

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina



**TRATAMIENTO DE INDUCCIÓN CON TIMOGLOBULINA  
EN EL TRASPLANTE RENAL, EVOLUCIÓN A 10 AÑOS**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Margarita Delgado Córdova**

BAJO LA DIRECCIÓN DE LOS DOCTORES:

**Alberto Barrientos Guzmán**

**Ana Sánchez Fructuoso**

Madrid, 2013

©Margarita Delgado Córdova, 2013



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE  
MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO CIENCIAS BIOMEDICAS

**Tesis Doctoral**

**TRATAMIENTO DE INDUCCIÓN CON TIMOGLOBULINA  
EN EL TRASPLANTE RENAL  
EVOLUCIÓN A 10 AÑOS**

Margarita Delgado Córdova.

MADRID Octubre de 2012.

DEPARTAMENTO DE MEDICINA  
FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

TESIS DOCTORAL:

**TRATAMIENTO DE INDUCCIÓN CON  
TIMOGLOBULINA EN EL TRASPLANTE  
RENAL, EVOLUCIÓN A 10 AÑOS**

**Autores:**

Margarita Delgado Córdova  
Licenciada en Medicina.

**Directores de la tesis doctoral:**

- Alberto Barrientos Guzmán.  
Doctor en Medicina
- Ana Sánchez Fructuoso  
Doctora en Medicina.

MADRID 2012

## AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Barrientos Guzmán, jefe de servicio de Nefrología del Hospital Clínico San Carlos, por la dirección de la tesis doctoral y el apoyo demostrado.

A la Prof.<sup>a</sup> Ana Sánchez Fructuoso por la dirección de la tesis y datos aportados.

A los médicos del servicio de Nefrología del Hospital Clínico San Carlos por la recopilación en hojas ordenadas de las analíticas anuales durante esos años.

<b>1- INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>6</b>
1.1- Antecedentes históricos y evolución de la terapia inmunosupresora.....	6
1.3- Anticuerpos policlonales: síntesis, mecanismo de acción, antígenos diana, y efectos secundarios. ....	24
1.4- Indicaciones de utilización. ....	30
1.5- Inmunidad celular. Estudio de las subpoblaciones linfocitarias. ....	31
1.6- Resultados en el trasplante renal. ....	51
<b>2- HIPÓTESIS.....</b>	<b>57</b>
<b>3- OBJETIVOS.....</b>	<b>59</b>
<b>4- MATERIAL Y METODOS.....</b>	<b>62</b>
4.1- Diseño del estudio. ....	62
4.2- Población de estudio. ....	62
4.3- Ámbito de estudio. ....	64
4.4- Variables, codificación y tabulación. ....	64
4.5- Análisis estadístico.....	66
<b>5- RESULTADOS.....</b>	<b>68</b>
5.1- Características generales de los grupos. ....	68
5.2- Estudio de las subpoblaciones linfocitarias. ....	74
5.3- Dosificación de Timoglobulina y recuento de linfocitos CD4<300/mm <sup>3</sup> .....	85
5.4- Incidencia de infecciones severas. ....	88
5.5- Incidencia de enfermedad por CMV. ....	89
5.6- Incidencia de cáncer.....	90
5.9- Supervivencia del injerto a 10 años.....	92
5.10- Causas de mortalidad y supervivencia acumulada del paciente. ....	97
<b>6- DISCUSIÓN.....</b>	<b>102</b>
<b>7- CONCLUSIONES.....</b>	<b>151</b>
<b>7- ANEXO.....</b>	<b>153</b>
<b>8-BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>164</b>

# INTRODUCCION

## **1- INTRODUCCIÓN**

### **1.1- Antecedentes históricos y evolución de la terapia inmunosupresora.**

El trasplante renal constituye uno de los mayores avances de la medicina en los últimos 50 años. Se considera el mejor tratamiento de la insuficiencia renal crónica en cuanto a calidad de vida y supervivencia, con menores complicaciones y coste frente a la diálisis a medio y largo plazo.

A comienzos del siglo XX ya se comenzaba a tener nociones sobre la posibilidad de realizar trasplante de órganos, así se iniciaron los primeros trasplantes. Los cirujanos que destacaron en este momento por sus publicaciones sobre trasplantes en animales fueron el vienés Ullmann y el francés Carrel.<sup>1</sup> En Europa el primer trasplante renal en humanos, lo realizó el francés Jaboulay en el año 1906, sin lograr éxito. Inicialmente se pensó que el fallo era debido a un problema de las suturas vasculares, por la trombosis que se observaba a nivel histológico, más tarde se llegó a la conclusión de que el fracaso se debía a una intolerancia del injerto por parte del receptor, como consecuencia de una reacción inmunitaria.<sup>2</sup> En el año 1952 el grupo francés de Hamburger comunicó la supervivencia de casi 1 mes en un trasplante de madre a hijo, sin embargo hasta 1954 no se practicaría el primer trasplante con éxito, tuvo lugar en Boston, y se trataba de un trasplante entre gemelos univitelinos.<sup>3</sup> A partir de este momento ya se comenzó a tener conciencia de la necesidad de inhibir las defensas del organismo para evitar el rechazo agudo del injerto. En los años sucesivos se produjeron importantes progresos, en inmunología con el desarrollo de pruebas de histocompatibilidad, y en farmacología con el desarrollo de nuevas drogas inmunosupresoras.

El tratamiento inmunosupresor ha ido evolucionando a lo largo de los años, históricamente en los años 50 se utilizaba la irradiación corporal total con bomba de cobalto, seguida de trasplante de medula ósea, para la síntesis de nuevas líneas celulares que reconocieran el injerto como propio, el primer caso se realizó en el año 1958 pero la paciente falleció por aplasia, otras técnicas fueron la esplenectomía, timectomía e incluso el drenaje del conducto torácico. Los primeros trasplantes con éxito con donantes emparentados no gemelos se realizaron con éxito en 1960, como tratamiento

inmunosupresor recibieron irradiación a bajas dosis, corticoides y 6- mercaptopurina, poco tiempo después las drogas inmunosupresoras acabaron sustituyendo completamente a la irradiación total. La azatioprina (derivado imidazólico de la mercaptopurina) fue el primer inmunosupresor utilizado a partir de 1960, combinado con corticoides. En este mismo año Jean Dausset, ganó el premio Nobel por descubrir el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) en el ratón. Con el conocimiento del sistema HLA humano y los estudios de Terasaki se estableció en los años siguientes la compatibilidad de grupo sanguíneo entre donante y receptor, el estudio de los antígenos de histocompatibilidad del sistema HLA y la prueba cruzada para detección de los anticuerpos preformados en el receptor.

En 1962 en Boston se llevó a cabo el primer trasplante renal utilizando sólo fármacos inmunosupresores, siendo ya efectivo a largo plazo. En España fue Gil Vernet en el Hospital Clinic de Barcelona el pionero en 1965, seguidos de Alférez y Hernando Avendaño en la clínica de la Concepción de Madrid.

El periodo de inmunosupresión convencional (azatioprina más corticoides) desde 1962 a 1983 destacó por altas tasas de rechazo agudo precisando pulsos recurrentes de esteroides. En el año 1970 tuvo lugar el descubrimiento del hongo *Tolyposcladium Inflatum* del que se sintetizaría la ciclosporina, fue un hallazgo casual, como tantos en medicina, investigando sobre nuevos antibióticos.<sup>4</sup> El inicio del tratamiento con este nuevo inmunosupresor fue lento, no siendo publicada la primera serie hasta el año 1978. A partir de 1982 entró a formar parte de algunos de los protocolos de inmunosupresión en el trasplante renal. El tratamiento estándar consistía en doble terapia: esteroides y ciclosporina, o en algunos casos combinada con azatioprina utilizada como un agente coadyuvante, denominada triple terapia. El problema de la ciclosporina era su efecto nefrotóxico agudo reversible y más grave el efecto crónico que podría contribuir al fallo de los injertos. La triple terapia permitía disminuir la dosis de ciclosporina, aumentando la dosis de azatioprina en la fase de mantenimiento. El grupo de Sommer publicó en el año 1983 la supervivencia mayor del injerto con el tratamiento secuencial: globulina antilinfocitaria los primeros 10 días y posterior introducción de la ciclosporina.<sup>5</sup> Los fármacos más utilizados en los años 80 fueron la ciclosporina y los anticuerpos monoclonales murinos (OKT3). A partir del año 1995 se fueron introduciendo nuevos

inmunosupresores como el micofenolato mofetil y el tacrolimus y desde el año 1998 se fue extendiendo el uso de los monoclonales anti-IL-2 (basiliximab y daclizumab).

La primera descripción de las globulinas antilinfocitarias data de 1899 por Metchnikoff, quien estudiando la función de los macrófagos en la digestión de las células preparó un suero antiratón de Guinea que originó la aglutinación de los leucocitos de ratón y posteriormente otro suero derivado de conejos con el que se reducían los leucocitos circulantes en plasma del conejo.<sup>6</sup> Chew y Lawrence fueron los primeros en ensayarlo in vivo observando como la inyección del suero derivado de conejo a ratón de guinea provocaba un descenso de los linfocitos circulantes en dicho ratón.<sup>7</sup> En 1963 se sugirió que aquellos sueros eran potentes inmunosupresores y su aplicación al trasplante, iniciándose múltiples ensayos clínicos en ratas y otros animales.<sup>8</sup> Los problemas iniciales de toxicidad se subsanaron, con la separación de la fracción Ig G de las inmunoglobulinas. A partir de la experiencia adquirida en el trasplante renal en perros, Starzl del grupo de Denver, fue el primero en utilizar la globulina antitimocítica derivada de caballo en el trasplante renal de humanos.<sup>9</sup> En 1985 se realizó el primer ensayo clínico randomizado confirmando la menor tasa de rechazos agudos con estas inmunoglobulinas. Los resultados iniciales eran contradictorios y difíciles de reproducir porque cada lote de anticuerpos se producía por inmunización de distintos animales, con linfocitos de lugares anatómicos diferentes.<sup>10</sup> Con la aparición de la ciclosporina, inmunosupresor muy potente pero nefrotóxico, se comenzó el tratamiento con globulina antitimocítica durante los primeros días para introducir posteriormente la ciclosporina, obteniéndose mejor supervivencia del injerto al año. Hardy fue el primero en utilizarla en el tratamiento del rechazo agudo resistente a esteroides obteniendo buenos resultados.<sup>11</sup>

En los años 90 se fueron introduciendo otros múltiples inmunosupresores con los que la tasa de rechazos agudos ha disminuido progresivamente. Sin embargo a pesar de la mejoría en los resultados del trasplante renal por menores rechazos a corto plazo, la nefropatía crónica del injerto y la muerte con injerto funcionante de causa cardiovascular, tumoral e infecciosa, limitan la supervivencia a largo plazo.

### **Agentes inmunosupresores:**

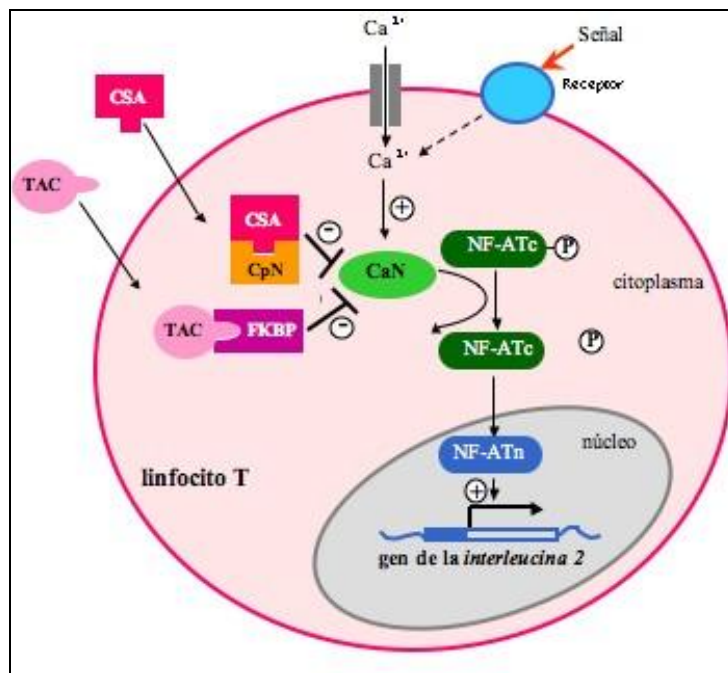
El desarrollo de regímenes inmunosupresores exitosos se ha basado en el conocimiento de los mecanismos inmunes que llevan al rechazo del injerto. Los linfocitos T intervienen en los eventos inmunes tempranos que se desencadenan tras la intervención. Además las células T regulan la actividad de la célula B conduciendo a una combinación de acontecimientos celulares y humorales que llevan al rechazo agudo y/o crónico a lo largo del tiempo. Los distintos fármacos inmunosupresores actúan a través de diferentes vías.

#### **1- Corticoides.**

Su acción inmunosupresora está relacionada con la supresión de la inmunidad celular mediada por linfocitos T, al bloquear la síntesis de IL-2 y la activación celular antígeno dependiente. Es un fármaco que atraviesa la membrana celular y se une a su receptor en el citoplasma. El complejo se une a la proteína HSP90 que le sirve de transporte, e induce la disociación de NF-KB (factor de transcripción) de los lugares KB de los genes diana y favorece su desplazamiento, con la unión a la subunidad p65 de NF-KB se bloquea el efecto sobre los genes de citocinas inflamatorias. Sobre las células presentadoras de antígeno (APC) actúan inhibiendo la síntesis de IL-1 e IL-6, lo cual conduce al bloqueo de la diferenciación y proliferación de los linfocitos T. En altas dosis los efectos son casi inmediatos, ya que su acción no depende de la transcripción genómica sino que su acción parece derivarse de la alteración de las propiedades fisicoquímicas de las membranas celulares. Son bien conocidos sus numerosos efectos adversos (hiperlipemia, Diabetes, obesidad, osteoporosis, miopatía, hipertensión arterial, etc) lo que ha conducido a intentar eliminarlos progresivamente. En pacientes de bajo riesgo inmunológico existen estrategias que permiten la retirada de esteroides. Sin embargo un reciente meta-análisis de Pascual y colaboradores en pacientes en tratamiento con triple terapia (tacrolimus, micofenolato y esteroides) la eliminación de los últimos conllevaba un aumento del riesgo de rechazo agudo.<sup>12</sup>

## 2- Inhibidores de la calcineurina.

**-Ciclosporina:** actúa como profármaco y se activa al unirse a un receptor intracelular llamado inmunofilina (ciclophilin), después se une a la calcineurina e inhibe su actividad fosfatasa, esto conduce a la inhibición de las señales calcio dependientes que intervienen en la activación del linfocito T. Inhibe la defosforilación de factor de transcripción AT, y su traslocación al núcleo para iniciar la transcripción de citocinas como la IL-2, bloquea la traslocación de NF-KB al núcleo como se representa en la figura 1. De esta forma inhibe la proliferación del linfocito T al nivel de la fase de proliferación celular G0 a G1. Aumenta también la expresión del TGF- $\beta$ , que a su vez, inhibe la proliferación de los linfocitos T estimulados con IL-2.



**Figura 1. Mecanismo de acción de Ciclosporina y Tacrolimus.** (Figura de Expert Reviews in Molecular Medicine, 2000, Cambridge University Press).

Asimismo, el TGF- $\beta$ 1 (factor de crecimiento fibroblástico), la angiotensina II, la inhibición de la glicoproteína-P e inducción de apoptosis en las células epiteliales tubulares renales parecen participar en la fibrosis del intersticio renal asociada al tratamiento con ciclosporina.<sup>13</sup>

La formulación clásica presentaba poca solubilidad en agua y requería la presencia de bilis para su absorción intestinal, la forma actual en microemulsión facilita la dispersión de las moléculas lipofílicas en el intestino, mejorando la absorción independientemente de la presencia de alimentos o bilis. Los niveles en sangre máximos se obtienen a las 3 horas de la administración, la distribución se produce rápido por los tejidos vascularizados y se acumula en tejido adiposo, la metabolización tiene lugar en el hígado a través de citocromo p-450 IIIA, con lo que los fármacos que se metabolizan a dicho nivel pueden variar los niveles sanguíneos. Aunque inicialmente también se ha monitorizado la ciclosporina con una muestra pre-dosis, se ha observado que monitorizar la concentración dos horas tras la administración reduce la toxicidad del fármaco y el riesgo de infradosificar a los pacientes. Esta concentración muestra mejor correlación con la actividad inhibidora de la calcineurina que el valor pre-dosis<sup>14</sup>, ya que es en este momento cuando la inhibición de la actividad fosfatasa de la calcineurina es máxima. Las dosis empleadas varían según el tipo de trasplante y protocolo del centro en principio se utilizan dosis 5-8 mg/kg/día oral repartidos en 2 tomas. Los niveles de Ciclosporina en sangre recomendados varían según el tiempo de evolución del trasplante, una pauta orientativa es: entre 200 y 300 ng/dl en los primeros 3 meses, de 200-250 ng/dl de los 3 a 6 meses y de 100-200 ng/dl hasta el 1º año.<sup>15</sup>

**-Tacrolimus**, es un antibiótico macrólido que procede del hongo *Streptomyces tsukabaensis*. Su mayor receptor intracelular o inmunofilina es la FKBP. Estructuralmente tiene dos dominios, uno de unión a su receptor y otro efector que interactúa con la calcineurina. Su forma de actuar es inhibiendo la calcineurina, lo que produce a su vez un bloqueo de la defosforilación de NF-AT y su traslocación al núcleo y el bloqueo del factor de transcripción jun. Bloquea la traslocación al núcleo de factor nuclear NF-KB de las células T activadas. Por otra parte inhibe factores de transcripción que intervienen en la apoptosis del linfocito T activado. Disminuye la actividad del AMPc dependiente de la protein quinasa A y del AMPc sensible a proteínas de la unión CRBE. También se une a la proteína de estrés HSP56 con el consiguiente aumento de la afinidad de los receptores por los corticoides.<sup>13</sup>

La absorción del fármaco se interfiere con los alimentos, por lo que debe tomarse con el estómago vacío 1 hora antes de comer la concentración máxima se alcanza en 2 horas. La dosis inicial es de 0,1-0,2 mg/kg de peso los niveles sanguíneos predosis deben ser de 8- 12ng/ml en el periodo de inducción y entre 4-8 en el de mantenimiento. El sistema citocromo P450 interviene en su metabolización y se elimina por la bilis. Por inducción o inhibición de las enzimas hepáticas (P450) se producen importantes interacciones farmacocinéticas que modifican el aclaramiento de estos fármacos. Suponen fluctuaciones de las concentraciones que pueden llevar a valores infraterapéuticos, cuando se administran con fármacos capaces de inducir a las enzimas hepáticas, o a valores tóxicos, cuando la medicación concomitante es capaz de inhibirlas.<sup>13</sup> En cuanto a las diferencias frente a ciclosporina, tacrolimus no interacciona con el receptor del factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) de tipo 2 de acción antiproliferativa e inmunosupresora lo que le da mayor eficacia protectora frente al rechazo crónico del injerto. El meta-análisis de Webster obtiene como conclusiones en una muestra de 4102 pacientes procedentes de 30 ensayos, la reducción de la pérdida del injerto significativa a los 6 meses en los tratados con tacrolimus frente a los que recibieron ciclosporina, reducción que se mantuvo 3 años. Así mismo encontraron una menor tasa de rechazo agudo en los pacientes con tacrolimus después de un año y con menos incidencia de rechazo resistente a los esteroides (RR 0,49; IC del 95%: 0,37 a 0,64), aunque más Diabetes Mellitus insulino dependiente (RR 1,86; 1,11 a 3,09). Los receptores tratados con ciclosporina presentaron significativamente más efectos secundarios estéticos (hipertriosis, hiperplasia gingival). No se demostraron diferencias en la tasa de infección o de neoplasia maligna por lo que concluyeron que el tacrolimus es superior a la ciclosporina para mejorar la supervivencia del trasplante y prevenir el rechazo agudo.<sup>16</sup> Dos series grandes de pacientes de autores como Nanvikell y Moreso demostraron menor incidencia de rechazo agudo subclínico por biopsias de protocolo en trasplantados renales tratados con tacrolimus frente a ciclosporina, de lo que se asume la mayor potencia inmunosupresora del tacrolimus.<sup>17,18</sup> Ambos inhibidores de la calcineurina son capaces de inducir nefrotoxicidad y cambios fibróticos a largo plazo aunque algunos estudios comparativos de tacrolimus frente a ciclosporina han observado una mejor función renal a largo plazo con tacrolimus. Destaca otro estudio de Nankivell en el que midiendo el flujo plasmático, se vió una reducción de este durante el tratamiento con la ciclosporina y no con el tacrolimus.<sup>19</sup> Es bien conocido el efecto deletéreo principalmente a través de la vasoconstricción de la arteriola aferente, aunque

se ha descrito también un efecto vasoconstrictor sobre la arteriola eferente, pudiendo prolongar la necrosis tubular aguda en el postrasplante inmediato sobretodo en el caso de los donantes subóptimos (tiempo de isquemia frío prolongado, asistolia, donantes con fracaso renal agudo) por lo que es una buena medida retrasar la introducción de los anticalcineurínicos mediante el empleo de la terapia de inducción.

### **3- Antimetabolitos: Azatioprina y Micofenolato.**

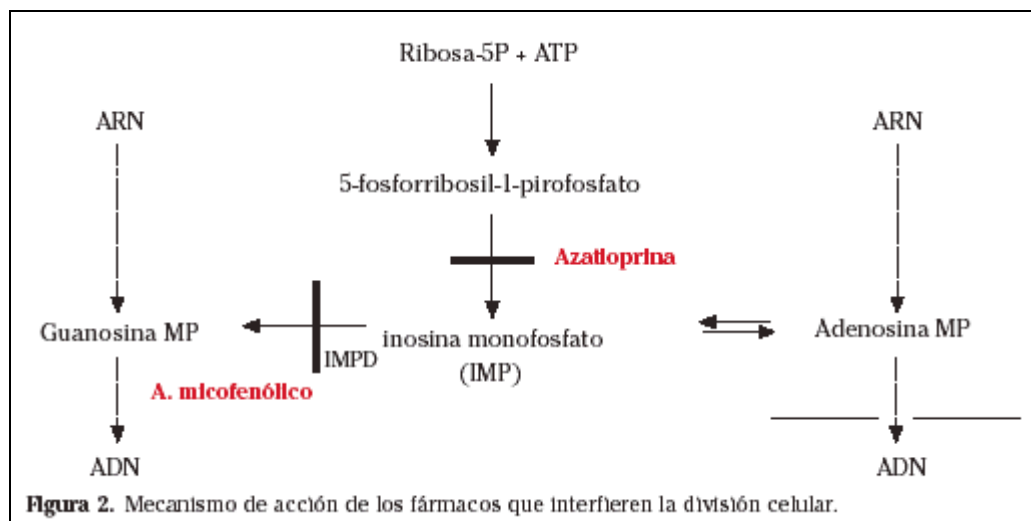
Inhiben la síntesis de purinas y así inhiben la proliferación de linfocitos T sin influir en la activación temprana de estas células.

#### **Azatioprina**

Es un derivado imidazolico de la 6 mercaptopurina, su uso ha disminuido con los derivados del acido micofenólico. La dosis es de 1,5-2 mg/kg al día, vía oral; se metaboliza en el hígado y como efectos secundarios puede ocasionar anemia, neutropenia y trombopenia, en pocos casos origina colestasis intrahepatica al poco de iniciar el tratamiento.

#### **Micofenolato mofetilo**

Es un derivado etil ester del acido micofenólico. El éster es hidrolizado liberándose el acido micofenolico que es el principio activo. Es un inhibidor no competitivo y reversible de la enzima inosín monofosfato deshidrogenasa. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de la síntesis de purinas, interfiriendo en la replicación del ADN. Tiene actividad antilinfoproliferativa de linfocitos T y linfocitos B, por lo que inhibe también la síntesis de anticuerpos. Por otra parte bloquea la síntesis de VLA-4, disminuyendo la capacidad de fijación de los linfocitos al endotelio vascular.



**Tabla 1: Mecanismo de acción del Micofenolato mofetilo.**

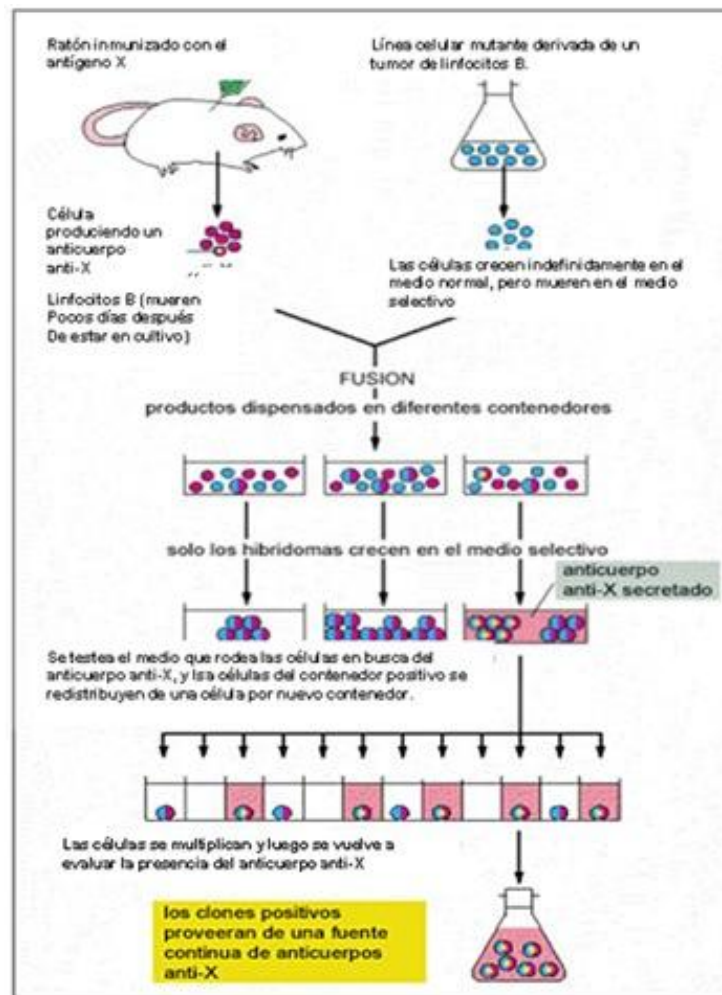
Hay varios estudios que demuestran menor incidencia de rechazo agudo con el micofenolato mofetil en comparación con la azatioprina. Para aumentar su biodisponibilidad el micofenolato mofetil se administra en dos formas galénicas diferentes, como éster, micofenolato de mofetilo (MMF), o como sal sódica (MPS). Ambos preparados liberan en el organismo ácido micofenólico, el principio activo que sufre un efecto de primer paso a nivel hepático. La dosis del micofenolato varía de 500-1000 mg cada 12 horas y se administra 1 hora antes de las comidas. Se metaboliza a un derivado glucuronizado, su metabolito principal, que es inactivo. Los efectos secundarios son de tipo gastrointestinal: diarrea, náuseas, que mejoran disminuyendo la dosis y alteraciones hematológicas leves.

#### 4-Anticuerpos monoclonales:

Los primeros sintetizados eran de origen murino, estos se obtienen inyectando un antígeno determinado a un animal al que se le extraen los linfocitos B y al cabo de dos semanas se fusionan con linfocitos B de una línea celular mielomatosa, lo que permite desarrollar de forma ilimitada una clona de células productoras de un anticuerpo

específico. Las células obtenidas pueden crecer y formar anticuerpos en el medio de cultivo. Con esta técnica se pueden obtener anticuerpos para cualquier antígeno, pero dichos anticuerpos murinos son proteínas extrañas contra las que se forman anticuerpos que acortan su vida media, bloquean su efecto y originan reacciones de hipersensibilidad.<sup>20</sup> Por este motivo se desarrollaron anticuerpos que combinaban características de los murinos y de los humanos.

