores urinarios: NAG, NGAL y KIM-1 con los diferentes grupos de trasplante. Durante la primera semana se ha elegido el valor más alto de cada marcador (NAG en la primera semana, NGAL en la primera semana y KIM-1 en la primera semana), en cada uno de los pacientes, y se ha realizado la media de estos valores en cada uno de los tipos de trasplante. También se ha realizado el mismo proceso cuando se ha considerado que se ha estabilizado la función renal, en cada uno de los grupos, medida por la estabilización de la creatinina, en los 3 primeros meses, ya que es el periodo de observación del estudio.

4.2.2 a) *Relación de NAG con los diferentes grupos de trasplante.*

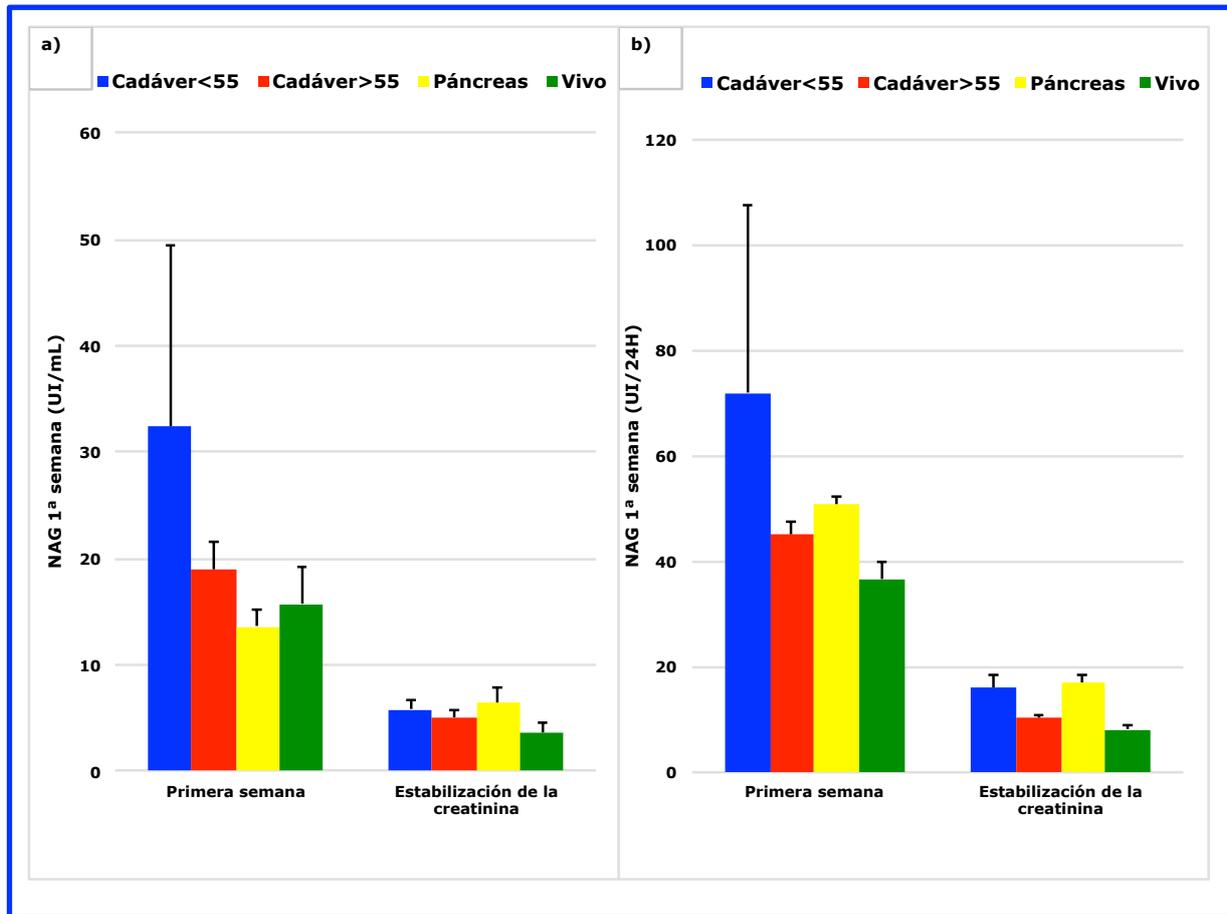


Figura 42. Relación de la NAG con los diferentes grupos de trasplante. Primera semana: media del valor más alto de NAG en todos los pacientes, en cada uno de los grupos, la primera semana. Estabilización de la creatinina: media del valor más alto de cada marcador en todos los pacientes en cada uno de los grupos, cuando se ha estabilizado la función renal. a) Valores en concentración. b) Valores en excreción diaria. Datos no estadísticamente significativos según el test de Scheffe.

En esta gráfica se observa una evolución similar de la NAG urinaria en todos los tipos de trasplante. No hay diferencias estadísticamente significativas de los valores de NAG según el grupo de trasplante, ni en concentración, ni en excreción diaria. Sin embargo se observa una disminución de los marcadores en el momento de la estabilización, similar en todos los grupos. En el grupo de trasplante renal de cadáver menor de 55 años, hay mayor variabilidad de los valores de NAG, por eso el E.E.M es mayor que en los otros grupos.

4.2.2 b) *Relación de NGAL con los diferentes grupos de trasplante.*

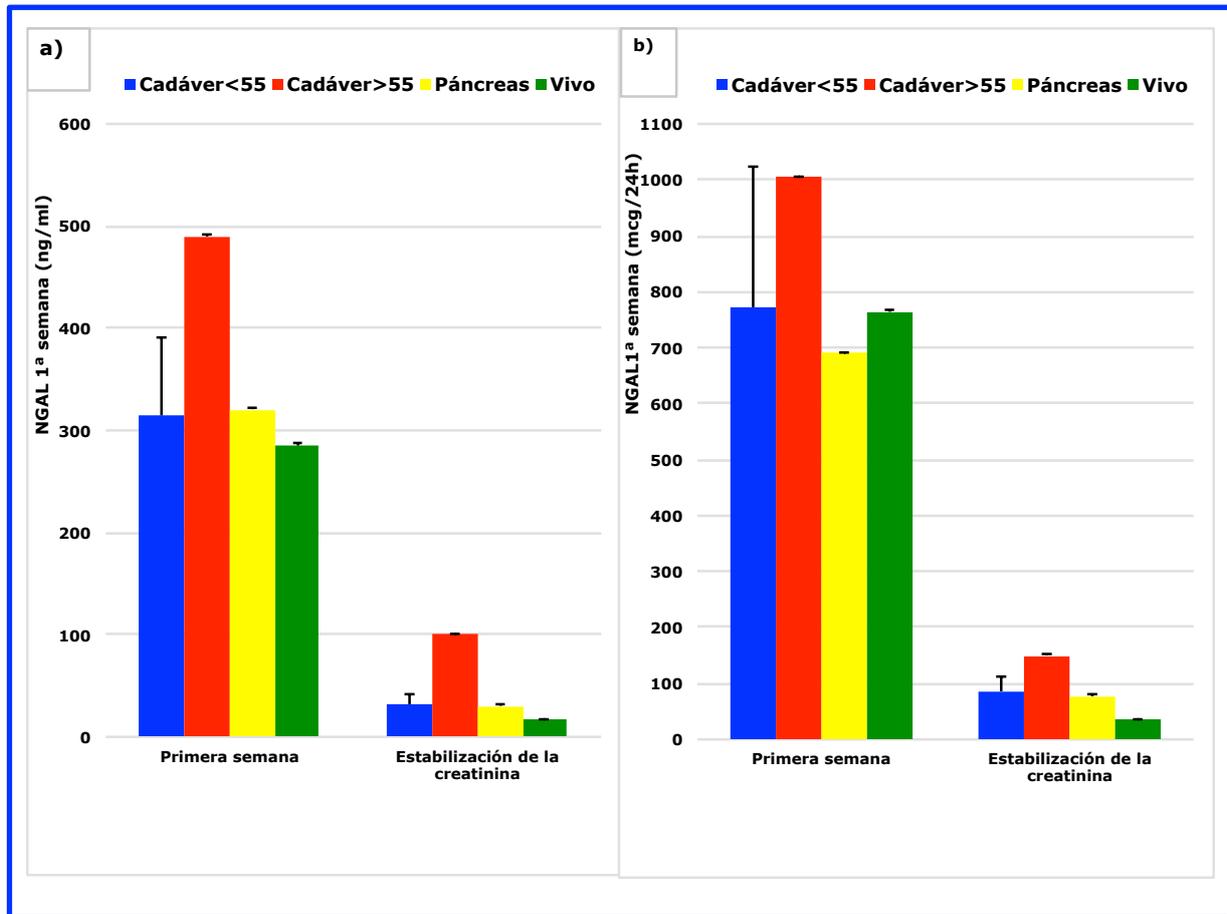


Figura 43. Relación de la NGAL con los diferentes grupos de trasplante. Primera semana: media del valor más alto de cada marcador en todos los pacientes en cada uno de los grupos la primera semana. Estabilización de la creatinina: media del valor más alto de cada marcador en todos los pacientes en cada uno de los grupos, cuando se ha estabilizado la función renal. a) Valores en concentración. b) Valores en excreción diaria. Datos no estadísticamente significativos según el test de Scheffe.

En esta gráfica se observa una evolución similar de la NGAL urinaria en todos los tipos de trasplante. No hay diferencias estadísticamente significativas de los valores de NGAL según el grupo de trasplante, ni en concentración, ni en excreción diaria. Sí se observa una disminución de los marcadores en el momento de la estabilización, similar en todos los grupos. En el grupo de trasplante renal de cadáver menor de 55 años, hay mayor variabilidad de los valores de NGAL, por eso el E.E.M es mayor que en los otros grupos.

4.2.2 c) Relación de KIM-1 con los diferentes grupos de trasplante.

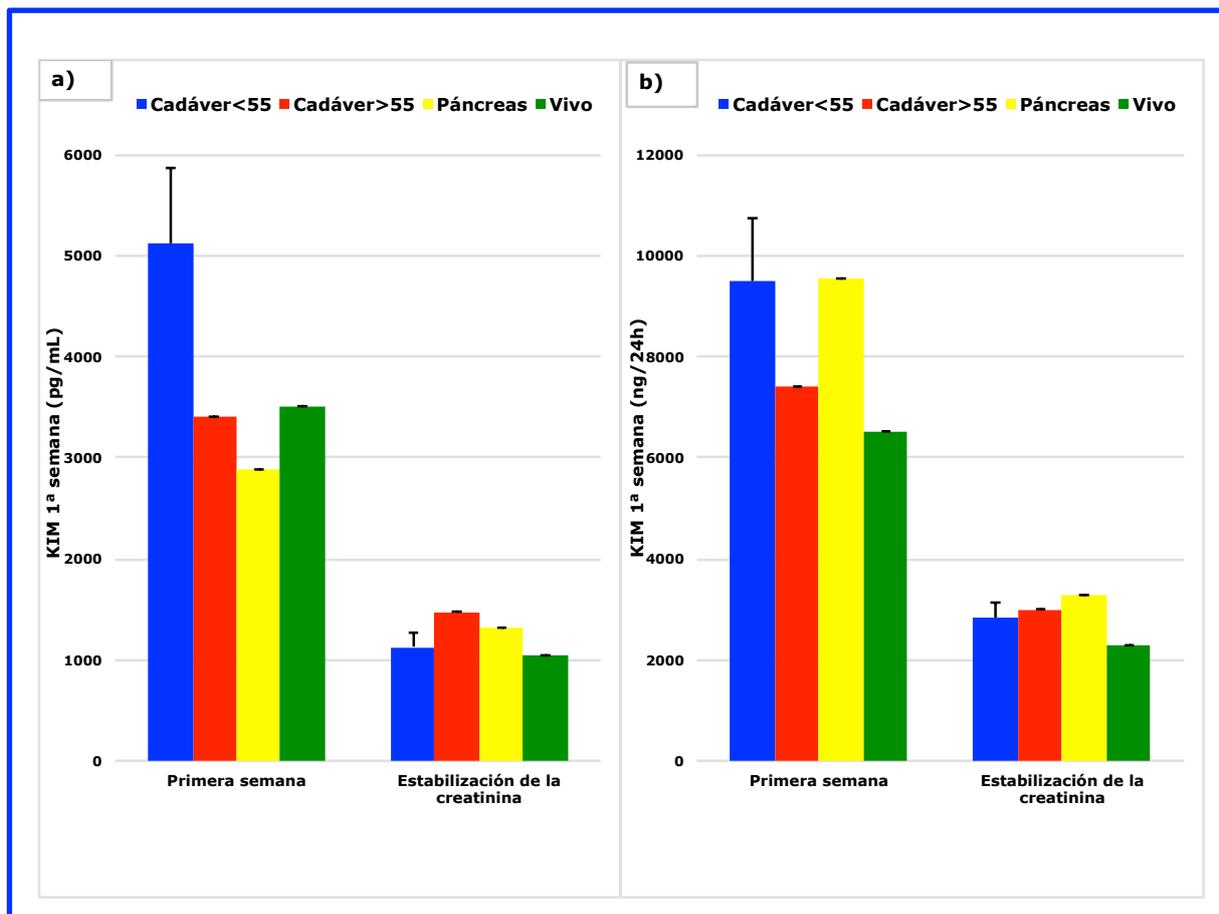


Figura 44. Relación de KIM-1 con los diferentes grupos de trasplante. Primera semana: media del valor más alto de cada marcador en todos los pacientes en cada uno de los grupos la primera semana. Estabilización de la creatinina: media del valor más alto de cada marcador en todos los pacientes en cada uno de los grupos, cuando se ha estabilizado la función renal. a) Valores en concentración. b) Valores en excreción diaria. Datos no estadísticamente significativos según el test de Scheffe.

En esta gráfica se observa una evolución similar del KIM-1 urinario en todos los tipos de trasplante. No hay diferencias estadísticamente significativas de los valores del KIM-1 urinario según el grupo de trasplante, ni en concentración, ni en excreción diaria. Sin embargo, se observa una disminución de los marcadores en el momento de la estabilización, similar en todos los grupos. En el grupo de trasplante renal de cadáver menor de 55 años, hay mayor variabilidad de los valores de KIM-1, por eso el E.E.M es mayor que en los otros grupos.

4.2.3 Relación de los marcadores urinarios con los diferentes eventos en el post-trasplante inmediato.

Para poder analizar la relación de los marcadores determinados, con los diferentes eventos que suceden en el post-trasplante inmediato, se realizaron análisis estadísticos con la correlación de χ^2 , creando tablas de contingencia. Se usó el percentil 70 y una $p < 0.05$, para considerar los valores estadísticamente significativos. Aunque habitualmente se utiliza el percentil 75, en este estudio se ha usado el percentil 70 por tener un número no muy amplio de pacientes. Se han relacionado todos los marcadores, en el día más alto de la primera semana, tanto en concentración como en excreción diaria con: el tipo de trasplante, el RA, la NTA, la NTA y el RA simultáneos, la administración de fármacos y agentes nefrotóxicos y la estabilización de la función renal. También se ha hecho una relación estadística entre dichos eventos y el día de la primera semana, que se ha elevado más cada marcador, siendo variable en cada uno de ellos. (Ver figuras 38, 39 y 40).

4.2.3 a) Relación de NAG con los diferentes eventos post-trasplante.

| | NAG S1 | NAG D3 | NAG 24H S1 | NAG 24H D3 |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| Tipo de trasplante | p=191 | P<0,001 | p=225 | p= <,001 |
| RA | p=0,254 | p=0,33 | p=0,55 | p=0,066 |
| NTA | p=0,211 | p=0,329 | p=0,472 | p=0,278 |
| NTA y RA | p=0,653 | p=0,639 | p=0,803 | p=0,400 |
| Isquemia fría | p=0,341 | p<0,001 | p=0194 | p<0,001 |
| Administración nefrotóxicos | p=0,356 | p=0,356 | p=0,760 | p=0,357 |
| Estabilización de la función renal | p<0,001 | p=0,138 | p<0,001 | p=0,078 |

Tabla 4. Relación de NAG con los diferentes eventos post-trasplante. NAG S1: valor más alto de NAG en la primera semana. NAG D3, valor de NAG en el día +3 post-trasplante. NAG 24H S1: valor más alto de NAG de la primera semana en excreción diaria. NAG 24H D3: valor de NAG en el día +3 post-trasplante de NAG en excreción diaria. p: valor significativo según el test de χ^2 de Pearson.

Resultados

A continuación se detallan los valores estadísticamente significativos de la relación de NAG con los diferentes eventos post-trasplante.

- Relación de NAG con el tipo de trasplante renal:

| | | | NAG D3 | | | Total |
|-----------------------|-----------------|-----------------------------|--------|---------|------------|-------|
| | | | | >70Perc | <70Perc | |
| Vivo Cadáver Páncreas | Cadáver < 55 | Frecuencia observada | 0 | 4 | 13 | 17 |
| | | Frecuencia esperada | 2,0 | 4,7 | 10,3 | 17,0 |
| | Cadáver > 55 | Frecuencia observada | 2 | 11 | 22 | 35 |
| | | Frecuencia esperada | 4,1 | 9,6 | 21,3 | 35,0 |
| | Páncreas | Frecuencia observada | 6 | 2 | 1 | 9 |
| | | Frecuencia esperada | 1,0 | 2,5 | 5,5 | 9,0 |
| | Vivo | Frecuencia observada | 0 | 2 | 6 | 8 |
| | | Frecuencia esperada | ,9 | 2,2 | 4,9 | 8,0 |
| Total | | Frecuencia observada | 8 | 19 | 42 | 69 |
| | | Frecuencia esperada | 8,0 | 19,0 | 42,0 | 69,0 |

Tabla 5: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NAG D3 con cada tipo de trasplante. 1ª columna: valores perdidos. NAG D3: valor de NAG en el día + 3 post-trasplante. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

| | | | NAG 24H D3 | | | Total |
|-----------------------|-----------------|-----------------------------|------------|---------|------------|-------|
| | | | | >70Perc | <70Perc | |
| Vivo Cadáver Páncreas | Cadáver < 55 | Frecuencia observada | 0 | 4 | 13 | 17 |
| | | Frecuencia esperada | 2,0 | 4,4 | 10,6 | 17,0 |
| | Cadáver > 55 | Frecuencia observada | 2 | 12 | 21 | 35 |
| | | Frecuencia esperada | 4,1 | 9,1 | 21,8 | 35,0 |
| | Páncreas | Frecuencia observada | 6 | 1 | 2 | 9 |
| | | Frecuencia esperada | 1,0 | 2,3 | 5,6 | 9,0 |
| | Vivo | Frecuencia observada | 0 | 1 | 7 | 8 |
| | | Frecuencia esperada | ,9 | 2,1 | 5,0 | 8,0 |
| Total | | Frecuencia observada | 8 | 18 | 43 | 69 |
| | | Frecuencia esperada | 8,0 | 18,0 | 43,0 | 69,0 |

Tabla 6: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NAG 24H D3 con cada tipo de trasplante. 1ª columna: valores perdidos. NAG 24H D3: valor de NAG en el día + 3 post-trasplante, en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

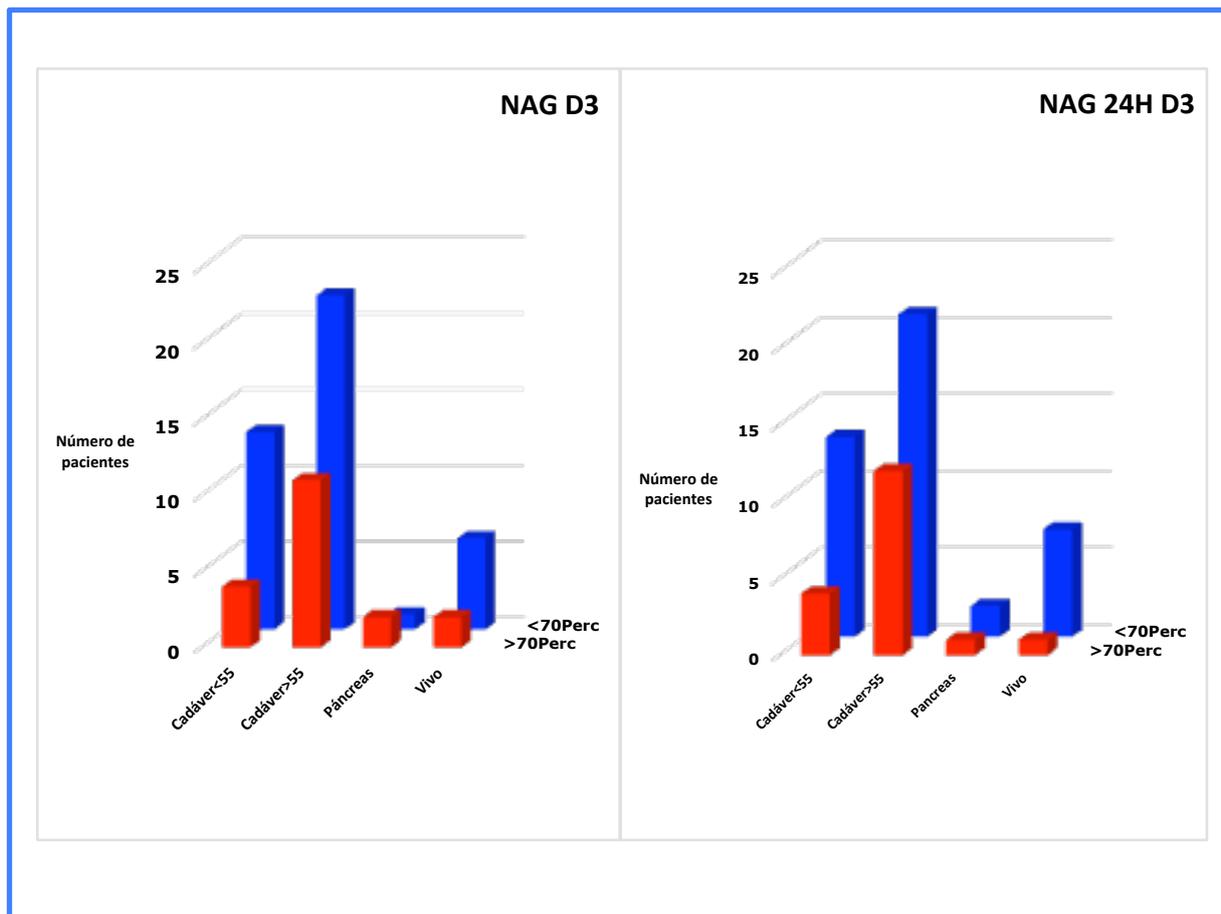


Figura 45. Relación de NAG con cada tipo de trasplante. NAG D3: valor de NAG en el día +3 post-trasplante. NAG 24H D3: valor de NAG en el día + 3 post-trasplante en excreción diaria. < 70 perc, por debajo del 70 percentil. > 70 perc: por encima del 70 percentil.