Se han sintetizado anticuerpos con la estructura completa de una inmunoglobulina humana a la que se le injerta la parte del anticuerpo del ratón más pequeña necesaria para reconocer la molécula diana (CDR o regiones determinantes de complementariedad del dominio de la región variable de la inmunoglobulina). Estos se denominan anticuerpos humanizados y de ellos sólo es de origen murino el 10%. La principal ventaja frente a los policlonales es que no contiene anticuerpos antiplaquetarios ni antieritrocitarios y su homogeneidad que evita posibles variaciones entre distintos lotes. Los efectos secundarios tras la primera dosis se deben a la liberación de citocinas y consisten en fiebre, escalofríos, vómitos, cefalea y artromialgias. Esto se previene administrando corticoides, antihistamínicos y paracetamol.



**Figura 2: Cómo se generan los anticuerpos monoclonales. David Talens. Biogenmol.**

Las principales ventajas de los anticuerpos monoclonales frente a los policlonales son, por una parte, la pureza del producto, puesto que no contienen anticuerpos antiplaqueta o eritrocito y, por otra, su homogeneidad, que evita posibles variaciones entre lotes.<sup>15</sup>

Tipos de anticuerpos monoclonales:

Anti-CD3: (OKT-3) Son de origen murino y van dirigidos frente a las moléculas CD 3 de los linfocitos T, es una inmunoglobulina que se une a una subunidad del CD3

produciendo su desactivación y posterior endocitosis del receptor de los linfocitos T, inactivándole. Actúa bloqueando el reconocimiento antigénico e inhibiendo la función de las células T.

Anti-IL2: se dirigen contra la cadena  $\alpha$  de IL-2 (receptor de IL-2). La molécula CD25 forma parte del receptor de la IL-2 en la pared de los linfocitos. Este receptor se expresa como respuesta a la propia IL-2, una vez que se ha desencadenado la respuesta inmune, encargándose de la expansión clonal de linfocitos T activados. Actúan al unirse a la subunidad CD25, bloqueando la unión de la IL-2 a su receptor y, por tanto, deteniendo la respuesta proliferativa de los linfocitos. Varios estudios han objetivado menor incidencia de infecciones oportunistas y linfomas en los que reciben anti IL- 2 frente a los que reciben OKT3 y anticuerpos policlonales. Existen dos:

-Basiliximab (Simulet) tiene alta afinidad por al cadena  $\alpha$  de IL-2 y actúa frente al linfocito T activado. Se administra en dos dosis de 20 mg (día 0 pre trasplante y día 4) es bien tolerado y eficaz para reducir la incidencia de rechazo agudo

- Daclizumab (Zenapax) es un anticuerpo humanizado de naturaleza IgG1 que se une específicamente a la cadena de IL-2 y bloquea la unión de IL-2 al receptor antireceptor de interleukina-2. La administración de 1mg/kg el día 0 pretrasplante y después cada 2 semanas hasta un total de 5 dosis.

Anticuerpos monoclonales antimoléculas de adhesión: las moléculas de adhesión facilitan la unión entre el linfocito T y la célula presentadora de antígeno por otra parte el linfocito T libera citocinas que favorecen la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales del injerto. El bloqueo de las moléculas de adhesión por anticuerpos evita estos efectos.

### **5- Anticuerpos policlonales:**

Entre los anticuerpos policlonales disponibles, los obtenidos por sensibilización de conejo: Timoglobulina y ATG (Fresenius), han demostrado mayor eficacia que los que proceden del caballo: ATGAM y Linfoglobulina en distintos estudios. A partir del estudio comparativo de Brennan entre Timoglobulina y ATGAM en el 1999 la Timoglobulina ha sido el anticuerpo policlonal preferido.<sup>21</sup> Es la que ha demostrado en diferentes ensayos clínicos ser más efectiva en la prevención y en el tratamiento del rechazo agudo. Sin embargo en los últimos años se han publicado algunos estudios atribuyendo al tratamiento con globulinas antilinfocitarias mayor incidencia de infecciones severas, tumores e incluso menor supervivencia del paciente. El mecanismo de acción y consecuencias de su utilización se desarrolla en el siguiente capítulo 1.3.

### **6- Inhibidores de m-Tor o antiproliferativos.**

Son fármacos que se comportan como antagonistas de la progresión del ciclo de la célula, influyendo tanto en la proliferación tanto de linfocitos como de células mesenquimales. La rapamicina o Sirolimus y el everólimus (Certican) son inhibidores m-Tor: macrólido similar al tacrólimus. También se une a una inmunofilina citoplasmática para ejercer su acción. En el ciclo celular, la rapamicina bloquea el paso de G1 a S. La larga semivida de eliminación de estos fármacos permite una única administración diaria, en el caso de sirolimus incluso se ha planteado la necesidad de dar una dosis de choque. La diferencia fundamental entre ambos fármacos es su vida media que permite, para sirolimus una administración al día y para everólimus, una toma cada 12 horas. La monitorización permite ajustar la dosis. Se realiza mediante la determinación de la concentración predosis en sangre total. El rango terapéutico de sirolimus se sitúa en 4-12 ng/mL si se administra de forma concomitante con ciclosporina, 12-20 ng/mL si se utiliza en monoterapia.<sup>11</sup> Pueden producir alteraciones gastrointestinales, en forma de diarrea, y con menor frecuencia hepatotoxicidad, ototoxicidad, pancreatitis o reacciones psicóticas. Son efectos dosis dependientes, observados sobre todo con las dosis más altas. Su eliminación depende del citocromo P450, pudiendo verse implicados en diferentes interacciones con fármacos inhibidores o

inductores de esta isoenzima, al igual que los inhibidores de la calcineurina. Una de las mayores ventajas de los inhibidores mTor es que se trata de fármacos no nefrotóxicos a las dosis habituales. Los efectos secundarios posibles son los trastornos de la cicatrización que se traducen en un mayor índice de complicaciones quirúrgicas como linfocele, problemas de herida quirúrgica y fístulas urinarias, otros son la posible aparición de cefalea, artralgias, hiperlipemia, acné, proteinuria, y neumonitis.

## **7- Nuevas moléculas.**

Alentuzumab (Campath): es un anticuerpo monoclonal humanizado anti CD-52. El CD 52 es el antígeno de superficie más prevalente en linfocitos, aunque también se encuentra presente en monocitos y células NK. En humanos produce una depleción linfocitaria, monocitaria y de NK en sangre periférica mantenida, restaurándose sus niveles al cabo de 1 año de su administración.

Belatacept: es una proteína de fusión CTLA-4 Ig que bloquea la señal de coestimulación uniéndose a los antígenos CD 80 y CD 86 de las células presentadoras de antígeno y produce apoptosis de la célula T.

Rituximab: es un anticuerpo monoclonal dirigido frente a linfocitos CD20 positivos. Este anticuerpo tiene la capacidad de unirse al antígeno CD20 con elevada especificidad y elimina a los linfocitos B. Su efecto se produce mediante un mecanismo de lisis celular mediado por complemento, así como una citotoxicidad dependiente de anticuerpo, mediado por complemento y células efectoras del sistema inmune. Su efecto tras una sola dosis del fármaco es duradero y persiste durante largo tiempo, entre 6 y 12 meses. Las células plasmáticas no se ven afectadas, por lo que no suele aparecer hipogamaglobulinemia. Se utiliza como tratamiento profiláctico del rechazo hiperagudo mediado por anticuerpos en pacientes hipersensibilizados, así como tratamiento del rechazo agudo y crónico mediado por anticuerpos.

Bortezomib: es un agente anticélulas plasmáticas, inhibe el proteosoma 26S interfiriendo en múltiples cascadas de señalización intracelular. Actúa sobre las células

con muy alta síntesis de proteína, como las células plasmáticas. Se ha descrito también que inhibe el factor de transcripción  $\text{NF}\kappa\beta$ , importante en la activación leucocitaria. Se utiliza en el rechazo agudo humoral porque disminuye los anticuerpos antiHLA circulantes y la producción de éstos por parte de las células plasmáticas.

Eculizumab: es un anticuerpo monoclonal humanizado frente al C5a que inhibe la formación del complejo de ataque a la membrana (MAC). La activación del complemento es un componente fundamental del rechazo mediado por anticuerpos. Se utiliza para el tratamiento del rechazo agudo humoral de mal pronóstico, del síndrome hemolítico urémico y en su recidiva post trasplante.

Inmunoglobulina policlonal intravenosa: Se utiliza en el trasplante como tratamiento desensibilizador coadyuvante en pacientes hipersensibilizados previamente al trasplante y como tratamiento de rescate en pacientes con rechazo agudo humoral. Produce una modulación de la expresión y función de los receptores *Fc* (porción común de la inmunoglobulina), interferencia en la activación del complemento y de la red de citoquinas, e inducción de un efecto inhibitorio a nivel de la activación, diferenciación y mecanismo efector de los linfocitos T y B.

La siguiente figura número 3 recoge el mecanismo de acción de los distintos fármacos inmunosupresores.<sup>22</sup>

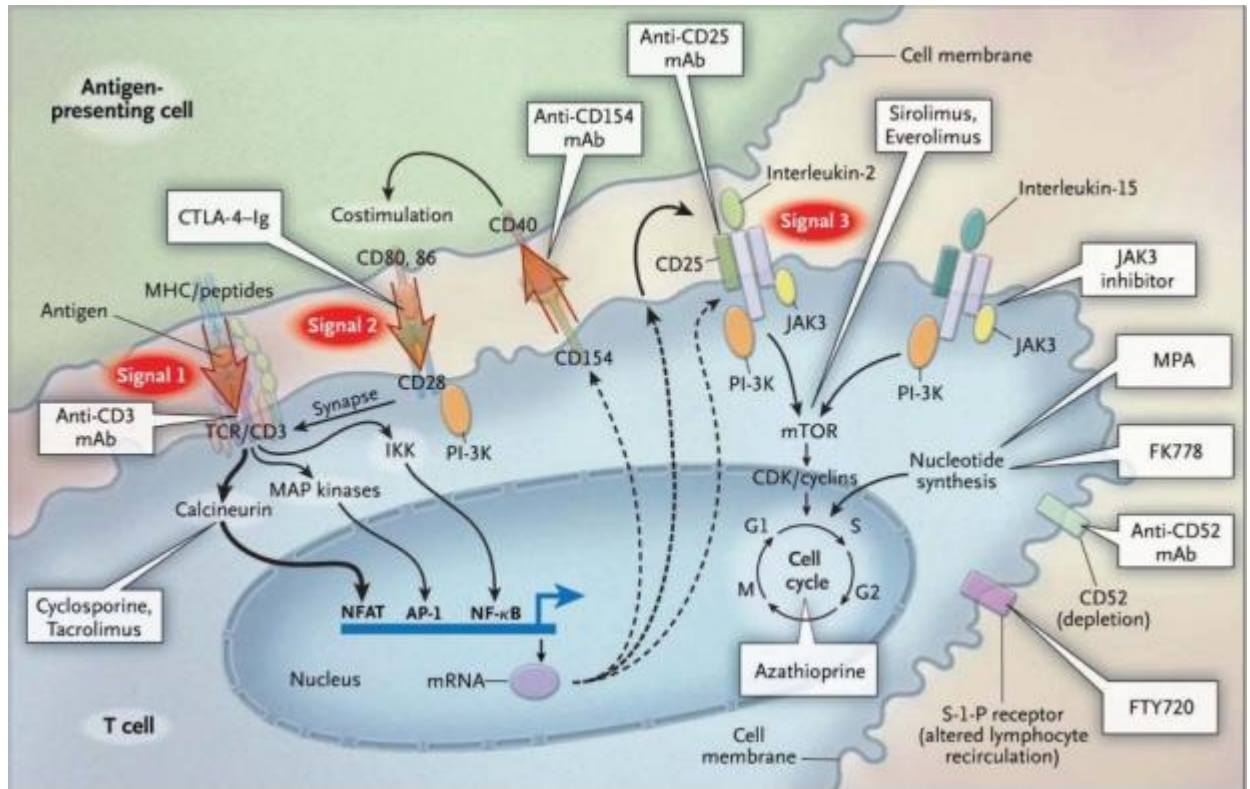


Figura 3: Mecanismo de acción de los distintos fármacos inmunosupresores. <sup>22</sup>

Hoy en día no hay un consenso para establecer el tratamiento de inducción inmunosupresor en el trasplante renal, pero si existen recomendaciones de estrategias terapéuticas en función del perfil clínico e inmunológico del paciente receptor y del donante. En España en los inicios del trasplante la primera fuente de donantes eran los cadáveres en parada cardiorrespiratoria y donantes vivos emparentados.<sup>23</sup> Con la autorización de la extracción de órganos en pacientes fallecidos en situación de muerte cerebral, con la primera ley sobre donación del año 1979, el donante cadáver ha sido la principal fuente de órganos durante muchos años. En los últimos años como consecuencia de la disminución de fallecimientos por TCE en accidentes de tráfico, el donante a corazón parado es una alternativa para incrementar el número de trasplantes renales.<sup>24</sup> El Hospital Clínico San Carlos de Madrid cuenta con acreditación para la extracción y trasplante de órganos sólidos desde el año 1971. Se realiza trasplante renal con donantes en muerte encefálica desde 1973 y con donante en asistolia o corazón parado desde 1985, siendo este uno de los programas más activos del país.<sup>25</sup>

Los protocolos de inmunosupresión deben ser individualizados, para decidir pautar tratamiento de inducción hay tener en cuenta, el tipo de trasplante, la inmunosupresión concomitante, tiempo de isquemia fría, y riesgo inmunológico del receptor.

-En receptores de alto riesgo inmunológico la pauta inmunosupresora más frecuente es triple terapia con un anticalcineurínico, micofenolato o inhibidor de m-Tor y esteroides, con inducción con anticuerpos poli/ monoclonales.

-En receptores de bajo riesgo inmunológico con donante estándar se puede utilizar triple terapia convencional esteroides, anticalcineurínico y micofenolato. Pero si el donante tiene criterios expandidos o donante en asistolia debe recibir inducción con anticuerpos poli/ monoclonales.

En el postrasplante inmediato el riesgo de rechazo agudo del injerto es superior por lo que la inmunosupresión deberá ser más intensa. En los pacientes de alto riesgo inmunológico: hiperinmunizados (alta tasa de anticuerpos preformados antiHLA), retrasplantes, los trasplantes pediátricos, los receptores afroamericanos y los receptores de trasplante doble páncreas-riñón terapias cuádruples utilizando inducción con

globulinas antitimocitarias conlleva menor riesgo de rechazo agudo frente a los anticuerpos anti-IL-2. Por otra parte en los trasplantes realizados con donantes subóptimos (edad avanzada, tiempo de isquemia fría prolongado, donante en asistolia y con fracaso renal agudo previo) son más susceptibles al daño por isquemia reperusión y este daño tisular aumenta la antigenicidad del órgano incrementando la respuesta inmune in situ,<sup>26</sup> por tanto en dichos donantes es habitual la mayor tasa de necrosis tubular aguda (NTA) con el retraso inicial en la recuperación de la función renal del injerto, siendo este un factor predisponente para la aparición de rechazo agudo en algunos estudios. Esto ha conducido a la utilización de protocolos de terapia de inducción con anticuerpos policlonales, así como a la introducción tardía de los anticalcineurínicos en el postrasplante inmediato.

Uno de los protocolos más utilizados en nuestro país es con anticuerpos antiCD25, micofenolato mofetil, prednisona y bajas dosis de tacrolimus.<sup>27, 28</sup> Como alternativa en lugar del anticuerpo antiCD25, la inducción con Timoglobulina puede ofrecer ventajas en cuanto a la lesión de isquemia reperusión.<sup>29</sup> En el tratamiento de mantenimiento dado el menor riesgo de rechazo, el objetivo irá encaminado a evitar la nefropatía crónica del injerto y los efectos secundarios de la inmunosupresión, por lo que se busca la supresión de los esteroides y disminución de dosis de ACN e incluso conversión a inhibidores de m-Tor.

Las distintas terapias inmunosupresoras pueden conllevar una diferente morbilidad infecciosa y tumoral que podría limitar la calidad de vida y afectar la supervivencia del paciente. En este estudio analizamos la evolución a 10 años de 2 grupos de trasplantes renales similares sometidos a diferente tratamiento inmunosupresor (inducción con anticuerpos policlonales seguido de triple terapia versus triple terapia convencional) con la finalidad de estudiar la inmunidad celular y las diferencias a nivel de morbimortalidad infecciosa y tumoral, así como la supervivencia a largo plazo.

### 1.3- Anticuerpos policlonales: síntesis, mecanismo de acción, antígenos diana, y efectos secundarios.

Los anticuerpos policlonales se obtienen de la inmunización de timocitos humanos en animales: conejo, caballo. El resultado son distintos anticuerpos dirigidos frente a múltiples proteínas de la superficie celular linfocitaria.<sup>30</sup> A partir del suero se consigue un preparado rico en IgG, la siguiente figura 4 muestra el mecanismo de producción. Si el inmunógeno son linfoblastos se obtiene globulina antilinfocítica y si son timocitos globulina antitimocítica. Son preparados estériles, pasteurizados y purificados, para evitar reacciones cruzadas frente a plaquetas, hematíes y neutrófilos.<sup>31</sup>



Figura 4: Mecanismo de producción de la Timoglobulina.<sup>32</sup>

La Timoglobulina contiene más de 45 anticuerpos específicos dirigidos frente a marcadores de la superficie celular linfocitaria, o antígenos se han descrito:

-CD2, CD3, CD 152 (son específicos de la célula T)

-CD4 (se encuentra en monocitos, células dendríticas y macrófagos).

-CD25 (están en células B y monocitos).

-CD6, CD8, CD11, CD16, CD19, CD20, CD25, CD28, CD32, CD45, CD80, CD86 (se expresan predominantemente pero no exclusivamente en células T).

-HLA clase I, se encuentra en todas las células nucleadas.

-HLA clase II: DR.

El mecanismo de activación linfocitaria se describe en el capítulo anterior. Los antígenos diana se representan en la siguiente figura 5.

Antígenos de respuesta inmunitaria		Adhesión y tráfico celular	Trayectorias heterogéneas
CD1a	CD28*	CD6	CD2
CD3/TCR	CD30	CD11a/CD18 (LFA-1)	CD5
CD4	CD32	CD44	CD11b
CD6	CD40	CD49/CD29 (VLA-4)	CD29
CD7	CD80*	CD50 (ICAM-3)	CD38
CD8	CD86	CD51/61	CD40
CD16	CD152 (CTLA-4)	CD54 (ICAM-1)	CD45
CD19	HLA class I	CD56*	CD52
CD20*	HLA DR	CD58 (LFA-3)	CD95
CD25*	β2-M	LPAM-1(α4β7)	CD126
		CD102 (ICAM-2)	CD138
		CD195 (CCR5)	
		CD197 (CCR7)	
		CD184 (CXCR4)	

Figura 5: Antígenos diana de Timoglobulina.<sup>32</sup>

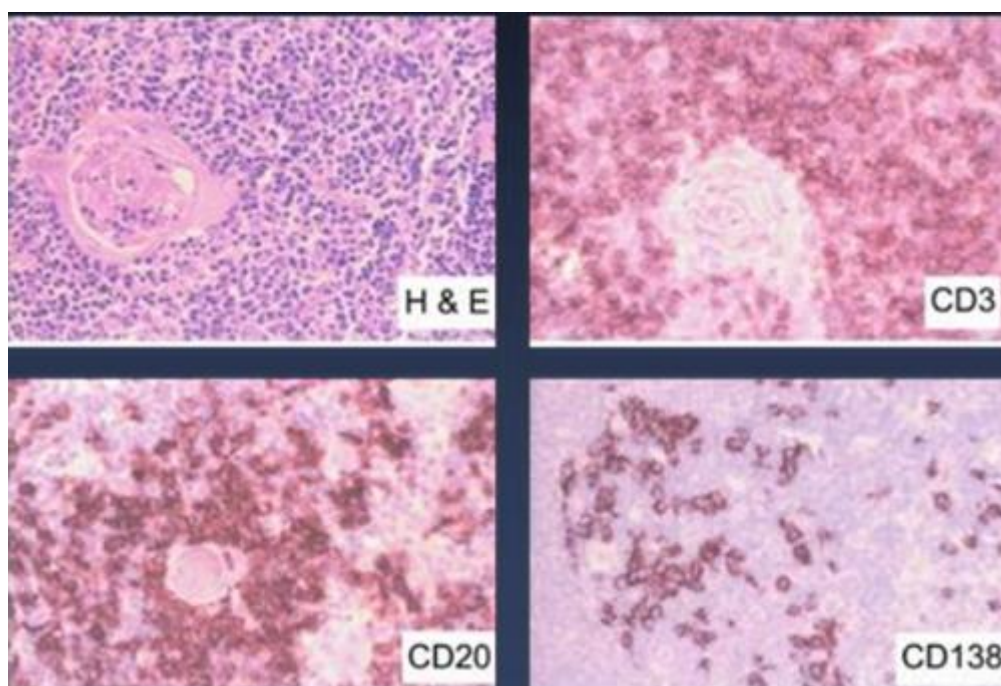
Su forma de actuar es multifactorial: 1/ Produce una depleción de linfocitos T a nivel periférico y sobre los órganos linfoides secundarios como el bazo y los ganglios linfáticos.

2/ Produce la apoptosis e inducción de citocinas proinflamatorias sobre las células Natural Killer (NK) encargadas de lisar todo tipo de patógenos y células tumorales e involucradas en la regulación de la respuesta inmune mediada por células T y B.<sup>33</sup>

3/ Los anticuerpos policlonales actúan también sobre las células dendríticas (células presentadoras de antígeno) importantes en la iniciación y el mantenimiento de la respuesta inmune, frente al injerto.<sup>34</sup>

4/ Pueden bloquear la acción de moléculas de adhesión y coestimuladoras, impiden el reconocimiento antigénico y la activación del linfocito T.<sup>35</sup>

5/ Inducen apoptosis y lisis dependiente de anticuerpos de varias células inmunocompetentes. La siguiente figura 6 muestra las diferentes células del Timo.



**Figura 6: Células presentes en el Timo. Zand M. Polyclonal Rabbit anti thymocyte globuline triggers B-cell and plasma cell apoptosis by multiple pathways Transplantation,2005;79:1507.**

Las células T CD4 están implicadas en la patogénesis del daño por isquemia-reperfusión del injerto, (la isquemia conduce a activación del endotelio, liberación de citokinas y activación de linfocitos), por lo que a este nivel el tratamiento con anticuerpos policlonales tienen un efecto favorable.<sup>36</sup>

En cuanto a su acción sobre células B: In vitro, no activa las células B. El bajo riesgo de linfomas de células B observado en los pacientes tratados con Timoglobulina puede explicarse debido a dos mecanismos diferentes: 1) ausencia de activación de células B, por la cual no se diferencian en células secretoras de anticuerpos; 2) actividad antiproliferativa hacia líneas linfoblastoides y algunas células B linfomatosas.

La globulina antitimocítica tiene una vida media de 2 a 3 días, después de la administración de dosis de 1,5 mg/ kg/día. En los trasplantados que han recibido durante un periodo de 10-14 días esta dosis pueden permanecer en un 12% después de 90 días con niveles en sangre de la forma activa. La concentración plasmática in vivo depende de la dosis aplicada variando desde 50 a 300 mcg /ml.<sup>29</sup> Las concentraciones necesarias de Timoglobulina para la depleción linfocitaria, gracias a la citotoxicidad mediada por anticuerpos, son bajas, debido a la elevada afinidad de los anticuerpos por el receptor Fc humano. Sin embargo, la depleción de células T en los nódulos linfáticos, precisa mayores niveles en sangre de Timoglobulina.

La utilización de cultivos in vitro de células mononucleares de sangre periférica, en presencia de distintas concentraciones seriadas del agente inmunosupresor, permite conocer el grado de replicación celular. Kurata y colaboradores estudiaron las curvas de dosis respuesta de los efectos in vitro de distintos inmunosupresores sobre la proliferación de células mononucleares de sangre periférica, con el fin de comparar la sensibilidad de las células T al fármaco en distintos sujetos, sus resultados demostraron como la terapia inmunosupresora a dosis fijas puede conllevar una excesiva inmunosupresión en algunos pacientes e insuficiente en otros.<sup>37</sup> Es por tanto importante monitorizar niveles de linfocitos y plaquetas ya que existe una variabilidad individual en cuanto al grado de depleción linfocitaria.

En varios protocolos de inducción se establece como rango terapéutico cifras absolutas de CD3 entre 50-100 /mm<sup>3</sup> o un 10-20 % de las células T totales.<sup>38</sup> Clark fue de los primeros en plantear la monitorización de los linfocitos CD3 como método para

evitar la sobreinmunosupresión.<sup>39</sup> El protocolo de Pedi de administración de Timoglobulina, en dosis intermitentes basado en el recuento de linfocitos CD3 en sangre periférica (sólo se administraba si los linfocitos CD3 > 20 células/mm<sup>3</sup>) con ello lograba una reducción de la dosis total acumulada y buenos resultados.<sup>40</sup> En cuanto a los protocolos de administración las dosis y el tiempo durante el que se administra, han variado discretamente entre grupos. Agha y colaboradores compararon en un ensayo prospectivo no randomizado la administración de Timoglobulina en 40 pacientes durante 3 días (3 mg/kg intraoperatorio y 1,5 mg/kg días 1 y 2) frente a 1 semana a dosis 1,5 mg/kg en 48 pacientes trasplantados con resultados similares en cuanto a la tasa de rechazo agudo, supervivencia del injerto y del paciente, pero siendo menor la estancia hospitalaria con el protocolo de 3 días.<sup>41</sup> Patrick confirmó estos resultados con una serie retrospectiva de 83 pacientes que recibieron bajas dosis de Timoglobulina de 1,5 mg/kg durante 3 días frente a otro grupo que la recibió durante 4 días.<sup>42</sup>

### **Interacciones:**

- Con otros inmunosupresores: La administración combinada con otras sustancias inmunosupresoras durante el proceso de trasplante intensifica el efecto inmunosupresor. Lo que puede aumentar el riesgo de desarrollar una infección. La combinación con ciclosporina podría originar un efecto inmunosupresor demasiado potente.
- Con vacunas víricas vivas (por ejemplo, frente a rubeola, sarampión, paperas, fiebre amarilla, BCG o poliomelitis) hay un riesgo de infección.
- Vacunas inactivadas (por ejemplo, frente a rabia o peste) es posible que debido a la inmunosupresión no se observe una respuesta inmunológica. Por lo tanto, deberá determinarse la titulación de anticuerpos 4-5 semanas después de la vacunación

### **Efectos secundarios:**

Los efectos adversos de primera infusión, de tipo alérgico, son derivados del carácter heterólogo de las globulinas antilinfocitarias, que pueden inducir anticuerpos neutralizantes que desencadenan reacciones anafilácticas.<sup>29</sup> Estos efectos secundarios son: fiebre el mas frecuente, escalofríos, cefalea, dolor abdominal, diarrea, nauseas, disnea y trombopenia, pueden aparecer en un 25 %<sup>31</sup>. Debe monitorizarse el recuento de plaquetas y suspender temporalmente el tratamiento si descienden por debajo de 50.000/mm<sup>3</sup>. La reacción de estos anticuerpos con algunos antígenos linfocitarios puede conducir a la activación del linfocito y a la liberación de citocinas. Estas reacciones, se pueden prevenir administrando fármacos antihistamínicos y antitérmicos por vía intravenosa previamente y con la infusión intravenosa lenta en un periodo de 4 horas del producto. Se ha descrito una incidencia de enfermedad del suero de 3.4% con clínica de fiebre, prurito, rash asociado a artralgia, poliartritis más frecuente en articulación temporomandibular, mialgia, y en ocasiones glomerulonefritis por inmunocomplejos circulantes a los 7 a 15 días después del inicio del tratamiento, como reacción alérgica retardada después de la administración de Timoglobulina. La alergia a proteínas del conejo contraíndica su uso.<sup>43</sup>

#### **1.4- Indicaciones de utilización.**

Las globulinas antilinfocitarias están indicadas en:

- La terapia de inducción, que busca disminuir la incidencia de rechazo agudo y prevenir o tratar el retraso en la función del injerto (circunstancias que afectan negativamente la supervivencia del injerto).

- El tratamiento de rechazos agudos tipo II, y III corticoresistentes.

Forma parte del esquema de inmunosupresión de trasplantes de alto riesgo inmunológico (elevada sensibilización HLA frente al panel) así como en algunos centros en donantes con criterios expandidos y en asistolia.<sup>44</sup>

### **1.5- Inmunidad celular. Estudio de las subpoblaciones linfocitarias.**

La principal dificultad del trasplante deriva de la propiedad que tiene el organismo de diferenciar lo extraño de lo propio y en consecuencia actuar contra lo ajeno. El sistema inmune se compone de los órganos linfoides primarios (médula ósea y timo) fundamentales para el desarrollo y maduración de los linfocitos y los secundarios (el bazo y los ganglios linfáticos) que continúan el proceso de maduración de los linfocitos y el desarrollo de la inmunidad. Los linfocitos se encuentran circulando permanentemente hacia los ganglios linfáticos o los tejidos. En el ganglio linfático a nivel de la corteza, los linfocitos se asocian formando los folículos linfoides primarios y secundarios. Los primeros se componen de células en reposo que son linfocitos B, macrófagos y células dendríticas, y los secundarios presentan células que surgen de la estimulación de una respuesta inmune local. A nivel del bazo los linfocitos y los antígenos circulan lentamente de manera que se pueden identificar los complejos antígeno anticuerpo y las partículas infecciosas de la sangre.

Entre las células inmunes con capacidad de recombinar piezas de su ADN para producir receptores altamente específicos están los linfocitos T y B, de esta manera pueden diferenciarse a linfocitos de memoria con larga vida media que tienen la capacidad de activarse en una respuesta secundaria, más rápido que en la primaria. Las funciones de proliferación y efectora de los linfocitos T, se esquematizan en la siguiente figura 7.<sup>33</sup>

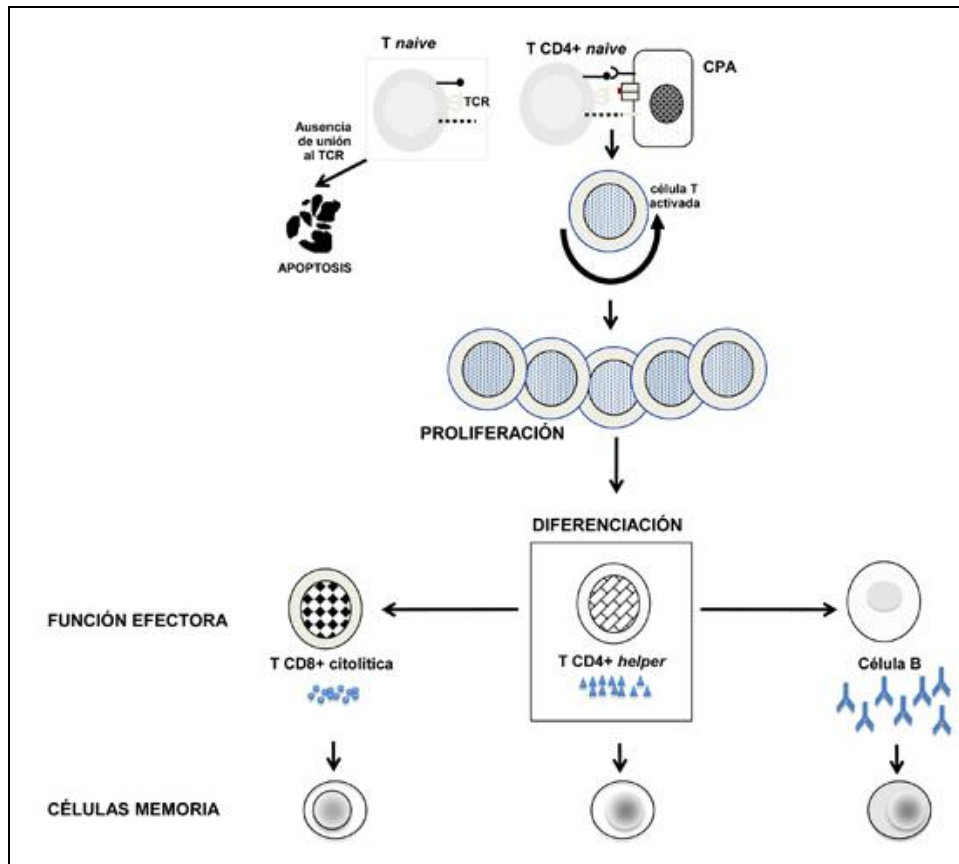


Figura 7: Fase de activación y función efectora de la respuesta inmune.<sup>33</sup>

## LINFOCITOS T:

Constituyen el componente celular predominante del sistema inmune. Proceden de una línea celular generada a partir de la célula madre de la médula ósea, de dicha línea progenitora de células linfoides se forman los linfocitos T y B. Los linfocitos T emigran al timo donde se produce la maduración, adquieren su receptor y las moléculas CD3 y CD4/CD8, es en el timo donde tiene lugar el proceso de selección y este proceso es el responsable de que células que expresan un receptor que reconoce antígenos no propios, asociados a moléculas propias del complejo mayor de histocompatibilidad sobrevivan y

que células potencialmente autoreactivas no maduren y se eliminen por apoptosis. Por tanto, la autotolerancia se logra con la eliminación de células T (en realidad sus precursores inmaduros, timocitos) autorreactivas, y permitiendo el desarrollo de las específicas que reconocen péptidos extraños (no-propios) enclavados en el CMH propio.<sup>54</sup>

Los linfocitos T que salen al torrente circulatorio representan un 20-40% de su componente celular. Estos se dirigen a los ganglios linfáticos donde las células presentadoras de antígeno les presentan los diferentes antígenos. Los linfocitos se activan y proliferan y se diferencian para ejercer su función efectora y una vez combatido el antígeno que desencadenó la respuesta inmune adquirida quedan las células de memoria que actuarán con mayor eficacia en un encuentro posterior con el antígeno. Los linfocitos T no reconocen antígenos solubles, sino, que reconocen pequeños fragmentos de ellos, asociados al complejo mayor de histocompatibilidad (CMH); expresados en la membrana de las células presentadoras de antígenos. Según la naturaleza del antígeno reconocido se pueden activar las diferentes subpoblaciones de linfocitos T CD4, los cuales inducen a los linfocitos B a producir anticuerpos y a los macrófagos a destruir antígenos fagocitados por éstos, y a los linfocitos T CD8, que destruyen células infectadas por virus e infiltran y dañan al órgano injertado.<sup>45</sup>

Los linfocitos T se clasifican en:

a/ los linfocitos T colaboradores: son la mayoría CD4 y actúan en la maduración y expansión de otros linfocitos a través de la secreción de citocinas. La generación de TH1 o TH2 esta regulada por el equilibrio entre estos dos grupos de citocinas. Los linfocitos TH1 son los responsables de la producción de linfocitos T citotóxicos (destructores de células extrañas o infecciones), de la hipersensibilidad retardada y del rechazo al aloinjerto, son los encargados de la respuesta celular citotóxica. Los linfocitos TH2, son los que activan los linfocitos B, para la producción de anticuerpos, facilitando el rechazo humoral por aloanticuerpos. Los linfocitos TH1 secretan IL-2 e INF  $\gamma$ , mientras que los linfocitos TH2, secretan otras citocinas como IL-4, IL-5 IL-13, Los dos tipos de respuesta se puede ver en la figura 8.<sup>46</sup>

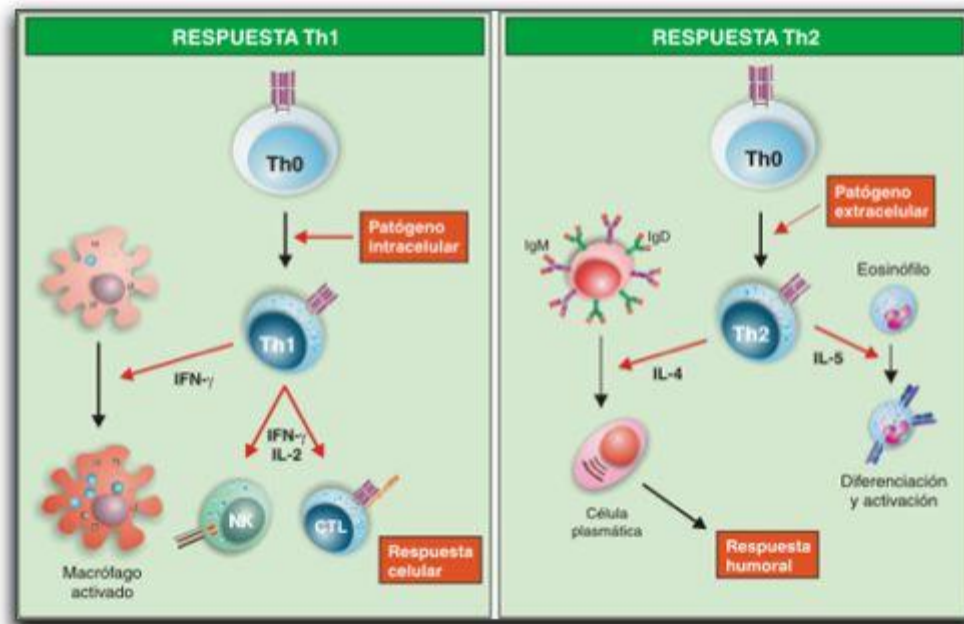


Figura 8: Respuestas de linfocitos TH 1 y TH 2. Regueiro J.<sup>46</sup>

b/ los linfocitos T citotóxicos, CD8 están dirigidos a destruir virus, y actúan sobre el tejido injertado no propio. Son activados por las células presentadoras de antígeno, a través de las moléculas HLA de clase 1, el complejo HLA+ péptido, es reconocido por el receptor TCR de los linfocitos T CD8 específicos.

c/ los linfocitos T reguladores: constituyen uno de los sistemas de autocontrol del sistema inmune, son mayoritariamente CD4 y con alta expresión de CD25/fox p3 y controlan la proliferación de los linfocitos CD4 y CD8. Los T regs se activan en presencia de IL-2 e INF  $\gamma$  y se localizan fundamentalmente en los ganglios linfáticos y el bazo.

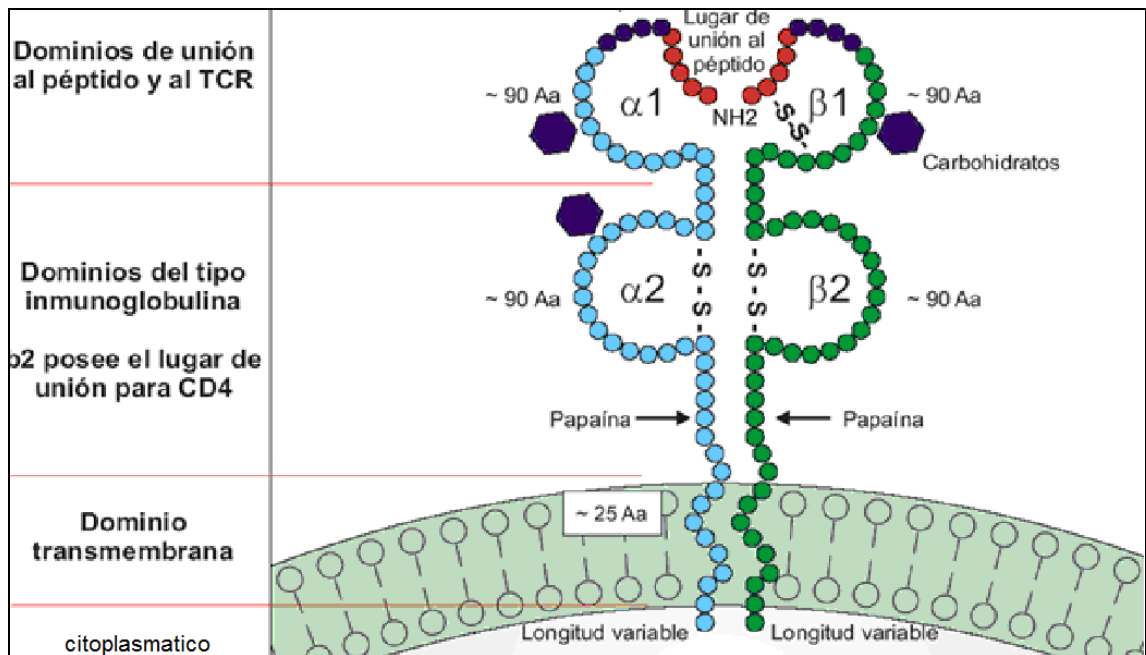
LINFOCITOS B: son el 20 % de los linfocitos. Cuando esta activados y diferenciados a células plasmáticas sintetizan las inmunoglobulinas. Son CD20 positivos y CD19. La activación requiere la colaboración de citocinas liberadas por los CD4 TH2.

### **Componentes moleculares del sistema inmune:**

La superfamilia de las inmunoglobulinas son moléculas similar a las inmunoglobulinas en estructura, incluye: los antígenos HLA, el receptor de los linfocitos T, Inmunoglobulinas, CD3, CD4/CD8, CD28, LFA-3 y un grupo de moléculas de adhesión.<sup>47</sup>

- **Antígenos HLA:** El Complejo Mayor de histocompatibilidad (CMH) procede de genes localizados en el brazo corto del cromosoma 6. Estos codifican proteínas de membrana conocidos como antígenos leucocitarios humanos HLA que son los encargados de identificar las células propias del organismo y diferenciarlas de las extrañas. Su polimorfismo ofrece la ventaja de ampliar la capacidad de la respuesta inmune adquirida a mutaciones de patógenos, pero en el trasplante es la causa principal del rechazo del injerto. Se dividen en clase I y clase II según su función. Los de clase I se expresan en la mayoría de las células y son codificados por 3 loci (A, B, C) presentan a los linfocitos T, péptidos intracelulares procesados. Los antígenos de clase II son codificados por 3 locus (DR, DP, DQ) y se localizan en las células encargadas de la presentación de antígeno: linfocitos B, macrófagos y células dendríticas. Presentan péptidos que proceden de antígenos exógenos. La molécula HLA de clase II se representa en la siguiente figura. La clase I se encarga de presentarle péptidos a las subpoblaciones de linfocitos T CD8 y la clase II se ha especializado en presentárselos a los CD4.<sup>52</sup>

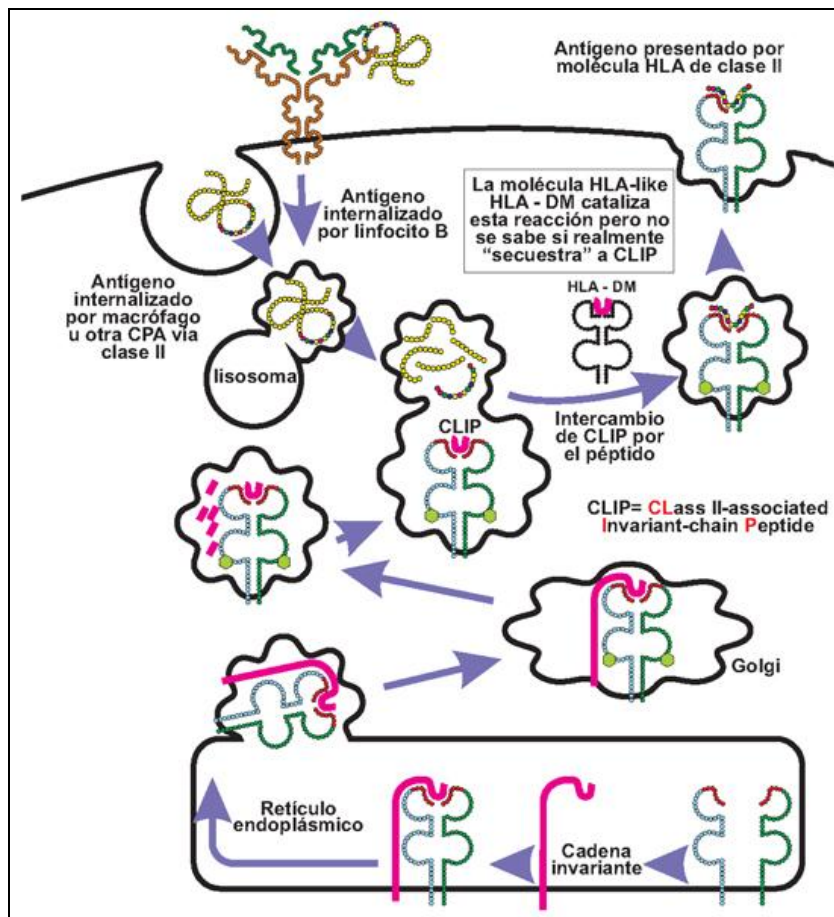
En la figura siguiente número 9, se muestra de forma esquemática la molécula HLA de clase II.



**Figura 9: Molécula HLA de clase II.**

**- Presentación de antígenos a los linfocitos T CD4:**

Las células presentadoras de antígeno (linfocitos B, células dendríticas y macrófagos) presentan al linfocito T CD4 antígenos procedentes del exterior. Esto comienza cuando la célula introduce el antígeno por endocitosis hasta un compartimento llamado endosoma tardío, donde tiene lugar la fragmentación del antígeno por la acción de diferentes enzimas. Al mismo tiempo la célula presentadora de antígenos genera en el retículo endoplasmico la molécula de clase II del CMH. Después es glicosilada en el aparato de Golgi y se traslada por el citoplasma al último endosoma, a continuación se expresan los fragmentos del antígeno en la membrana de la célula. La secuencia más detallada se esquematiza en la siguiente figura 10.<sup>33</sup>



**Figura 10: Presentación del antígeno al linfocito T CD4 por moléculas HLA de clase II.** <sup>33</sup>

### **Presentación del antígeno al linfocito T CD8:**

La célula presentadora de antígeno, presenta al linfocito T antígenos procedentes de proteínas sintetizadas por la propia célula, y son transportadas a la superficie de la

célula por moléculas de clase 1. Este complejo (antígeno + molécula de clase 1) es transportado por el aparato de Golgi hasta la superficie de la célula, para presentar el antígeno a los linfocitos T CD8. Es mediante este proceso como se presentan péptidos procedentes de moléculas sintetizadas dentro de la propia célula.

### Complejo molecular del receptor de linfocitos T CD3:

El receptor de los linfocitos T es un dímero formado por 2 cadenas ( $\alpha$  y  $\beta$  o receptor 1 o cadenas  $\gamma$  y  $\delta$  o receptor 2) unidas por puentes disulfuro. Los linfocitos expresan sólo una de estas 2 formas. El receptor 1 o  $\alpha$  y  $\beta$ , se expresa en el 95% de los linfocitos T periféricos. Tiene como misión captar los antígenos presentados y por medio de las moléculas CD3 transmitir al interior de la célula las señales de activación. Este receptor está representado en la figura siguiente 11.

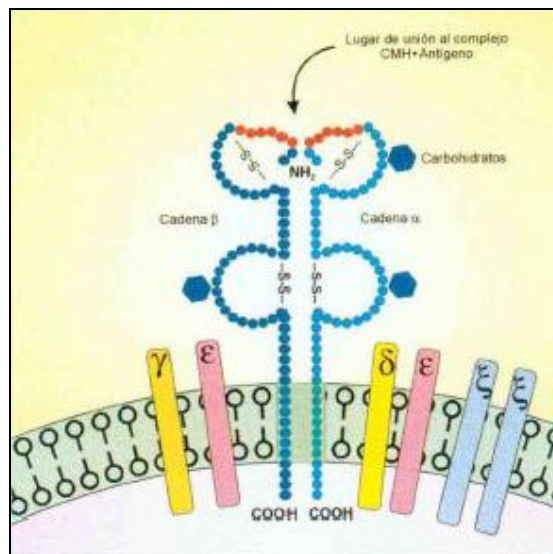


Figura 11: Complejo molecular del receptor del linfocito T.<sup>45</sup>

### **Moléculas accesorias**

Se expresan en la superficie del linfocito T, y aumentan la interacción entre su receptor y el CMH de la célula presentadora de antígeno.

### **Moléculas de adhesión**

Son proteínas de la membrana celular que median la unión entre células, y con la matriz extracelular. Intervienen en la diferenciación celular y su organización en tejidos, la activación de células inmunes, en la emigración de los leucocitos y también de las células tumorales. Se subdividen en 4 tipos selectinas (CD62 L o L-selectina, E selectina), integrinas (VLA, VFA), cadherinas y moléculas de la superfamilia de las inmunoglobulinas (ICAM, VCAM).

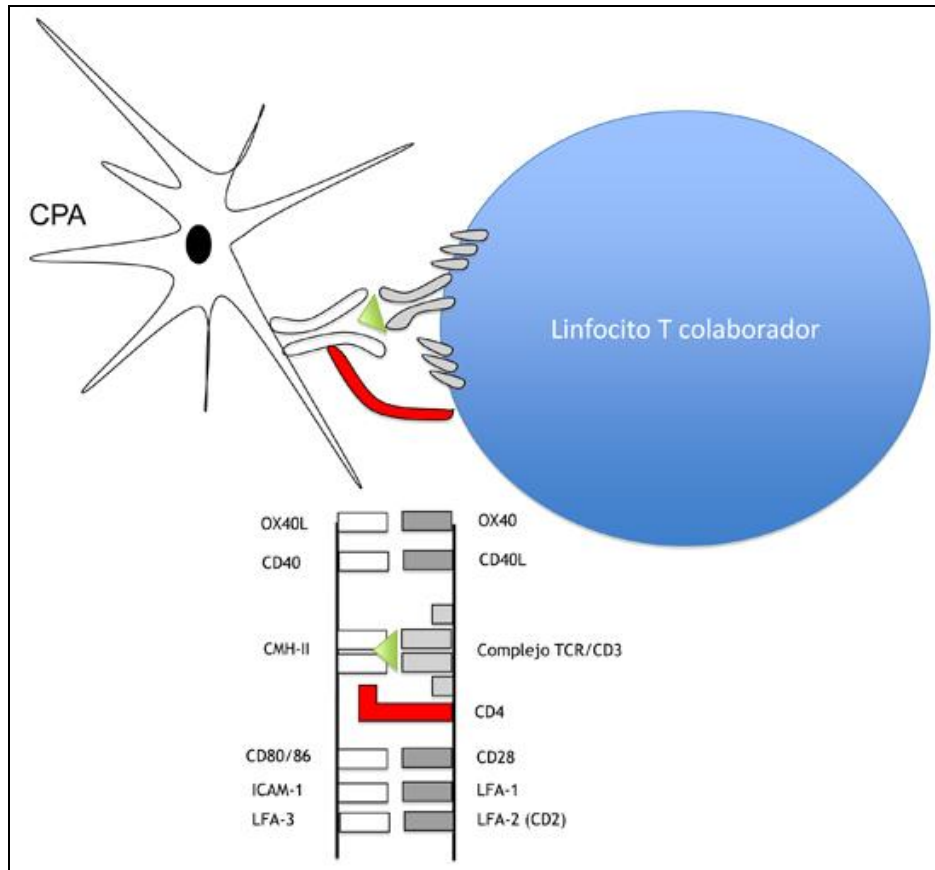
### **Componentes moleculares de la coestimulación**

Son los que forman la vía B7 CD28/CTLA-4 que a su vez esta formada por 2 ligandos en la célula presentadora de antígeno: B7-1 y B7-2 y dos receptores en el linfocito T CD28 y CTLA-4. Estos receptores y ligandos se pueden observar en la siguiente figura. Las células T naive expresan una serie de moléculas coestimuladoras de forma constitutiva pero tras la activación el número de dichas moléculas aumenta exponencialmente y promueven la supervivencia celular y la diferenciación en células T efectoras. En los últimos años se han descubierto nuevas moléculas coestimuladoras que pueden transmitir señales positivas y negativas: ICOS (inducible coestimulatory molecule), PD-1 (programmed death-1), BTLA (B and T lymphocyte atenuador), OX40 (CD134), TIM (T cell immunoglobuline and mucine domain).

### **Activación linfocitaria:**

Los linfocitos T reconocen mediante sus receptores de membrana las estructuras específicas a través de interacciones moleculares apropiadas. La activación de los linfocitos T tiene lugar cuando el receptor de los linfocitos T (TRC) reconoce a un péptido trasportado por una molécula HLA, con participación también de otras

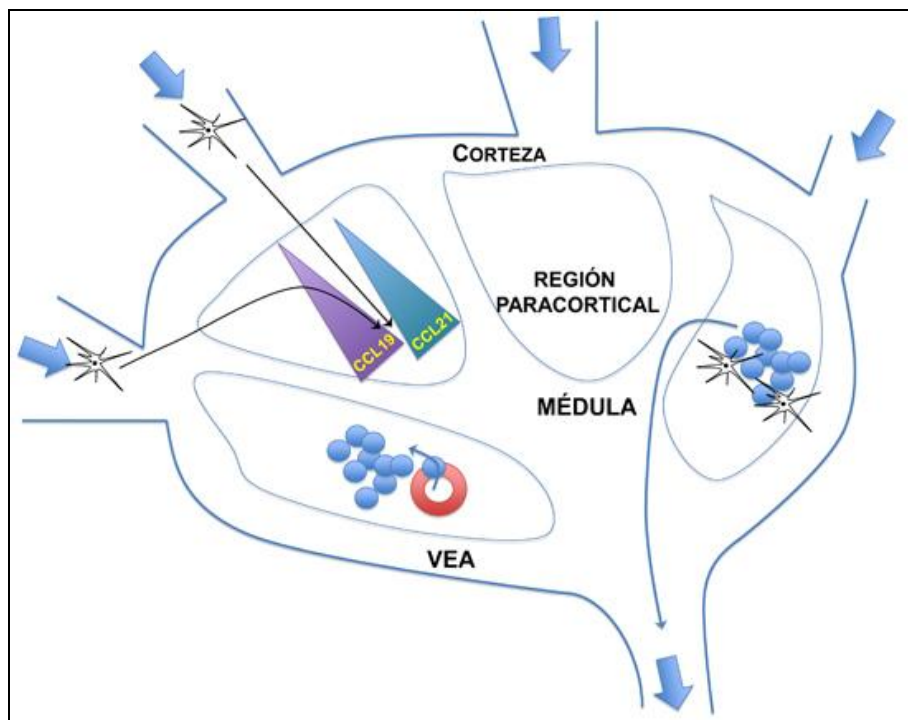
numerosas moléculas de la membrana de los linfocitos T. La sinapsis inmunológica se representa en la figura 12.



**Figura 12: Sinapsis inmunológica y moléculas de membrana participantes.** <sup>33</sup>

Cuando están activados producen citocinas o factores citotóxicos según se trate de linfocitos Th o Tc. Esto origina la estabilización de la unión, el reconocimiento del antígeno y la activación del linfocito para montar una respuesta específica.<sup>48</sup> Las células presentadoras de antígeno entran en el ganglio linfático y se dirigen a la región paracortical a favor de un gradiente de quimosinas, allí continúan su maduración expresando más moléculas clase II y segregando citocinas CCL-19 y CCL-21 que atraen a los linfocitos T naive, que salen de las venulas de endotelio alto (VEA), si no

encuentran el antígeno específico los linfocitos T naive salen por el vaso eferente hacia la circulación, como se representa en la siguiente figura 13.



**Figura 13: Estructura del ganglio linfático y migración de las CPA.** <sup>33</sup>

Los procesos que se llevan a cabo en la activación del linfocito T son los siguientes:

- 1- Presentación del antígeno al receptor del linfocito T por las células presentadoras de antígeno (CMH + péptido se unen al receptor del linfocito T).
- 2- Coestimulación por la célula presentadora de antígeno. Entre las moléculas de la membrana del linfocito T y sus ligandos en la célula presentadora de antígeno.
- 3- Secreción de citocinas por células T activadas. Señales de trasducción y activación del linfocito T. <sup>49</sup>

Las señales de activación intracelular modifican lípidos intracelulares, iniciando una vía que finaliza con la activación y traslocación al núcleo de factores de transcripción que regulan la expresión de genes. Las proteínas celulares se activan por acción de las quinasas y fosfatasa. La fosforilación tiene 2 funciones cambiar la configuración de las proteínas y activar funciones enzimáticas que permiten que la señal se transmita como una onda de activación de proteínas. Se reclutan otras nuevas proteínas diana con las que nuevos elementos de la señal interactúan, así se permite la participación de otros mensajeros intracelulares cuando son necesarios.<sup>49</sup>

El proceso de forma más detallada sigue los siguientes pasos:

1- Unión del antígeno al receptor del linfocito T; son necesarias unas moléculas accesorias conocidas. Se inicia con la defosforilación de las tirosin quinasas lck, (asociada a CD4) y Fyn, (asociada a CD3). La activación de estas quinasas se produce por la molécula de membrana CD45 que esta asociada con el receptor CD3 y que por su actividad fosfatasa puede eliminar grupos fosfato a las tirosin quinasas y puede fosforilar a lck y Fyn.