Entre los pacientes que reciben un trasplante de páncreas y riñón, se ha observado que hay menos pacientes de los esperados (1) -ver tabla 5- que tienen valores de NAG en el día +3 post-trasplante por debajo del percentil 70. Esto sucede al medir los valores de NAG tanto en concentración como en excreción diaria. Se puede observar en la tabla 5 que de los 9 pacientes de trasplante páncreas y riñón solo hay determinación de NAG en el día +3 post-trasplante en tres de los enfermos.

Resultados

- Relación de NAG con el tiempo de isquemia fría:

| | | | NAG D3 | | | | Total |
|------------------------------|--|-----------------------------|--------|---------|------------|------|-------|
| | | | | >70Perc | <70Perc | | |
| Isquemia fría <120 (minutos) | | Frecuencia observada | 0 | 3 | 8 | 11 | |
| | | Frecuencia esperada | 1,3 | 3,0 | 6,7 | 11,0 | |
| 120-900 | | Frecuencia observada | 6 | 7 | 3 | 16 | |
| | | Frecuencia esperada | 1,9 | 4,4 | 9,7 | 16,0 | |
| 900-1440 | | Frecuencia observada | 2 | 9 | 31 | 42 | |
| | | Frecuencia esperada | 4,9 | 11,6 | 25,6 | 42,0 | |
| Total | | Frecuencia observada | 8 | 19 | 42 | 69 | |
| | | Frecuencia esperada | 8,0 | 19,0 | 42,0 | 69,0 | |

Tabla 7: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NAG D3 con el tiempo de isquemia fría. 1ª columna: valores perdidos. NAG D3: valor de NAG en el día + 3 post-trasplante. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

| | | | NAG 24H D3 | | | | Total |
|----------------------------------|--|-----------------------------|------------|---------|-------------|------|-------|
| | | | | >70Perc | <70Perc | | |
| Isquemia fría <120 min (minutos) | | Frecuencia observada | 0 | 2 | 9 | 11 | |
| | | Frecuencia esperada | 1,3 | 2,9 | 6,9 | 11,0 | |
| 120-900 | | Frecuencia observada | 6 | 6 | 4 | 16 | |
| | | Frecuencia esperada | 1,9 | 4,2 | 10,0 | 16,0 | |
| 900-1440 | | Frecuencia observada | 2 | 10 | 30 | 42 | |
| | | Frecuencia esperada | 4,9 | 11,0 | 26,2 | 42,0 | |
| Total | | Frecuencia observada | 8 | 18 | 43 | 69 | |
| | | Frecuencia esperada | 8,0 | 18,0 | 43,0 | 69,0 | |

Tabla 8: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NAG 24H D3 con tiempo de isquemia fría. 1ª columna: valores perdidos. NAG 24H D3: valor de NAG en el día + 3 post-trasplante, en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

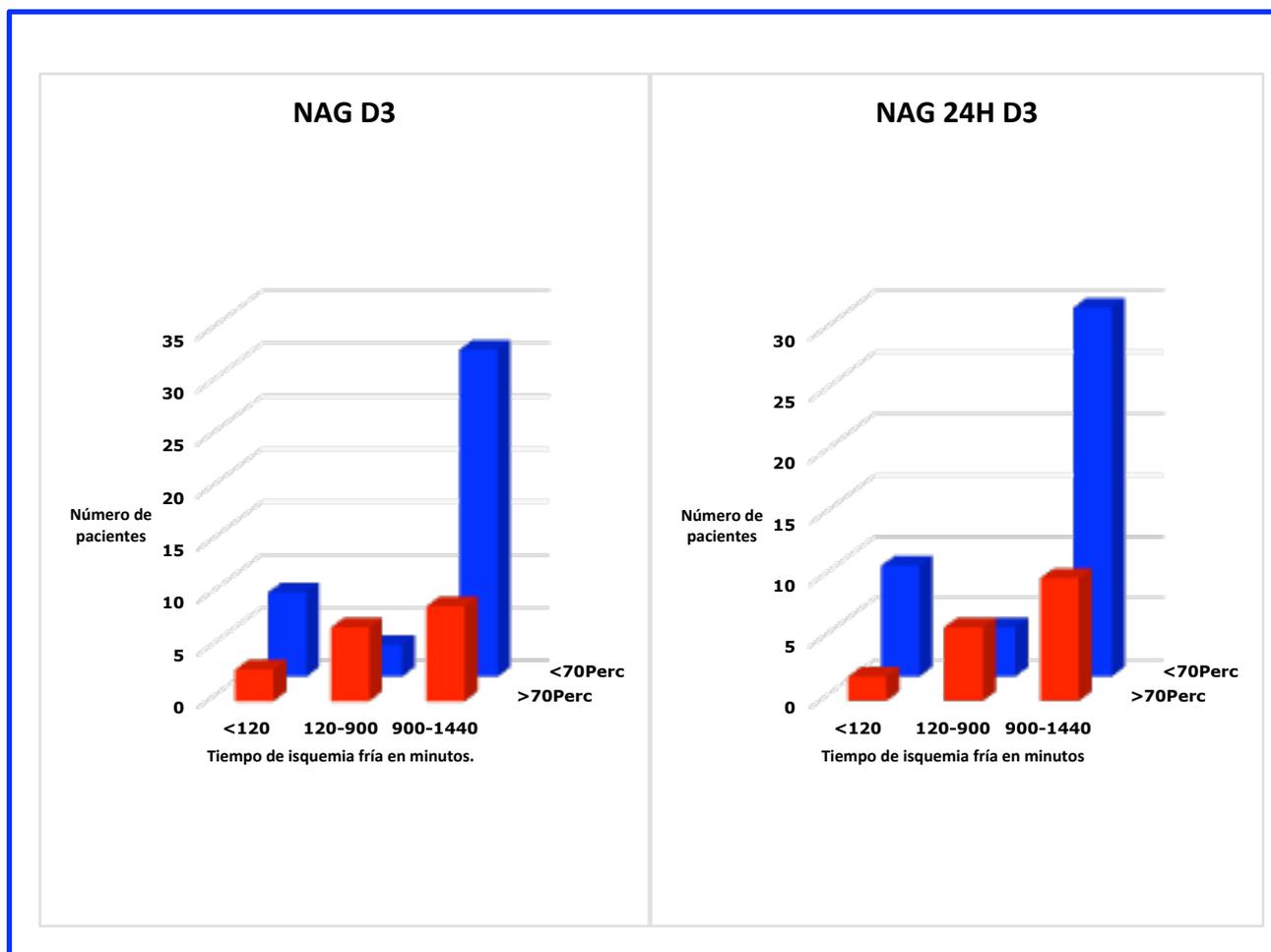


Figura 46. Relación de NAG con cada el tiempo de isquemia fría. NAG D3: valor de NAG en el día +3 post-trasplante. NAG 24H D3: valor de NAG en el día + 3 post-trasplante en excreción diaria. < 70 perc, por debajo del 70 percentil. > 70 perc: por encima del 70 percentil

Entre los pacientes con un tiempo de isquemia fría entre 120 y 900 minutos, hay menos pacientes de los esperados (3)-ver tabla 7- con una NAG en el día + 3 post-trasplante por debajo del percentil 70. Esto sucede tanto en concentración como en excreción diaria.

- Relación de NAG con la estabilización de la función renal:

Para ver si los marcadores urinarios tenían relación con la estabilización de la función renal, dentro del periodo estudiado, se establecieron diferentes rangos de tiempo: de 30 a 60 días, de 60 a 90 días y de 90 a 120 días, si la función renal se consideraba estable entre el primer y segundo mes, entre el segundo y el tercero, o a partir del tercer mes post-trasplante. Para ello se ha hecho la media del los valores de los

Resultados

marcadores, en el día que han sido más altos, dentro del periodo considerado.

| | | NAG S1 | | | Total |
|---------------------------|-----------------------------|--------|-----------|------------|-------|
| | | | >70Perc | <70Perc | |
| Días Estabilización Grupo | Frecuencia esperada | ,0 | ,6 | 1,4 | 2,0 |
| 30-60 | Frecuencia observada | 0 | 15 | 32 | 47 |
| | Frecuencia esperada | ,7 | 14,3 | 32,0 | 47,0 |
| 60-90 | Frecuencia observada | 0 | 4 | 14 | 18 |
| | Frecuencia esperada | ,3 | 5,5 | 12,3 | 18,0 |
| 90-120 | Frecuencia observada | 0 | 2 | 0 | 2 |
| | Frecuencia esperada | ,0 | ,6 | 1,4 | 2,0 |
| Total | Frecuencia observada | 1 | 21 | 47 | 69 |
| | Frecuencia esperada | 1,0 | 21,0 | 47,0 | 69,0 |

Tabla 9: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NAG con la estabilización de la función renal. 1ª columna: valores perdidos. NAG S1: valor de NAG más alto en la primera semana. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

| | | NAG 24H S1 | | Total | |
|---------------------------|-----------------------------|------------|-----------|------------|------|
| | | >70Perc | <70Perc | | |
| Días Estabilización Grupo | Frecuencia observada | 1 | 0 | 1 | 2 |
| | Frecuencia esperada | ,0 | ,6 | 1,4 | 2,0 |
| 30-60 | Frecuencia observada | 0 | 14 | 33 | 47 |
| | Frecuencia esperada | ,7 | 13,6 | 32,7 | 47,0 |
| 60-90 | Frecuencia observada | 0 | 4 | 14 | 18 |
| | Frecuencia esperada | ,3 | 5,2 | 12,5 | 18,0 |
| 90-120 | Frecuencia observada | 0 | 2 | 0 | 2 |
| | Frecuencia esperada | ,0 | ,6 | 1,4 | 2,0 |
| Total | Frecuencia observada | 1 | 20 | 48 | 69 |
| | Frecuencia esperada | 1,0 | 20,0 | 48,0 | 69,0 |

Tabla 10: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NAG con la estabilización de la función renal. 1ª columna: valores perdidos. NAG 24 horas S1: valor de NAG más alto de la primera semana en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

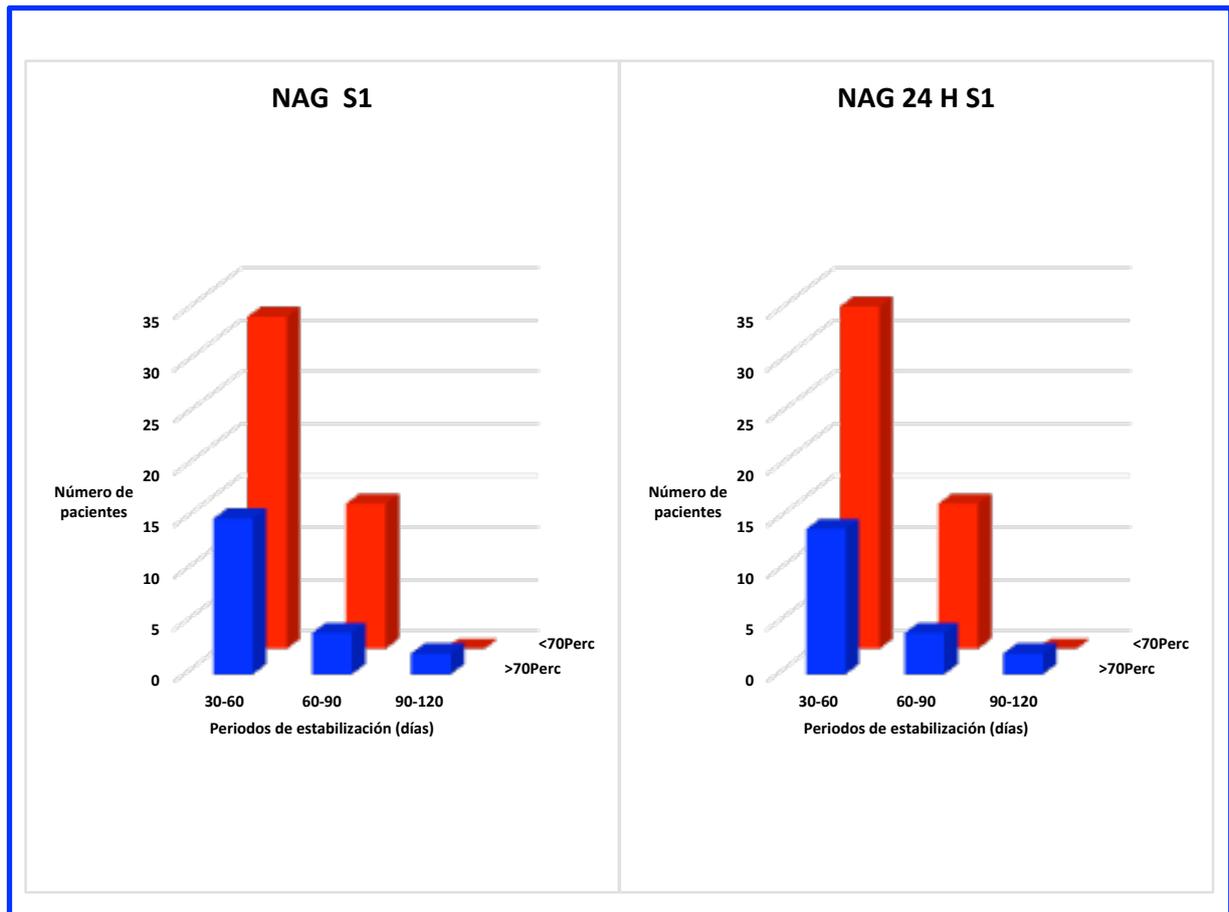


Figura 47. Relación de NAG S1 con el periodo de estabilización. NAG S1: valor más alto de NAG en la primera semana. NAG 24H S1: valor más alto de NAG en la primera semana en excreción diaria. < 70 perc, por debajo del 70 percentil. > 70 perc: por encima del 70 percentil.

Se ha observado que hay más pacientes de los esperados (2) –ver tabla 9- que presentan la NAG S1 (valor más alto de NAG en la primera semana) por encima del percentil 70, tanto en concentración como en excreción diaria, que tardan más en estabilizar su función renal (entre 90 y 120 días). A su vez, hay menos pacientes de los esperados (0) -ver tabla 9- con la NAG S1 por debajo del percentil 70. Por tanto, los pacientes que tardan más en estabilizarse (el último mes, dentro del periodo estudiado), tienen la NAG más alta en la primera semana.

4.2.3 b) Relación de NGAL con los diferentes eventos en el post-trasplante.

| | NGAL S1 | NGAL D7 | NGAL 24H S1 | NGAL 24H D7 |
|---|---------|---------|-------------|-------------|
| Tipo de trasplante | p=0,166 | p=0,022 | p=0,036 | p=0,027 |
| RA | p=0,200 | p=0,147 | p=0,839 | p=0,197 |
| NTA | p<0,001 | p<0,001 | p=0,350 | p=0,011 |
| NTA y RA | p=0,008 | p=0,001 | p=0,018 | p=0,025 |
| Isquemia fría | p=0,480 | p=0,563 | p=0,380 | p=0,353 |
| Administración nefrotóxicos | p=0,760 | p=0,504 | p=0,883 | p=0,835 |
| Estabilización de la función renal | p<0,001 | p=0,108 | p<0,001 | p=0,448 |

Tabla 11. Relación de NGAL con los diferentes eventos post-trasplante. NGAL S1: valor más alto de NGAL en la primera semana. NGAL D7, valor de NAG en el día +7 post-trasplante. NGAL 24H S1: valor más alto de NGAL en la primera semana en excreción diaria. NAG 24H D7: valor de NGAL en el día +7 post-trasplante en excreción diaria. p: valor significativo según el test de χ^2 de Pearson.

A continuación se detallan los valores estadísticamente significativos de la relación de NGAL con los diferentes eventos post-trasplante.

- Relación de NGAL con el tipo de trasplante renal:

| | | NGAL D7 | | Total | | |
|-----------------------|------------------------|-----------------------------|---------|------------|-------------|------|
| | | >70Perc | <70Perc | | | |
| Vivo Cadáver Páncreas | Cadáver < 55 | Frecuencia observada | 1 | 2 | 14 | 17 |
| | | Frecuencia esperada | 2,5 | 4,2 | 10,3 | 17,0 |
| | Cadáver > 55 | Frecuencia observada | 3 | 13 | 19 | 35 |
| | | Frecuencia esperada | 5,1 | 8,6 | 21,3 | 35,0 |
| Páncreas | Frecuencia observada | 3 | 0 | 6 | 9 | |
| | Frecuencia esperada | 1,3 | 2,2 | 5,5 | 9,0 | |
| Vivo | Frecuencia observada | 3 | 2 | 3 | 8 | |
| | Frecuencia esperada | 1,2 | 2,0 | 4,9 | 8,0 | |
| Total | Frecuencia observada | 10 | 17 | 42 | 69 | |
| | Frecuencia esperada | 10,0 | 17,0 | 42,0 | 69,0 | |

Tabla 12: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NGAL D7 con cada tipo de trasplante. 1ª columna: valores perdidos. NGAL D3: valor de NGAL en el día + 7 post-trasplante. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

Resultados

| | | NGAL 24H D7 | | Total | | |
|----------|--------------|----------------------|---------|------------|------------|------|
| | | >70Perc | <70Perc | | | |
| Vivo | Cadáver < 55 | Frecuencia observada | 2 | 2 | 13 | 17 |
| | | Frecuencia esperada | 3,0 | 4,2 | 9,9 | 17,0 |
| Páncreas | Cadáver > 55 | Frecuencia observada | 3 | 13 | 19 | 35 |
| | | Frecuencia esperada | 6,1 | 8,6 | 20,3 | 35,0 |
| Vivo | Páncreas | Frecuencia observada | 3 | 1 | 5 | 9 |
| | | Frecuencia esperada | 1,6 | 2,2 | 5,2 | 9,0 |
| Total | Vivo | Frecuencia observada | 4 | 1 | 3 | 8 |
| | | Frecuencia esperada | 1,4 | 2,0 | 4,6 | 8,0 |
| Total | | Frecuencia observada | 12 | 17 | 40 | 69 |
| | | Frecuencia esperada | 12,0 | 17,0 | 40,0 | 69,0 |

Tabla 13: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NGAL 24H D7 con cada tipo de trasplante. 1ª columna: valores perdidos. NGAL 24H D7: valor de NGAL en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

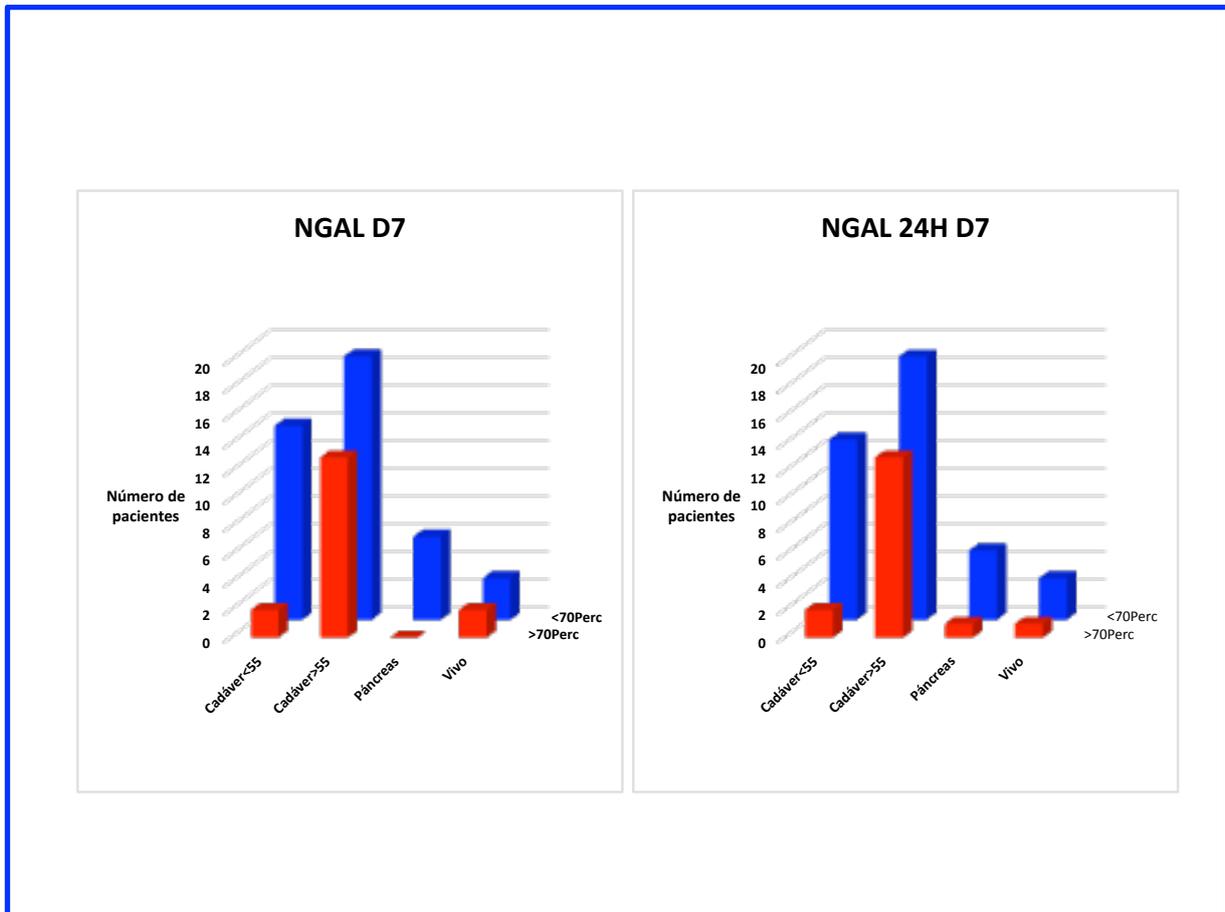


Figura 48. Relación de NGAL con tipo de trasplante. NGAL D7:valor de NGAL en el día +7 post-trasplante. NGAL 24H D7:valor de NGAL en el día +7 post-trasplante en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