2- Los linfocitos T poseen mecanismos por los cuales los estímulos externos son procesados y enviados al núcleo a través de segundos mensajeros que son mediadores bioquímicos intracelulares, aquí intervienen señales procedentes del TCR / CD3 como de las moléculas accesorias. Son necesarios en la regulación de la actividad de estos segundos mensajeros los ciclos de fosforilación y defosforilación a través de quinasas y fosfatasas.

3- Mediadores intracitoplasmicos de la activación celular. En el momento en que la citocina contacta con su receptor se activan las señales de transducción, al final de esta vía se activan enzimas del núcleo que son esenciales para la progresión del ciclo de la célula de la fase G1 a S en la síntesis de DNA. Los factores de transcripción de genes implicados en la respuesta inmune son el factor nuclear de la cadena K de células B (NF  $\kappa$ B), el factor activador de proteína 1(AP-1), el factor nuclear de células T (NFAT). Participan en la transcripción de la IL 2 y de genes de CMH, moléculas de adhesión, protooncogenes c-myc y otros. Las células T activadas sintetizan la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 (CD25) lo que permite la formación de un receptor funcionante que une IL-2 con elevada afinidad, lo que activa las vías de proliferación de la célula T.

Otras vías de activación son la vía mediada por calcio, la mediada por proteína cinasa C, y la mediada por AP-RAS. Las vías de activación se muestran en la figura 14.

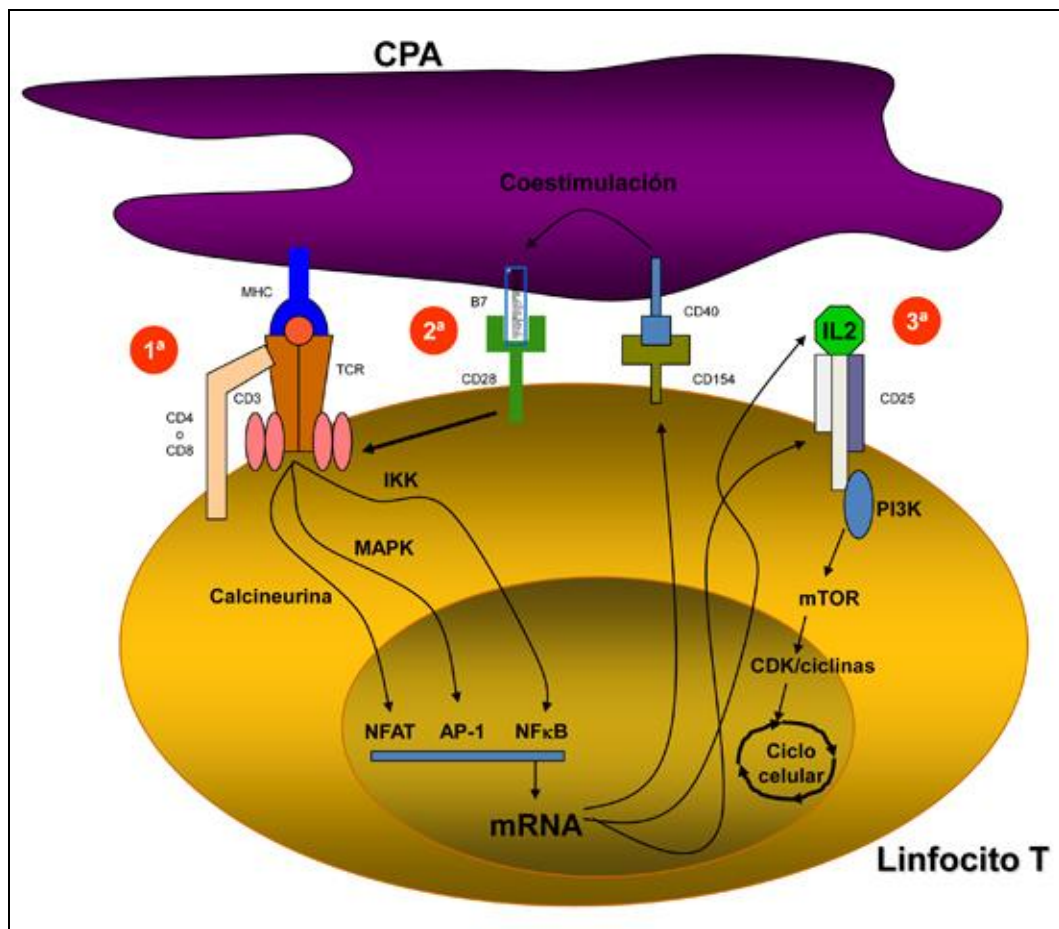


Figura 14: Señales de activación de las células T.<sup>33</sup>

Factor nuclear de la cadena K de células B (NF κB), factor activador de proteína 1 (AP-1), el factor nuclear de células T (NFAT).

La liberación masiva de citocinas proinflamatorias en el momento del desclampaje del trasplante y la salida de material intracelular de las células muertas por isquemia, van a activar la inmunidad innata (respuesta antígeno-no específica), que induce la agrupación de células inflamatorias en el injerto. El principal estímulo que activa el sistema inmunitario del receptor es el de las células dendríticas del órgano trasplantado (presentación directa) que presentan aloantígenos del CMH a los linfocitos T y las dendríticas del receptor activadas (presentación indirecta) que emigran a los órganos linfoides secundarios dónde presentan, en la gruta de sus moléculas HLA aloantígenos del CMH a los linfocitos T (respuesta inmune adaptativa, antígeno-específica). A pesar de que existe una similitud entre el reconocimiento inmune de los antígenos convencionales y los antígenos alogénicos, hay una diferencia que tiene implicaciones importantes en el trasplante, esta diferencia es la elevada frecuencia de células T efectoras en la respuesta inmune alogénica. El injerto que expresa moléculas CMH de clase 1 y clase 2 que difieren de las del receptor, puede estimular directamente a las células T. La duración de la respuesta de los linfocitos T y su magnitud depende del número y afinidad por el antígeno.<sup>33</sup> Los linfocitos T CD8 siguen proliferando incluso en ausencia del antígeno, pero los linfocitos CD4 precisan de la presencia del antígeno además el tamaño clonal viene limitado por la tasa de muerte celular y la de proliferación, siendo la expansión y la generación de memoria de las CD8 muy rápida y mientras que las células T de memoria CD4, se expanden de forma más lenta.

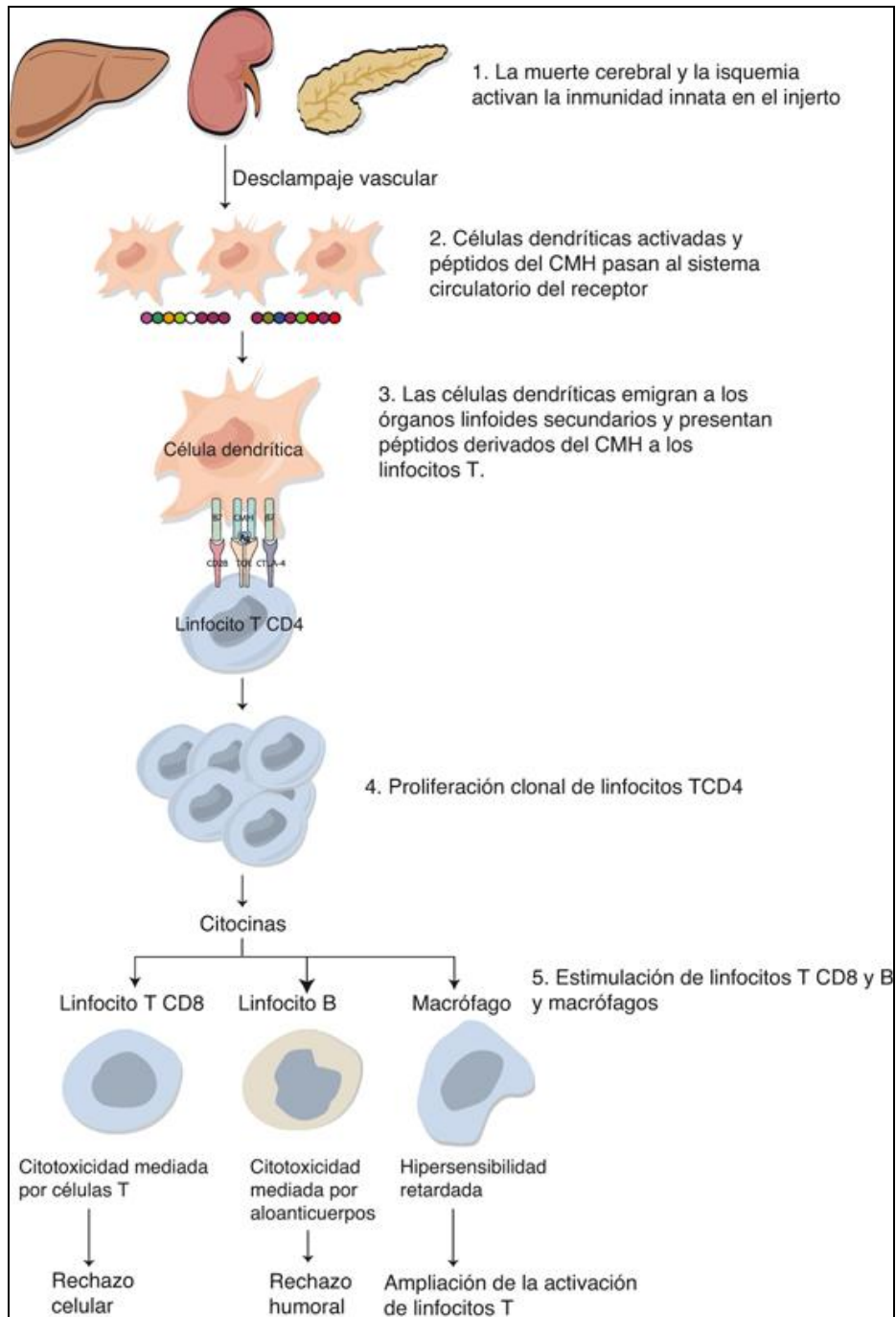


Figura15: Respuesta/aloimmune-celular.<sup>33</sup>

Con la finalidad de estudiar la inmunidad celular se pueden realizar las siguientes mediciones:

-Recuento de CD4: Contar el número de células T –colaboradoras, técnicamente llamadas linfocitos CD4+, es la herramienta más importante para evaluar el estado del sistema inmunológico, en individuos inmunodeprimidos. El recuento normal de células CD4 oscila entre 500 y 1.500 células por milímetro cúbico de sangre. Las infecciones oportunistas tales como la neumonía por Pneumocistis, comienzan a ocurrir una vez que el recuento de las células T-colaboradoras disminuye por debajo de 300. Hay otras infecciones que típicamente ocurren cuando el recuento de CD4 está entre 50 y 100. Por esta razón, una vez que el recuento de las células T colaboradoras disminuye a ciertos niveles, se inicia la toma de medicamentos como medida profiláctica (preventiva) de ciertas enfermedades, por ejemplo para el caso de la profilaxis de la neumonía por Pneumocistis, esta se inicia cuando el recuento cae por debajo de 200 células/mm<sup>3</sup>.

Porcentaje de CD4: En un adulto sano, las células T colaboradoras representan entre el 32% y el 68% del número total de linfocitos. El recuento absoluto de CD4 es un cálculo que utiliza los resultados de otros 3 exámenes (el porcentaje de CD4, el porcentaje de linfocitos y el recuento de leucocitos).

-Recuento de CD8, porcentaje de CD8: Las células CD8 son también llamadas células T supresoras. Un adulto sano, generalmente tiene entre 150 y 1.000 células CD8 por milímetro cúbico de sangre.

Los análisis de laboratorio pueden incluir la proporción de las células T, lo cual representa el número de células CD4 dividido por el número de células CD8. Lo normal es entre 1 y 2, lo que significa que hay 1 a 2 células CD4 por cada célula CD8.

-Recuento de CD3: El CD3 es el marcador de superficie característico de los linfocitos T. CD3 es un complejo de proteínas de membranas que se asocia al receptor de linfocitos T (TCR) y se encarga de transmitir la señal al interior celular.

Varios protocolos de inducción establecen como rango terapéutico cifras absolutas de CD3 entre 50-100 /mm<sup>3</sup> o un 10-20 % de las células T totales.<sup>8</sup>

-Recuento de linfocitos con marcador CD25: el CD25 forma parte del receptor para IL-2 que se encuentra en los linfocitos T activados, linfocitos B y células NK. El incremento de CD25 se asocia con presencia de rechazo agudo. El recuento calculado procede de aplicar el porcentaje de los CD25, sobre los linfocitos y los leucocitos.

-Recuento de linfocitos con marcador DR: el DR es uno de los antígenos HLA clase II, su incremento se consideraba indicador de infección. Estos dos últimos marcadores CD25 y DR se dejaron de determinar en laboratorio de inmunología en el año 2008.

### **Inducción de tolerancia posible con las inmunoglobulinas antilinfocitarias:**

El sistema inmune tiene numerosos sistemas de autocontrol y uno de ellos lo forma los linfocitos T reguladores (Tregs). Estos linfocitos, generalmente CD4<sup>+</sup> y frecuentemente con alta expresión de CD25 i/o Foxp3, tienen la función de controlar la proliferación de otras poblaciones linfocitarias, (tanto CD4<sup>+</sup> como CD8<sup>+</sup>), y están implicadas en el mantenimiento de la tolerancia periférica, mediante la supresión de la activación y expansión clonal de células autorreactivas. Estos subtipos funcionan de forma natural o se inducen en el contexto de una respuesta inmune. El término de células T supresoras o reguladoras viene de los estudios de Sakaguchi en ratones timectomizados al nacer, que desarrollaban una enfermedad autoinmune fatal. Este grupo demostró que estos ratones carecían de células T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>. La generación de Tregs en el timo es un evento tardío mediado por la interacción con las células epiteliales de la médula tímica. Estas células son conocidas como Tregs naturales (nTregs), que difieren de sus homólogas en la periferia, Tregs inducibles (iTregs) *in vitro*. La transfección de Foxp3 en células CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> las convierte en células con capacidad supresora y la sobreexpresión de Foxp3 en ratones transgénicos confiere capacidad supresora a células CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> y células T CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>. Por lo tanto, la expresión de Foxp3 modula la capacidad funcional de las Tregs.<sup>31</sup> Los Tregs se encuentran sobretodo acantonados en el bazo y en los ganglios linfáticos, se activan en presencia de elevadas concentraciones de IL-2 e IFN- $\gamma$  libre. Recientemente, se ha descrito que los Tregs pueden, en presencia de determinadas citocinas secretadas por macrófagos como IL-23, diferenciarse fácilmente a linfocitos conocidos como Th17 por su capacidad de secretar IL-17, una citocina activadora de los polimorfonucleares. Se conoce la capacidad de las células T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> de inducir la expresión de Foxp3 transitoriamente como una consecuencia normal de su activación; pero solo cuando la expresión de Foxp3 es elevada, se desarrollan Tregs funcionales. Estas células en este estado de activación, inhiben la proliferación de células T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> autólogas *in vitro*<sup>50</sup>.

Mecanismos de regulación de las células T foxp 3+: Varios mecanismos se han establecido para explicar la función supresora de los T regs sobre las células T naive o las células efectoras, entre estos la interacción entre señales estimuladoras (IL-2, y CD 28) e inhibidoras, señales coestimuladoras (CTLA), estimulación de células dendríticas

y la inhibición por TGF-B y IL-10. La mayoría de las células activadas regulan a la baja la expresión foxp3, mientras que un pequeño porcentaje la mantiene y otro regula a alta la expresión foxp3 de forma transitoria, permitiendo tras la estimulación antigénica la adquisición de especificidad frente a antígenos propios y extraños.

En el trasplante renal las células T foxp3 juegan un papel en la supresión de las células T efectoras activadas del donante y en la inducción de tolerancia. La investigación de la expresión de foxp3 en las células T CD4 CD25, ha revelado que el rechazo crónico se asocia con un descenso del número mientras que la aceptación o tolerancia del injerto renal se asocia con niveles similares a voluntarios sanos, estos datos sugieren que el número de células Treg puede contribuir a determinar el pronóstico a largo plazo del trasplante.<sup>51</sup> Sin embargo para establecer la correlación entre la expresión de foxp3 y la tolerancia al injerto se debe considerar otros factores de confusión como es la terapia inmunosupresora.<sup>52</sup> Con respecto a la Timoglobulina Gina La Corcia tras el cultivo de células mononucleares de sangre periférica in vitro con 14 diferentes lotes de Timoglobulina, objetivó que se incrementaban las células CD4 CD25 Fox p3 hasta una media de 17,7 % +- 4,6 %.<sup>53</sup> Sin embargo un ensayo clínico reciente llevado a cabo en la universidad de Columbia que investigó la cinética y estabilidad de rATG en la inducción de la expresión de Foxp3 y en el desarrollo de células T supresoras mostró resultados diferentes. La exposición de células mononucleares de sangre periférica o células T convencionales a rATG, resultaba en una inducción de la expresión de CD25 y Foxp3, no permanente sino transitoria y además las células T tratadas con Timoglobulina no adquirirían capacidad supresora.<sup>54</sup>

Un nuevo anticuerpo policlonal murino sintetizado de la misma forma que la Timoglobulina se ha utilizado para estudiar la supervivencia del injerto y los mecanismos implicados. Este nuevo anticuerpo asociado con Sirolimus deplecionaba linfocitos T, pero preservaba las células T reguladoras CD25 con lo que se facilitaba la conversión de células T reguladoras y se limitaba la expansión de células T de memoria.<sup>55</sup> El grupo de Morelon, sin embargo, comparó 2 grupos Timoglobulina con Sirolimus frente a Timoglobulina con Ciclosporina, siendo mayor la recuperación de células T de memoria, en los que recibían Sirolimus.<sup>56</sup> Bluestone describió como pacientes tratados con Belatacept, presentaban una acumulación de células T foxp3 superior en las muestras de biopsia del injerto, en comparación con los pacientes

tratados con anticalcineurínicos (ACN).<sup>57</sup> Igualmente los tratados con Sirolimus presentaban mayor porcentaje de células T foxp3 CD4 CD25 frente a los tratados con anticalcineurínicos.<sup>58</sup>

Otros autores investigaron el posible efecto inductor de las células T para control de la respuesta inmune alogénica, entre sus resultados la Timoglobulina no preservaba la capacidad inmunoreguladora de las células T a nivel periférico, pero tras su regeneración si conservaba la actividad supresora de los linfocitos T.<sup>59</sup>

Varios estudios llevados a cabo por Pearl y colaboradores describieron el fenotipo de las células T residuales, tras un tratamiento con anticuerpos policlonales, encontrando un único fenotipo de células T de memoria efectoras resistentes al tratamiento depleccionante. Estas células proliferaban en el primer mes y eran el único tipo que prevalecía en el caso de rechazo. In vitro eran resistentes a esteroides y Sirolimus pero sensibles a anticalcineurínicos.<sup>60</sup> En cuanto a la depleción linfocitaria en regímenes de baja dosis de Timoglobulina (3-5mg/kg), un estudio publicado recientemente resaltó una linfopenia prolongada al cabo de 12 meses, a expensas de linfocitos T CD3 totales, CD4 nativos y de memoria, CD4/CD25/Foxp3 células T reguladoras y células B CD19+. La depleción selectiva era patente en las células T nativas CD4 CD45 RA, resultando en un ratio alterado CD4 de memoria / nativos.<sup>61</sup>

### **1.6- Resultados en el trasplante renal.**

Actualmente casi el 70% de los pacientes de trasplante renal en Estados Unidos reciben tratamiento de inducción con anticuerpos, bien sea policlonales como globulina antitimocítica (Timoglobulina) o monoclonales como los inhibidores del receptor de IL-2 (basiliximab o daclizumab).<sup>62</sup>

#### 1- Rechazo agudo:

El rechazo agudo (RA) mediado por linfocitos T es el más frecuente. Los linfocitos T activados, infiltran el órgano trasplantado y lesionan células endoteliales y epiteliales (en riñón, túbulos) por dos mecanismos; uno secretor, de perforina y granzima B y otro no secretor, mediante la activación del ligando de Fas, dichos mecanismos provocan la muerte de la célula diana por apoptosis. Su fisiopatología es compleja y requiere la participación de moléculas de adhesión, quimiocinas, antígenos procedentes del órgano trasplantado, células que los procesen (células presentadoras de antígenos) y presenten a los linfocitos T, un lugar adecuado para el encuentro de ambas células los órganos linfáticos secundarios, activación de los linfocitos T y su posterior emigración al órgano trasplantado.<sup>33</sup> El RA confirmado histológicamente por biopsia renal se ha estudiado reiteradamente, varios ensayos clínicos han destacado que la Timoglobulina es superior que la triple terapia convencional y que los anticuerpos monoclonales (basiliximab y daclizumab), en pacientes de alto riesgo inmunológico, para disminuir la incidencia de rechazo agudo. Entre ellos el ensayo randomizado canadiense, inducción con globulina antitimocitaria versus triple terapia, observó una incidencia de rechazo agudo menor en el grupo que recibió inducción de forma significativa 28% versus 75% con diferencias estadísticamente definitivas.<sup>63</sup> En el estudio de Castro considerando distintos niveles de PRA, el RR de rechazo agudo entre los hiperinmunizados, se reducía 2,3 veces, en los tratados con Timoglobulina, frente a los que no recibían inducción. La tasa de RA era 16% en el grupo que recibía Timoglobulina, 70% en el que no recibía inducción, 42% el que recibía Simulet y 47% el de OKT3, con diferencias estadísticamente significativas.<sup>64</sup> Entre los ensayos clínicos randomizados que existen sobre globulinas antitimocitarias y anticuerpos monoclonales, la mayor parte comparan Timoglobulina frente a basiliximab. En estos estudios la mayoría no encontraron diferencias significativas en la incidencia de RA

demostrado por biopsia. Sin embargo la inducción con un protocolo de Timoglobulina durante 5 días, comparada con basiliximab en el ensayo clínico randomizado de Brennan, si logró reducir la incidencia y severidad del rechazo agudo 15,6% frente a 25,5%, con diferencias estadísticamente significativas, aunque no redujo la incidencia de retraso en la función del injerto renal 40,4 % frente a 44,5% respectivamente.<sup>65</sup> En el 2009 se publicaron resultados de un ensayo clínico randomizado comparando Timoglobulina frente a daclizumab, mostrando también una menor incidencia de rechazo agudo con Timoglobulina, sin que esto fuera traducido en una mayor supervivencia del injerto y del paciente a largo plazo. La tasa de RA corticorresistentes fue mayor con daclizumab (14,9 frente al 2,7%; p:0,002) además los RA eran significativamente más precoces con daclizumab 13 frente a 35 días; con diferencias estadísticamente significativas.<sup>66</sup>

En un meta-análisis realizado por Webster en el año 2004, la tasa de rechazo agudo (RA), en el grupo que recibió anticuerpos monoclonales frente a placebo, se redujo a los 6 meses (12 ensayos: RR 0.66; CI 0.59-0.74) y al cabo de 1 año (10 ensayos: RR 0.67; CI 0.60-0.75) pero la mayoría de los ensayos clínicos analizados eran de pequeño tamaño y muchos no incluían pacientes de alto riesgo inmunológico.

2- Complicaciones de la utilización de anticuerpos policlonales:

Una forma de estudiar el estado inmune es analizar las subpoblaciones linfocitarias, los datos de los que disponemos en la literatura científica sobre ellas, se centran la mayoría en un periodo de observación de 5 años y existe controversia en cuanto a si la inducción con anticuerpos policlonales aumenta el riesgo de infecciones, tumores, y la mortalidad del paciente. Algunos de los autores han objetivado esta depleción linfocitaria durante años en pacientes que recibían inducción con globulinas antitimocitarias.<sup>67,68</sup> Ducloux y colaboradores recientemente han llevado a cabo estudios, en pacientes con trasplante renal y tratamiento de inducción con anticuerpos policlonales encontrando una asociación entre la depleción de linfocitos T CD4 prolongada en el tiempo y aparición de tumores sólidos, incremento de infecciones oportunistas, mayor aterosclerosis, e incluso una asociación con menor supervivencia del paciente, con diferencias estadísticamente significativas.<sup>77</sup>

El tratamiento con anticuerpos policlonales se ha asociado a un aumento en el riesgo de desarrollar enfermedades oportunistas, siendo más frecuente la enfermedad por Citomegalovirus (CMV), y por virus Ebstein Barr (VEB).<sup>69</sup> Varios estudios comparativos entre anticuerpos policlonales y triple terapia han descrito una mayor tasa de infecciones con los policlonales<sup>70</sup>. Es posible que esto sea secundario a una inmunosupresión más potente, y también la consecuencia de una afectación de la inmunidad celular mantenida. Hoy en día las complicaciones relacionadas con la inmunosupresión, han traído como consecuencia que la investigación en la terapia individualizada busque, métodos que determinen el estado inmune de cada paciente, dada la variabilidad que existe. El análisis de la incidencia de infecciones oportunistas según el régimen inmunosupresor, es complejo por la dificultad para diferenciar el efecto de cada fármaco por separado. Sin embargo en los estudios que abordan el tema no hay dudas de la incidencia superior de infecciones en general y enfermedad por Citomegalovirus tras el tratamiento de inducción con anticuerpos policlonales, tanto en ensayos comparativos frente a triple terapia: Cantarovitch, Castro, Franco, Charpentier, Mourad<sup>63,64,70,122,133</sup> como incluso frente a anticuerpos monoclonales como los ensayos randomizados de Brennan, Sollinger, Lebranchu, Abud -Ayache.<sup>65,151,152,154</sup>

En cuanto a la incidencia de neoplasias según el tratamiento inmunosupresor, destaca algún estudio en el que los autores objetivaron una relación entre la linfopenia secundaria a tratamiento con anticuerpos policlonales y los tumores. En principio la mayor parte de las publicaciones coinciden en que existe una asociación entre el cáncer postrasplante con la edad y el tiempo de evolución del trasplante. Los tumores propios de la población general (máma, cólon, etc) no son más frecuentes, por el contrario los que más se han asociado al tratamiento con anticuerpos policlonales son los trastornos linfoproliferativos postrasplante (PTLD), existiendo en algunas series como la de Opelz<sup>112</sup> diferencias estadísticamente significativas entre distintos grupos de tratamiento.

La supervivencia del injerto renal y del paciente es variable según las características del donante y receptor, así como las diferentes comorbilidades. Hay discrepancias entre los resultados de distintos estudios en pacientes tratados con anticuerpos policlonales frente a triple terapia. El meta-análisis de los ensayos clínicos randomizados de Szczech, del año 1998 obtuvo una mejoría de la supervivencia del injerto tras la inducción con anticuerpos policlonales (aunque sin diferencias significativas, por baja representatividad estadística).<sup>71</sup> Por otra parte entre los ensayos clínicos randomizados anticuerpos policlonales versus monoclonales, la supervivencia del injerto era similar en ambos grupos y tampoco encontraron diferencias en cuanto a la supervivencia del paciente. Desde los inicios del trasplante la principal etiología de la mortalidad ha sido la cardiovascular pero en los últimos años esta incrementándose la debida a neoplasias. Por otra parte la posible asociación de mortalidad y linfopenia ha sido sólo estudiada por Ducloux, siendo menor la supervivencia en los pacientes que presentaban linfocitos CD4 <300 células/mm<sup>3</sup>.<sup>77</sup>



# HIPOTESIS

## 2- HIPÓTESIS

Los pacientes que reciben tratamiento inmunosupresor con anticuerpos policlonales (Timoglobulina) pueden presentar una alteración de la inmunidad celular persistente, durante muchos años después del trasplante renal.

Una linfopenia mantenida a largo plazo, puede dar lugar a una mayor morbimortalidad infecciosa, tumoral y cardiovascular. A largo plazo esta morbilidad aumentada podría originar una menor supervivencia del paciente.