Resultados

En esta gráfica se puede observar que hay más pacientes de los esperados (14) -ver tabla 12- que reciben un trasplante de cadáver de menos de 55 años, que tienen la NGAL en el día +7 post-trasplante por debajo del percentil 70. Al igual que hay más pacientes (13) -ver tabla 12- que tienen la NGAL por encima del percentil 70, si reciben un riñón mayor de 55 años. Sucede cuando se representa la NGAL en concentración y en excreción diaria. Por tanto, la NGAL es más alta en el séptimo día, en los pacientes que reciben un trasplante de donante cadáver mayor de 55 años.

| | | | NGAL 24H S1 | | | Total |
|-----------------------|------------------------|-----------------------------|-------------|-------------|-------------|-------|
| | | | | >70Perc | <70Perc | |
| Vivo Cadáver Páncreas | Cadáver < 55 | Frecuencia observada | 0 | 2 | 15 | 17 |
| | | Frecuencia esperada | ,2 | 4,9 | 11,8 | 17,0 |
| | Cadáver > 55 | Frecuencia observada | 0 | 15 | 20 | 35 |
| | | Frecuencia esperada | ,5 | 10,1 | 24,3 | 35,0 |
| Páncreas | Frecuencia observada | 1 | 1 | 7 | 9 | |
| | Frecuencia esperada | ,1 | 2,6 | 6,3 | 9,0 | |
| Vivo | Frecuencia observada | 0 | 2 | 6 | 8 | |
| | Frecuencia esperada | ,1 | 2,3 | 5,6 | 8,0 | |
| Total | Frecuencia observada | 1 | 20 | 48 | 69 | |
| | Frecuencia esperada | 1,0 | 20,0 | 48,0 | 69,0 | |

Tabla 14: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NGAL 24H con cada tipo de trasplante. 1ª columna: valores perdidos. NGAL 24H S1: valor de más alto de NGAL durante la primera semana en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

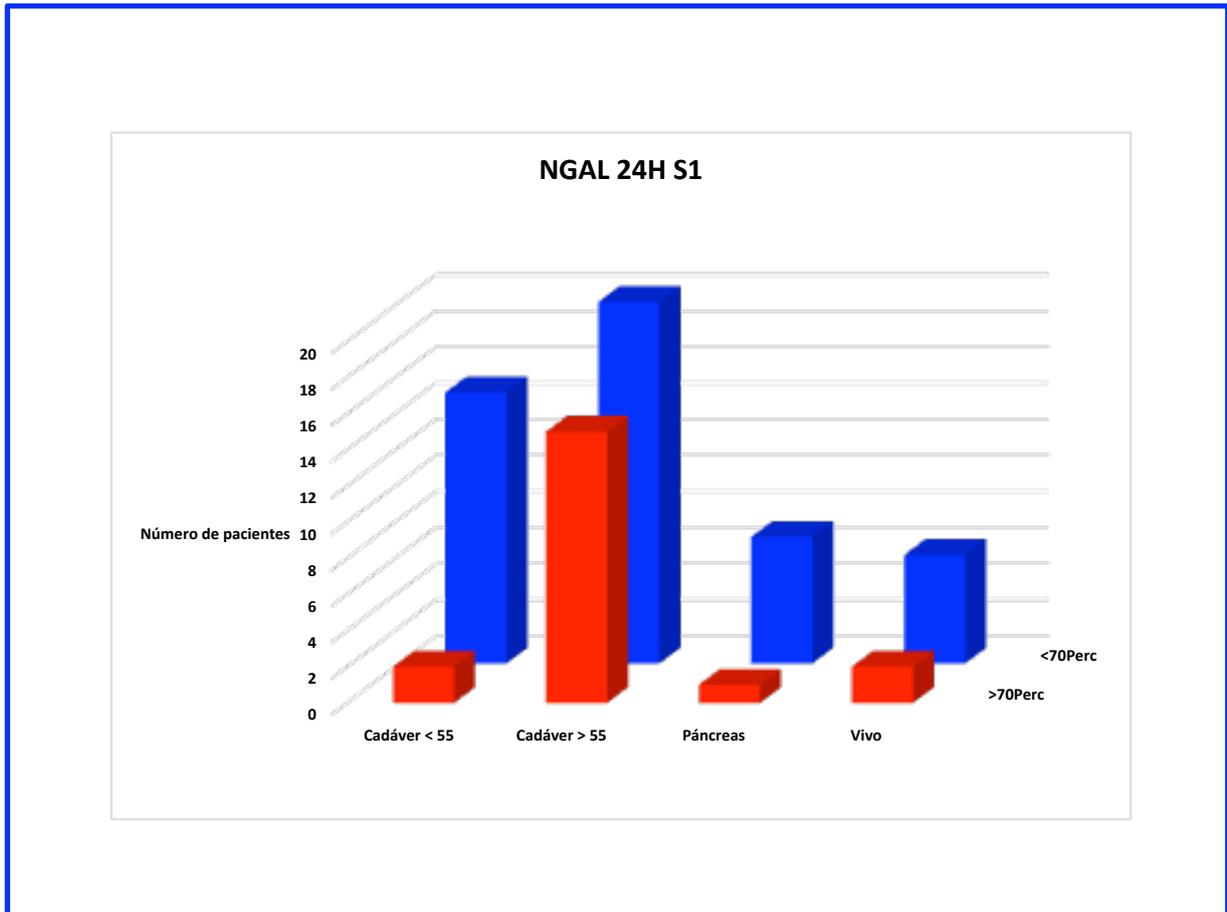


Figura 49. Relación de NGAL S1 con tipo de trasplante. NGAL 24H S1:valor más alto de NGAL en la primera semana, en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

En esta gráfica se puede observar que hay más pacientes (15)- ver tabla 14- que reciben un trasplante de cadáver de menos de 55 años, que tienen la NGAL por debajo del percentil 70, durante la primera semana post-trasplante. Sin embargo hay más pacientes de los esperados (15)- ver tabla 14- con la NGAL por encima del percentil 70, si reciben un riñón mayor de 55 años. Sucede cuando se representa la NGAL en excreción diaria. Por tanto, la NGAL el día que el valor es más alto en la primera semana, es mayor en los pacientes que reciben un injerto renal mayor de 55 años.

Resultados

- Relación de NGAL con la NTA:

| | | | NGAL S1 | | | Total |
|-------|----------------------|----------------------|---------|-------------|-------------|-------|
| | | | | >70Perc | <70Perc | |
| NTA | NO | Frecuencia observada | 1 | 6 | 39 | 46 |
| | | Frecuencia esperada | ,7 | 13,3 | 32,0 | 46,0 |
| | SÍ | Frecuencia observada | 0 | 14 | 9 | 23 |
| | | Frecuencia esperada | ,3 | 6,7 | 16,0 | 23,0 |
| Total | Frecuencia observada | | 1 | 20 | 48 | 69 |
| | Frecuencia esperada | | 1,0 | 20,0 | 48,0 | 69,0 |

Tabla 15: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NGAL S1 con la NTA. 1ª columna: valores perdidos. NGAL S1: valor más alto de NGAL en la primera semana. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

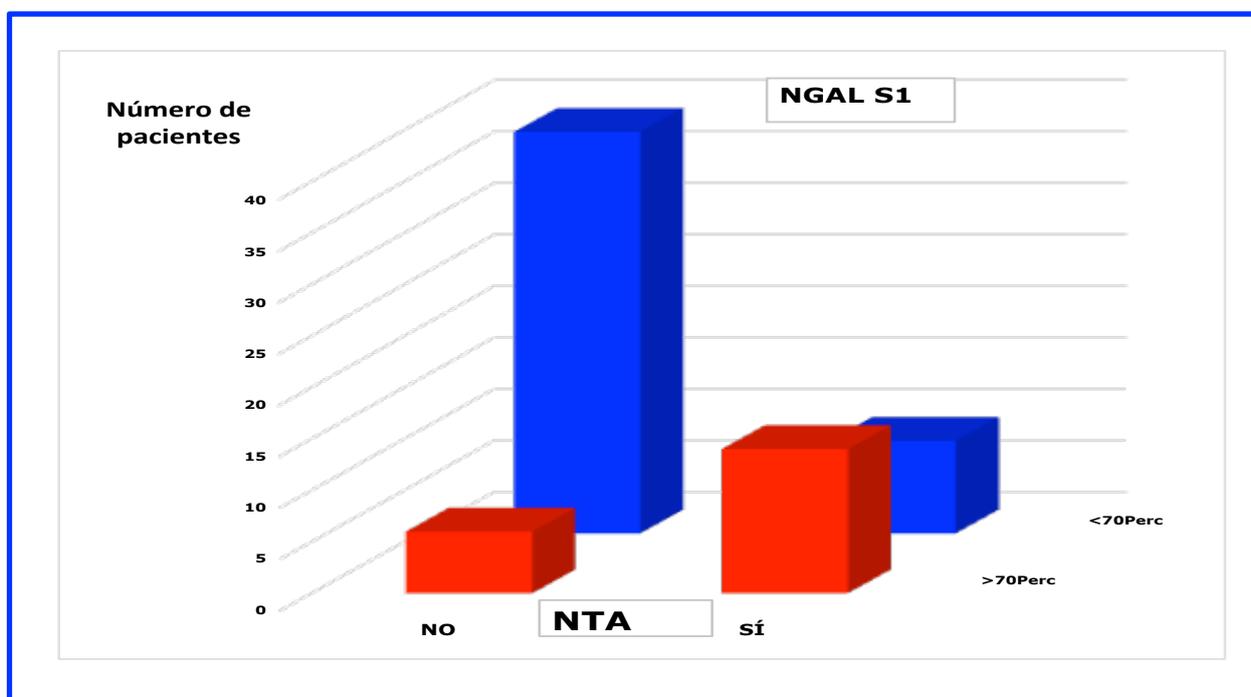


Figura 50. Relación de NGAL S1 con la NTA. NGAL S1: valor más alto de NGAL en la primera semana. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

En esta gráfica se observa que hay más pacientes de los esperados (14)- ver tabla 15- con un valor de NGAL en la primera semana por encima del percentil 70, que tienen NTA. A su vez, se observa que hay menos pacientes de los esperados (9) -ver tabla 15- por debajo del percentil 70, que tienen NTA. Por tanto, los pacientes con la NGAL elevada durante la primera semana, es más probable que tengan NTA.

Resultados

| | | | NGAL D7 | | | Total |
|------------|----------------------|-----------------------------|---------|-------------|---------|-------|
| | | | | >70Perc | <70Perc | |
| NTA | NO | Frecuencia observada | 7 | 7 | 32 | 46 |
| | | Frecuencia esperada | 4,7 | 12,0 | 29,3 | 46,0 |
| | SÍ | Frecuencia observada | 0 | 11 | 12 | 23 |
| | | Frecuencia esperada | 2,3 | 6,0 | 14,7 | 23,0 |
| Total | Frecuencia observada | | 7 | 18 | 44 | 69 |
| | Frecuencia esperada | | 7,0 | 18,0 | 44,0 | 69,0 |

Tabla 16: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NGAL D7 con NTA. 1ª columna: valores perdidos. NGAL D3: valor de NGAL en el día +7. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

| | | | NGAL 24H D7 | | | Total |
|------------|----------------------|-----------------------------|-------------|-------------|---------|-------|
| | | | | >70Perc | <70Perc | |
| NTA | NO | Frecuencia observada | 7 | 8 | 31 | 46 |
| | | Frecuencia esperada | 4,7 | 12,0 | 29,3 | 46,0 |
| | SÍ | Frecuencia observada | 0 | 10 | 13 | 23 |
| | | Frecuencia esperada | 2,3 | 6,0 | 14,7 | 23,0 |
| Total | Frecuencia observada | | 7 | 18 | 44 | 69 |
| | Frecuencia esperada | | 7,0 | 18,0 | 44,0 | 69,0 |

Tabla 17: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NGAL 24H D7 con NTA. 1ª columna: valores perdidos. NGAL 24H D7: valor de NGAL en el día + 7 post-trasplante en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

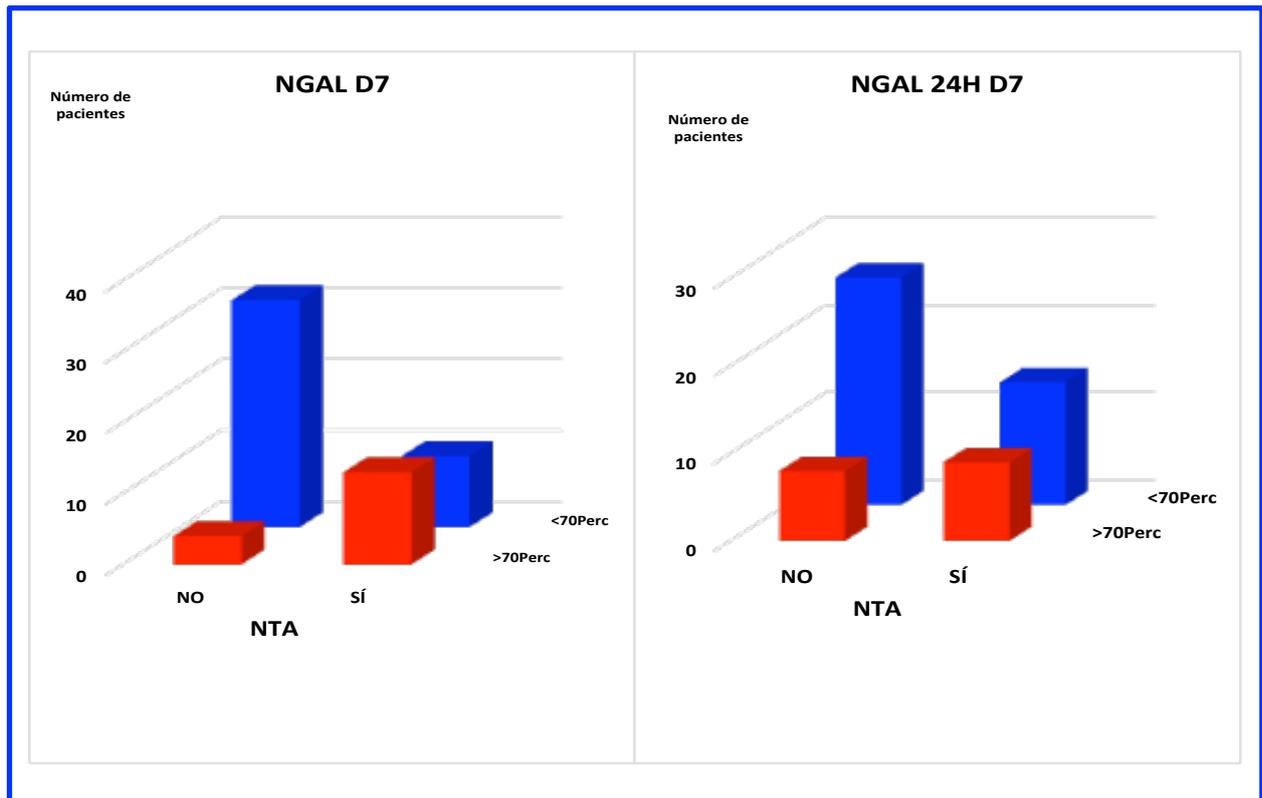


Figura 51. Relación de NGAL con la NTA. NGAL D7: valor de NGAL en el día +7 post-trasplante. NGAL 24H D7: valor de NGAL en el día +7 post-trasplante, en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

En esta gráfica se observa que hay más pacientes de los esperados (11) -ver tabla 16- con un valor de NGAL en el día 7 post-trasplante, por encima del percentil 70, que tienen NTA. A su vez, se observa que hay menos pacientes de los esperados (7) -ver tabla 16- con NGAL en el día 7 post-trasplante, por debajo del percentil 70, que tienen NTA. Por tanto, los pacientes con la NGAL elevada el día 7 post-trasplante, es más probable que tengan NTA.

Resultados

- Relación de NGAL con la NTA y RA simultáneos.

| | | | NGAL S1 | | Total | |
|---------------|----------------------|-----------------------------|---------|-------------|-------------|------|
| | | | >70Perc | <70Perc | | |
| NTA/RA | No/No | Frecuencia observada | 1 | 6 | 37 | 44 |
| | | Frecuencia esperada | ,6 | 12,8 | 30,6 | 44,0 |
| | No/Sí | Frecuencia observada | 0 | 0 | 2 | 2 |
| | | Frecuencia esperada | ,0 | ,6 | 1,4 | 2,0 |
| | Sí/No | Frecuencia observada | 0 | 8 | 5 | 13 |
| | | Frecuencia esperada | ,2 | 3,8 | 9,0 | 13,0 |
| | Sí/Sí | Frecuencia observada | 0 | 6 | 4 | 10 |
| | | Frecuencia esperada | ,1 | 2,9 | 7,0 | 10,0 |
| Total | Frecuencia observada | | 1 | 20 | 48 | 69 |
| | Frecuencia esperada | | 1,0 | 20,0 | 48,0 | 69,0 |

Tabla 18: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NGAL S1 con la NTA y RA. 1ª columna: valores perdidos. NGAL S1: valor de NGAL en el día más alto de la primera semana. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

| | | | NGAL 24H S1 | | Total | |
|---------------|----------------------|-----------------------------|-------------|-------------|-------------|------|
| | | | +70Perc | <70Perc | | |
| NTA/RA | No/No | Frecuencia observada | 1 | 9 | 34 | 44 |
| | | Frecuencia esperada | ,6 | 12,8 | 30,6 | 44,0 |
| | No/Sí | Frecuencia observada | 0 | 2 | 0 | 2 |
| | | Frecuencia esperada | ,0 | ,6 | 1,4 | 2,0 |
| | Sí/No | Frecuencia observada | 0 | 8 | 5 | 13 |
| | | Frecuencia esperada | ,2 | 3,8 | 9,0 | 13,0 |
| | Sí/Sí | Frecuencia observada | 0 | 1 | 9 | 10 |
| | | Frecuencia esperada | ,1 | 2,9 | 7,0 | 10,0 |
| Total | Frecuencia observada | | 1 | 20 | 48 | 69 |
| | Frecuencia esperada | | 1,0 | 20,0 | 48,0 | 69,0 |

Tabla 19: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NGAL 24H S1 con NTA. 1ª columna: valores perdidos. NGAL 24H S1: valor de NGAL en excreción diaria, en el día más alto de la primera semana. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

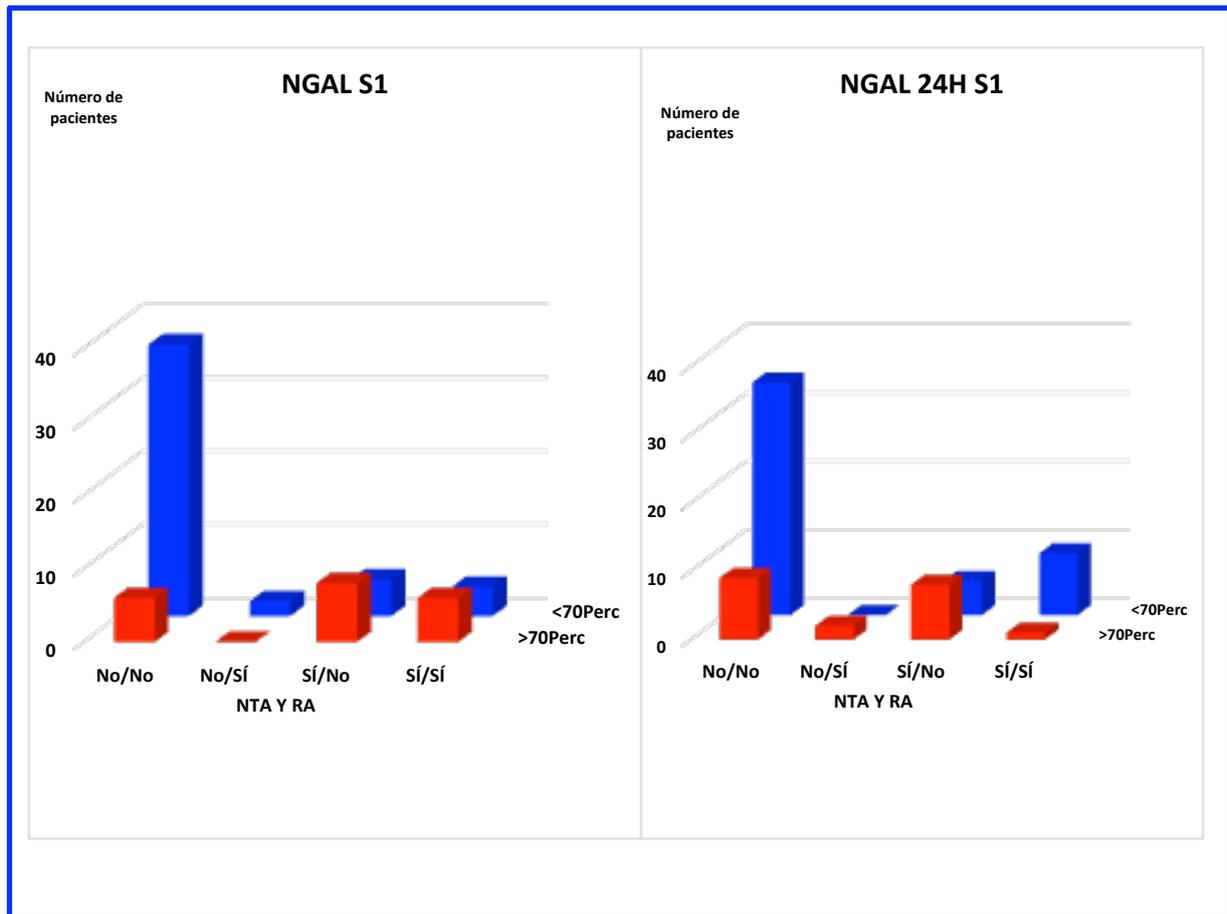


Figura 52. Relación de NGAL S1 con la NTA y RA. NGAL S1: valor de NGAL en el día más alto de la primera semana. NGAL 24H S1: valor de NGAL en el día más alto de la primera semana en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

En esta gráfica que relaciona la NGAL en el día más alto de la primera semana, se muestra una relación estadísticamente significativa con la ausencia de NTA y RA y la elevación de NGAL S1, ya que hay más pacientes de los esperados (37) -ver tabla 18- con la NGAL por debajo del percentil 70 que no tienen NTA ni RA simultáneamente. Además hay menos pacientes de los esperados (6) -ver tabla 18- con la NGAL S1 por encima del percentil 70, en la primera semana que no tienen ni RA ni NTA. También se observa, que hay más pacientes de los esperados (8) -ver tabla 18-, que tienen la NGAL S1 por encima del percentil 70, que sí tienen NTA aunque no tengan RA, y menos de los esperados (5) -ver tabla 18-, que tienen la NGAL S1 por debajo del percentil 70, que sí tienen NTA pero no RA. Debido a que la NGAL S1 por encima del percentil 70, no se ha asociado con el RA, pero sí con la NTA, se presupone que está

Resultados

relación sale estadísticamente significativa por el componente de NTA. Se observa, cuando se representan los valores de NGAL S1 en concentración y en excreción diaria.

| | | | NGAL D7 | | | Total |
|-------------|----------------------|-----------------------------|---------|-------------|-------------|-------|
| | | | | >70Perc | <70Perc | |
| NTA/Rechazo | No/No | Frecuencia observada | 10 | 4 | 30 | 44 |
| | | Frecuencia esperada | 6,4 | 10,8 | 26,8 | 44,0 |
| | No/Sí | Frecuencia observada | 0 | 0 | 2 | 2 |
| | | Frecuencia esperada | ,3 | ,5 | 1,2 | 2,0 |
| | Sí/No | Frecuencia observada | 0 | 8 | 5 | 13 |
| | | Frecuencia esperada | 1,9 | 3,2 | 7,9 | 13,0 |
| | Sí/Sí | Frecuencia observada | 0 | 5 | 5 | 10 |
| | | Frecuencia esperada | 1,4 | 2,5 | 6,1 | 10,0 |
| Total | Frecuencia observada | | 10 | 17 | 42 | 69 |
| | Frecuencia esperada | | 10,0 | 17,0 | 42,0 | 69,0 |

Tabla 20: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NGAL D7 con la NTA y RA. 1ª columna: valores perdidos. NGAL D7: valor de NGAL en el día +7 post-trasplante. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

| | | | NGAL 24H D7 | | | Total |
|-------------|----------------------|-----------------------------|-------------|-------------|---------|-------|
| | | | | >70Perc | <70Perc | |
| NTA/Rechazo | No/No | Frecuencia observada | 12 | 7 | 25 | 44 |
| | | Frecuencia esperada | 7,7 | 10,8 | 25,5 | 44,0 |
| | No/Sí | Frecuencia observada | 0 | 1 | 1 | 2 |
| | | Frecuencia esperada | ,3 | ,5 | 1,2 | 2,0 |
| | Sí/No | Frecuencia observada | 0 | 7 | 6 | 13 |
| | | Frecuencia esperada | 2,3 | 3,2 | 7,5 | 13,0 |
| | Sí/Sí | Frecuencia observada | 0 | 2 | 8 | 10 |
| | | Frecuencia esperada | 1,7 | 2,5 | 5,8 | 10,0 |
| Total | Frecuencia observada | | 12 | 17 | 40 | 69 |
| | Frecuencia esperada | | 12,0 | 17,0 | 40,0 | 69,0 |

Tabla 21: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NGAL 24H D7 con NTA Y RA. 1ª columna: valores perdidos. NGAL 24H D7: valor de NGAL en el día + 7 post-trasplante, en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

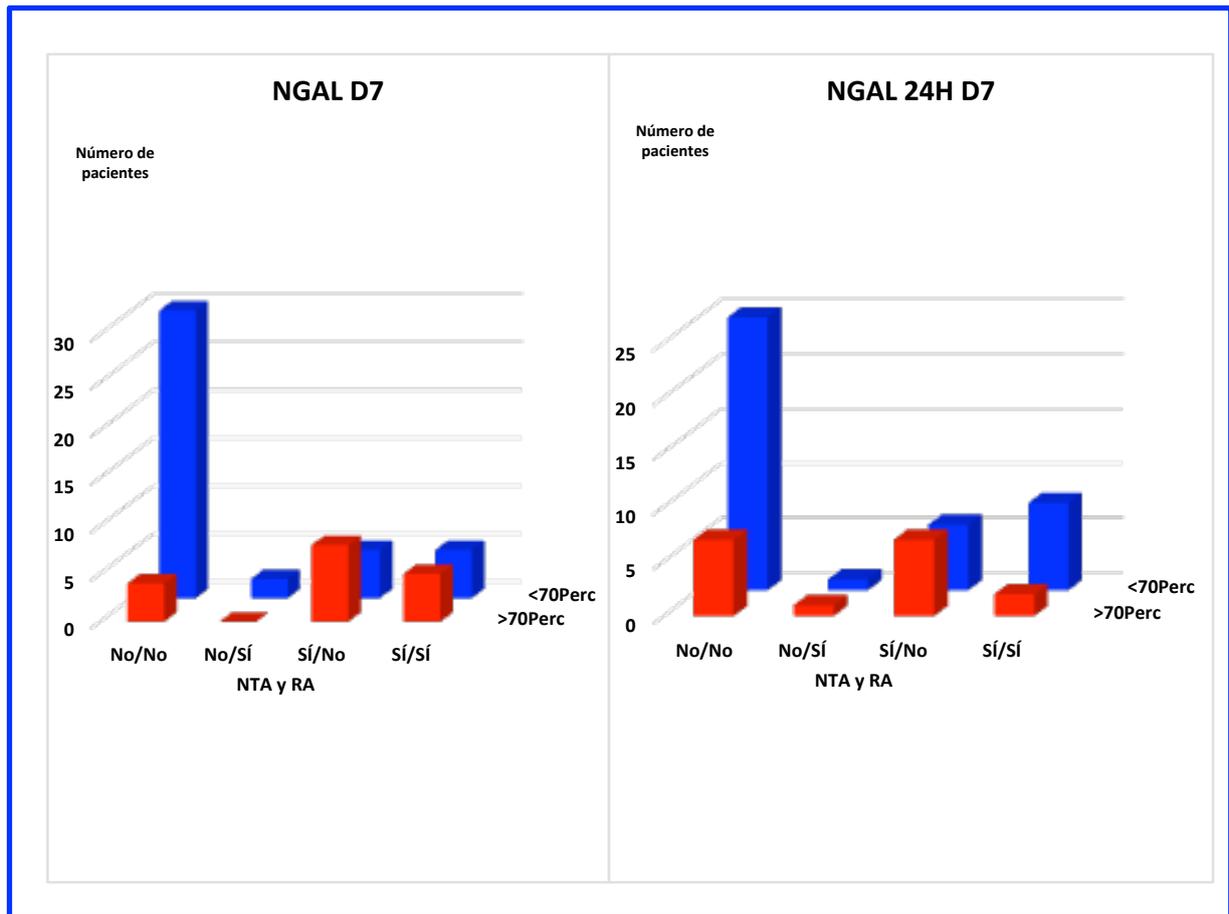


Figura 53. Relación de NGAL D7 con la NTA y el RA. NGAL D7: valor de NGAL en el día +7 post-trasplante. NGAL 24H D7: valor de NGAL en el día + 7 post-trasplante en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

En esta gráfica que relaciona la NGAL en el día 7 post-trasplante se observa una relación estadísticamente significativa con la ausencia de NTA y RA y la no elevación de NGAL D7, ya que hay más pacientes de los esperados (30) –ver tabla 20- con la NGAL D7 por debajo del percentil 70 que no tienen NTA ni RA simultáneamente. Y hay menos pacientes de los esperados (4) –ver tabla 20-, con la NGAL por encima del percentil 70 sin NTA ni RA. También se observa, que hay más pacientes de los esperados (8) –ver tabla 20-, que tienen la NGAL D7 por encima del percentil 70 que tienen NTA aunque no tengan RA. Y hay menos pacientes de los esperados (5) –ver tabla 20-, que tienen la NGAL D7 por debajo del percentil 70 que si tienen NTA pero no RA. Debido a que la NGAL D7 por encima del percentil 70, no se ha asociado con el RA, pero sí con la NTA, se presupone que está relación sale estadísticamente significativa por el

Resultados

componente de NTA. Se observa, cuando se representan los valores de NGAL D7 en concentración y en excreción diaria.

- *Relación de NGAL con el tiempo de estabilización.*

| | | NGAL S1 | | | Total |
|---------------------------|-----------------------------|---------|-----------|------------|-------|
| | | | >70Perc | <70Perc | |
| Días Estabilización Grupo | Frecuencia observada | 1 | 1 | 0 | 2 |
| | Frecuencia esperada | ,0 | ,6 | 1,4 | 2,0 |
| 30-60 | Frecuencia observada | 0 | 11 | 36 | 47 |
| | Frecuencia esperada | ,7 | 13,6 | 32,7 | 47,0 |
| 60-90 | Frecuencia observada | 0 | 6 | 12 | 18 |
| | Frecuencia esperada | ,3 | 5,2 | 12,5 | 18,0 |
| 90-120 | Frecuencia observada | 0 | 2 | 0 | 2 |
| | Frecuencia esperada | ,0 | ,6 | 1,4 | 2,0 |
| Total | Frecuencia observada | 1 | 20 | 48 | 69 |
| | Frecuencia esperada | 1,0 | 20,0 | 48,0 | 69,0 |

Tabla 22: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NGAL S1 con el periodo de estabilización de la función renal. 1ª columna: valores perdidos. NGAL S1: valor más alto de la primera semana. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

| | | NGAL 24H S1 | | | Total |
|---------------------------|-----------------------------|-------------|-----------|------------|-------|
| | | | >70Perc | <70Perc | |
| Días Estabilización Grupo | Frecuencia observada | 1 | 1 | 0 | 2 |
| | Frecuencia esperada | ,0 | ,6 | 1,4 | 2,0 |
| 30-60 | Frecuencia observada | 0 | 12 | 35 | 47 |
| | Frecuencia esperada | ,7 | 13,6 | 32,7 | 47,0 |
| 60-90 | Frecuencia observada | 0 | 5 | 13 | 18 |
| | Frecuencia esperada | ,3 | 5,2 | 12,5 | 18,0 |
| 90-120 | Frecuencia observada | 0 | 2 | 0 | 2 |
| | Frecuencia esperada | ,0 | ,6 | 1,4 | 2,0 |
| Total | Frecuencia observada | 1 | 20 | 48 | 69 |
| | Frecuencia esperada | 1,0 | 20,0 | 48,0 | 69,0 |

Tabla 23: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de NGAL 24H S1 con el periodo de estabilización de la función renal. 1ª columna: valores perdidos. NGAL 24H S1: valor más alto de la primera semana en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

Resultados

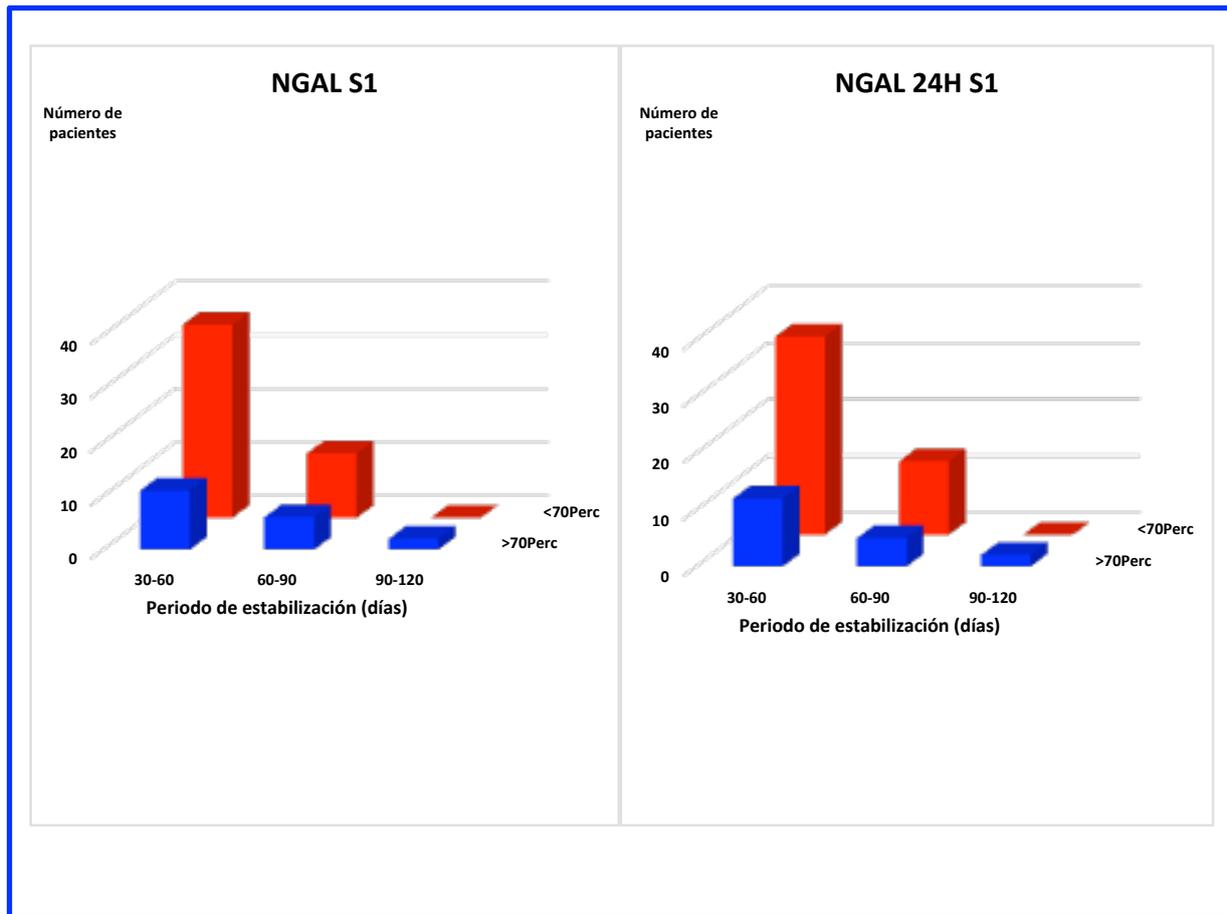


Figura 54. Relación de NGAL S1 con el tiempo de estabilización. NGAL S1: valor de NGAL en el día más alto de la primera semana. NGAL 24H S1: valor de NGAL en el día más alto de la primera semana en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

En esta gráfica que relaciona la NGAL S1 (valor más alto de la primera semana) se observa una relación estadísticamente significativa de la NGAL S1 con el tiempo de estabilización, ya que hay más pacientes de los esperados (2) -ver tabla 22- que tienen una NGAL S1 por encima del percentil 70 si la estabilización es a partir del tercer mes. A su vez, hay menos pacientes de los esperados (0) -ver tabla 22- con la NGAL S1 por debajo del percentil 70, si la estabilización es a partir del tercer mes. Se observa, tanto en valores de concentración de NGAL S1 como en valores de excreción diaria. Por lo que podría decirse, que los pacientes que tienen la NGAL S1 durante la primera semana, tienen un periodo de estabilización más tardío. (A partir del tercer mes).

Resultados

4.2.3 c) Relación de KIM-1 con los diferentes eventos en el post-trasplante.

| | KIM-1 S1 | KIM-1 D3 | KIM-1 24H S1 | KIM-1 24H D3 |
|---|-----------------|-----------------|---------------------|---------------------|
| Tipo de trasplante | p=0,009 | p<0,001 | p=0,176 | p<0,001 |
| RA | p=0,432 | p=0,554 | p=0,042 | p=0,052 |
| NTA | p=0,275 | p=0,109 | p=0,229 | p=0,278 |
| NTA y RA | p=0,680 | p=0,381 | p=0,329 | p=0,193 |
| Isquemia fría | p=0,389 | p=0,006 | p=0,194 | p=0,006 |
| Administración nefrotóxicos | p=0,389 | p=0,583 | p=0,760 | p=0,677 |
| Estabilización de la función renal | p<0,001 | p=0,807 | p<0,001 | p=0,775 |

Tabla 24. Relación de KIM-1 con los diferentes eventos en el post-trasplante. KIM-1 S1: valor más alto de KIM-1 en la primera semana. KIM-1 D3, valor de KIM-1 en el día +3 post-trasplante. KIM-1 24H S1: valor más alto de KIM-1 de la primera semana en excreción diaria. KIM-1 24H D3: valor de KIM-1 en el día + 3 post-trasplante, en excreción diaria. p: valor significativo según el test de χ^2 de Pearson.

A continuación se detallan los valores estadísticamente significativos de la relación de KIM-1 con los diferentes eventos post-trasplante.

Resultados

- Relación de KIM-1 con el tipo de trasplante renal:

| | | | KIM-1 S1 | | Total | |
|-----------------------|------------------------|-----------------------------|----------|------------|-------------|------|
| | | | >70Perc | <70Perc | | |
| Vivo Cadáver Páncreas | Cadáver < 55 | Frecuencia observada | 0 | 8 | 9 | 17 |
| | | Frecuencia esperada | ,2 | 3,4 | 13,3 | 17,0 |
| | Cadáver > 55 | Frecuencia observada | 0 | 5 | 30 | 35 |
| | | Frecuencia esperada | ,5 | 7,1 | 27,4 | 35,0 |
| | Páncreas | Frecuencia observada | 1 | 0 | 8 | 9 |
| | | Frecuencia esperada | ,1 | 1,8 | 7,0 | 9,0 |
| | Vivo | Frecuencia observada | 0 | 1 | 7 | 8 |
| | | Frecuencia esperada | ,1 | 1,6 | 6,3 | 8,0 |
| Total | Frecuencia observada | 1 | 14 | 54 | 69 | |
| | Frecuencia esperada | 1,0 | 14,0 | 54,0 | 69,0 | |

Tabla 25: Tabla de contingencia realizada por test p: valor significativo según el test de χ^2 de Pearson. Relación de KIM-1 S1 con cada tipo de trasplante. 1ª columna: valores perdidos. KIM-1 S1: valor de KIM-1 el día más alto en la primera semana. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

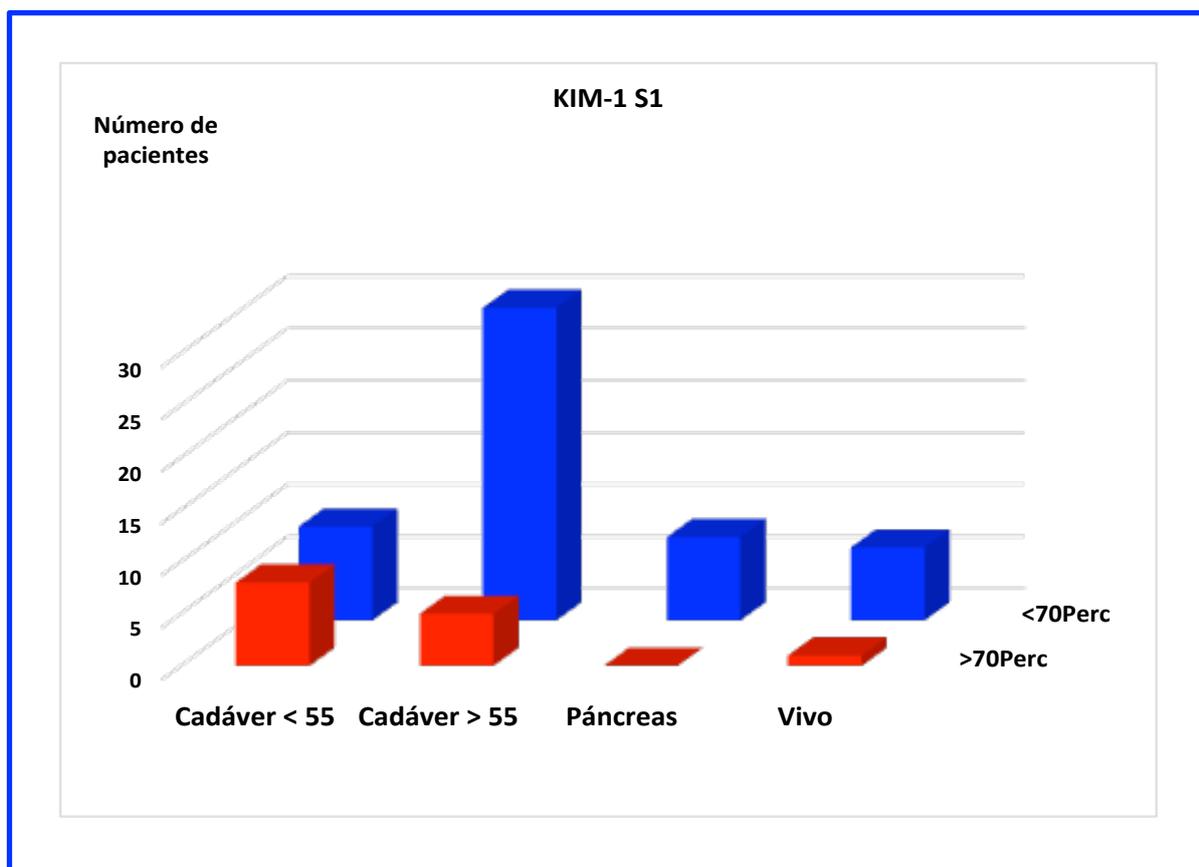


Figura 55. Relación de KIM-1 con cada tipo de trasplante. KIM-1 S1: valor más alto de KIM-1 en la primera semana. > 70 perc: por encima del 70 percentil. < 70 perc: por debajo del 70 percentil.