## OBJETIVOS

### 3- OBJETIVOS.

Comparar un grupo de trasplantes renales que recibieron tratamiento de inducción con anticuerpos policlonales (Timoglobulina) frente a un grupo control que fue tratado sin inducción, con el fin de estudiar los efectos de Timoglobulina sobre:

1/ La inmunidad celular: linfocitos CD4, CD8, cociente CD4/ CD8, DR y CD25.

2/ La incidencia de infecciones severas.

3/ La incidencia de enfermedad por CMV.

4/ La incidencia de tumores.

5/ La incidencia de rechazos agudos.

6/ La asociación de dosificación de Timoglobulina y depleción linfocitaria.

7/ Las diferentes causas de mortalidad.

8/ La supervivencia del injerto renal.

9/ La supervivencia del paciente.

10/ La supervivencia del paciente en función de la linfopenia.



## MATERIAL Y METODOS

#### 4- MATERIAL Y METODOS

##### **4.1- Diseño del estudio.**

Estudio de cohortes retrospectivo con un grupo control de comparación.

##### **4.2- Población de estudio.**

Se incluyeron en el estudio de supervivencia los pacientes trasplantados renales realizados entre el año 1990 y 1999 total 570 pacientes (perdidos 29). Se compararon los pacientes que recibieron Timoglobulina (Institut Pasteur-Merieux) como tratamiento de inducción frente a un grupo control que no lo recibió. Los grupos fueron:

- Grupo T: recibió tratamiento de inducción con Timoglobulina asociada a Prednisona, y Azatioprina o Micofenolato sódico e introducción de Ciclosporina al 4º-5º día, n:240. Pacientes trasplantados entre el año 1991 y 1995.

- Grupo no T: pacientes tratados sin Timoglobulina, n:301 trasplantados del año 1995 al 1999.

Criterios de inclusión: todos los trasplantes renales consecutivos que se realizaron en dicho periodo de tiempo.

Criterios de exclusión: trasplantes con pérdida inmediata a la cirugía por complicaciones técnicas.

El estudio que comprende las distintas subpoblaciones linfocitarias, datos analíticos, inmunosupresión recibida, infecciones severas, y tumores se realizó en los trasplantes renales consecutivos realizados entre los años 1994 y Mayo 1998, n:253 pacientes entre los que no disponemos de la historia de 27, siendo el total de pacientes analizados 226 (grupo T n:107 y grupo no T n:118). La muestra seleccionada corresponde a dicho período de tiempo y en él se aplicaron los dos protocolos de tratamiento inmunosupresor diferentes. La incidencia de rechazo agudo, enfermedad CMV y supervivencia del injerto y paciente se estudió en la muestra de trasplantes renales de los años 90-99. Se analizó la supervivencia en una población mayor para evitar el sesgo de los pacientes fallecidos perdidos entre los años 94-98.

La siguiente tabla 1 muestra el número y el porcentaje de pacientes anual según el tratamiento que recibieron: inducción o no con Timoglobulina. Se pautó Micofenolato en lugar de Azatioprina en los años 97, 98 y 99, en 167 pacientes. En la muestra hay 15 pacientes que recibieron otros inmunosupresores.

	<b>Timoglobulina</b>	<b>No Timoglobulina</b>	<b>Otros IS</b>	<b>Total</b>
1990	23(69,7%)	10(30,3%)		33
1991	37(100%)	0		37
1992	40(100%)	0		40
1993	41(100%)	0		41
1994	42(100%)	0		42
1995	55(76,4%)	17(23,6%)		72
1996	20(39,2%)	27(52,9%)		51
1997	0	75 (100%)		75
1998	0	72(83,7%)	13(15,1%)	86
1999	1	90(96,8%)	2 (2,2%)	93

**Tabla 1: Pacientes anuales de cada grupo.**

#### **4.3- *Ámbito de estudio.***

En las historias recogidas de los trasplantes renales, se analizó la medicación inmunosupresora anualmente, los niveles y las dosis de ciclosporina, la dosis de prednisona anual, así como la dosis de Timoglobulina (Institut Pasteur Merieux).

El estudio de las subpoblaciones linfocitarias se realizó en aquellos años por citometría de flujo, utilizando distintos anticuerpos monoclonales. Para estudiar el recuento absoluto de linfocitos CD4, CD8, DR y CD25 se calcularon los porcentajes de linfocitos sobre el total de leucocitos y el porcentaje de cada subpoblación sobre el total de linfocitos.

Los episodios de rechazo agudo diagnosticados por anatomía patológica, se trataron con bolos de 500 mg de metilprednisolona intravenosa al día, durante 3 días. En casos de resistencia al tratamiento se administraban anticuerpos monoclonales: OKT-3.

Los siguientes parámetros analíticos anuales, se recogieron de las historias clínicas: dosis y niveles de los agentes inmunosupresores, leucocitos, linfocitos totales y porcentajes de cada subpoblación linfocitaria: CD4, CD8, CD25, DR, creatinina sérica y proteinuria. Se recogió la incidencia de rechazo agudo, de tumores, e infecciones severas, incluyendo neumonías, infecciones bacterianas graves, y enfermedad por CMV. Por último se analizó la supervivencia del injerto renal, y del paciente, las causas de mortalidad clasificadas como: séptica, cardiovascular y tumoral.

#### **4.4- *Variables, codificación y tabulación.***

##### **Cualitativas:**

- Sociodemográficas: sexo, causa de insuficiencia renal crónica (IRC), tipo de enfermedad glomerular (ordinal).

- Relacionadas con el trasplante: infección CMV, enfermedad CMV, tipo de enfermedad CMV (ordinal), fecha éxitus, causa de muerte, fecha de pérdida del injerto renal, evolución del trasplante (ordinal). Rechazos agudos, y rechazos corticorresistentes.

**Cuantitativas:**

-Analíticas (anual): leucocitos, linfocitos CD4, CD8, DR, CD25, cociente CD4/CD8, dosis de ciclosporina, niveles de ciclosporina, dosis de Micofenolato mofetil, dosis de prednisona, creatinina plasmática, volumen de diuresis, creatinina en orina y proteínas en orina.

-Relacionadas con el trasplante: fecha del trasplante, edad donante, edad receptor, tiempo de isquemia fría, tipo de tratamiento (ordinal), tratamiento con OKT3 del rechazo agudo, dosis y días de tratamiento de Timoglobulina, infecciones severas, tumores, fecha del tumor, tipo de tumor (ordinal).

La recogida de la información se llevó a cabo a través de la historia clínica, los episodios de infecciones severas se cuantificaron y se clasificaron, siendo considerados severos los que precisaron ingreso. Los datos analíticos presentes analítica general completa, niveles de fármacos inmunosupresores, estudio de inmunidad celular, serología viral CMV se encontraron ordenados por año, en hojas anexas a la historia clínica recogidas en el momento de la visita médica.

#### **4.5- Análisis estadístico.**

Las variables cualitativas se describieron con porcentajes y las variables cuantitativas con una distribución normal, con la media y la desviación estándar. Las asimétricas que no seguían distribución normal, con la mediana y sus percentiles o rangos intercuartílicos.

En el análisis estadístico para variables cualitativas, se realizó la prueba Chi-Cuadrado. Para las variables cuantitativas con distribución paramétrica, se utilizó la prueba T de Student y para las cuantitativas con distribución no paramétrica, con el test de la mediana.

La curva de supervivencia del paciente fue estratificada por grupo de tratamiento, fue utilizado el método de Kaplan-Meier, la comparación se hizo con log rank. Se consideró estadísticamente significativa una  $p < 0,05$ . Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 15 para el análisis de datos. La influencia de varios factores de riesgo combinados se estudió con el Modelo de Regresión de Cox. La descripción gráfica de las variables cuantitativas asimétricas, se realizó con diagramas de cajas. Las cualitativas simétricas con barras de error.

## RESULTADOS

## 5- RESULTADOS

### **5.1- Características generales de los grupos.**

Los 2 grupos estudiados tenían las mismas características basales, no existiendo diferencias significativas en cuanto a la edad del receptor, y del donante, el tiempo de isquemia fría postrasplante y el grado de compatibilidades HLA (A-B-DR match) entre ambos grupos de tratamiento. Tampoco hubo diferencias en el grado de sensibilización previa al trasplante (PRA)

En la tabla 1 se describen los siguientes datos demográficos de la muestra total de pacientes.

	<b>Grupo T</b>	<b>Grupo no T</b>	<b>p</b>
Edad donante (años)	38,8±16,5	41±16,7	0,10
Edad receptor(años)	49±13,2	48±12,8	0,90
T° en diálisis (meses)	49±28	46±32	0,41
PRA máximo	19,6±27,5	17±26	0,20
HLA match	2,5±10	2,8 ±7	0,32

**Tabla 1: Características basales de la población global.**

En la tabla 2 se describen las características basales de la población trasplantada de la que se dispone del estudio de las subpoblaciones linfocitarias.

	<b>Grupo T</b>	<b>Grupo no T</b>	<b>p</b>
Edad donante (años)	41±16	42±16	0,1
Edad receptor(años)	51±13	49±12	0,09
Sexo (Hombre/mujer)	64/47	92/50	0,24
T° isquemia Fría (horas)	18,8±5,6	19±4,6	0,20
HLA match	2,08±1,04	1,95±1,03	0,31

**Tabla 2: Características basales en la población de estudio.**

Las causas de enfermedad renal crónica (ERC) entre los receptores estudiados trasplantados entre el año 94 y 98, se representan en la siguiente tabla 3.

<b>Etiología ERC</b>	<b>Grupo T n(%)</b>	<b>Grupo no T n(%)</b>	<b>p</b>
GN	23(20,7)	43(30,7)	ns
NTIC	23(20,7)	22(15,7)	ns
NAE	17(15,3)	8(5,7)	ns
PQ	18(16,2)	18(12,9)	ns
DM- 1	5(4,5)	7(5)	ns
DM- 2	2(1,8)	4(2,9)	ns
Malformación	2(1,8)	4(2,8)	ns
No filiada	18(16,2)	26(18,4)	ns
Sd. Alport	0	5(3,6)	ns
Otras	3(2,7)	3(2,1)	ns

Glomerulonefritis (GN), Nefritis túbulo intersticial crónica (NTIC), Nefroangioesclerosis (NAE), Poliquistosis renal (PQ), Diabetes Mellitus (DM), Malformaciones y etiología no filiada.

**Tabla 3: Causas de ERC de los receptores de trasplante estudiados.**

En relación a la inmunosupresión recibida, no existían diferencias entre los niveles de ciclosporina (exceptuando el año decimo), las dosis de micofenolato mofetilo y de prednisona, durante los 10 años de seguimiento.

Los niveles y las dosis de ciclosporina fueron recogidos de la historia clínica anualmente de cada revisión, se consideraron los niveles valle y se excluyeron de la muestra aquellas determinaciones realizadas mediante concentración a las 2 horas.

Los niveles valle del fármaco se representan en la siguiente tabla 4.

Ciclosporin	No Timoglobulina		Timoglobulina		P
	N	media±DE	N	media±DE	
csna año 1	83	164±44	37	198±45	0,5
csna año 2	95	144±45	66	189±58	0,06
csna año 3	69	134±49	85	174±58,7	0,11
csna año 4	84	135±55	88	153±56	0,21
csna año 5	79	132±83	83	141±49	0,26
csna año 6	71	118±61	80	134±60	0,59
csna año 7	76	126,8±99	79	126±64	0,53
csna año 8	70	119±110	70	134±97	0,61
csna año 9	63	95±53	61	117±72	0,06
csna año 10	56	93±35	58	128±45	0,01

Tabla 4: Niveles de ciclosporina (ng/ml) a lo largo de 10 años.

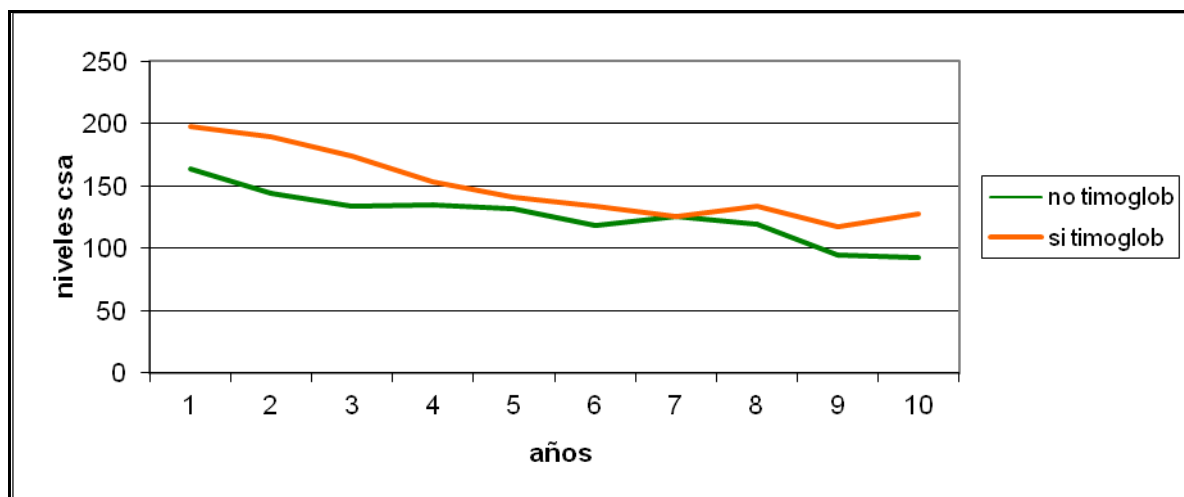


Figura 1: Niveles de ciclosporina (ng/ml) en ambos grupos.

La dosis de Esteroides fue disminuida progresivamente desde 10 mg al día de media al 6° mes, 10 mg de media al 1° año, hasta 2,5 mg de media al 10° año del trasplante renal, como se puede observar en la siguiente tabla 5.

		<b>No Timoglobulina</b>		<b>Timoglobulina</b>	
Prednisona	N	Mediana (RIC)	N	Mediana (RIC)	p
pred 1 mes	102	45(35-50)	94	40 (35-50)	0,45
pred 6mes	102	10(10-10)	86	10 (10-15)	0,01
pred 1 año	101	10(10-10)	91	10 (10-10)	0,3
pred 2 año	101	10(10-5)	89	10 (10-5)	0,13
pred 3 año	101	10(10-5)	88	10 (0-10)	0,22
pred 4 año	100	10(10-5)	86	8,5(0-10)	0,85
pred 5 año	100	7,5(0-10)	86	10(10-5)	0,27
pred 6 año	96	5(0-10)	84	5(0-10)	0,98
pred 7 año	93	5(0-10)	85	5(0-10)	0,64
pred 8 año	91	5(0-10)	79	5(0-7,5)	0,41
pred 9 año	89	5(0-7,5)	76	1,25(0-10)	0,32
pred 10 año	87	2,5(0-5)	71	0(0-10)	0,25

**Tabla 5: Dosis de Prednisona (mg/24h).**



Figura 2: Dosis de Prednisona (mg /día).

### 5.2- Estudio de las subpoblaciones linfocitarias.

La variable principal del estudio representaba el análisis de las subpoblaciones linfocitarias. Se recogieron los porcentajes de cada uno de los subtipos, anualmente, hasta el 10º año incluido. Los subtipos de linfocitos estudiados fueron CD4, CD8, DR y CD25. En la siguiente figura se representan los linfocitos totales anuales hasta el año 10º en ambos grupos.

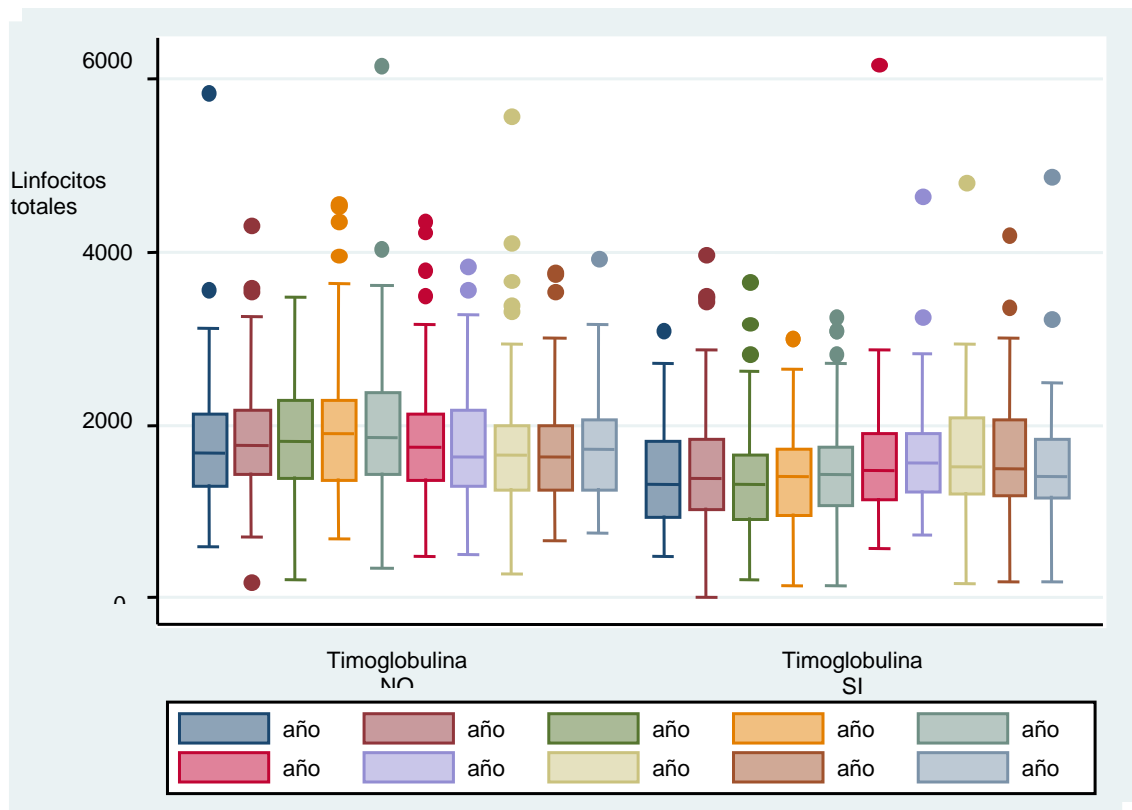


Figura 3: Linfocitos totales en ambos grupos hasta el año 10.

a- Recuento absoluto linfocitario de CD4 <300 células /mm<sup>3</sup>:

El recuento de linfocitos CD4<300 células/mm<sup>3</sup>, se observaba en un porcentaje significativamente mayor de pacientes del grupo tratado con Timoglobulina, fundamentalmente en los primeros años, pero con mantenimiento en el tiempo.

El porcentaje de pacientes con recuento de linfocitos CD4< 300 células/ mm<sup>3</sup> se representan en la tabla 6 y figura 4. Destaca la persistencia a los 10 años del trasplante renal de linfocitos CD4< 300 células/ mm<sup>3</sup> en el 7,8% de los pacientes del grupo que recibió Timoglobulina.

	CD4	No Timoglob		Timoglob		p
		N	%	N	%	
año 1	<300	7	7,0	36	42,4	<0,05
año 2	<300	2	2,1	18	24,7	<0,05
año 3	<300	5	5,3	15	22,1	<0,05
año 4	<300	5	5,1	17	22,7	<0,05
año 5	<300	5	5,3	6	8,0	<0,05
año 6	<300	5	5,4	5	6,3	ns
año 7	<300	4	4,3	9	11,3	<0,05
año 8	<300	5	5,6	7	9,9	<0,05
año 9	<300	2	2,3	6	8,3	<0,05
año 10	<300	0	0,0	5	7,8	<0,05

**Tabla 6: Pacientes con Linfocitos CD4 < 300 células/mm<sup>3</sup> hasta el 10° año en ambos grupos.**

## Pacientes

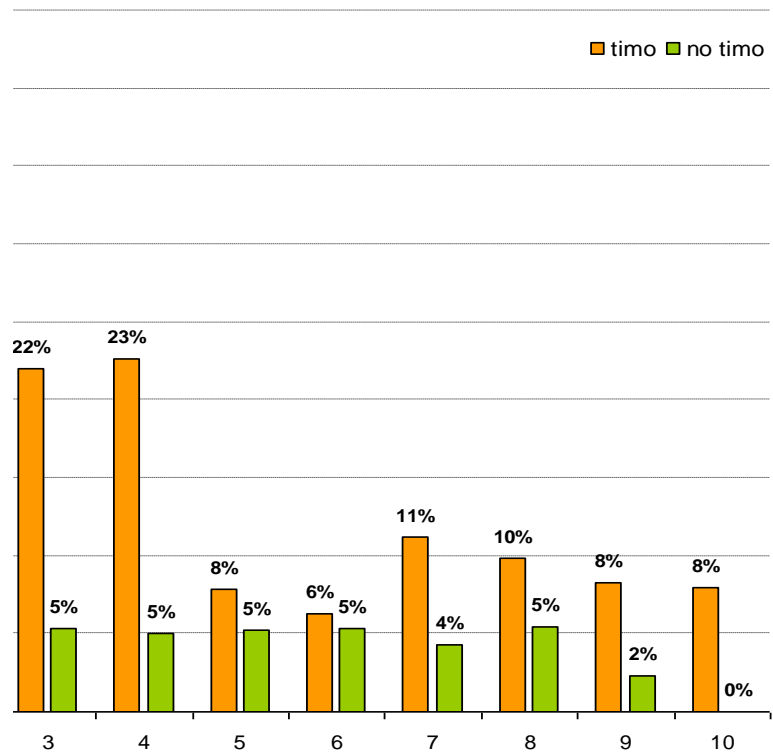


Figura 4: Pacientes con linfocitos CD4 < 300 células/mm<sup>3</sup> hasta el 10º año en ambos grupos.

El recuento absoluto de linfocitos CD4 se expresó en mediana (RIC) por no seguir una distribución normal. En la tabla 7 y figura 5 se observan valores inferiores en el grupo con tratamiento de inducción con Timoglobulina, siendo las diferencias estadísticamente significativas hasta el 8° año.

		<b>Timoglobulina</b>		<b>No Timoglobulina</b>	
<b>Linfocitos CD4</b>	N	Mediana(RIC)	N	Mediana(RIC)	p
CD4 año 1	85	377 (213-567)	100	790 (582-1068)	0,0001
CD4 año 2	73	426 (307-612)	96	827 (497-1128)	0,001
CD4 año 3	68	425 (323-550)	95	821 (563-1087)	0,0001
CD4 año 4	75	453 (318-745)	99	834 (606-1187)	0,001
CD4 año 5	76	524(385-792)	96	856 (590-1104)	0,001
CD4 año 6	79	586 (416-872)	93	838 (626-994)	0,0001
CD4 año 7	80	654 (455-834)	93	818 (600-1033)	0,0001
CD4 año 8	71	646(440-883)	91	801(585-994)	0,007
CD4 año 9	64	725(473-904)	88	773(576-993)	0,86
CD4 año 10	63	611 (499-877)	85	766(568-1069)	0,08

**Tabla 7: Linfocitos CD4 recuento absoluto (células/mm<sup>3</sup>).**

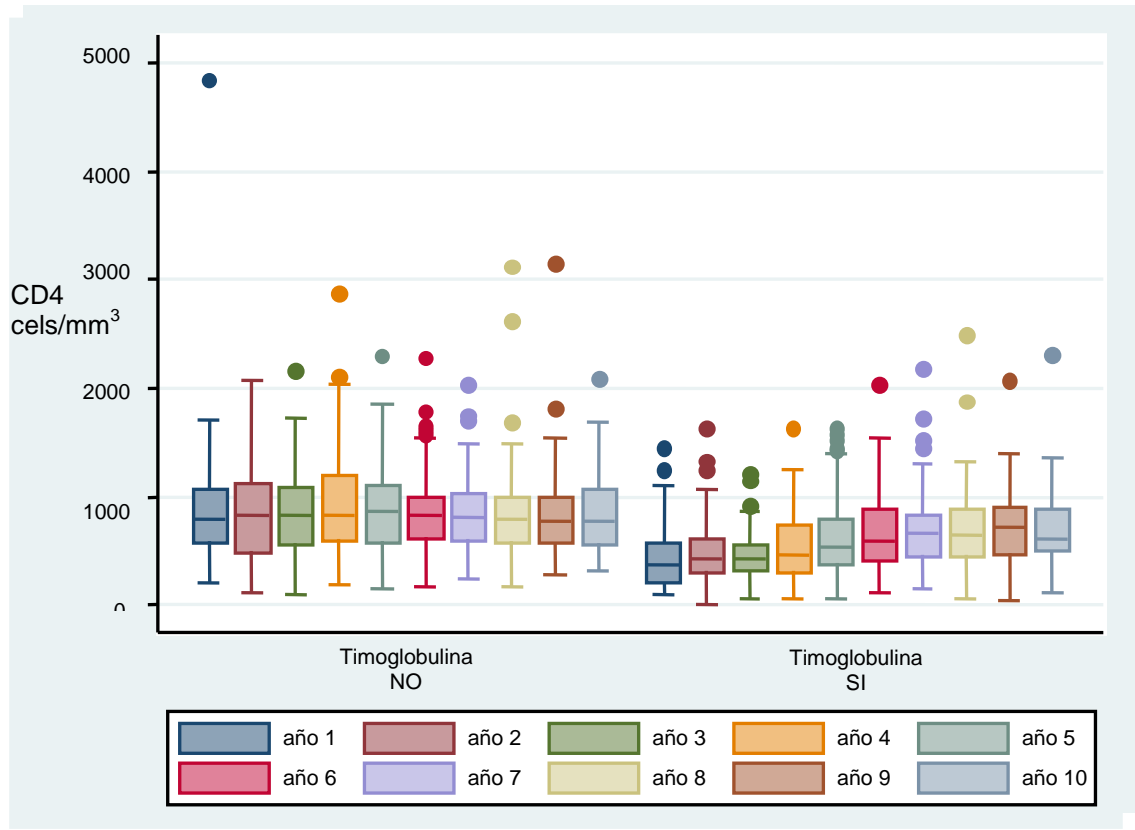
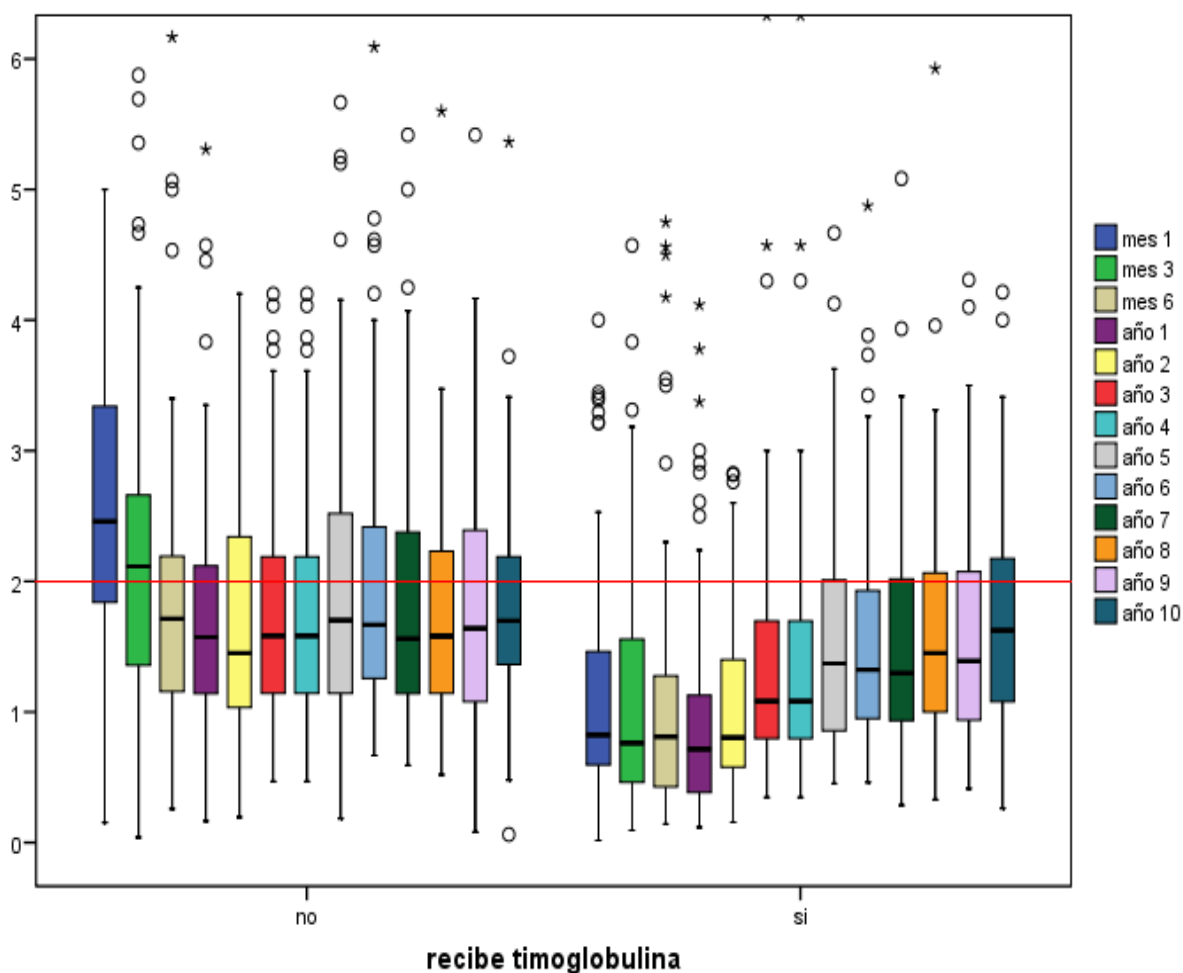


Figura 5: Linfocitos CD4 recuento absoluto (células/mm<sup>3</sup>).

b- El cociente CD4/ CD8:

El cociente CD4/ CD8 se mantuvo invertido, en mayor proporción en el grupo T, principalmente en los primeros años, siendo el descenso estadísticamente significativo hasta el 6º año incluido, y permaneciendo en años posteriores en niveles similares, en ambos grupos. En la siguiente figura 6 se recogen los cocientes del 1º, 3º y 6º mes y anuales hasta el 10º año en los 2 grupos de tratamiento.



**Figura 6: Diagrama de cajas, cociente CD4/CD8, en el grupo que no recibe Timoglobulina (izquierda) y en el que sí recibe (derecha). \* p<0,05**

c- Linfocitos CD8:

Los linfocitos CD8 se encontraban disminuidos en el grupo que recibió Timoglobulina con diferencias estadísticamente significativas hasta el 4º año en los diferentes grupos como se ve en la figura 7 y tabla 8.

Linfocitos CD8	Timoglobulina		No Timoglobulina		p
	N	Mediana(RIC)	N	Mediana(RIC)	
CD8 año1	86	469 (319-736)	100	509 (360-750)	0,003
CD8 año 2	72	470 (319-736)	96	551 (374-760)	0,01
CD8 año 3	69	436 (296-627)	95	537 (371-713)	0,04
CD8 año 4	75	494 (266-670)	99	566 (356-796))	0,05
CD8 año 5	77	425 (297-631)	96	544(345-729)	0,1
CD8 año 6	79	443 (324-638)	93	475 (327-664)	0,76
CD8 año 7	80	463 (353-654)	70	492 (339-685)	0,05
CD8 año 8	71	474(226-693)	90	487 (373-670)	0,57
CD8 año 9	65	484 (311-653)	88	491 (344-670)	0,89
CD8 año10	63	438 (239-617)	85	496 (358-621)	0,27

**Tabla 8: Linfocitos CD 8 anuales en ambos grupos.**

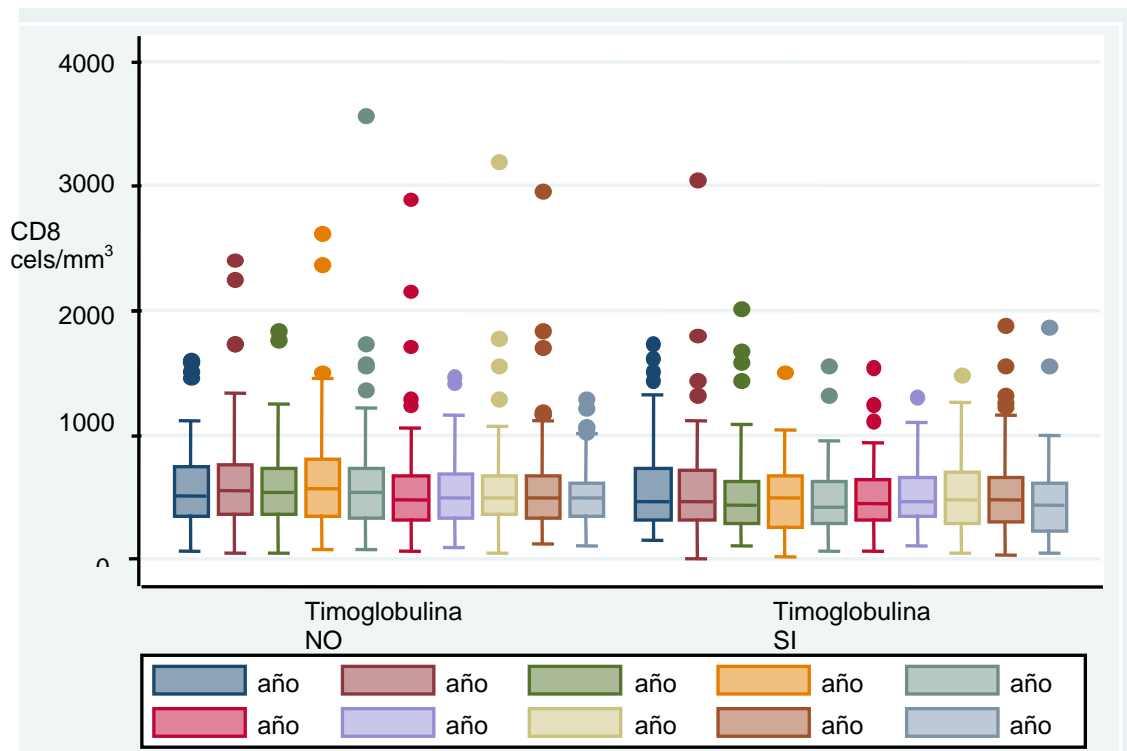


Figura 7: Diagrama de cajas, linfocitos CD8 células/mm<sup>3</sup> anuales, en ambos grupos.

c -Linfocitos con expresión CD25:

Los linfocitos con expresión CD25, presentaron un ligero descenso los 3 primeros años en el grupo T, no significativo desde el punto de vista estadístico y un descenso significativo en los años 6 y 7. Los datos se representan en la siguiente tabla 9 y figura 8.

Linfocitos CD25	Timoglobulina		No Timoglobulina		p
	N	Mediana(RIC)	N	Mediana(RIC)	
CD25 año 1	62	127 (79-256)	6	117 (78-251)	0,66
CD25 año 2	24	194(113-300)	2	234 (52-415)	0,62
CD25 año 3	29	147 (77-291)	29	125(55-326)	0,39
CD25 año 4	10	159 (117-229)	58	114 (63-240)	0,08
CD25 año 5	13	56 (41-127)	79	130 (69-240)	0,13
CD25 año 6	50	68 (39-146)	83	119 (59-260)	0,05
CD25 año 7	65	95 (57-160)	86	221(98-352)	0,001
CD25 año 8	65	129 (74-227)	87	213 (92-415)	0,08
CD25 año 9	70	145 (89-320)	83	199(112-448)	0,08
CD25 año 10	62	178 (95-285)	80	278(146-543)	0,2

**Tabla 9: Linfocitos CD 25 células/mm<sup>3</sup> anuales en ambos grupos.**

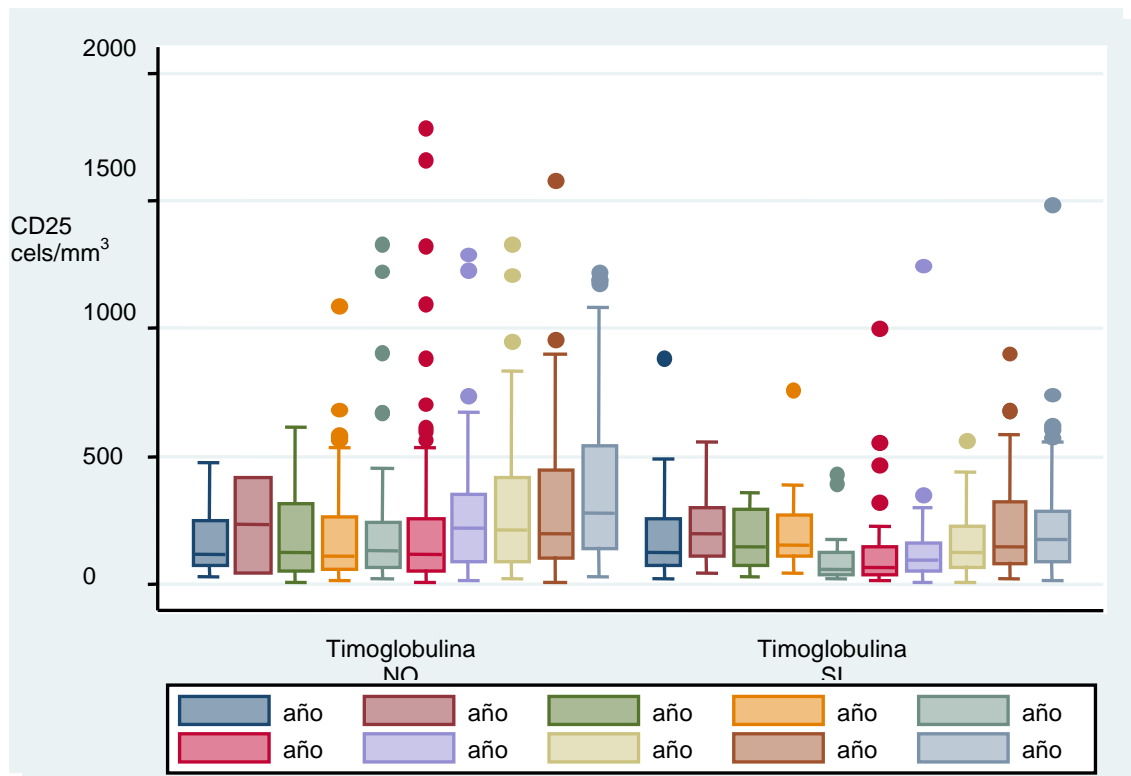


Figura 8: Diagrama de cajas, linfocitos CD 25 células/mm<sup>3</sup> anuales en ambos grupos.

d- Linfocitos con marcador DR:

	<b>Timoglobulina</b>		<b>No Timoglobulina</b>		
	<b>N</b>	<b>Mediana(RIC)</b>	<b>N</b>	<b>Mediana(RIC)</b>	<b>p</b>
DR año 1	74	369 (210-567)	77	800(558-1085)	0,0001
DR año 2	61	425(321-612)	74	827(506-1113)	0,001
DR año 3	55	426(303-549)	73	822(596-1123)	0,0001
DR año 4	63	447(318-745)	77	816(616-1170)	0,001
DR año 5	64	524(376-816)	73	837(628-1180)	0,001
DR año 6	67	607(374-827)	70	866(668-1150)	0,0001
DR año 7	69	628(406-793)	71	847(632-1034)	0,0001
DR año 8	63	646(403-883)	68	816(597-1047)	0,007
DR año 9	64	725(454-901)	68	757(578-1038)	0,86
DR año 10	56	604(493-850)	67	737(538-994)	0,08

**Tabla 10: Evolución de linfocitos con marcador DR (células/ mm<sup>3</sup>).**

El marcador DR se encontraba disminuido en el grupo T con respecto al grupo no T durante todos los años hasta el 8º año, con diferencias estadísticamente significativas.

**5.3- Dosificación de Timoglobulina y recuento de linfocitos CD4<300/mm<sup>3</sup>.**

CD4<300/mm <sup>3</sup>	Dosis <5mg/kg		Dosis >5 mg/kg		p
	n	%	N	%	
año1	4	22,2%	31	49,2%	0,04
año2	2	11,7%	6	29,6%	0,14
año3	3	20%	12	23,5%	0,77
año4	3	16,6%	14	25,9%	0,42
año5	0	0	7	11,1%	0,14
año6	1	4,7%	4	7,4%	0,68
año7	1	5,5%	7	12,07%	0,43
año8	1	5,8%	6	12%	0,47
año9	1	6,25%	4	7,7%	0,84
año10	1	6,67%	4	8,7%	0,80

**Tabla 11: Asociación dosis de Timoglobulina y linfocitos CD4< 300 células/mm<sup>3</sup>.**

Se estudió la posible asociación entre el descenso de linfocitos CD4 <300/mm<sup>3</sup> y dosis de Timoglobulina acumulada. Se estratificó en 2 grupos: dosis acumulada < 5 mg/kg, y dosis acumulada > 5mg/kg. Entre los 2 grupos, un mayor porcentaje del grupo con > 5 mg/ kg presentaba recuentos de linfocitos CD4 <300 células/mm<sup>3</sup> pero no se observaron diferencias estadísticamente significativas excepto en el primer año.

En la siguiente figura 10, se representa la correlación linfocitos CD4 al 1º mes y dosis de Timoglobulina recibida.

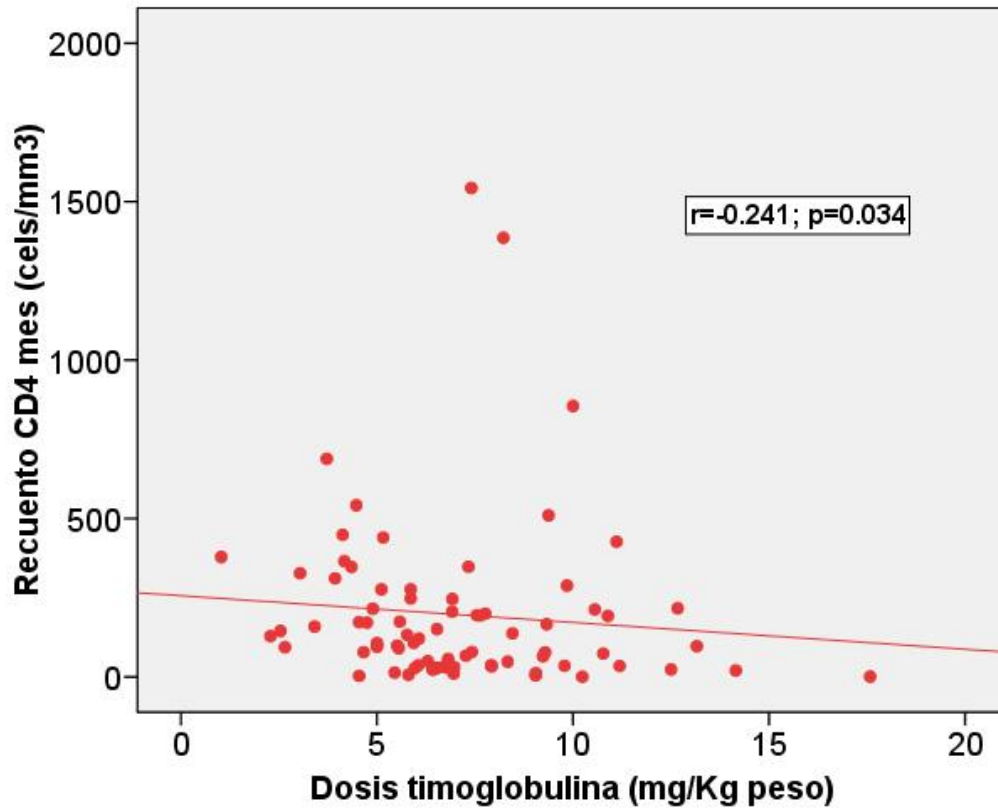
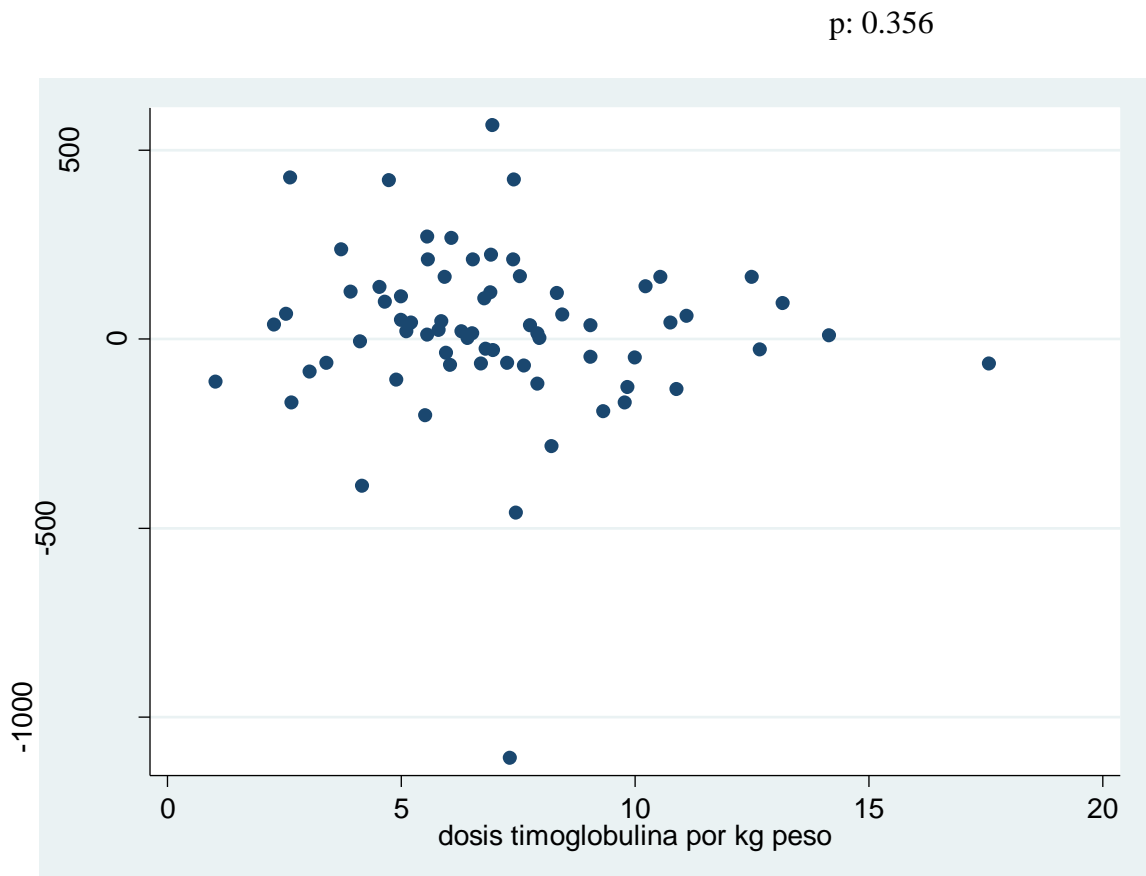


Figura 10: Correlación linfocitos CD4 al 1° mes y dosis de Timoglobulina recibida.

Cuando se estudió la regeneración de linfocitos CD 4 (calculada como el incremento de los linfocitos CD4 al año frente los CD4 a los 6 meses) no se observó una correlación entre la dosis acumulada de Timoglobulina y la regeneración, como se representa en el siguiente gráfico 11.

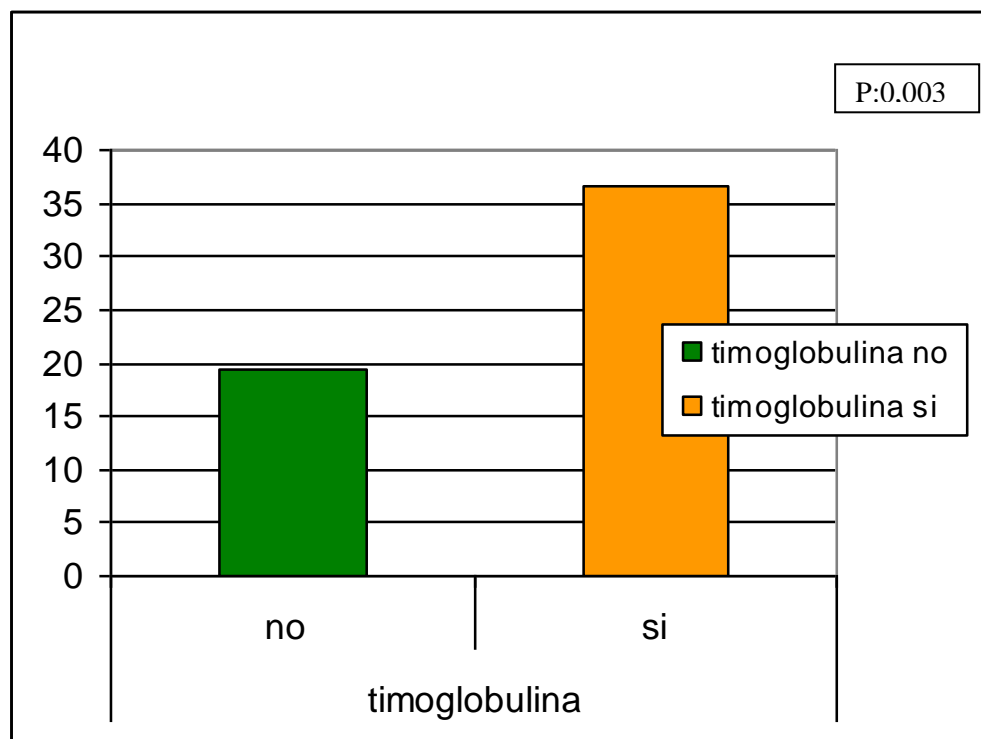


**Figura 11: Gráfico de dispersión. Asociación entre la dosis de Timoglobulina recibida y linfocitos CD4 al 1º año respecto a los 6 meses rho spearman = -0.11 p=0.356**

#### 5.4- Incidencia de infecciones severas.

La incidencia de infecciones severas, fue mayor en el grupo T: 44(36,6%) versus 26 (19,5 %) en el grupo no T, siendo p: 0,003 como se puede ver en la figura 12.

%



**Figura 12: Incidencia de infecciones severas (%).**

Sin embargo no hubo diferencias en la tasa de infección severa dependiendo de la dosis de Timoglobulina. Entre los pacientes que recibieron dosis acumulada de Timoglobulina mayor de 5 mg/dl un 40,5 % presentaron infecciones severas, frente a un 38 %.

### 5.5- Incidencia de enfermedad por CMV.

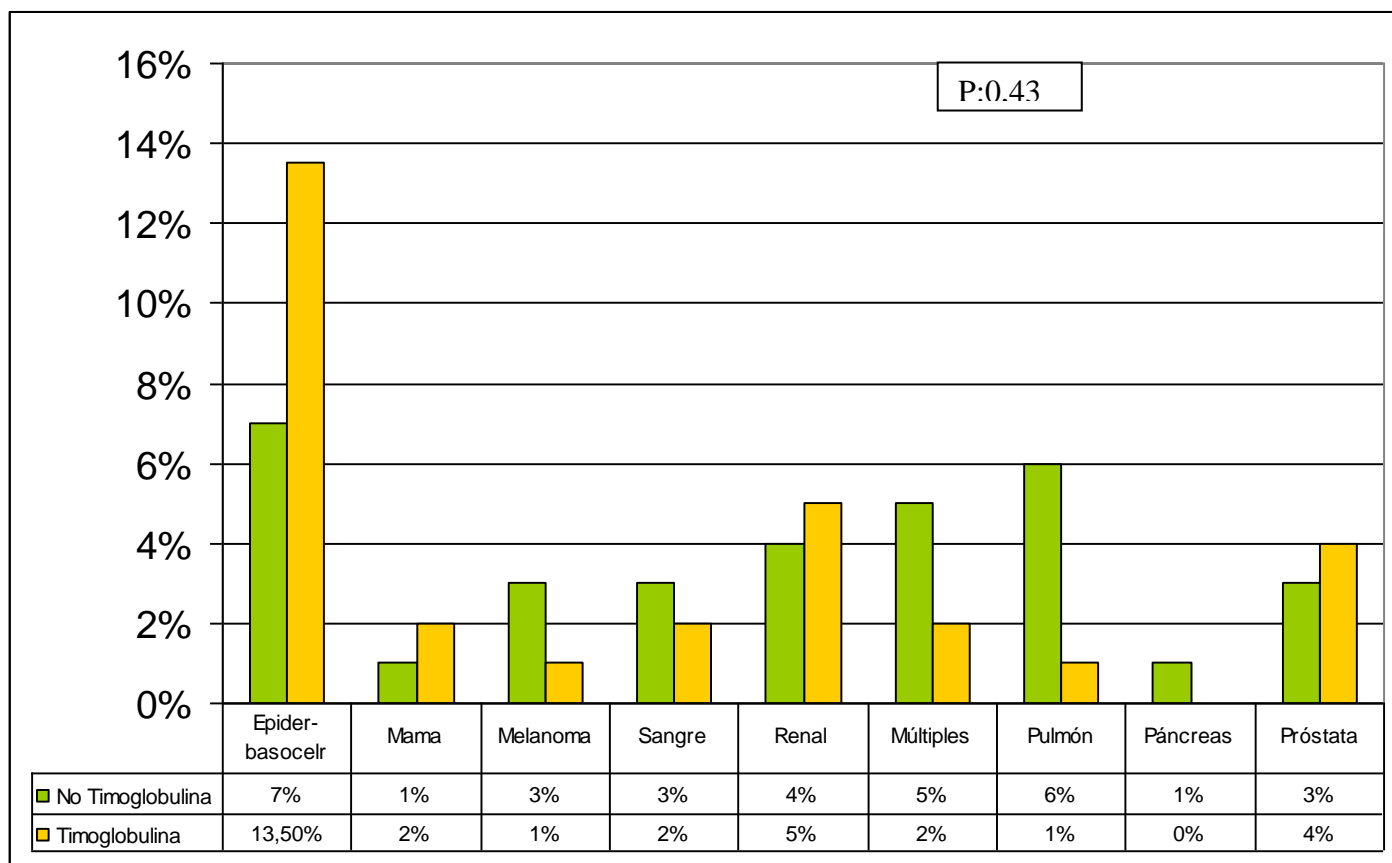
Entre las infecciones oportunistas, fue muy prevalente la enfermedad por citomegalovirus (CMV) con diferencias estadísticamente significativas. Se observó una incidencia de enfermedad por CMV en la muestra de trasplantes global de 60 (25,5%) del grupo T versus 21 (7,1 %) del grupo no T (p: 0,0001). No había diferencias entre grupos en el número de receptores de mayor riesgo (seronegativos con donante seropositivo). Sin embargo, no se encontraron diferencias según la dosis recibida de Timoglobulina, un 27 % en los que recibieron dosis mayores de 5 mg/kg, y un 17,4% con dosis inferiores, sin diferencias estadísticamente significativas. Estudiamos la asociación entre enfermedad CMV y linfocitos CD4 (células/mm<sup>3</sup>) en el 1° y 3° mes siendo los CD 4 inferiores en los que tenían enfermedad CMV, estos datos se representan en la tabla 12.

	<b>CD4 1ºmes mediana (RIC)</b>	<b>CD4 3ºmes mediana (RIC)</b>	<b>p</b>
no enfer.CMV	166(49-282)	249(106-433)	0,001
si enfer.CMV	47(29-104)	130(85-228)	0,07

**Tabla 12. Asociación entre enfermedad CMV y linfocitos CD4 (células/mm<sup>3</sup>) en el 1° y 3° mes.**

### 5.6- Incidencia de cáncer.

Los tumores fueron recogidos de las historias clínicas disponibles, cuantificados y subdivididos por tipo en los años 94-98. Los más frecuentes fueron los cutáneos. La aparición de tumores de piel: epidermoides y basocelulares, fue mayor en el grupo que recibió Timoglobulina 13.5% frente a 7.5% en el grupo no T, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). En los otros tipos de cáncer no hubo diferencias estadísticamente significativas. La incidencia de los distintos tumores se representa en la figura 15.



**Figura 15: Incidencia de tumores según el grupo de tratamiento.**

### 5.7- Incidencia de rechazo agudo.

La tasa de rechazo agudo en la muestra total de trasplantes renales fue menor de forma significativa en el grupo que recibió Timoglobulina 63 (25,9%) frente a 125 (41,5%) el grupo no T (p: 0,02) siendo p:0,001.