Resultados

En esta gráfica se observa que entre los que reciben un trasplante de cadáver de menos de 55 años hay más pacientes de los esperados (8) –ver tabla 25- con el KIM-1 S1 (valor más alto de la primera semana), por encima del percentil 70. A su vez, hay menos pacientes de los esperados (9) –ver tabla 25- que tienen el KIM-1 S1 por debajo del percentil 70.

| | | | KIM-1 D3 | | Total | |
|-----------------------|------------------------|----------------------|----------|------------|-------------|------|
| | | | >70Perc | <70Perc | | |
| Vivo Cadáver Páncreas | Cadáver < 55 | Frecuencia observada | 0 | 7 | 10 | 17 |
| | | Frecuencia esperada | 2,0 | 3,7 | 11,3 | 17,0 |
| | Cadáver > 55 | Frecuencia observada | 1 | 6 | 28 | 35 |
| | | Frecuencia esperada | 4,1 | 7,6 | 23,3 | 35,0 |
| Páncreas | | Frecuencia observada | 6 | 0 | 3 | 9 |
| | | Frecuencia esperada | 1,0 | 2,0 | 6,0 | 9,0 |
| Vivo | | Frecuencia observada | 1 | 2 | 5 | 8 |
| | | Frecuencia esperada | ,9 | 1,7 | 5,3 | 8,0 |
| Total | | Frecuencia observada | 8 | 15 | 46 | 69 |
| | | Frecuencia esperada | 8,0 | 15,0 | 46,0 | 69,0 |

Tabla 26: Tabla de contingencia realizada por test p: valor significativo según el test de χ^2 de Pearson. Relación de KIM-1 D3 con cada tipo de trasplante. 1ª columna: valores perdidos. KIM D3: valor de KIM-1 el día +3 post-trasplante. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

| | | | KIM-1 24H D3 | | Total | |
|-----------------------|------------------------|----------------------|--------------|---------|-------------|------|
| | | | >70Perc | <70Perc | | |
| Vivo Cadáver Páncreas | Cadáver < 55 | Frecuencia observada | 0 | 5 | 12 | 17 |
| | | Frecuencia esperada | 2,0 | 4,4 | 10,6 | 17,0 |
| | Cadáver > 55 | Frecuencia observada | 1 | 9 | 25 | 35 |
| | | Frecuencia esperada | 4,1 | 9,1 | 21,8 | 35,0 |
| Páncreas | | Frecuencia observada | 6 | 1 | 2 | 9 |
| | | Frecuencia esperada | 1,0 | 2,3 | 5,6 | 9,0 |
| Vivo | | Frecuencia observada | 1 | 3 | 4 | 8 |
| | | Frecuencia esperada | ,9 | 2,1 | 5,0 | 8,0 |
| Total | | Frecuencia observada | 8 | 18 | 43 | 69 |
| | | Frecuencia esperada | 8,0 | 18,0 | 43,0 | 69,0 |

Tabla 27: Tabla de contingencia realizada por test p: valor significativo según el test de χ^2 de Pearson. Relación de KIM-1 24H D3 con cada tipo de trasplante. 1ª columna: valores perdidos. KIM 24H D3: valor de KIM-1 el día +3 post-trasplante en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

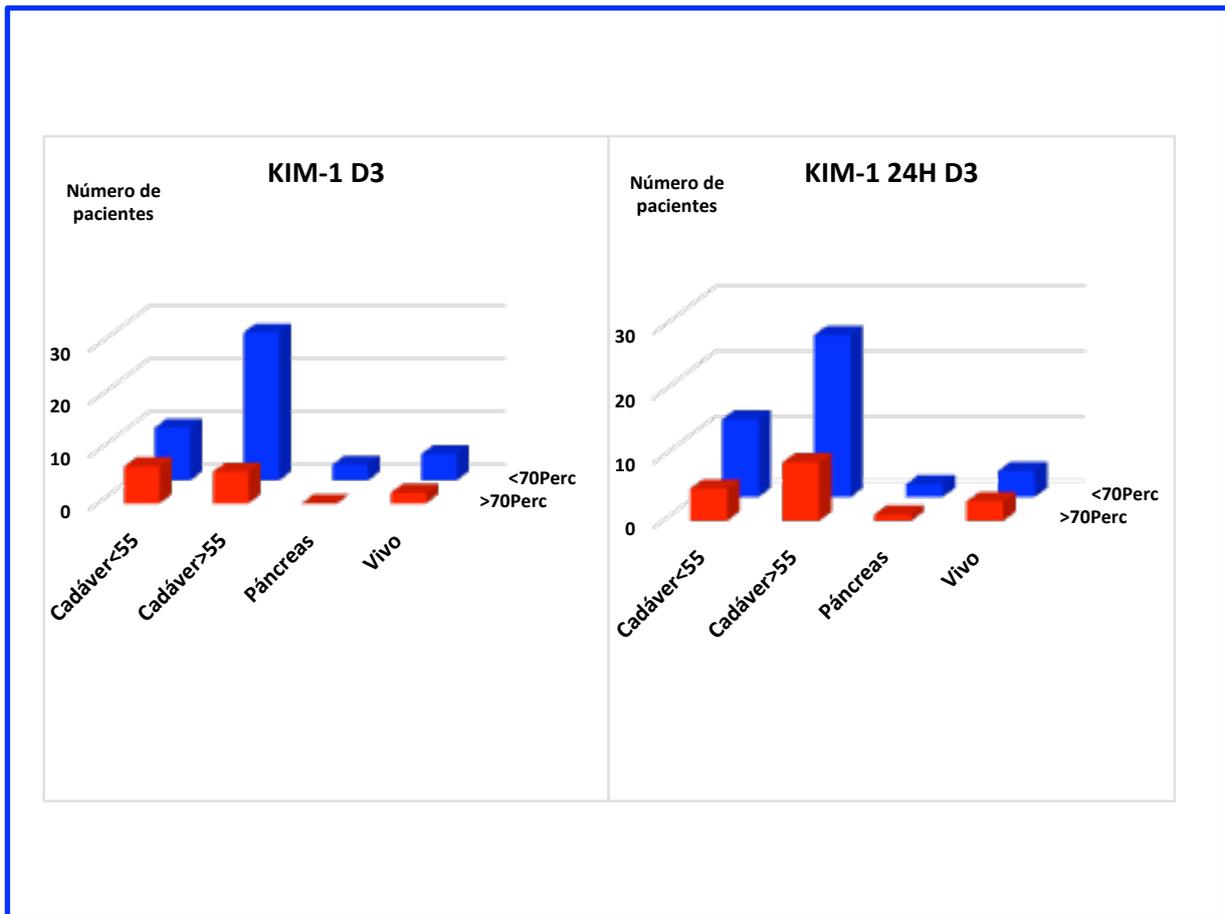


Figura 56. Relación de KIM-1 D3 con cada tipo de trasplante. KIM-1 D3: valor de KIM-1 en el día +3 post-trasplante. KIM-1 24H D3: valor de KIM-1 el día +3 post-trasplante en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.>

En esta gráfica se observa que entre los que reciben un trasplante de cadáver de menos de 55 años hay más pacientes de los esperados (7) –ver tabla 26- con el KIM-1 D3 (valor de KIM-1 en el día +3 post-trasplante), por encima del percentil 70. A su vez, entre los pacientes que reciben un trasplante con un donante cadáver de más de 55 años, se observa que hay más pacientes de los esperados (28) –ver tabla 26- con el KIM D3 por debajo del percentil 70. Sucede cuando se expresan los valores de KIM-1 D3 tanto en concentración como en excreción diaria.

Resultados

- Relación de KIM-1 con el Rechazo Agudo:

| | | | KIM 24H S1 | | | | Total |
|---------|----------------------|-----------------------------|------------|------------|---------|------|-------|
| | | | | >70Perc | <70Perc | | |
| Rechazo | NO | Frecuencia observada | 1 | 20 | 36 | 57 | |
| | | Frecuencia esperada | ,8 | 16,5 | 39,7 | 57,0 | |
| | SÍ | Frecuencia observada | 0 | 0 | 12 | 12 | |
| | | Frecuencia esperada | ,2 | 3,5 | 8,3 | 12,0 | |
| Total | Frecuencia observada | | 1 | 20 | 48 | 69 | |
| | Frecuencia esperada | | 1,0 | 20,0 | 48,0 | 69,0 | |

Tabla 28: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de KIM-1 24H S1 con el Rechazo Agudo. 1ª columna: valores perdidos. KIM 24H S1: valor de KIM-1 el día más alto de la primera semana, en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

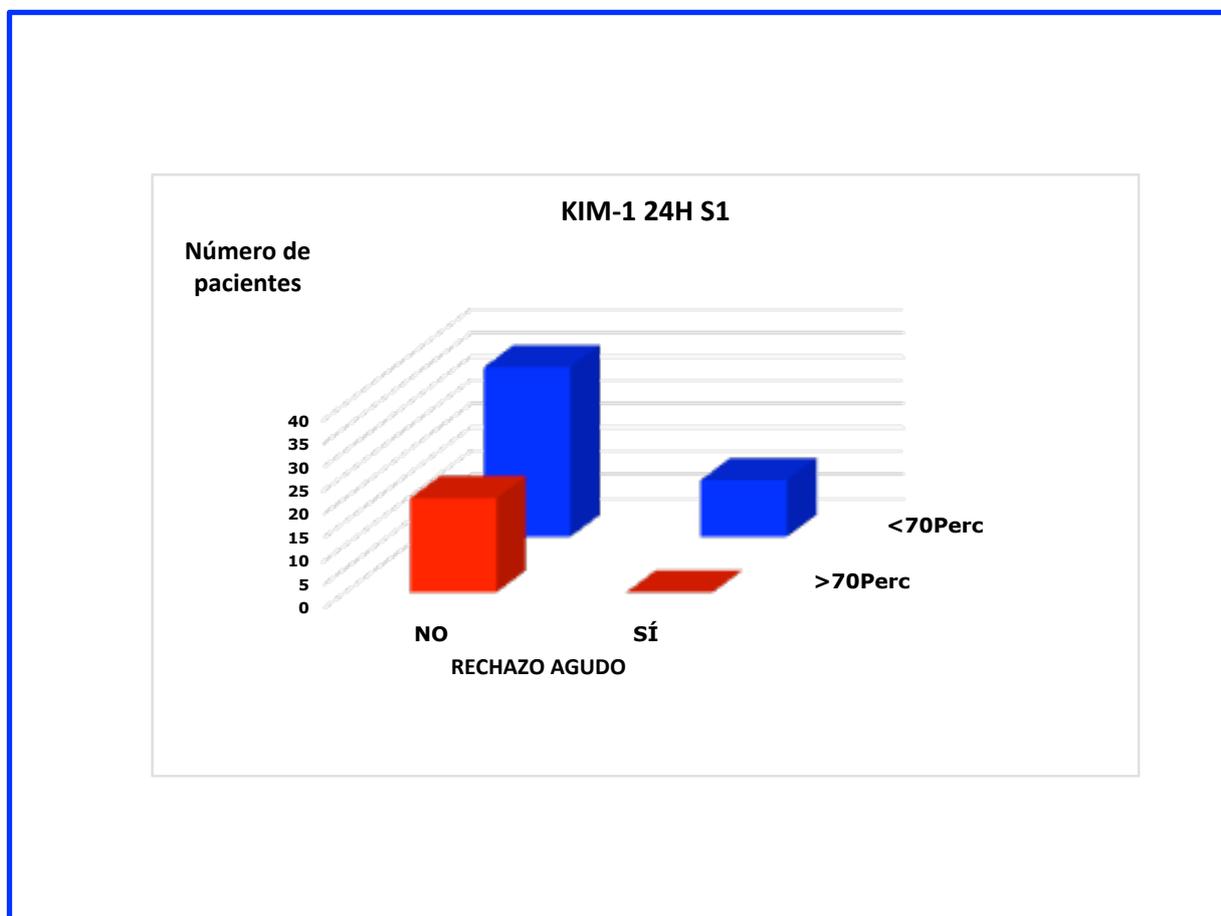


Figura 57. Relación de KIM-1 24H S1 con el Rechazo Agudo. KIM-1 24H S1 : valor de KIM-1 en el día más alto de la primera semana en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.>

Se ha observado que entre los pacientes que tienen RA hay menos pacientes de los esperados (0) –ver tabla 28-, con el KIM-1 S1 24H (valor

Resultados

más alto de KIM-1 en la primera semana en excreción diaria), por encima del percentil 70.

- Relación de KIM-1 con el tiempo de isquemia fría:

| | | | KIM D3 | | | Total |
|----------------|----------------------|-----------------------------|--------|---------|-------------|-------|
| | | | | >70Perc | <70Perc | |
| Isquemia Grupo | <120 | Frecuencia observada | 1 | 2 | 8 | 11 |
| | | Frecuencia esperada | 1,3 | 2,4 | 7,3 | 11,0 |
| | 120-900 | Frecuencia observada | 6 | 2 | 8 | 16 |
| | | Frecuencia esperada | 1,9 | 3,5 | 10,7 | 16,0 |
| | 900-1440 | Frecuencia observada | 1 | 11 | 30 | 42 |
| | | Frecuencia esperada | 4,9 | 9,1 | 28,0 | 42,0 |
| Total | Frecuencia observada | | 8 | 15 | 46 | 69 |
| | Frecuencia esperada | | 8,0 | 15,0 | 46,0 | 69,0 |

Tabla 29: Tabla de contingencia realizada por test p: valor significativo según el test de χ^2 de Pearson. Relación de KIM-1 D3 con el tiempo de isquemia fría. 1ª columna: valores perdidos. KIM D3: valor de KIM-1 el día +3 post-trasplante. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

| | | | KIM 24H D3 | | | Total |
|----------------|----------------------|-----------------------------|------------|---------|-------------|-------|
| | | | | >70Perc | <70Perc | |
| Isquemia Grupo | <120 | Frecuencia observada | 1 | 3 | 7 | 11 |
| | | Frecuencia esperada | 1,3 | 2,9 | 6,9 | 11,0 |
| | 120-900 | Frecuencia observada | 6 | 4 | 6 | 16 |
| | | Frecuencia esperada | 1,9 | 4,2 | 10,0 | 16,0 |
| | 900-1440 | Frecuencia observada | 1 | 11 | 30 | 42 |
| | | Frecuencia esperada | 4,9 | 11,0 | 26,2 | 42,0 |
| Total | Frecuencia observada | | 8 | 18 | 43 | 69 |
| | Frecuencia esperada | | 8,0 | 18,0 | 43,0 | 69,0 |

Tabla 30: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de KIM-1 24H D3 con el tiempo de isquemia fría. 1ª columna: valores perdidos. KIM 24H D3: valor de KIM-1 el día +3 post-trasplante en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

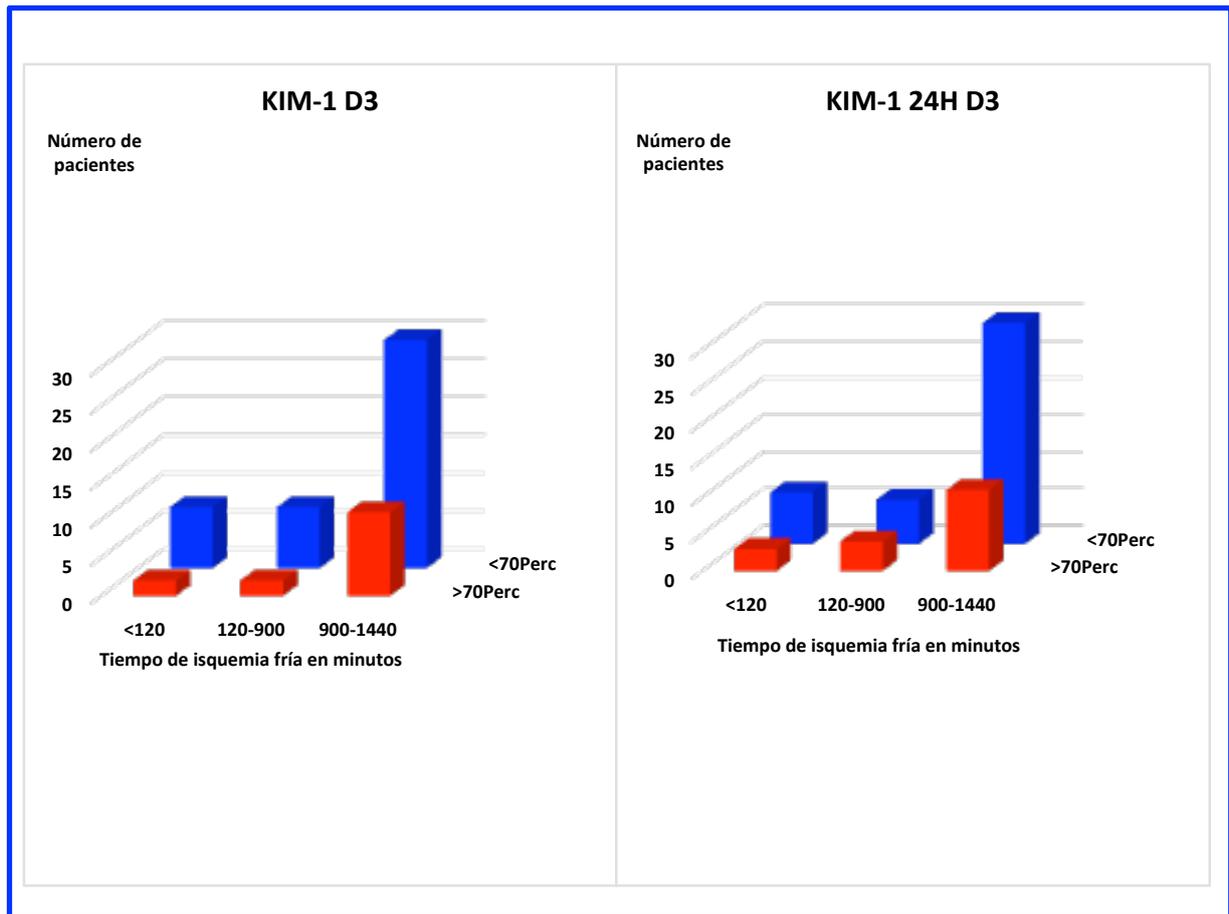


Figura 58. Relación de KIM-1 D3 con el tiempo de isquemia fría. KIM-1 D3: valor de KIM-1 en el día +3 post-trasplante. KIM-1 24H D3: valor de KIM-1 el día +3 post-trasplante en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.>

En esta gráfica se observa que entre los pacientes que tienen un tiempo de isquemia fría entre 120 y 900 minutos hay menos pacientes de los esperados (8) –ver tabla 29- con el KIM-1 D3 (valor de KIM-1 en el día + 3 post-trasplante), por debajo del percentil 70. Sucede cuando se expresan los valores de KIM-1 D3 tanto en concentración como en excreción diaria.

Resultados

- Relación de KIM-1 con el tiempo de estabilización:

| | | KIM-1 S1 | | | Total |
|---------------------------|-----------------------------|----------|------------|---------|-------|
| | | | >70Perc | <70Perc | |
| Días Estabilización Grupo | Frecuencia observada | 1 | 0 | 1 | 2 |
| | Frecuencia esperada | ,0 | ,4 | 1,6 | 2,0 |
| 30-60 | Frecuencia observada | 0 | 11 | 36 | 47 |
| | Frecuencia esperada | ,7 | 9,5 | 36,8 | 47,0 |
| 60-90 | Frecuencia observada | 0 | 3 | 15 | 18 |
| | Frecuencia esperada | ,3 | 3,7 | 14,1 | 18,0 |
| 90-120 | Frecuencia observada | 0 | 0 | 2 | 2 |
| | Frecuencia esperada | ,0 | ,4 | 1,6 | 2,0 |
| Total | Frecuencia observada | 1 | 14 | 54 | 69 |
| | Frecuencia esperada | 1,0 | 14,0 | 54,0 | 69,0 |

Tabla 31: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de KIM-1 S1 con el periodo de estabilización de la función renal. 1ª columna: valores perdidos. KIM-1 S1: valor más alto de KIM-1 de la primera semana. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

| | | KIM-1 24H S1 | | | Total |
|---------------------------|-----------------------------|--------------|-------------|---------|-------|
| | | | >70Perc | <70Perc | |
| Días Estabilización Grupo | Frecuencia observada | 1 | 0 | 1 | 2 |
| | Frecuencia esperada | ,0 | ,6 | 1,4 | 2,0 |
| 30-60 | Frecuencia observada | 0 | 17 | 30 | 47 |
| | Frecuencia esperada | ,7 | 13,6 | 32,7 | 47,0 |
| 60-90 | Frecuencia observada | 0 | 3 | 15 | 18 |
| | Frecuencia esperada | ,3 | 5,2 | 12,5 | 18,0 |
| 90-120 | Frecuencia observada | 0 | 0 | 2 | 2 |
| | Frecuencia esperada | ,0 | ,6 | 1,4 | 2,0 |
| Total | Frecuencia observada | 1 | 20 | 48 | 69 |
| | Frecuencia esperada | 1,0 | 20,0 | 48,0 | 69,0 |

Tabla 32: Tabla de contingencia realizada por test χ^2 de Pearson. Relación de KIM-1 24H S1 con el periodo de estabilización de la función renal. 1ª columna: valores perdidos. KIM-1 24H S1: valor más alto de KIM-1 de la primera semana en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.

Resultados

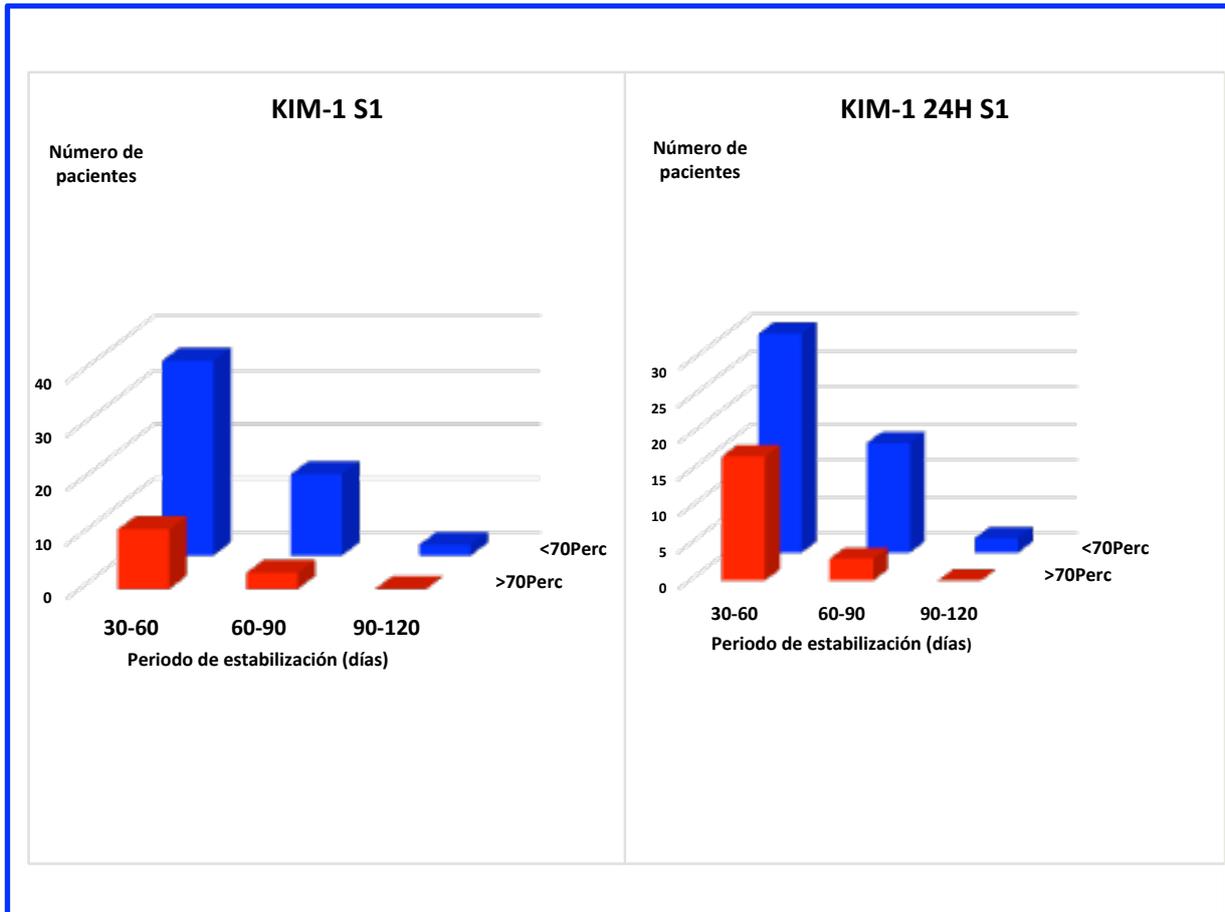


Figura 59. Relación de KIM-1 S1 con el tiempo de estabilización. KIM-1 S1: valor de KIM-1 el día más alto de la primera semana. KIM-1 S1 24H D3: valor de KIM-1 el día más alto de la primera semana en excreción diaria. > 70 perc: por encima del percentil 70. < 70 perc: por debajo del percentil 70.>

En esta gráfica se observa que hay más pacientes de los esperados (11) –ver tabla 31- que tienen el KIM-1 S1 por encima del percentil 70 si se estabilizan entre 30 y 60 días. Sucede tanto en concentración como en excreción diaria

DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

A finales de 2014 España presentaba una población de 46.771.341 habitantes. Según el Registro Español de Diálisis y Trasplante de 2014, elaborado por la ONT, la Sociedad Española de Nefrología y los Registros Autonómicos, la incidencia de la IRC en la población española era de 133,6 casos por millón de población, y se incrementaba hasta 156,1 casos por millón de población en personas mayores de 15 años. La prevalencia de enfermos con necesidad de TRS a finales de 2014 fue de 1179,3 pacientes por millón de población, aunque afortunadamente más de la mitad (51,9%), se encuentran trasplantados, frente a un 42,6% que reciben hemodiálisis, y un 5,5% que realiza Diálisis Peritoneal. En 2014 se realizaron 2678 trasplantes, lo que supuso un incremento de un 5% con respecto al año anterior (2013: 2552 trasplantes renales realizados). Sólo un 3,6% de los enfermos trasplantados en 2014 volvió a necesitar TRS. Estos datos son esperanzadores y satisfactorios para nuestros pacientes, ya que la mortalidad en TR en el último año ha sido de un 2,5%, frente a un 14,7% en Hemodiálisis y un 8,3% en Diálisis Peritoneal. Debido a que la mayor supervivencia la presentan los enfermos que reciben un injerto renal, nuestro objetivo debería ser mejorar los resultados del TR y conseguir aumentar la supervivencia del injerto, actuando sobre determinados parámetros que puedan predecir sucesos dañinos para el riñón trasplantado.

Habitualmente, determinamos el funcionamiento de un injerto renal por la medida de la creatinina sérica y la estimación del filtrado glomerular. Sin embargo, la determinación de creatinina plasmática es un marcador tardío, ni sensible, ni específico, al igual que la urea, ya que su elevación se produce cuando ya han pasado al menos 24-48 horas de daño renal ⁽⁷⁹⁾. Por ello, un objetivo médico urgente es encontrar marcadores que sean capaces de hacer un diagnóstico precoz de la

Discusión

disfunción del injerto renal lo que aumentaría la supervivencia a largo plazo del mismo.

El daño renal puede producirse debido a diferentes etiologías, como NTA (que clínicamente se manifiesta como FRI), RA y nefrotoxicidad por fármacos inhibidores de la calcineurina, siendo estos tres acontecimientos las causas principales de deterioro de función renal, aunque también existen otras que pueden causarlo, como la obstrucción de la vía urinaria, las pielonefritis, las infecciones por Citomegalovirus o Poliomavirus, o la recidiva de la enfermedad de base ⁽¹⁰²⁾. Disponer en la clínica diaria de herramientas no invasivas que puedan predecir estos sucesos, sería de gran utilidad ya que podríamos evitar la realización de otras técnicas más agresivas como una biopsia renal.

En este contexto, los biomarcadores en orina se presentan como un avance en la mejora del diagnóstico temprano. La finalidad de los mismos es el diagnóstico inicial del daño y la evaluación del FRA, así como ofrecer la posibilidad de distinguir entre los diversos tipos y etiologías de FRA ^(103, 89, 93, 104). Las características principales que el marcador óptimo para detectar FRA son entre otras: no invasivo, coste-efectivo, relacionado con eventos fisiopatológicos del FRA, preciso y específico para el FRA ^(105, 106). Además debe de ser generado por las células dañadas para mostrar el órgano específico, debe mostrar una concentración proporcional a la extensión del daño, que se exprese precozmente tras el daño del órgano, incluso cuando la lesión aún sea potencialmente reversible, y por último, su concentración debe disminuir rápidamente tras el episodio de lesión aguda para utilizarlo como herramienta de monitorización terapéutica y permitir una rápida determinación.

En este estudio se han evaluado la utilidad de tres marcadores específicos de lesión y calificados como tempranos: NAG, NGAL y KIM-1,

que pueden verse elevados antes de la creatinina plasmática ^(107, 108). Estos biomarcadores de daño renal pueden ser utilizados para delimitar la naturaleza, magnitud y lugar de lesión basados en su especificidad. Varios estudios han descrito su utilidad predictiva en el diagnóstico precoz de FRA, diferenciación de la naturaleza y severidad de la lesión, proporcionando información pronóstica en el curso y resultados de la enfermedad ^(109, 110, 111, 112).

El estudio que presentamos es bastante representativo de la situación actual del TR en España, ya que son 70 pacientes, reclutados durante 16 meses, y con características de los donantes y receptores similares a las descritas en la bibliografía y en los registros. Por ejemplo, las causas de donación son similares a las de nuestro país. Según la ONT, en el año 2014 la causa de muerte más frecuente entre los donantes fue el accidente cerebrovascular (65,6%). En este trabajo esta causa fue un 68%. Los traumatismos craneoencefálicos en el 2014 supusieron el 15,1% (en nuestro trabajo un 25%) y otras causas el 19,3%, mientras que nosotros describimos un 7%. (Ver figura 20). A su vez, la edad media de los donantes en el año 2014 fue de 59,6 y en este trabajo 54,63 años. (Ver figura 19).

A su vez, las causas de IRC son similares a las descritas en la bibliografía. La causa fundamental de IRC en nuestros pacientes, fue la DM (29%), seguida de la patología glomerular (21,92%) y las causas vasculares (10,96%). (Ver figura 24). Según el registro de Cusumano *et al* (2007) ⁽¹¹³⁾, las causas principales para necesitar TRS en Latinoamérica, son la DM y la Hipertensión Arterial. Según el registro americano (*United States Data Renal Sistem, USDRS*) de 2014, la causa fundamental de IRC es la DM. Y aunque en España no existen registros epidemiológicos recientes, en el documento de consenso de la Sociedad Española de Nefrología (SEN) y Sociedad Española de Medicina Familia y comunitaria-SEMFYC ⁽¹¹⁴⁾, publicado en 2008 por Alcázar *et al* se describen como causas fundamentales de IRC la DM y la HTA.

Discusión

Otro hallazgo que se observa en el este trabajo, es que los resultados descriptivos, también son similares a los descritos en la bibliografía. Por ejemplo, la prevalencia de RA (global) fue de un 17% (ver figura 31), cuando está descrito entre un 12-20% en el primer año ⁽¹¹⁵⁾. La incidencia de NTA o FRI en este grupo de pacientes fue de un 33%, 0% en trasplante de páncreas, y 2% en trasplante de donante vivo (ver figuras 33 y 34), cuando las tasas actuales esperadas de FRI se encuentran aproximadamente en un 1-5% para el donante vivo, 20-30% en el donante cadáver por muerte encefálica, y hasta el 60% en el donante en asistolia.

El número total de pacientes se compone de tres grupos de pacientes (TR de donante cadáver, TR de donante vivo y TR y de páncreas), o cuatro si se considera la división de los TR de donante cadáver mayores o menores de 55 años. Esta división se realizó así porque en nuestro centro, la introducción del anticalcineurínico se hace al 4º día en pacientes mayores de 55 años, para evitar el posible efecto nefrotóxico del fármaco. Los grupos no son homogéneos entre sí, por que difieren en la inmunosupresión. Además del criterio anterior, los pacientes con TR de donante vivo inician inmunosupresión 3 días antes de la intervención quirúrgica, y los enfermos con TR y de páncreas reciben inducción con TG, lo que es menos habitual en el grupo de TR de donante cadáver (ver figuras 25, 26, 27 y 28). Por otra parte, tampoco son homogéneos en el número de pacientes en cada grupo, por ello se han hecho las diferentes comparaciones en cada uno de ellos y se han analizado las complicaciones por separado según el tipo de TR. Además, el hecho de tener un número pequeño de pacientes en el grupo de TR de donante vivo y de TR y páncreas, hace que no se describan resultados estadísticamente significativos en estos dos grupos.

Para estudiar la evolución de los marcadores (NAG, NGAL y KIM-1) tras el trasplante se comparó su evolución con la de la creatinina

plasmática durante la primera semana post-trasplante y en el momento de la estabilización. Empezando por la NAG urinaria, si observamos la figura 39, la gráfica muestra un descenso de los valores de creatinina, progresivo, hasta llegar al día de la estabilización. Sin embargo, la evolución de la NAG asciende durante la primera semana, hasta un valor máximo en el día +3 post-trasplante, mientras que la creatinina desciende desde el inicio. Esto hace sospechar, que aunque aparentemente hay mejoría de función renal por el descenso de la creatinina, existe daño tubular u otra patología a nivel renal ya que se observa una elevación de la NAG que se relaciona principalmente con daño del túbulo proximal. Esta enzima indica también, nefrotoxicidad, patología glomerular, daño papilar o patología obstructiva ⁽⁸¹⁾.

En cuanto a la NGAL urinaria, la evolución con respecto a la de la creatinina plasmática también es diferente, ya que existe un ascenso en el día +7 post-trasplante, mientras que la creatinina tiene una tendencia descendente desde el inicio. (Ver figura 40). La NGAL se ha descrito como marcador de nefrotoxicidad, inflamación ^(88, 89) y también como predictor de FRA en TR ⁽⁹¹⁾, por lo que aunque la medida de la función renal por la creatinina nos indica mejoría de la misma, esta enzima muestra otros procesos patológicos que pueden suceder en el túbulo renal. Por lo tanto, como en nuestros resultados la expresión de NGAL está aumentada, la predisposición a complicaciones como la FRI puede ser mayor.

En cuanto al KIM-1 urinario (ver figura 41), cuando se compara su evolución con la de la creatinina plasmática se observa un descenso de los valores de éste progresivo, hasta llegar al día de la estabilización. Sin embargo, la evolución del KIM-1 es ascendente, evidenciándose sobre todo en el día +3 post-trasplante, mientras que la creatinina desciende desde el principio. El KIM-1 indica fallo de la regulación en el túbulo proximal, y es indicativa de daño renal isquémico o nefrotóxico ⁽⁹⁵⁾. Al igual que con los otros dos marcadores, el KIM-1 elevado nos indica que existe daño tubular que puede condicionar el pronóstico a largo plazo del injerto renal ⁽⁹⁷⁾.

Por otra parte, es importante destacar que en el momento de la estabilización, NGAL presenta valores inferiores a los encontrados en el día 1 post-trasplante, mientras que los marcadores NAG y KIM-1 presentan valores similares a los que tenían al inicio del trasplante (día 1). Datos de nuestro laboratorio, no mostrados, sobre valores de estos marcadores en personas sanas, nos indican que los niveles tanto de NAG como de KIM-1 se encuentran en el rango de la normalidad el día 1 post-trasplante y en el momento de la estabilización. Sin embargo, los valores de NGAL están aumentados desde el día uno (aproximadamente 6 veces) y disminuyen al rango normal en el momento de la estabilización. Esto sugiere, que NGAL es un marcador más sensible porque aparece elevado desde el inicio del trasplante (día 1).

Otro de los objetivos del estudio, ha sido comparar la evolución de los biomarcadores urinarios con los diferentes grupos de TR. Hemos realizado la media de los marcadores en cada grupo de TR, no observando diferencias significativas en cada tipo de TR cuando se comparan entre los grupos (figuras 42, 43 y 44). Puede explicarse por diferentes motivos. En primer lugar, los grupos de TR de páncreas y de donante vivo, se componen de una "n" muy pequeña (9 pacientes en cada grupo). Por otra parte, en nuestro conocimiento no existe bibliografía publicada sobre biomarcadores urinarios en trasplante de páncreas. Nuestros resultados acerca de la diferencia entre TR de donante vivo y donante cadáver, concretamente de NGAL, son similares a las encontradas en el estudio de Salazademh *et al* (2012) ⁽¹¹⁶⁾ en el cual no hay diferencias de este biomarcador entre los dos grupos de trasplante. Sin embargo, el artículo publicado por Kohei *et al* (2013) ⁽¹¹⁷⁾, relaciona la NGAL con el RA en TR de donante vivo pero estos hallazgos no los compara con los resultados en el TR de donante cadáver .

Otro dato que hay que tener en cuenta, para poder explicar que los resultados no hayan sido significativos al comparar los biomarcadores en

cada grupo, es que como ya se explicó previamente, la inmunosupresión entre los diferentes grupos de TR fue similar pero no exactamente igual.

Los dos grupos más homogéneos entre sí, para poder comparar la evolución de los marcadores, serían los grupos de TR de donante cadáver menor y mayor de 55 años. A pesar de que el grupo de TR de donante cadáver mayor de 55 años la introducción del anticalcineurínico se realizó 4 días después del trasplante, cuando se han realizado las medias de los niveles de Tacrólimus, no se han observado diferencias significativas (figura 30) entre los dos grupos. Esto podría justificar que no hubiera diferencias en la determinación de los biomarcadores.

Todas estas determinaciones han sido hechas en concentración, y en excreción diaria (corregidas por el volumen de orina de 24 horas), con el fin de comparar la utilidad o la información que proporciona cada una de ellas. Según Waikar *et al* (2010) ⁽¹¹⁸⁾ el valor del biomarcador (ellos determinan KIM-1 en orina), puede estar afectado por el valor de la excreción urinaria de creatinina, sin embargo, no realizan la determinación de KIM-1 corregida por flujo urinario, pero sí lo corrigen por la excreción de creatinina en orina, para observar que según el contexto clínico puede sobre o infraestimar el valor del biomarcador. Pajek *et al* (2014) ⁽¹¹⁹⁾ comparan el valor predictivo de los biomarcadores urinarios NGAL 24h post-trasplante y “*Liver Type acid binding protein*” (L-FABP) con el volumen de orina y la excreción urinaria de creatinina, en casos de NTA después del TR, demostrando que el volumen de orina puede ser tan valioso o más como los biomarcadores. Nuestros resultados evidencian que no hay diferencias entre ambas medidas. La utilidad de ello es aunque no tengamos orina de 24 horas, la información pronostica proporcionada por el biomarcador es similar con una muestra de orina aislada.

Ahora, pasaremos a discutir cada marcador urinario, con las complicaciones post-trasplante descritas previamente.

NAG:

Cuando hemos analizado la relación de la NAG urinaria con las complicaciones que suceden en el post-trasplante inmediato (ver tabla 4), sólo hemos encontrado relación de la NAG baja (valores de NAG menores al percentil 70), en el día 3 post-trasplante, con el tipo de TR (el doble renal y páncreas) y con el tiempo de isquemia fría intermedia (entre 120 y 900 minutos), que es el tiempo de isquemia fría de prácticamente todos los pacientes (8) que ha recibido este tipo de trasplante (Figura 29). Aunque el resultado ha sido estadísticamente significativo, 9 pacientes es un número demasiado pequeño para poder afirmar o negar nada, pero sí podemos observar que la NAG está más baja en los pacientes que reciben un trasplante (en nuestro caso doble de riñón y páncreas) con una isquemia fría inferior a 900 minutos. Otra causa por la que no podemos realizar ningún afirmación concluyente es, porque si analizamos las tablas 5 y 6, vemos que hay un 50% de valores perdidos de NAG D3 en este tipo de TR.

En cuanto a la relación de la NAG con el RA, nuestros resultados no encuentran diferencias significativas y son similares a los descritos por Loertscher *et al* (1982) ⁽¹²⁰⁾. Sin embargo, en el trabajo de Kwiatkowska *et al* (2014) ⁽⁸⁷⁾ que analizan la NAG urinaria en el día 3 post-trasplante y en el tercer mes, en 87 trasplantados renales con una pauta de inmunosupresión similar a la nuestra, encuentra relación entre NAG elevada y la FRI.

Por otra parte, aunque nosotros no hemos podido relacionar la NTA con la elevación de la NAG urinaria, al comparar la evolución de este marcador con la de la creatinina plasmática en la primera semana post-trasplante, el ascenso descrito previamente, podría ponernos sobre aviso ante posibles eventos nocivos para el injerto renal. En este sentido hay resultados contradictorios en la bibliografía. Por una parte, el estudio de Kotanko (1996) ⁽¹²¹⁾ no relaciona NAG con el RA, y sí con la NTA, medida por la ratio Neopterina Urinaria/NAG urinaria, pero sin embargo, la baja excreción urinaria de NAG entre el día 7 y 28 post-trasplante, se asoció

con peor supervivencia del injerto a los 4 años, debido a un rechazo crónico en la mayoría de los casos. En el estudio publicado por Kwiatkowska (2014) ⁽⁸⁷⁾ encuentran relación entre la actividad de la NAG urinaria y la NTA en las muestras recogidas 3 días tras el trasplante. A su vez observan relación estadísticamente significativa entre el aumento de la actividad de esta enzima y el mayor grado de atrofia tubular en biopsias hechas tras 3 meses de TR.

En cuanto a la relación de la NAG con la administración de nefrotóxicos, no hemos encontrado relación estadísticamente significativa, posiblemente debido a que hubo un número escaso de pacientes que estuvieron en tratamiento con algún fármaco nefrotóxico (19%).

Llegado el momento de la estabilización, describimos de manera significativa, que los pacientes que tienen valores altos de NAG urinaria en la primera semana, tardan más en estabilizar su función renal dentro de un periodo de tres o cuatro meses. (Ver figura 47). Este dato, es relevante ya que podría proporcionarnos información pronóstica y ser útil de cara a evitar actitudes (pautas de inmunosupresión, estados de hipotensión) más dañinas para el injerto.

NGAL:

Uno de los primeros resultados que hemos encontrado al estudiar la NGAL, es que existe relación significativa con esta enzima y la edad del donante. Si observamos las tablas 11, 12 y 13, vemos que la NGAL en el día 7, y en la primera semana, tiene valores bajos (por debajo del percentil 70), si el paciente ha recibido un donante cadáver menor de 55 años, y altos (por encima del percentil 70) si el donante es mayor de 55 años. Recordaremos aquí que hicimos esta división porque retrasamos la introducción del anticalcineurínico al cuarto día si el donante era de dicha edad o mayor. Hasta la fecha y en nuestro conocimiento, no existe en la literatura ninguna relación entre la edad del donante y el valor de NGAL urinaria. Como describiremos a continuación, la NGAL se ha relacionado en este trabajo con la NTA, que invariablemente va unido al tiempo de

isquemia fría. A pesar de que el tiempo de isquemia fría es mayor en el grupo de TR de donante cadáver mayor de 55 años (superior a 15 horas), (tabla 29), y que por ello se deberían relacionar tiempo de isquemia-NGAL, nuestros resultados no muestran diferencias significativas.

Cuando se ha analizado la relación de la NGAL con el RA no hemos encontrado relación estadísticamente significativa entre ambos. Lo mismo sucede en el estudio de Ramírez-Sandoval (2015), ⁽⁴⁶⁾ en el que no encuentran relación entre la NGAL urinaria en 20 pacientes trasplantados con RA y 47 que presentan otras causas de daño renal agudo. Resultados similares se han encontrado en el trabajo de Zhang *et al* (2013) ⁽¹²²⁾, en el cual realizan biopsias renales en pacientes trasplantados encontrando 41 pacientes con RA, 29 con NTA y 15 estables, y no hallan diferencias significativas entre los hallazgos histológicos y la NGAL urinaria. Sin embargo, en el trabajo de Field *et al* (2014) ⁽¹²³⁾ se ha encontrado una relación entre el RA y la elevación de NGAL urinaria, pero hay que puntualizar que en este trabajo, los pacientes eran sensibilizados, la mayoría fueron trasplantes de donante vivo, y el trasplante se realizó sin compatibilidad de grupo. Los pacientes que tuvieron FRI tuvieron niveles más altos de NGAL pero sin significación estadística.