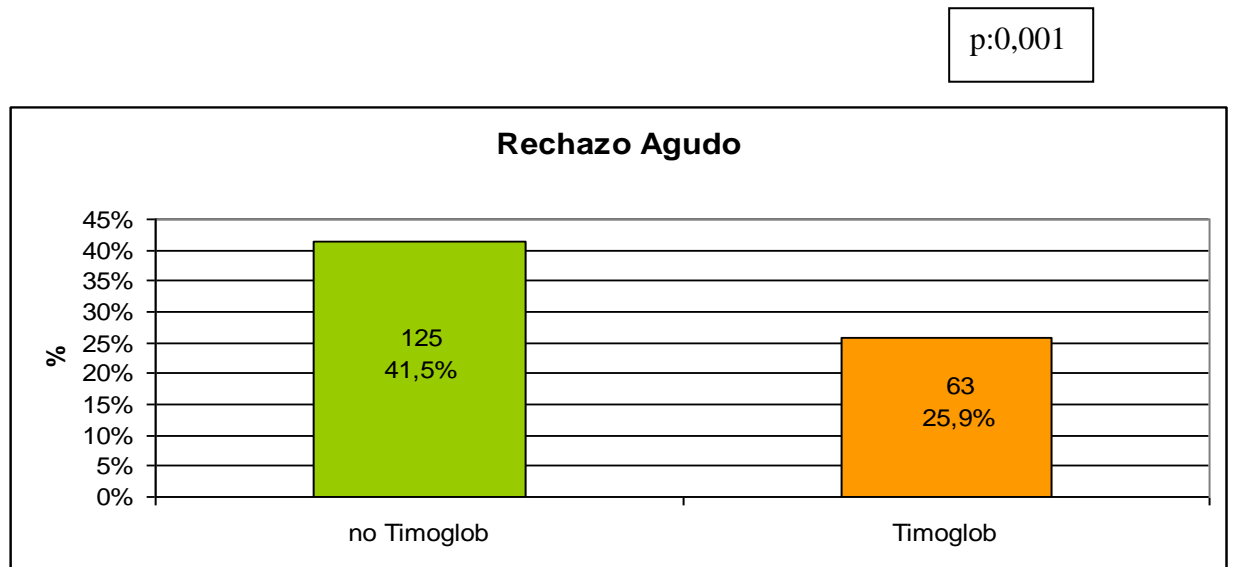


Figura 16: Incidencia de Rechazo agudo.

### 5.9- Supervivencia del injerto renal a 10 años.

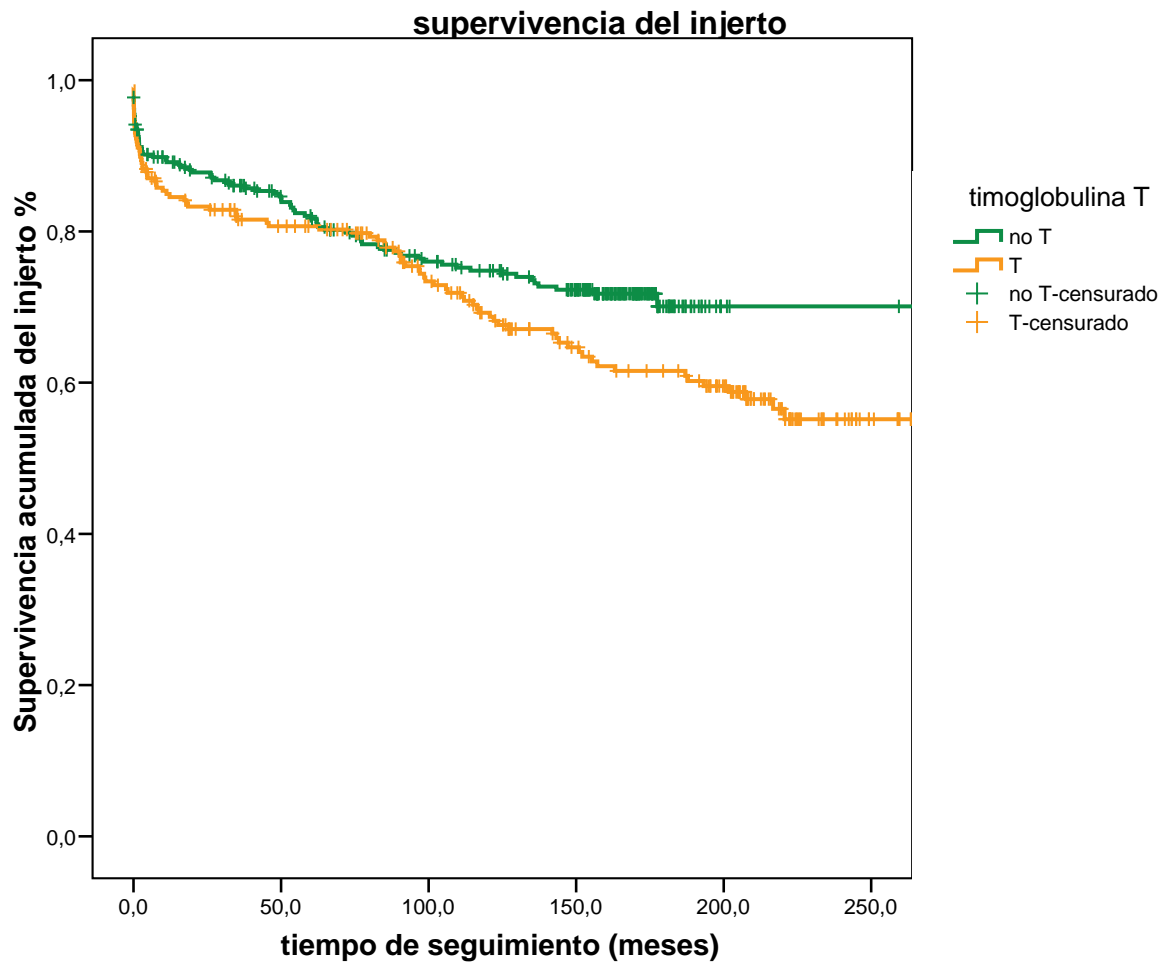


Figura 13: Supervivencia del injerto renal

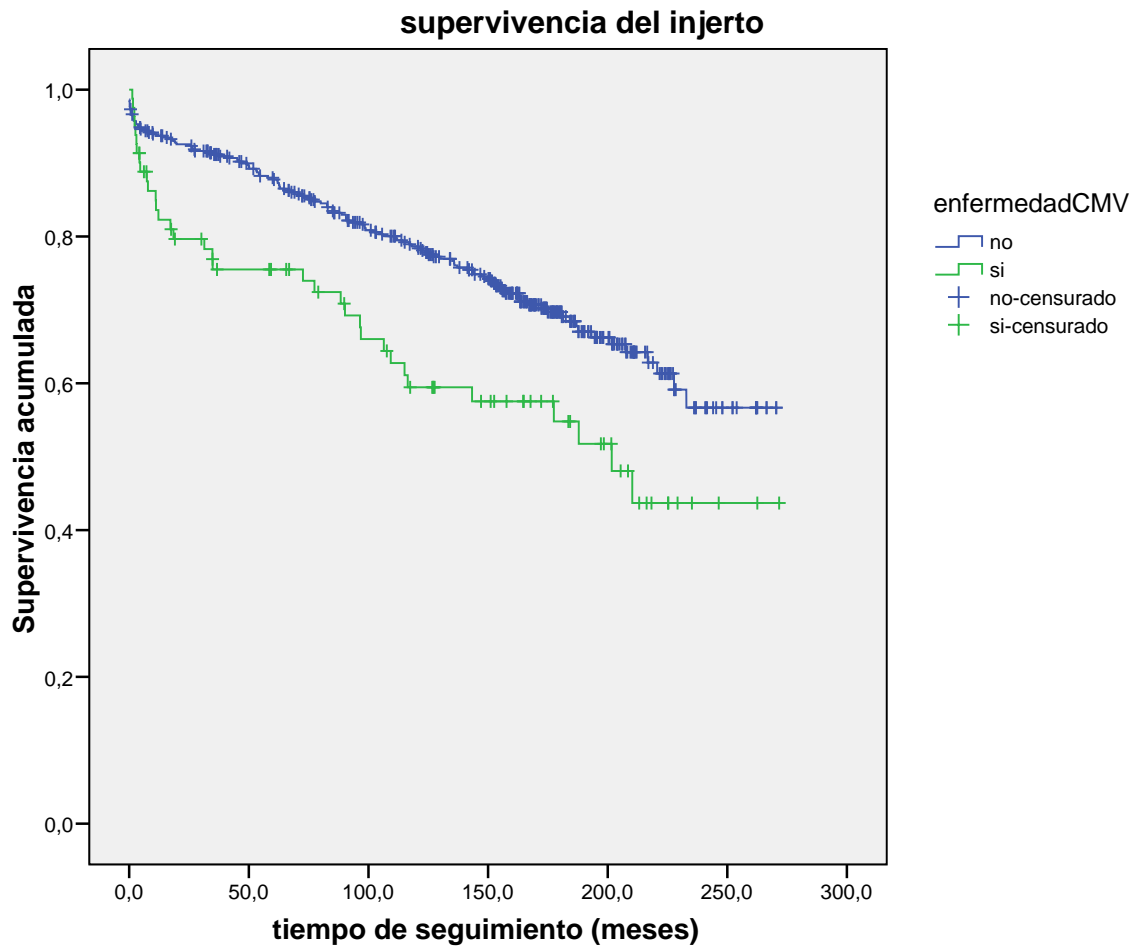
El grupo que recibió tratamiento con Timoglobulina en la muestra global de pacientes presentó inferior supervivencia al cabo de 10 años ( $p:0,054$ ).

Entre las causas de pérdida del injerto la nefropatía crónica del injerto fue la más frecuente, sin diferencias significativas entre grupos.

	No Timoglobulina	Sí Timoglobulina
NCI	33(42,9%)	44(57%)
RA	19(57,6%)	14(42,4%)
Compl. Quir.	10(50%)	10(50%)
Otras	14(52%)	13(48%)
No viable	4(40%)	6(60%)
Recidiva GN	3(37,5%)	5(62,5%)
GN de novo	0	2(100%)
total	83(46,9%)	94(53%)

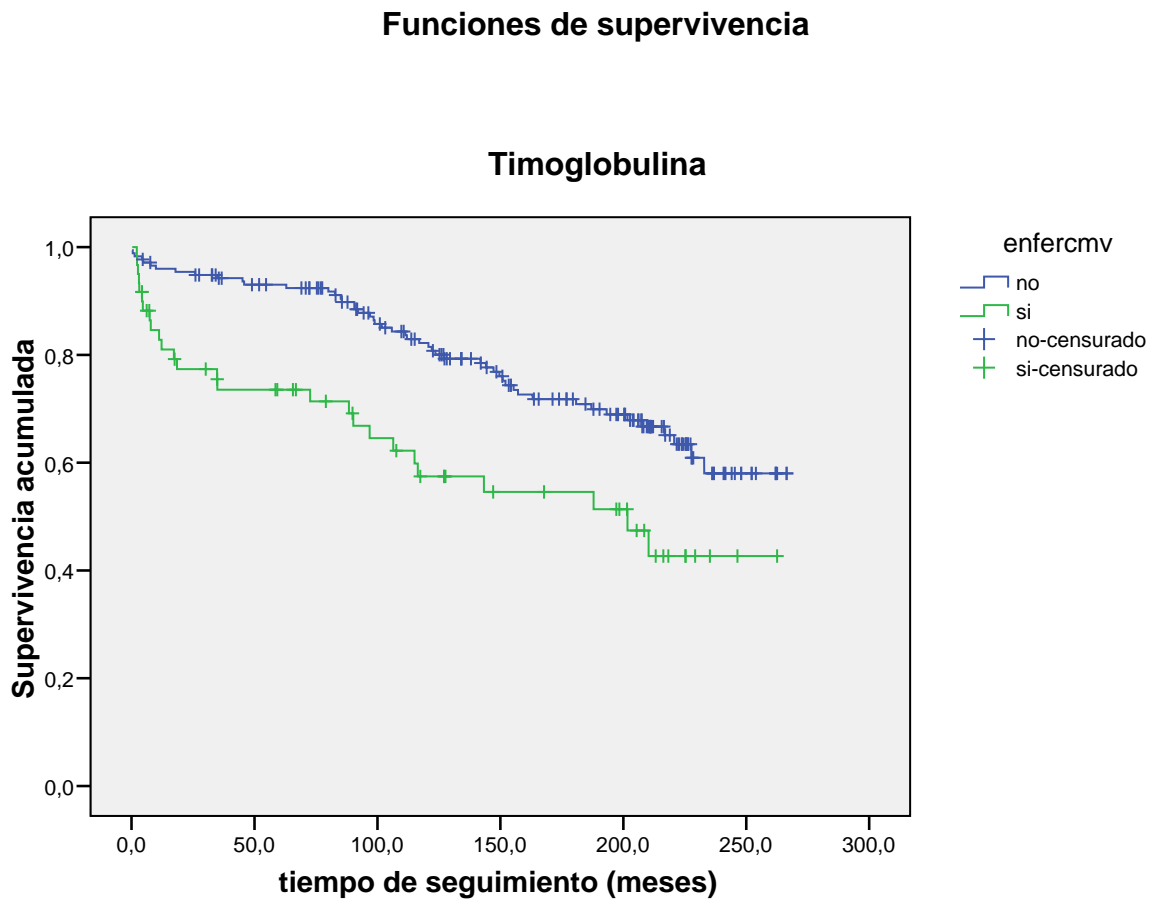
NCI (Nefropatía crónica del injerto), RA (Rechazo agudo), complicaciones quirúrgicas, otras, recidiva de glomerulonefritis, y glomerulonefritis de novo

**Tabla 14: Causas de pérdida del injerto renal.**



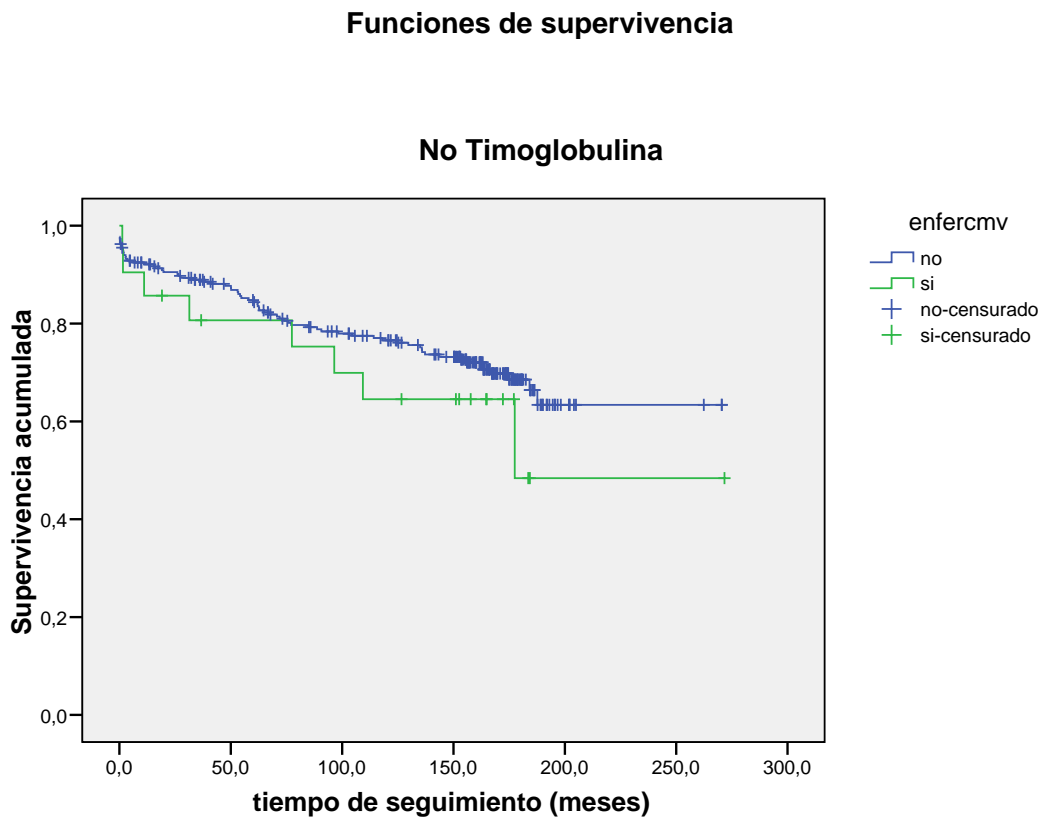
**Figura 14: Supervivencia del injerto en función de enfermedad CMV**

La supervivencia del injerto fue inferior de forma significativa en los que presentaron enfermedad por CMV, (p: 0,003).



**Figura 15: Supervivencia del injerto en lo que recibieron Timoglobulina**

Los pacientes que recibieron Timoglobulina presentaron menor supervivencia del injerto, imputable a la enfermedad por CMV ( $p:0,001$ ).



**Figura 16: Supervivencia del injerto en los que no recibieron Timoglobulina en función de la enfermedad CMV**

Sin embargo los pacientes que no recibieron Timoglobulina no presentaron diferencias significativas ( $p=0,314$ ).

**5.10- Causas de mortalidad y supervivencia acumulada del paciente.**

Las causas de mortalidad en la población total trasplantada entre el 90-99, se describen en la siguiente tabla 15 siendo  $p:0,59$ .

	<b>No Timoglobulina</b>		<b>Timoglobulina</b>	
	n	%	n	%
<b>Sepsis</b>	14	20,3	23	27,1
<b>Tumor</b>	18	26	20	23,5
<b>Cardiovascular</b>	26	37,7	30	35,3
<b>Otras</b>	10	14,5	9	10,6
<b>desconocida</b>	1	1,4	3	3,5

**Tabla 15: Causas de mortalidad.**

Entre el total de pacientes en los que se recogió la mortalidad 554 (n:307 grupo no T y n:247 grupo T) fallecieron 154 (27,7%) entre estos 69 del grupo no T y 85 del grupo T sin diferencias estadísticamente significativas en las causas tumorales, cardiovascular y otras. El porcentaje de pacientes fallecidos por sepsis fue mayor en el grupo T frente al grupo no T con diferencias significativas  $p:0,026$ .

La supervivencia del paciente incluyendo todos los trasplantados incluidos en el periodo 1990-1999, fue inferior en el grupo que recibió Timoglobulina, con diferencias estadísticamente significativas  $p:0,007$  como se observa en la figura 17.

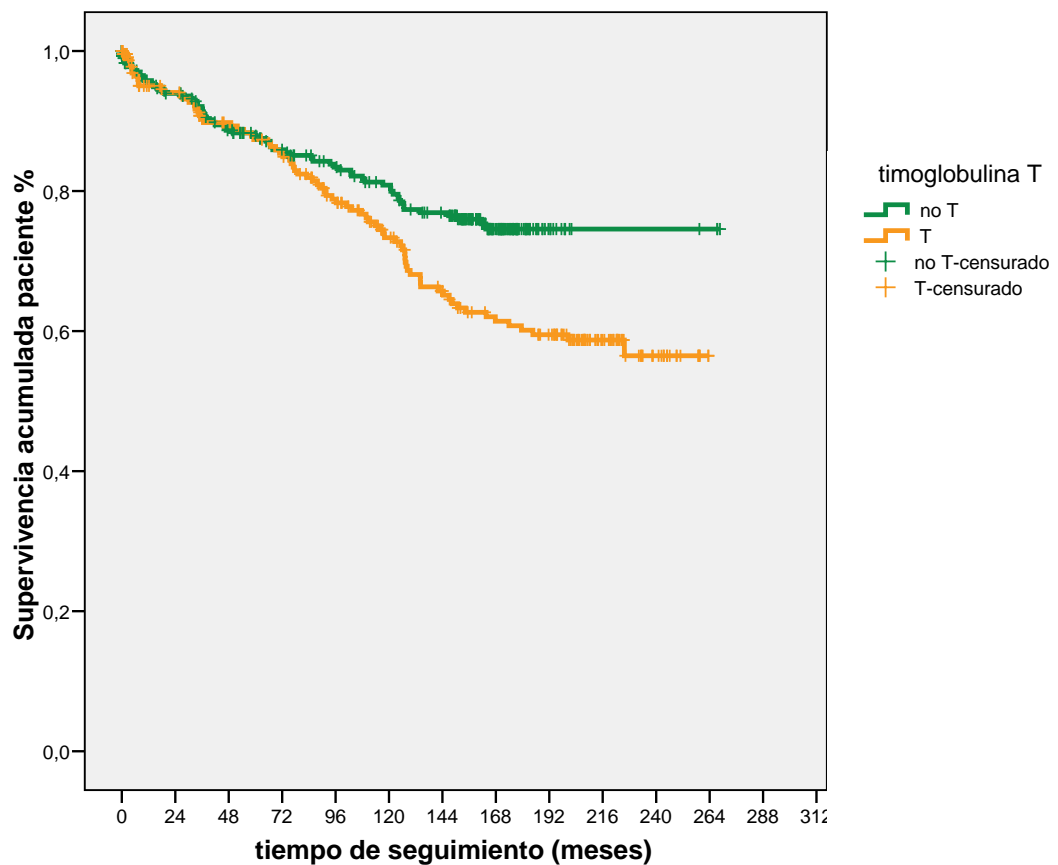
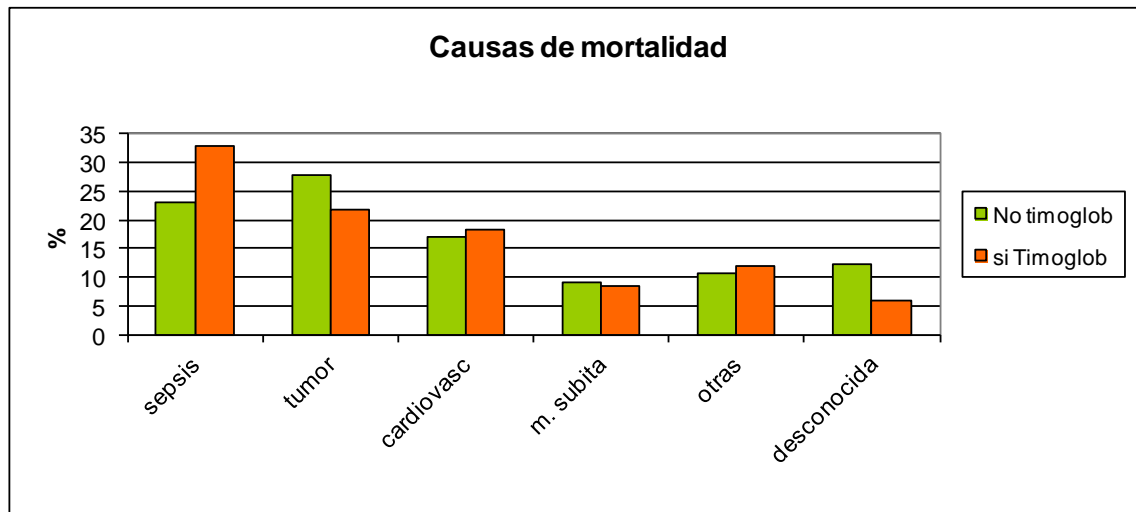


Figura 17: Supervivencia del paciente.

En el Modelo de Cox, ajustado por edad y duración del trasplante renal, los pacientes que presentaban linfocitos CD4<300 células/mm<sup>3</sup>, tenían un (HR) de 6,35 (IC95% 1,71-23,6).

<b>Variables</b>		<b>HR (IC 95%)</b>	<b>p</b>
CD4<300/mm <sup>3</sup>	si	6,35 (1,71-23,6)	0,006
	no	1	
Edad	< 60años	1	
	> 60años	5,16(1,25-21,2)	0,023

**Tabla 16: Modelo de Cox.**

La curva de supervivencia de Kaplan Meier muestra una menor supervivencia en los pacientes que presentaron linfopenia persistente, definida como linfocitos CD4<300 células/mm<sup>3</sup> en más de una determinación, pasado el primer año del trasplante. Esta curva se representa en la figura 18.