Uno de los hallazgos más relevantes de este estudio es que los valores de NGAL urinaria en el día 7 post-trasplante se asocia con la NTA. En un metaanálisis publicado por Haase-Fielitz *et al* (2014) ⁽¹²⁴⁾, analizan 58 manuscritos con más de 16.000 pacientes en los que se estudia la relación de NGAL con la predicción de daño renal agudo. Entre ellos, existen datos de 1079 pacientes trasplantados procedentes de 15 estudios diferentes, en los que la NGAL medida en sangre o/y orina después de 6 ó 12 horas tras el injerto, se correlaciona de manera excelente con la predicción de la NTA (área bajo la curva 0,87, sensibilidad y especificidad 82%). Esto puede ser de utilidad a la hora de programar o no biopsias renales, o para prolongar o no el intervalo de las visitas a la Consulta Externa. En nuestro trabajo, la determinación de la NGAL urinaria en el

día 7 post-trasplante, se relaciona de manera significativa con la probabilidad de tener NTA en el post-trasplante inmediato.

Pajek *et al* (2014) ⁽¹¹⁹⁾, como ya se mencionó antes, comparan el valor predictivo de los biomarcadores urinarios NGAL 24h post-trasplante y L-FABP en casos de NTA después del TR, observando correlación con la NTA. Así como Pajek (2014) ⁽¹¹⁹⁾, otro estudio realizado por Haase-Fielitz (2014) ⁽¹²⁴⁾, relaciona también la NGAL con la NTA no más tarde del primer día post-trasplante.

Recientemente, Van den Akker EK *et al* (2015) ⁽¹²⁵⁾, han relacionado la NGAL con la NTA en receptores de donantes en asistolia. Han medido NGAL y KIM-1 en suero de 22 pacientes trasplantados con este tipo de donante, en el día del trasplante y luego los días +1, +4 y +7 post-trasplante. En este estudio hay un 88% de NTA, ya que solo son donantes en asistolia, y la NGAL se asocia de manera significativa en el día +1 post-trasplante con la NTA, y en los días +1, +3 y +4 post-trasplante, con la duración de la NTA. La determinación de KIM-1 no se asoció con NTA hasta el día 4 post-trasplante. En este trabajo la determinación del biomarcador es en suero, mientras que nosotros hemos realizado la determinación en orina. La ventaja de la determinación urinaria realizada en nuestro trabajo es que puede evitar una punción al paciente y tener la misma probabilidad diagnóstica solo con un análisis de orina.

Según Hall *et al* (2010) ⁽¹²⁶⁾, la determinación de NGAL urinaria es mejor que la determinación de la creatinina sérica para detectar la NTA ya que este marcador es más precoz que la creatinina. En su estudio de 92 pacientes trasplantados renales de donante cadáver la determinación de NGAL urinaria a las 6, 12 horas y el primer y segundo día post-trasplante se asoció de manera significativa con la NTA. En este artículo la determinación de IL-18 también se asoció de manera significativa con la NTA, pero no la determinación de KIM-1, sugiriendo que la determinación de NGAL urinaria puede predecir la necesidad de diálisis en la primera semana, de modo que se podría ajustar mejor la medicación

inmunosupresora, evitando los nefrotóxicos, y ajustar mejor la indicación de biopsia renal y/o la programación de las visitas clínicas a los pacientes.

Otro estudio parecido al que nosotros presentamos, es el descrito por Fonseca *et al* ⁽¹²⁷⁾ en el año 2013 en el que encuentran niveles elevados de NGAL urinaria los días 0, 1, 2, 4 y 7 post-trasplante, en aquellos pacientes que tienen FRI, concluyendo que NGAL puede ser un predictor de NTA más preciso que la creatinina y similar a la Cistatina C. A su vez, relacionan la elevación de la NGAL urinaria los días +4 y +7 post-trasplante, con el nivel de creatinina sérica un año tras el trasplante, siendo más alta la creatinina en aquellos que tuvieron FRI.

NGAL también se ha descrito como marcador predictivo de daño renal en otras circunstancias clínicas como el trasplante hepático ⁽¹²⁸⁾, la tubulitis u otras patologías tubulares. Schaub *et al* (2007) ⁽¹²⁹⁾, comprobaron que las proteínas (NGAL entre otras) están más elevadas en aquellos pacientes que tienen tubulitis subclínica los primeros meses tras el trasplante. Sin embargo, en nuestro trabajo, no hemos encontrado probabilidad aumentada de RA (entidad en la que podríamos observar tubulitis) con la elevación de NGAL en orina.

Otro hallazgo que hemos encontrado, es la correlación positiva entre la NGAL urinaria y la presencia de RA y NTA al mismo tiempo. No obstante, este resultado obedece más a la relación entre valores de NGAL-NTA descrita anteriormente, que a la combinación de ambos eventos (RA+NTA), ya que el RA aisladamente no presenta correlación positiva con los niveles de NGAL.

Al igual que con la NAG, no se ha encontrado relación con el tiempo de isquemia fría y los valores urinarios de NGAL, lo cual es sorprendente, ya que la isquemia fría juega un papel muy importante en el desarrollo de NTA. Aunque el tiempo de isquemia fría fue mayor en el grupo de TR de donante cadáver mayor de 55 años, el tiempo medio no fue excesivo (en 27 de los 35 pacientes fue igual o inferior a 24 horas), aún así, este factor pudo influir para que el tanto por ciento de NTA fuera

mayor en el grupo de TR de donante cadáver mayor de 55 años (ver figura 34).

Tampoco hemos encontrado relación entre la NGAL y la administración de nefrotóxicos, como también sucedía con la NAG posiblemente y como se mencionó anteriormente, debido al escaso número de pacientes con esta circunstancia.

Llegado el momento de la estabilización, describimos de manera significativa, que los pacientes que tienen valores altos de NGAL urinaria en la primera semana, tardan más tiempo en estabilizar su función renal dentro de un periodo de tres o cuatro meses. (Ver figura 54). Sabiendo que la NGAL se relaciona con la NTA, y que ésta condiciona el pronóstico y la recuperación de la función renal, la estabilización más tardía en estos pacientes podría deberse a estos acontecimientos. Esto estaría de acuerdo con lo publicado por Hollmen *et al* (2011) ⁽¹³⁰⁾, donde la NGAL en orina varios días post-trasplante se relaciona con la FRI. La determinación en el día 1 se relacionó con peor supervivencia del injerto a un año, y en el día 3, con peor pronóstico a las 3 semanas pero no a los 3 meses ni al año. Este hallazgo podría ser útil de cara a evitar actitudes (pautas de inmunosupresión, estados de hipotensión) más dañinas para el injerto.

KIM:

A pesar de que diversas publicaciones indican que este marcador pudiera ser una buena herramienta para el pronóstico del TR, en nuestro trabajo la determinación de KIM-1 no se ha relacionado con las diferentes complicaciones post-trasplante, posiblemente por las diferencias en el diseño del estudio.

En el artículo de Zhan-Kui Jin *et al* (2013) ⁽¹³¹⁾, determinan KIM-1 y osteopontina en 77 trasplantes de donante vivo, los días 0, 1, 4, 7, 14 y 28 post-trasplante, mostrando una relación estadísticamente significativa del KIM-1 los días 0, 1 y 4 y la osteopontina los días 0 y 7 post-trasplante con el RA. Este estudio fue realizado solo en TR de donante vivo, el KIM-1 fue medido por Luminex (a diferencia del nuestro que se ha realizado con

ELISA), y hacen los dos marcadores juntos para justificar que los dos están presentes en el RA precoz, aunque la determinación por separado de cada marcador es significativa.

En el estudio de Malyszko *et al* (2010) ⁽¹³²⁾ en el que realizan la determinación de KIM-1 en 170 receptores de TR, observan este marcador más elevado en receptores de trasplante renal, en trasplantados con hipertensión y también en pacientes diabéticos. Ellos concluyen que incluso un trasplante exitoso puede asociarse con un KIM-1 en orina elevado y que se debería investigar esta molecular como parámetro de mejoría o empeoramiento de la función renal.

En el trabajo publicado por Song *et al* en el 2013 ⁽¹³³⁾, en el que realizan KIM-1 en 69 biopsias renales de 17 pacientes trasplantados relaciona de manera significativa este marcador con el RA, observan también expresión de KIM-1 en el corte histológico en pacientes con valores bioquímicos normales, por lo que sugieren que la expresión de KIM-1 en el tejido renal, ocurre antes que los parámetros analíticos y refleja mejor el daño renal tubular.

En el artículo de Schröppel *et al* (2010) ⁽¹³⁴⁾, realizan biopsias de donantes renales, previo a la implantación y determinan KIM-1 en el tejido renal, y también en muestras de orina el día +1 y +3 post-trasplante, y aunque se asoció con el grado de fibrosis renal de manera significativa, no se asoció con la NTA, siendo estos resultados similares a los nuestros. Podríamos decir que según estos autores, la determinación de KIM-1 también es más precoz que la creatinina para diagnosticar daño renal.

En el artículo publicado por Nijboer *et al* (2009) ⁽¹³⁵⁾ detectan KIM-1 en la orina de los donantes tras 4 horas de muerte encefálica, cuando aún la morfología del epitelio no ha cambiado y los niveles de creatinina sérica han variado muy poco. Según estos autores, la medida de KIM-1 puede ser un factor predictivo de función renal tras el TR ya que está elevado en el donante solo tras 4 horas de muerte encefálica. Esto podría justificar, que aunque no exista relación de ninguna complicación con la

elevación de KIM-1, el KIM-1 estuviera alto por el hecho de que puede estar elevado en los donantes de TR de cadáver con muerte encefálica.

Van Timmeren *et al* (2007) ⁽⁹⁷⁾, afirman que solo podemos especular si la expresión de KIM-1 indica un efecto protector o dañino, ya que de los estudios de isquemia-reperfusión, se sabe que la expresión del KIM-1 persiste durante la primera fase de recuperación, indicando que el KIM-1 no siempre tiene que estar asociado con un suceso nocivo para el injerto. De hecho, cuando se utilizan medidas de renoprotección, y disminuye el daño renal, disminuye también la expresión del KIM-1 ^(136, 137).

No hemos encontrado relación entre el KIM-1 con la administración de nefrotóxicos, como también sucedía con la NAG y la NGAL posiblemente y como se mencionó anteriormente, debido al escaso número de pacientes con esta circunstancia.

En el artículo de Nogare (2010) ⁽¹³⁸⁾, realizan tinción de KIM-1 en 59 biopsias de TR que realizan en diferentes momentos post-trasplante, variando entre 14 días y 1 año, asociándose la expresión de KIM-1 con daño tubular crónico asociado con fibrosis y atrofia tubular por inhibidores de calcineurina.

Por último, destacar que los resultados de este estudio aportan evidencias de que determinados marcadores urinarios pueden ser utilizados como herramientas útiles en el pronóstico del TR y con ello, contribuir a la mejora en la evolución del mismo. No obstante, se necesita seguir realizando estudios que confirmen y caractericen cada marcador. Este trabajo sienta las bases para poder realizar un análisis que incluya un mayor tiempo de evolución del TR y además, el banco de muestras conseguido en este estudio, como parte de los objetivos, nos da la posibilidad de profundizar en tiempos intermedios.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

CONCLUSIÓN 1

En la primera semana tras el trasplante, aunque aparentemente hay mejoría de función renal por el descenso de la creatinina, existe daño tubular u otra patología a nivel renal evidenciada por la elevación de los biomarcadores urinarios NAG, NGAL y KIM-1.

CONCLUSIÓN 2

La NGAL es un marcador más sensible que la NAG y el KIM-1 puesto que en el día 1 post-trasplante ya se encuentra elevada respecto a sus valores normales.

CONCLUSIÓN 3

Valores no elevados del biomarcador NAG en el día 3 post-trasplante se relacionan con un tiempo de isquemia fría intermedia entre 120 y 900 minutos y posiblemente con los pacientes que reciben doble trasplante renal y páncreas.

CONCLUSIÓN 4

Valores elevados de NAG en la primera semana post-trasplante, predicen un mayor tiempo de espera para la estabilización de la función renal dentro de un periodo de 3 meses.

CONCLUSIÓN 5

Valores elevados de NGAL urinaria en el día 7 post-trasplante predicen de manera estadísticamente significativa la probabilidad de presentar NTA.

CONCLUSIÓN 6

Los valores urinarios de KIM-1 no parecen predecir en nuestro estudio de manera significativa ninguno de los eventos evaluados post-trasplante.

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

- 1.** Murray JE, Tilney NL, Wilson RE. Renal transplantation: a twenty-five year experience. *Ann Surg.* 1976 Nov;184(5):565-73.
- 2.** Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, Held PJ, Port FK. " 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 Dec 2. 341(23):1725-30.
- 3.** Vincenti F1, Kirk AD. " What's next in the pipeline " *Am J Transplant.* 2008 Oct.8(10): 1972-81.
- 4.** Hourmant M, Bedrossian J, Durand D, Lebranchu Y, Renoult E, Caudrelier P, Buffet R, Souillou JP. A randomized multicenter trial comparing leukocyte function-associated antigen-1 monoclonal antibody with rabbit antithymocyte globulin as induction treatment in first kidney transplantations". *Transplantation.* 1996 Dec 15.62(11):1565-70.
- 5.** Szczech LA, Feldman HI. "Effect of anti-lymphocyte antibody induction therapy on renal allograft survival". *Transplant Proc.* 1999 May. 31(3B Suppl):9S-11S.
- 6.** Brennan DC, Daller JA, Lake KD, Cibrik D, Del Castillo D. Thymoglobulin Induction Study Group. " Rabbit antithymocyte globulin versus Basiliximab in renal transplantation." *N Engl J Med.* 2006 Nov 9.355 (19):1967-77.
- 7.** Meier-Kriesche HU, Li S, Gruessner RW, Fung JJ, Bustami RT, Barr ML, Leichtman AB. Immunosuppression: evolution in practice and trends, 1994-2004. *Am J Transplant.* 2006. 6 (5 Pt 2):1111-31.
- 8.** Meier-Kriesche, HU, Steffen, BJ, Hochberg, AM, et al: Long-term use of mycophenolate mofetil is associated with a reduction in the incidence and risk of late rejection. *Am J Transplant* 2003. 3:68.

- 9.** Webster, AC, Woodroffe, RC, Taylor, RS, et al. TAC versus ciclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients: meta-analysis and meta-regression of randomised trial data. *BMJ* 2005. 331:810.
- 10.** Nashan, B, Moore, R, Amlot, P, et al. Randomised trial of Basiliximab versus placebo for control of acute cellular rejection in renal allograft recipients. *Lancet* 1997. 350:1193.
- 11.** Kahan, BD, Rajagopalan, PR, Hali, M, for the United States Simulect Renal Study Group. Reduction of the occurrence of acute cellular rejection among renal allograft recipients treated with Basiliximab, a chimeric anti-interleukin-2-receptor monoclonal antibody. *Transplantation* 1999. 67:276.
- 12.** Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gürkam A, Margreiter R, Hugo C, Griñó JM, Frei U, Vanrenterghem Y, Daloz P, Halloran P, for the ELITE Symphony Study. *New Eng J Med* 2007. 357 (25): 3562-75.
- 13.** Kahan, BD. The Rapamune US Study Group. Efficacy of SRL compared with azathioprine for reduction of acute renal allograft rejection: a randomised multicentre study. *Lancet* 2000. 356:194.
- 14.** Budde, K, Curtis, J, Knoll, G, et al. Enteric-coated mycophenolate sodium can be safely administered in maintenance renal transplant patients: results of a 1-year study. *Am J Transplant* 2004. 4:237.
- 15.** Nourbala MH, Ghadian A, Einollahi B, Azarabadi M Successful 4th kidney transplantation: a case report from Iran. *Iran J Kidney Dis.* 2013 May 21.7(3):237-9.
- 16.** González-Roncero F, Suñer M, Bernal G, Cabello V, Toro M, Pereira P, Angel Gentil M. Eculizumab treatment of acute antibody-mediated rejection in renal transplantation: case reports. *Transplant Proc.* 2012 Nov.44(9):2690-4.

- 17.** Olivia R. Blume, Sarah E. Yost, and Bruce Kaplan Antibody-Mediated Rejection: Pathogenesis, Prevention, Treatment, and Outcomes. *J Transplant*. 2012:2017-54.
- 18.** Halloran P. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med* 2004.351:2715-29.
- 19.** Inaba K, Granelli-Piperno A, Steinman RM. Dendritic cells induce T lymphocytes to release B cell-stimulating factors by an interleukin 2-dependent mechanism. *J Exp Med*. 1983 Dec 1.158(6):2040-57.
- 20.** M. D. Denton, C. C. Magee, and M. H. Sayegh, Immunosuppressive strategies in transplantation. *The Lancet*, 1999.vol. 353, no. 9158, 1083–1091.
- 21.** Stuart L Schreiber, Gerald R Crabtree. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunology Today* 1992, Volume 13, Issue 4, 136–142.
- 22.** Stuart L. Schreiber. Chemistry and Biology of the Immunophilins and Their Immunosuppressive Ligands *Science*. New Series, 1991, Jan. 18, Vol. 251, No. 4991 pp. 283-287.
- 23.** Morales JM, Andres A, Rengel M, Rodicio JL. Influence of cyclosporin, TAC and rapamycin on renal function and arterial hypertension after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2001.16 Supl 1:121-124.
- 24.** Sadaba, B. Monitorización y efectos secundarios de los inmunosupresores en el trasplante. *Anales Sis San Navarra* [online]. 2006, vol.29, suppl.2, pp. 207-218. ISSN 1137-6627.

- 25.** Astellas Pharma US, Inc., Deerfield, IL 60015, USA. First clinical experience with the new once-daily formulation of Tacrolimus. *Therapy Drug Monitoring*. 2008 Apr.30(2):159-66.
- 26.** *Expert Reviews in Molecular Medicine*, Cambridge University Press Volume 2000, págs 1-23.
- 27.** Sievers TM, Rossi SJ, Ghobrial RM, Arriola E, Nishimura P, Kawano M, Holt CD. Mycophenolate mofetil. *Pharmacotherapy*. 1997 Nov - Dec.17(6):1178-97.
- 28.** Staatz CE, Tett SE. Pharmacology and toxicology of mycophenolate in organ transplant recipients: an update. *Archives of Toxicology*. 2014 Jul.88(7):1351-89.
- 29.** Calvin J. Kuo, Jongkyeong Chung, David F. Fiorentino, W. Michael Flanagan, John Blenis & Gerald R. Crabtree. Rapamycin selectively inhibits interleukin-2 activation of p70 S6 kinase. *Nature*, 1992, 358, 70-73.
- 30.** Pallet N, Legendre C. Adverse events associated with mTOR inhibitors. *Expert Opin Drug Safety*. March 2013, Vol. 12, No. 2 , Pags. 177-186.
- 31.** Gabriel m. Danovitch, *Handbook of Kidney Transplantation*, 5ª edición. 2010, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.
- 32.** M Mohty. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond. *Leukemia* (2007) 21, 1387–1394.

- 33** . Marks WH, Ilsley JN, Dharnidharka VR Posttransplantation lymphoproliferative disorder in kidney and heart transplant recipients receiving thymoglobulin: a systematic review. *Transplant Proc.* 2011 Jun. 43(5):1395-404.
- 34**. Joseph F. Magliocca and Stuart J. Knechtle: The evolving role of Alemtuzumab (Campath-1H) for immunosuppressive therapy in organ transplantation. *Transpl International.* 2006 Sep.19(9):705-14.
- 35**. Evans R, Salama AD. Update on rituximab: an established treatment for all immune-mediated kidney diseases? *Nephron Clinical Practise.* 2014. 126(3):97-109.
- 36**. Michel D. Kazatchkine, M.D., and Srinivasa V. Kaveri, D.V.M., Ph.D. Immunomodulation of Autoimmune and Inflammatory Diseases with Intravenous Immune Globulin. *N Engl J Med* 2001. 345:747-755, September 6, 2001.
- 37**. N. Bakir, W. J. Sluiter, R. J. Ploeg, W. J. van Son and A. M. Tegzess Primary renal graft thrombosis. *Nephrol Dial Transplant* (1996) 11: 140-147.
- 38**. Baston C, Harza M, Preda A, Gener I, Manea I, Voinea S, Olaru V, Badescu B, Sinescu I. Comparative urologic complications of ureteroneocystostomy in kidney transplantation: transvesical Leadbetter-Politano versus extravesical Lich-Gregoir technique. *Transplant Proc.* 2014 Jan-Feb.46(1):176-9.
- 39** . Giuseppe Lucarelli, Vito Mancini, Vanessa Galleggiante, Monica Rutigliano, Antonio Vavallo, Michele Battaglia, and Pasquale Ditunno Emerging Urinary Markers of Renal Injury in Obstructive Nephropathy *BioMed Research International.* 2014, (Volume 2014), Article ID 303298.

40. Berli JU, Montgomery JR, Segev DL, Ratner LE, Maley WR, Cooper M, Melancon JK, Burdick J, Desai NM, Dagher NN, Lonze BE, Nazarian SM, Montgomery RA. Surgical management of early and late ureteral complications after renal transplantation: techniques and outcomes. *Clin Transplant*. 2015 Jan. 29(1):26-33.

41. Yarlagadda SG, Coca SG, Formica RN, Poggio ED, Parikh CR. Association between delayed graft function and allograft and patient survival: A systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2009. 24: 1039–1047.

42. Shoskes DA, Cecka JM. Deleterious effects of delayed graft function in cadaveric renal transplant recipients independent of acute rejection. *Transplantation* 1998. 66:1697.

43. Siedlecki A, Irish W, Brennan DC. Delayed graft function in the kidney transplant. *Am J Transplant*. 2011 (11):2279-96.

44. Peeters P, Terry W, Vanholder R, Lameire N. Delayed graft function in renal transplantation. *Curr Opin Crit Care*. 2004 Dec.10(6):489-98.

45. M. Cavaille-Coll, S. Bala, E. Velidedeoglu, A. Hernandez, P. Archdeacon, G. Gonzalez, C. Neuland, J. Meyer and R. Albrecht. Summary of FDA Workshop on Ischemia Reperfusion Injury in Kidney Transplantation. *American Journal of Transplantation* 2013. 13: 1134–1148.

46. Juan C. Ramírez-Sandoval, William Herrington y Luis E. Morales-Buenrostro. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in kidney transplantation: A review. *Transplantation Reviews*, 2015-07-01, Vol 29, Número 3, Págs. 139-144.

47. Opelz, G, Dohler, B. Influence of time of rejection on long-term graft survival in renal transplantation. *Transplantation* 2008. 85:661-6.

48. Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2009. 9(Suppl 3): S1–S157.

49. Lebranchu Y, Baan C, Biancone L, Legendre C, Morales JM, Naesens M, Thomusch O, Friend P. Pretransplant identification of acute rejection risk following kidney transplantation. *Transpl Int.* 2014 Feb.27(2):129-38.

50. Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. Sis B, Mengel M, Haas M, Colvin RB, Halloran PF, Racusen LC, Solez K, Baldwin WM 3rd, Bracamonte ER, Broecker V, Cosio F, Demetris AJ, Drachenberg C, Einecke G, Gloor J, Glotz D, Kraus E, Legendre C, Liapis H, Mannon RB, Nankivell BJ, Nickleit V, Papadimitriou JC, Randhawa P, Regele H, Renaudin K, Rodriguez ER, Seron D, Seshan S, Suthanthiran M, Wasowska BA, Zachary A, Zeevi A. *Am J Transplant.* 2010 Mar.10(3):464-71.

51. Gray D, Shepherd H, Daar A, Oliver DO, Morris PJ. Oral versus intravenous high-dose steroid treatment of renal allograft rejection. The big shot or not? *Lancet* 1978.1 (8056):117.

52. Gaber AO, First MR, Tesi RJ, Gaston RS, Mendez R, Mulloy LL, Light JA, Gaber LW, Squiers E, Taylor RJ, Neylan JF, Steiner RW, Knechtle S, Norman DJ, Shihab F, Basadonna G, Brennan DC, Hodge EE, Kahan BD, Kahan L, Steinberg S, Woodle ES, Chan L, Ham JM, Schroeder TJ. Results of the double-blind, randomized, multicenter, phase III clinical trial of Thymoglobulin versus Atgam in the treatment of acute graft rejection episodes after renal transplantation. *Transplantation.* 1998.66(1):29.

53. Juan Manuel Mosquera Reboredo, E. Vázquez Martul. Criterios diagnósticos de rechazo mediado por anticuerpos en el TR. *Nefrología*. 2011. 31:382-91.

54. Halloran PF, Wadgymer A, Ritchie S, Falk J, Solez K, Srinivasa NS. The significance of anti-class I antibody response. I. Clinical and pathologic features of anti-class I mediated rejection. *Transplantation* 1990.49:85-91.

55. Halloran PF, Schlaut J, Solez K, Srinivasa NS. The significance of anti-class I response. II. Clinical and pathologic features of renal transplant with anti-class I-like antibody. *Transplantation* 1992. 53:550-5.

56. Feucht HE, Schneeberger H, Hillebrand G, Burkhardt. K, Weiss M, Riethmuller G, et al. Capillary deposition of C4d complement fragment and early graft loss. *Kidney Int* 1993. 43:1333-8.

57. Robert B. Colvin. Antibody-Mediated Renal Allograft Rejection: Diagnosis and Pathogenesis. *J Am Soc Nephrol* 18: 1046–1056, 2007.

58. Trpkov K, Campbell P, Pardezcá F, Cockfield S, Solez K, Halloran PF. Pathologic features of acute renal allograft rejection associated with donor-specific antibody. *Transplantation* 1996. 61:1586-92.

59. Mauiyyedi S, Crespo M, Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, Saidman SL, et al. Acute humoral rejection in kidney transplantation: II. Morphology, immunopathology and pathology classification. *J Am Soc Nephrol* 2002. 13:779-87.

60. Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, Saidman SL, Williams WW, Tolkoff-Rubin N, et al. Complement activation in acute humoral renal allograft rejection. Diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* 1999. 10:2208-14.

61. M. Crespo, M. Pascual, N. Tolkoff-Rubin *et al.* Incidence and characteristics of acute humoral rejection (AHR) in renal allograft recipients. *Transplantation* 2001, 71, 652-8.

62. M. Haas, B. Sis, L. C. Racusen, K. Solez, D. Glotz, R. B. Colvin, M. C. R. Castro, D. S. R. David, E. David-Neto, S. M. Bagnasco, L. C. Cendales, L. D. Cornell, A. J. Demetris, C. B. Drachenberg, C. F. Farver, A. B. Farris III, I. W. Gibson, E. Kraus, H. Liapis, A. Loupy, V. Nickleit, P. Randhawa, E. R. Rodríguez, D. Rush, R. N. Smith, C. D. Tan, W. D. Wallace and M. Mengel as the Banff meeting report writing committee. Meeting Report Banff 2013 Meeting Report: Inclusion of C4d-Negative Antibody-Mediated Rejection and Antibody-Associated Arterial Lesions. *American Journal of Transplantation* 2014. 14: 272-283.

63. Crespo M, Oppenheimer F, Venetz JP, Pascual M. Treatment of humoral rejection in kidney transplantation. *Transplant Rev* 2006. 20:95-103.

64. Rocha PN, Butterly DW, Greenberg A, *et al.* Beneficial effect of plasmapheresis and intravenous immunoglobulin on renal allograft survival of patients with acute humoral rejection. *Transplantation* 2003. 75:1490-5.

65. Faguer S, Kamar N, Guilbeaud-Frugier C, *et al.* Rituximab therapy for acute humoral rejection after kidney transplantation. *Transplantation* 2007. 83:1277-80.

- 66.** Lefaucheur C, Nochy D, Andrade J, *et al.* Comparison of combination Plasmapheresis/IVIg/anti-CD20 versus high-dose IVIg in the treatment of antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2009. 9:1099-107.
- 67.** Everly MJ, Everly JJ, Susskind B, *et al.* Bortezomib provides effective therapy for antibody- and cell-mediated acute rejection. *Transplantation* 2008. 86:1754-61.
- 68.** Locke JE, Magro CM, Singer AL, *et al.* The use of antibody to complement protein C5 for salvage treatment of severe antibody-mediated rejection. *Am J Transplant* 2009. 9:231-5.
- 69.** Kaplan B, Gangemi A, Thielke J, Oberholzer J, Sankary H, Benedetti E. Successful rescue of refractory, severe antibody mediated rejection with splenectomy. *Transplantation*. 2007.83(1):99.
- 70.** Locke JE, Zachary AA, Haas M, Melancon JK, Warren DS, Simpkins CE, Segev DL, Montgomery RA. The utility of splenectomy as rescue treatment for severe acute antibody mediated rejection. *Am J Transplant*. 2007. 7(4):842.
- 71.** Naesens M, Kuypers DR, Sarwal M. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009 Feb. 4(2):481-508.
- 72.** Calne RY, White DJ, Pentlow BD, *et al.*: Cyclosporin A: preliminary observations in dogs with pancreatic duodenal allo- grafts and patients with cadaveric renal transplants. *Transplant Proc* 1979, 11:860.
- 73 .** Porter GA, Bennett WM: Chronic cyclosporine-associated nephrotoxicity. *Transplant Proc* 1986, 18 (Suppl 1):204.

- 74.** Burdmann EA, Andoh TF, Rosen S, Lindsley J, Munar MY, Elzinga LW, Bennett WM. Experimental nephrotoxicity, hepatotoxicity and pharmacokinetics of cyclosporin G versus cyclosporin A. *Kidney Int.* 1994 Mar. 45(3):684-91.
- 75.** Barry D. Kahan. Forty Years of Publication of Transplantation Proceedings—The Second Decade: The Cyclosporine Revolution. *Transplant Proc.* 2009 Jun.41(5):1423-37.
- 76.** Farreras-Rozman, *Medicina Interna*, 14ª edición. Madrid, 2000, Ediciones Harcourt, S.A. Volumen I, pág. 1004.
- 77.** Ns Jabary, D Martin, MF Muñoz, M Santos, J Herruzo, R Gordillo Y J Bustamante. Creatinina sérica y aclaramiento de creatinina para la valoración de la función renal en hipertensos. *Nefrología.* 2006. 26:64-73.
- 78.** Sisinio Castro del Pozo. *Manual de Patología General.* 5ª edición. Barcelona 1993. Ediciones Científicas y Técnicas, S.A Masson Salvat.
- 79.** W. Stephen Waring, Alasdair Moonie. Earlier recognition of nephrotoxicity using novel biomarkers of acute kidney injury. *Clinical Toxicology* (2011), 49: 720–728.
- 80.** Steven G. Coca and Chirag R. Parikh. Urinary Biomarkers for Acute Kidney Injury: Perspectives on Translation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008, 3: 481-490
- 81.** Emeigh Hart SG. Assessment of renal injury in vivo. *J.Pharmacol.Toxicol.* 2005. *Methods* 52:30–45.
- 82.** Ikenaga H, Suzuki H, IshiiN, Itoh H, Saruta T. Enzymuria in noninsulin-dependent diabetic patients: signs of tubular cell dysfunction. *Clin. Sci. (London)* 1993. 84:469–75.

- 83.** Westhuyzen J, Endre ZH, Reece G, Reith DM, Saltissi D, Morgan TJ. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Nephrology Dialysis and Transplantation* 2003, 18:543–51.
- 84.** Chew SL, Lins RL, Daelemans R, Nuyts GD, De Broe ME. Urinary enzymes in acute renal failure. *Nephrology Dialysis and Transplantation* 1993. 8:507–11.
- 85.** Bondiou MT, Bourbouze R, Bernard M, Percheron F, Perez-Gonzalez N, Cabezas JA. Inhibition of A and B N-acetyl-beta-D-glucosaminidase urinary isoenzymes by urea. *Clin. Chim Acta.* 1985. 149:67–73.
- 86.** Vaidya VS, Shankar K, Lock EA, Bucci TJ, Mehendale HM. Role of tissue repair in survival from s-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine-induced acute renal tubular necrosis in the mouse. *Toxicol. Sci* 2003. 74:215–27.
- 87.** Kwiatkowska E, Domański L, Bober J, Kłoda K, Safranow K, Szymańska-Pasternak J, Romanowski M, Sulecka A, Pawlik A, Ciechanowski K. N-acetyl-beta-glucosaminidase urine activity as a marker of early proximal tubule damage and a predictor of the long-term function of the transplanted kidneys. *Acta Biochim Pol.* 2014; 61(2):275-80.
- 88.** Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, Barasch J, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel early urinary biomarker for cisplatin nephrotoxicity. *American Journal of Nephrology.* 2004. 24(3):307–315.
- 89.** Vishal S. Vaidya, Michael A. Ferguson, and Joseph V. Bonventre. Biomarkers of Acute Kidney Injury. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2008. 48:463–93.

- 90.** Xu S, Venge. Lipocalins as biochemical markers of disease. *Biochim Biophys Acta* (2000) 482:298–307.
- 91.** Parikh CR, Jani A, Mishra J, Ma Q, Kelly C, Barasch J, Edelstein CL, Devarajan P: Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. *Am J Transplant* 2006, 6: 1639–1645.
- 92.** Mishra J, Ma Q, Kelly C, Mitsnefes M, Mori K, Barasch J, Devarajan P. Kidney NGAL is a novel early marker of acute injury following transplantation. *Pediatr Nephrol* (2006) 21:856–863.
- 93.** Mai T. Nguyen, Prasad Devarajan. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatr Nephrol* (2008) 23:2151–2157.
- 94.** Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL, Sanicola M. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *J Biol Chem.* 1998 Feb 13. 273(7):4135-42.
- 95.** Joseph V. Bonventre . Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrol Dial Transplant* (2009) 24: 3265–3268.
- 96.** Lianlian Song, Lijuan Xue, Jinyu Yu, Jun Zhao, Wenlan Zhang, Yaowen Fu. Kidney injury molecule-1 expression is closely associated with renal allograft damage. *Bosn J Basic Med Sci* 2013; 13 (3): 170-174.

97. Mirjan M. Van Timmeren, Vishal S. Vaidya, Rutger M. van Ree, Leendert H. Oterdoom, Aiko P. J. de Vries, Reinold O. B. Gans, Harry van Goor, Coen A. Stegeman, Joseph V. Bonventre, and Stephan J. L. Bakker. High Urinary Excretion of Kidney Injury Molecule-1 Is an Independent Predictor of Graft Loss in Renal Transplant Recipients. *Transplantation*. 2007 December 27; 84(12): 1625–1630.

98. Halawa A. The early diagnosis of acute renal graft dysfunction: a challenge we face. The role of novel biomarkers. *Ann Transplant*. 2011 Jan-Mar.16(1):90-98.

99. Wang G, Szeto CC. Quantification of gene expression in urinary sediment for the study of renal diseases. *Nephrology (Carlton)*. 2007 Oct.12(5):494-9.

100. Jaffé M. Über den Niederschlag, Welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaktion des Kreatinins. *Z Physiol Chem* 1886;10:391-400.

101. Richterich R, Colombo JP. *Klinische Chemie*. 4th ed. Basel: Karger S 1978:319-324.

102. Nada Alachkar, Hamid Rabb, Bernard G. Jaar. Urinary Biomarkers in Acute Kidney Transplant Dysfunction. *Nephron Clin Pract* 2011; 118:c173–c181.

103. Bonventre JV. Diagnosis of acute kidney injury: from classic parameters to new biomarkers. *Contrib Nephrol*. 2007;156:213-9.

104. Waikar SS, Bonventre JV. Biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury. *Nephron Clin Pract*. 2008; 109(4):c192-7.

105. Bonventre JV. Pathophysiology of AKI: injury and normal and abnormal repair. *Contrib Nephrol.* 2010; 165:9-17.

106. Schiffl H, Lang SM. Update on biomarkers of acute kidney injury: moving closer to clinical impact? *Mol Diagn Ther.* 2012 Aug 1;16(4):199-207.

107. Coca SG, Yalavarth R, Concato J, Parikh CR. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review. *Kidney Int.* 2008 May; 73(9):1008-16.

108. Parikh CR, Jani A, Melnikov VY, Faubel S, Edelstein CL. Urinary interleukin-18 is a marker of human acute tubular necrosis. *Am J Kidney Dis.* 2004 Mar; 43(3):405-14.

109. Nickolas TL, O'Rourke MJ, Yang J, Sise ME, Canetta PA, Barasch N, Buchen C, Khan F, Mori K, Giglio J, Devarajan P, Barasch J. Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury. *Ann Intern Med.* 2008 Jun 3; 148(11):810-9.

110. Singer E, Elger A, Elitok S, Kettritz R, Nickolas TL, Barasch J, Luft FC, Schmidt-Ott KM. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin distinguishes pre-renal from intrinsic renal failure and predicts outcomes. *Kidney Int.* 2011 Aug; 80(4):405-14.

111. Srisawat N, Wen X, Lee M, Kong L, Elder M, Carter M, Unruh M, Finkel K, Vijayan A, Ramkumar M, Paganini E, Singbartl K, Palevsky PM, Kellum JA. Urinary biomarkers and renal recovery in critically ill patients with renal support. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011 Aug; 6(8):1815-23.

112. Mehran R, Nikolsky E. Contrast-induced nephropathy: definition, epidemiology, and patients at risk. *Kidney Int Suppl.* 2006 Apr; (100):S11-5.

113. Ana María Cusumano. Enfermedad renal crónica: Necesidad de implementar programas para su detección precoz y prevención de su progresión. *Acta Científica Estudiantil* 2007; 5(4):139-146.

114. Roberto Alcázar Arroyo, L. Orte, E. González Parra, J.L. Górriz, JF Navarro, A.L Martín de Francisco, M^a I. Egocheaga, F. Álvarez Guisasola. Documento de consenso SEN-semFyc sobre la enfermedad renal crónica. *Nefrología.* 2008; 28:273-82.

115. Pascual M, Theruvath T, Kawai T *et al.* Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Eng J Med* 2002; 346: 580-590.

116. Salamzadeh J, Sahraee Z, Nafar M, Parvin M. Delayed graft function (DGF) after living donor kidney transplantation: A study of possible explanatory factors. *Ann Transplant,* 2012; 17(3): 69-76.

117. Kohei J, Ishida H, Tanabe K, Tsuchiya K, Nitta K. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a sensitive biomarker for the early diagnosis of acute rejection after living-donor kidney transplantation. *Int Urol Nephrol.* 2013 Aug; 45(4):1159-67.

118. Sushrut S. Waikar, Venkata S. Sabbiseti, and Joseph V. Bonventre. Normalization of urinary biomarkers to creatinine during changes in glomerular filtration rate. *Kidney Int.* 2010 September ; 78(5): 486–494.

119. Jernej Pajek, Andrej Škoberne, Klara Šosterič, Barbara Adlešič, Bojan Leskošek, Maja Bučar Pajek, Joško Osredkar and Jelka Lindič. Non-inferiority of creatinine excretion rate to urinary L-FABP and NGAL as predictors of early renal allograft function. *BMC Nephrology* 2014, 15:117.

120. Loertscher R, Scholer A, Brunner F, Harder F, Thiel G. Clinical relevance of N-acetylglucosaminidase determination in urine of kidney transplant recipients with and without cyclosporin A. *Schweiz Med Wochenschr.* 1982 Nov 13;112(46):1658-64.

121. Kotanko P, Margreiter R, Pfaller W. Reduced renal allograft survival is related to low urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase excretion during the first posttransplant month. *Transplantation.* 1996 Feb 15;61(3):388-92.

122. Zhang R, Li M, Chouhan KK, Simon EE, Hamm LL, Batuman V. Urine free light chains as a novel biomarker of acute kidney allograft injury. *Clin Transplant* 2013;27:953–60.

123. Field M, Lowe D, Cobbold M, Higgins R, Briggs D, Inston N, Ready AR. The use of NGAL and IP-10 in the prediction of early acute rejection in highly sensitized patients following HLA-incompatible renal transplantation. *Transplant Int.* 2014 Apr;27(4):362-70.

124. Anja Haase-Fielitz, Michael Haase, and Prasad Devarajan. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury: a critical evaluation of current status. *Ann Clin Biochem.* 2014 May; 51(03): 335–351.

125. Van den Akker EK, Hesselink DA, Manintveld OC, IJzermans JN, de Bruijn RW, Dor FJ. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin, but Not Kidney Injury Marker 1, Correlates with Duration of Delayed Graft Function. *Eur Surg Res.* 2015 Oct 10;55(4):319-327. (E-pub ahead of print).

126. Isaac E. Hall, Sri G. Yarlagadda, Steven G. Coca, Zhu Wang, Mona Doshi, Prasad Devarajan, Won K. Han, Richard J. Marcus, and Chirag R. Parikh. IL-18 and Urinary NGAL Predict Dialysis and Graft Recovery after Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2010. 21: 189–197.

127. Fonseca I, Oliveira JC, Almeida M, Cruz M, Malho A, Martins LS, Dias L, Pedroso S, Santos J, Lobato L, Castro Henriques A, Mendonça D. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in kidney transplantation is an early marker of graft dysfunction and is associated with one-year renal function. *J Transplant.* 2013; 2013:650123.

128. Thorsten Feldkamp, Anja Bienholz and Andreas Kribben. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) for the detection of acute kidney injury after orthotopic liver transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2011, 26: 1456–1458.

129. Schaub S, Mayr M, Hönger G, Bestland J, Steiger J, Regeniter A, Mihatsch MJ, Wilkins JA, Rush D, Nickerson P. Detection of subclinical tubular injury after renal transplantation: comparison of urine protein analysis with allograft histopathology. *Transplantation.* 2007 Jul 15;84(1):104-12.

130. Hollmen ME, Kyllönen LE, Inkinen KA, Lalla ML, Salmela KT. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a marker of graft recovery after kidney transplantation. *Kidney Int.* 2011 Jan;79(1):89-98.

- 131.** Jin ZK, Tian PX, Wang XZ, Xue WJ, Ding XM, Zheng J, Ding CG, Mao TC, Duan WL, Xi M. Kidney injury molecule-1 and osteopontin: new markers for prediction of early kidney transplant rejection. *Mol Immunol*. 2013 Jul; 54(3-4):457-64.
- 132.** J. Malyszko, E. Koc-Zorawska, J.S. Malyszko, and M. Mysliwiec. Kidney Injury Molecule-1 Correlates With Kidney Function in Renal Allograft Recipients. *Transplantation Proceedings*. 2010 Dec; 42(10):3957-9.
- 133.** Lianlian Song, Lijuan Xue, Jinyu Yu, Jun Zhao, Wenlan Zhang, Yaowen Fu. Kidney injury molecule-1 expression is closely associated with renal allograft damage. *Bosn J Basic Med Sci* 2013; 13 (3): 170-174.
- 134.** Bernd Schröppel, Bernd Krüger, Liron Walsh, Melissa Yeung, Shay Harris, Krista Garrison, Jonathan Himmelfarb, Susan M. Lerner, Jonathan S. Bromberg, Ping L. Zhang, Joseph V. Bonventre, Zhu Wang, Alton B. Farris, Robert B. Colvin, Barbara T. Murphy, and John P. Vella. Tubular Expression of KIM-1 Does not Predict Delayed Function After Transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2010, 21: 536–542.
- 135.** W. N. Nijboer, T. A. Schuurs, J. Damman, H. van Goor, V. S. Vaidya, J. J. Homan van der Heide, H. G. D. Leuvenink, J. V. Bonventre, and R. J. Ploeg. Kidney Injury Molecule-1 is an Early Noninvasive Indicator for Donor Brain Death-Induced Injury Prior to Kidney Transplantation. *Am J Transplant*. 2009 August ; 9(8): 1752–1759.
- 136.** De Borst MH, Van Timmeren MM, Vaidya VS, et al. Induction of kidney injury molecule-1 in homozygous Ren2 rats is attenuated by blockade of the renin-angiotensin system or p38 MAP kinase. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;292:F313.

137. Kramer AB, Van Timmeren MM, Schuurs TA, et al. *De novo* induction of Kidney Injury Molecule-1 (Kim-1) in proteinuria-induced tubular injury is attenuated by RAS blockade. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:430A.

138. A.L. Nogare, G. Joelsons, J.A.R. Pedroso, F.J.V. Veronese, L.F. Gonçalves, and R.C. Manfro. Quantitative Analyses of Kidney Injury Molecule-1 Messenger RNA in Kidney Transplant Recipients With Graft Dysfunction. *Transplantation Proceedings* 2010. 42, 473–474.