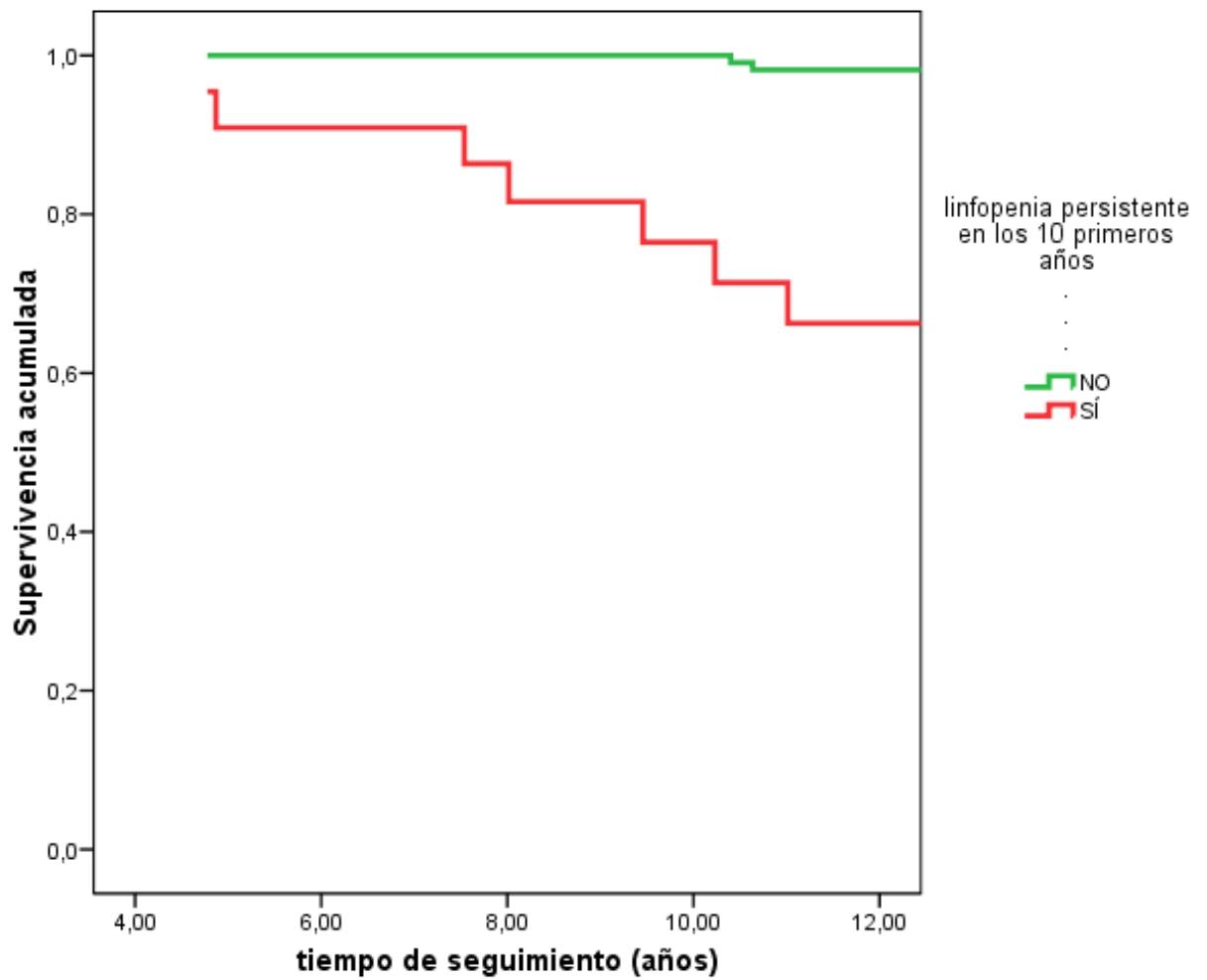
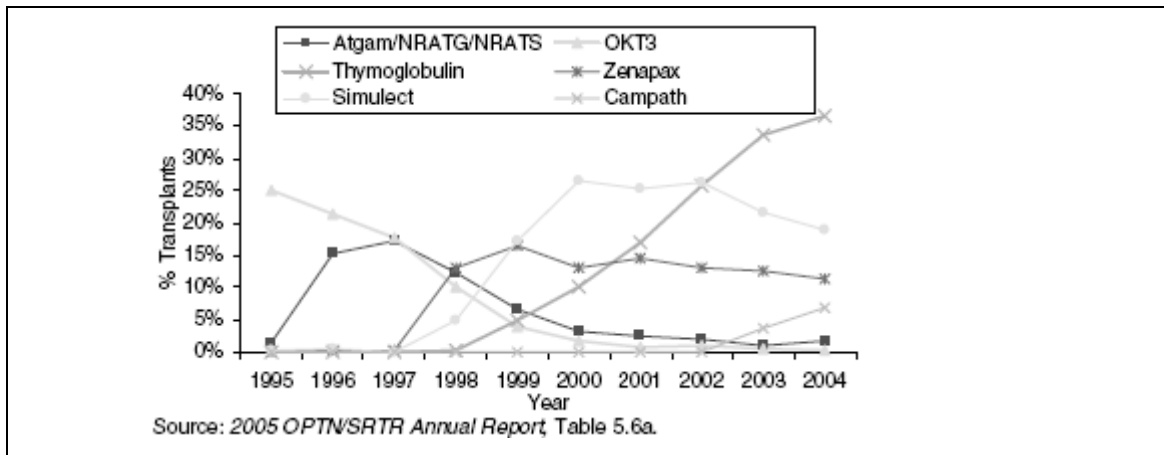


Figura 18: Supervivencia a 10 años de seguimiento, en función de CD4 <300 células/ mm<sup>3</sup>

## DISCUSION

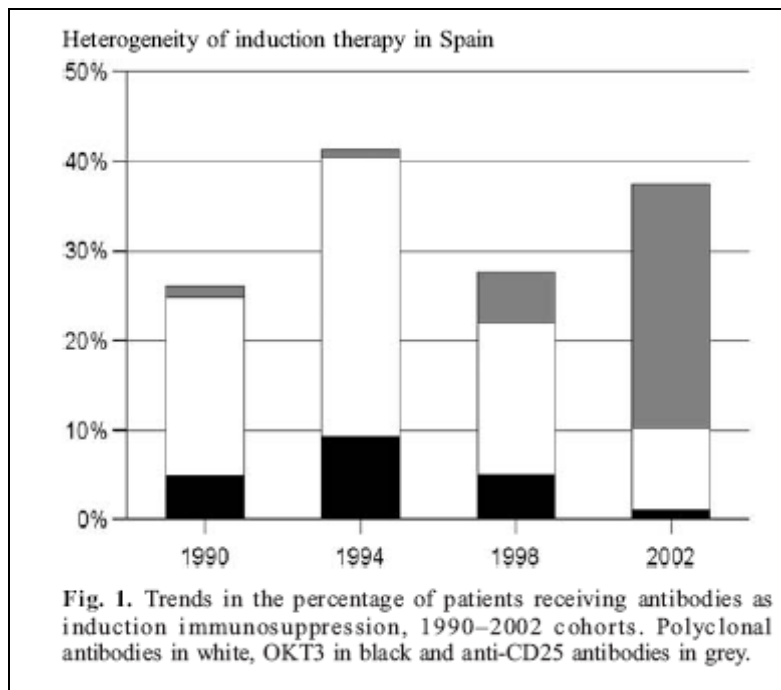
## 6- DISCUSIÓN

Los anticuerpos policlonales están incluidos en la actualidad en el protocolo de inmunosupresión de los pacientes de alto riesgo inmunológico como retrasplantes, e hiperinmunizados y de aquellos con riesgo de retraso de la función renal del injerto, como son los donantes con criterios expandidos, asistolia y tiempo de isquemia fría muy prolongado. En algunos centros forman parte incluso de protocolos de minimización del tratamiento con anticalcineurínicos y esteroides. También son utilizados en el tratamiento del rechazo agudo corticorresistente.<sup>20</sup> La utilización de estos anticuerpos ha ganado mayor protagonismo en los últimos 15 años. El tratamiento de inducción va dirigido a la depleción de células inmunes aloreactivas en el momento de la presentación del antígeno, en el inmediato periodo perioperatorio. Las células T CD4 están implicadas en la patogenia del daño por isquemia- reperfusión del injerto, por lo que los anticuerpos policlonales tienen un efecto favorable sobre dicha lesión, así como sobre el rechazo. Su utilización permite además una introducción tardía de los anticalcineurínicos. En los años 90 en EEUU, la mayoría de los trasplantes renales no recibían tratamiento de inducción, sin embargo desde el año 2004 la terapia antilinfocitaria se ha ido extendiendo. A lo largo de los años la terapia de inducción ha sufrido una transición desde el anticuerpo monoclonal Muromonab CD3 (OKT3) y la globulina antilinfocitaria derivada de caballo (ATGAM) en los inicios, a la derivada de conejo (Timoglobulina) y los anticuerpos monoclonales antiIL-2 (Daclizumab y Basiliximab). Los datos del registro de diálisis y trasplante de Australia y Nueva Zelanda (ANZDATA) mostraban un descenso en la prescripción de OKT3 y anticuerpos policlonales, con un incremento de los monoclonales anti CD25 de 9,5% hasta 57% a partir del año 2000. La Figura 6.1 adjunta procede de los datos registrados por la organ procurement and transplantation network/ united network for organ sharing (OPNT/SRTR).<sup>62</sup>



**Figura 6.1: Inmunosupresores utilizados como tratamiento de inducción en el trasplante renal entre 1995-2004. Meier-kiersche.<sup>62</sup>**

En España la tendencia en la prescripción de terapia de inducción ha variado en los últimos años como muestra el siguiente grafico 6.2 y depende del centro.<sup>72</sup>



**Figura 6.2: Terapia de inducción en España. Rodrigo E.<sup>72</sup> (Anticuerpos policlonales en blanco).**

Con respecto a los esteroides desde el año 1999 la tendencia ha sido a la minimización y su retirada precoz. En protocolos sin tratamiento con esteroides como el de Matas, la mayoría de los pacientes que recibieron un trasplante renal entre los años 2000-2004 recibían inducción sobretodo con Timoglobulina.<sup>73</sup>

Existen distintos preparados comerciales de globulinas antitimocitarias y protocolos diferentes de administración, siendo la Timoglobulina la más frecuentemente utilizada. Varios estudios demuestran cómo la terapia adaptada a los niveles de linfocitos es más segura, disminuye la dosis, la incidencia de infección y el coste.<sup>35,39</sup> El grupo de Clark fue de los primeros en estudiar el recuento de linfocitos CD3 en los pacientes trasplantados, confirmando cómo con la monitorización en estos pacientes se evitaba la sobreinmunosupresión.<sup>39</sup> Pedi y colaboradores evaluaron la eficacia y el coste del tratamiento con Timoglobulina, a dosis intermitentes, 3 en total, basándose en el recuento de linfocitos CD3. Con este protocolo, consiguieron disminuir la dosis total acumulada a 4,2 mg/kg.<sup>40</sup>

En la literatura destacan varios estudios que asocian el tratamiento con anticuerpos policlonales con una depleción linfocitaria mantenida, estando dicha linfopenia relacionada con mayor morbilidad infecciosa y afectación tumoral. Las consecuencias de unos niveles linfocitarios disminuidos de forma prolongada, podrían influir en la supervivencia del paciente por incremento de la morbilidad de tipo fundamentalmente infecciosa y neoplásica. En esta discusión trataremos de analizar y comparar nuestros resultados con los de distintos ensayos randomizados y otros estudios en relación a depleción linfocitaria, tasa de infecciones, de rechazos agudos, de tumores, y la supervivencia.

### Subpoblaciones linfocitarias postrasplante:

Los datos de los que disponemos en la literatura científica sobre los cambios en las subpoblaciones linfocitarias, se centran mayoritariamente en un periodo de observación de 5 años, nuestro estudio recoge una muestra mayor de pacientes y con más seguimiento. Entre los estudios publicados sobre el tema de la depleción linfocitaria, con el inicio de la terapia de inducción en el trasplante renal, Müller y colaboradores realizaron un seguimiento durante 3-4 años, de 53 pacientes trasplantados renales divididos en 3 grupos: 1/ terapia convencional con ciclosporina y prednisona, (n:16) 2/ inducción con anticuerpos policlonales (n:11) 3/ inducción con monoclonales (n:16). Encontraron un cociente CD4/CD8 invertido de forma significativa, en el grupo que recibió ATG y una correlación negativa entre la dosis acumulada de ATG y la regeneración de los linfocitos CD4 (calculado como la relación entre los linfocitos CD4 al año y medio frente a los previos al trasplante) como se representa en la figura 6.3.<sup>74</sup>

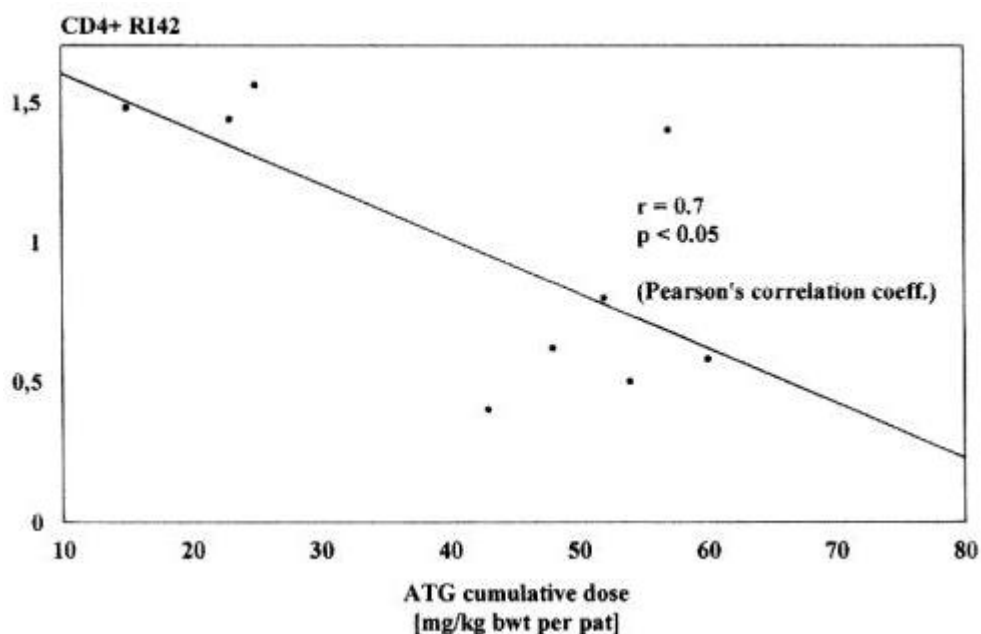


Figura 6.3: Correlación dosis de ATG y regeneración de linfocitos CD4. Müller.<sup>74</sup>

En nuestros resultados hay una correlación entre los recuentos de linfocitos CD4 al 1º mes y la dosis recibida e igualmente los CD4 al 3º mes, sin embargo no se observa correlación entre la dosis de Timoglobulina recibida y la regeneración de linfocitos CD4 (calculada como diferencia entre los CD4 al 6º mes y al 1º año).

Un estudio similar fue realizado por Oertel sobre alteraciones linfocitarias en 35 receptores de trasplante hepático que recibieron tratamiento con ciclosporina, azatioprina y esteroides, o inducción con globulina antitimocitaria (ATG). El seguimiento fue inferior en el tiempo, objetivándose en el plazo de 2 años, cocientes CD4/CD8 más invertidos, con diferencias significativas en el grupo que recibía globulina antitimocitaria (20 pacientes) frente al que se trataba con triple terapia (15 pacientes) así como una caída de linfocitos T CD 25 y un incremento de los linfocitos T CD8, en el grupo que recibió inducción con ATG, también con diferencias estadísticamente significativas.<sup>75</sup>

Nuestro grupo de pacientes, presentó recuentos de linfocitos CD4 menores durante 10 años, en el grupo que recibió Timoglobulina, así como un cociente CD4/CD8 invertido con diferencias estadísticamente significativas, durante los años 1º hasta el 6º año. Encontramos niveles menores de linfocitos con marcador DR en el grupo que recibió Timoglobulina durante todos los años hasta el 8º año con diferencias estadísticamente significativas, no existen otros estudios que los analicen.

Esta asociación entre depleción linfocitaria y anticuerpos policlonales no parece que pueda deberse a otros inmunosupresores puesto que los esteroides no son responsables de la linfopenia duradera y no difieren las dosis recibidas entre los grupos, por otra parte los niveles y dosis de ciclosporina, son similares en ambos grupos, (exceptuando el 10º año, en probable relación con la tendencia más tardía a la minimización de dosis de anticalcineurínicos, siendo el grupo que no recibió Timoglobulina, los trasplantados en años posteriores) por otra parte otros autores en sus estudios no encontraron afectación linfocitaria a largo plazo, tras tratamientos con inmunosupresores como prednisona, azatioprina y ciclosporina a dosis similares.<sup>76</sup>

Destaca un estudio publicado por Ducloux y colaboradores recientemente, en 302 trasplantes renales en los que encontraron relación entre linfopenia mantenida y el tratamiento con globulinas antitimocitarias, así como una asociación entre linfopenia y

anticuerpos policlonales con mortalidad, entre los 81 pacientes que presentaron linfocitos T CD4<300 células/mm<sup>3</sup>, fallecieron 36 (12%) durante el seguimiento a 5 años. La mortalidad era superior en los que tenían dicha linfopenia durante más de 1 año, 24% frente a 7,6%, con diferencias estadísticamente significativas, por otra parte en el modelo de Cox ajustado por edad y duración del trasplante renal, los que presentaban CD4<300 células/mm<sup>3</sup>, tenían un (HR) de muerte de 4,6 (1.9-10.6).<sup>77</sup> Otro estudio francés de tipo retrospectivo de Esposito, se diseñó para comparar un régimen de globulina antitimocítica administrada durante 3 días, en 66 pacientes con ajuste de la dosis según cifras de linfocitos < 50 células/mm<sup>3</sup>, frente a otro régimen de 8 días, con dosis de 1 mg /kg, en 93 pacientes observando una depleción de linfocitos durante los 3 primeros años, que no se comenzaban a reconstituir hasta el 5º año del trasplante con diferencias significativas.<sup>78</sup>

R.Weimer diseñó un estudio prospectivo en 84 trasplantes renales para ver la función de los linfocitos CD4 Th colaboradores, tras la inducción en 44 pacientes con globulina antimocítica de conejo (rATG). Observó un descenso de los linfocitos CD4 TH1, asociado a una disminución de la expresión de CD28 y de la respuesta a IL2, sin embargo la respuesta de los TH2 no se afectaba, ni la secreción de IL6 e IL10 de las células B y monocitos. Este autor planteó que el descenso prolongado en los linfocitos TH1, secundario al tratamiento con globulina antitimocítica, era la posible explicación del incremento de infecciones y enfermedad linfoproliferativa postrasplante (PTLD), reflejo de un control inadecuado de los linfocitos T.<sup>79</sup>

Aún hoy en día se desconoce las razones por las que dicha depleción linfocitaria persiste en algunos trasplantes renales. El grupo de Monaco resaltó cómo la timentomía en ratones prolongaba la linfopenia pero esto no se ha comprobado en humanos.<sup>80</sup> Hay que considerar que la regeneración de las células T después del tratamiento con globulinas policlonales se produce por mecanismos dependientes e independientes del Timo, dado que éste órgano linfático activo en la infancia, queda atrofiado en el adulto.

### **Infecciones y terapia de inducción:**

Las infecciones son una consecuencia directa del efecto de los fármacos inmunosupresores, siendo difícil discernir la contribución de cada uno por separado. En el postrasplante son frecuentes las infecciones oportunistas y las nosocomiales. En ocasiones son infecciones ya diseminadas en el momento de la presentación clínica y frecuentemente presentan múltiples resistencias antimicrobianas. Las víricas constituyen la primera causa de morbimortalidad infecciosa, los virus son potencialmente oncogénicos, por otra parte hay que considerar que algunas infecciones como el CMV actúan como cofactores de infecciones oportunistas.<sup>81</sup>

Existen pocas publicaciones que estudien exclusivamente la asociación de infecciones con anticuerpos policlonales y la mayoría son estudios no randomizados, y de baja potencia estadística, entre ellos está el estudio comparativo retrospectivo de Clesca, diseñado en función de la dosis administrada de Timoglobulina, en 61 pacientes de alto riesgo inmunológico, con seguimiento a 1 año. Compararon 30 trasplantes renales, a quienes administraron dosis inferior a 7 mg/kg de peso, frente a 31 pacientes en los que la dosis fue superior a 7 mg/kg y observaron un incremento de los episodios infecciosos en el grupo que recibió mayor dosis  $1,7\pm 0,2$  versus  $3,12\pm 0,23$  con diferencias estadísticamente significativas.<sup>82</sup>

En nuestro estudio los pacientes del grupo que recibió tratamiento de inducción con Timoglobulina, presentaron más infecciones severas, con ingreso hospitalario, con diferencias estadísticamente significativas. No se consideraron infecciones severas las infecciones del tracto urinario no complicadas, ni la respiratorias, por otra parte un 40,5% de los pacientes entre los que figura que recibieron dosis superiores a 5mg/kg, presentaron infecciones graves frente a un 38% de los que recibieron dosis menores de 5mg/kg, pero sin diferencias estadísticamente significativas.

La función de los leucocitos fue estudiada de forma más específica, en un ensayo prospectivo doble ciego, para predecir el riesgo de infección, en 34 pacientes trasplantados renales, con afectación moderada-severa de la función leucocitaria, frente a 36 pacientes con afectación leve. El grupo con mayor grado de afectación leucocitaria, presentaba un score superior de infección ( $2,4\pm 2,8$  versus  $1,2\pm 1,2$  siendo  $p:0,02$ )

debido a una incidencia superior de infecciones severas. Esto quedaba confirmado en el análisis multivariable con un RR 1,83 (IC 1,08-3,11) por cada unidad que aumentaba el score de infección, siendo las diferencias estadísticamente significativas.<sup>83</sup> La siguiente tabla 6.1 muestra los resultados en cuanto a incidencia de infección en los dos grupos de estudio de Blazik.

Infection	Group I (n = 34)	Group II (n = 36)
Number with any infection	23 (68%)	22 (60%)
Upper respiratory tract infection	16 (47.1%)	18 (48.6%)
Urinary tract infection	12 (35.3%)	6 (16.2%)
Suppurative ENT infection	5 (14.7%)	2 (5.4%)
Gastroenteritis—bacterial	3 (8.8%)	0
Cellulitis/osteomyelitis	4 (11.8%)	3 (8.1%)
Herpes zoster/stomatitis	2 (5.9%)	0
Others	3 (8.8%)	0
Infection score	2.4 ± 2.8	1.2 ± 1.2 (P = 0.02)

**Tabla 6.1: Incidencia de infección. Blazik.**<sup>83</sup>

En la población trasplantada hay que tener en cuenta múltiples factores que contribuyen a la aparición de infecciones tras la intervención quirúrgica como la comorbilidad del paciente (diabéticos, obesos), infección tuberculosa latente, o por virus, la cirugía, los procedimientos invasivos en el postoperatorio, y la exposición a patógenos hospitalarios, episodios de rechazo que precisen mayor inmunosupresión. Además hay que considerar otros posibles factores de riesgo en algunos casos, como la presencia de esplenectomía, la hipogammaglobulinemia y las dosis elevadas de

esteroides. En nuestra muestra de pacientes no hay diferencias en cuanto a la presencia de diabetes mellitus entre los receptores, ni tampoco en las dosis de esteroides recibidos.

El servicio de infecciosas del Hospital 12 de Octubre, ha realizado un estudio observacional prospectivo (ATLANTA) presentado en 2011, donde concluyeron que los recuentos bajos de linfocitos CD3 y CD8 basales y al mes, se asociaban con un incremento del riesgo de infección severa postrasplante, sobretodo infección por CMV. Estos resultados de Fernandez Ruiz se representan en la tabla 6.2 <sup>84,85</sup>

<b>Table 3. Post-transplant infection according to CD3 T-cell count at baseline.</b>			
<b>CD3 T-cells</b>	<b>≥1.125 x 10<sup>3</sup> /μL</b> (n = 70)	<b>&lt;1.125 x 10<sup>3</sup> /μL</b> (n = 70)	<b>P-value</b>
Any infection	40 (57.1%)	52 (74.3%)	0.033
Severe infection	11 (15.7%)	21 (30.0%)	0.044
Bacteraemia	7 (10.0%)	13 (18.6%)	NS
Invasive fungal infection	1 (1.4%)	2 (2.9%)	NS
CMV infection	14 (20.0%)	26 (37.1%)	0.025
<i>Number of episodes per patient (mean ± SD)</i>			
Any infection	1.03 ± 1.23	1.70 ± 1.61	0.006
Severe infection	0.26 ± 0.63	0.56 ± 0.93	0.037
Bacteraemia	0.11 ± 0.36	0.21 ± 0.48	NS
CMV infection	0.21 ± 0.45	0.39 ± 0.52	0.028

**Tabla 6.2: Infección postrasplante de acuerdo con los niveles de linfocitos CD3 basales. Fernandez Ruiz y Aguado. <sup>84</sup>**

En cuanto a la hipogammaglobulinemia pretrasplante datos preliminares de la esta unidad de infecciosas presentados en una comunicación en el congreso de la SET 2012, resaltan la asociación con un aumento de infecciones. Los resultados de la unidad de infecciosas del Hospital 12 de Octubre se presentan en la tabla 6.3.

Variable at month 1 (mean ± SD)	No bacterial infection (n = 58)	Bacterial infection (n = 28)	P-value
<i>Lymphocyte subsets (x 10<sup>3</sup>/μL)</i>			
Total lymphocytes	1.171 ± 0.951	0.705 ± 0.604	0.007
CD3+ T-cells	0.818 ± 0.881	0.432 ± 0.446	0.003
CD4+ T-cells	0.539 ± 0.571	0.240 ± 0.262	0.003
CD8+ T-cells	0.319 ± 0.295	0.177 ± 0.224	0.035
CD19+ B-cells	0.197 ± 0.191	0.125 ± 0.082	0.027
CD16+ CD56+ NK cells	0.084 ± 0.087	0.060 ± 0.062	NS
<i>Immunoglobulin levels (mg/dL)</i>			
IgG	779 ± 293	749 ± 450	NS
IgA	180 ± 88	160 ± 81	NS
IgM	98 ± 69	89 ± 94	NS

**Tabla 6.3: Parámetros inmunes durante el 1º mes asociado a incidencia de infección bacteriana entre los meses 2º- 6º mes. Fernandez Ruiz y Aguado.** <sup>85</sup>

También se han descrito diferencias en la tasa de infecciones agudas en varios ensayos clínicos que compararon anticuerpos monoclonales frente a policlonales, como los de Lebranchu y Sollinger y en el estudio publicado por Brennan en el 2006, con 278 receptores de trasplante renal (14% hiperinmunizados y 90% primer trasplante) fue un 85,8% con policlonales: (Timoglobulina), y un 75,2% con anticuerpos monoclonales (Basiliximab), p: 0,03. Esta diferencia parecía ser atribuible a una mayor frecuencia de infección urinaria e infecciones virales no CMV.<sup>65</sup>

De forma similar en el ensayo clínico de C. Noël y Abramowicz, anticuerpos policlonales frente a monoclonales, los pacientes a los que se pautó Timoglobulina, presentaron cifras de leucocitos y linfocitos inferiores a lo largo del primer año, frente al

grupo que recibió Daclizumab. En los primeros, se detectaron más infecciones bacterianas por enfermo, si bien un número similar de pacientes de ambos grupos, tuvieron alguna infección bacteriana durante el seguimiento.<sup>66</sup>

El efecto de la Timoglobulina sobre el recuento de linfocitos T CD4, y las infecciones fue estudiado prospectivamente, en una muestra de 20 pacientes trasplantados renales infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), 7 de los pacientes recibieron Timoglobulina frente a 9 pacientes que no. El tratamiento de mantenimiento estaba basado en Prednisona, Micofenolato Mofetil y Ciclosporina. Objetivaron una adecuada resolución del rechazo agudo con la administración de Timoglobulina, pero un incremento posterior del riesgo de infecciones, asociado a una profunda y duradera depleción de células T CD4. Estos datos sobre la evolución del recuento linfocitario CD4 en pacientes con infección HIV a lo largo del tiempo, se representan en la siguiente figura adjunta 6.4.<sup>86</sup>

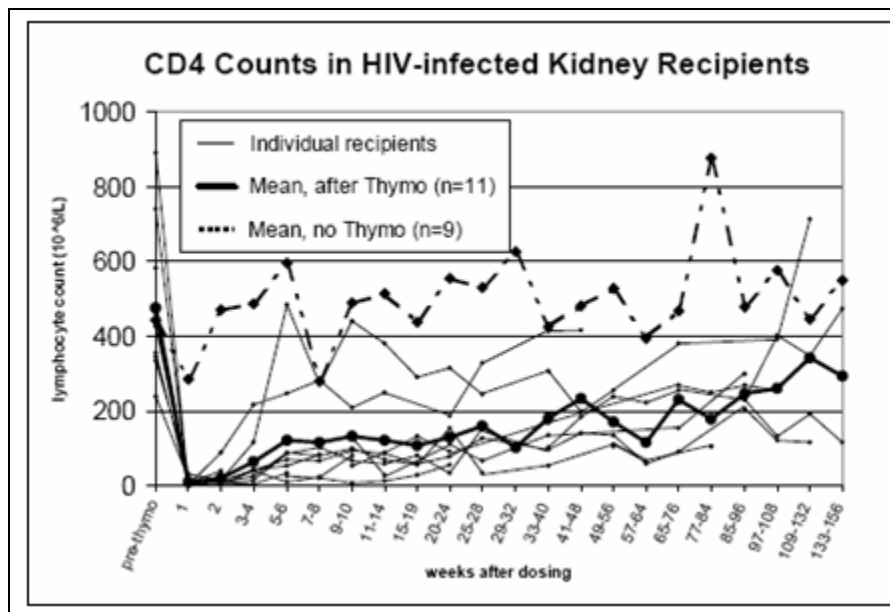


Figura 6.4: Thymoglobuline associated CD4 T cell depletion and infection risk in HIV Infected renal Transplant recipients. Carter.<sup>86</sup>

La revisión de Randhawa sobre la infección por el poliomavirus BK en pacientes con trasplante renal, señaló un aumento de la incidencia de nefropatía por BK en el grupo que recibió Timoglobulina, como se podría presuponer por la mayor inmunosupresión.<sup>87</sup> El ensayo clínico randomizado de Charpentier, con una muestra de 555 pacientes trasplantados renales aleatorizados a recibir: triple terapia sin inducción, ATG + Tacrolimus, y ATG + Ciclosporina (asociado a Azatioprina y corticoides) se observó una menor incidencia de infecciones totales, en el grupo con solo triple terapia 58,4% frente a 67,7% en el segundo y 75% en el tercer grupo, con diferencias estadísticamente significativas.<sup>70</sup>

En Marzo 2011 se aprobó la utilización de un nuevo preparado de globulina antitimocítica (ATG monodosis 9 mg/kg de peso) cuya utilización podría conllevar un menor riesgo de complicaciones infecciosas.<sup>88</sup> El publicado por R. Samsel en el 2008, comparaba un régimen de bolo único similar, administrado antes de la anastomosis de los vasos del injerto, frente al tratamiento de triple terapia estándar, con un seguimiento a 5 años. La incidencia de infecciones fue similar en ambos grupos 65% versus 67,5% en el grupo control, con una supervivencia del injerto similar 70% frente a un 69,2%. Los datos se presentan en la tabla 6.4 adjunta.<sup>88</sup>

	ATG bolus		Standard treatment	
	N	%	N	%
Bacterial enteritis	1	2.5%	1	2.5%
Bacterial Pneumonia	3	7.5%	4	10%
Bacterial sepsis	4	10%	4	10%
Candidiasis, organ involvement	0	0%	1	2.5%
Candidiasis, oral	3	7.5%	3	7.5%
CMV disease	5	12.5%	4	10%
CMV infection, serologic	4	10%	0	0%
Flu-like infection	6	15%	5	12.5
Herpes simplex	3	7.5%	1	2.5%
Pyogenic infection, non skin	2	5%	1	2.5%
Pyogenic infection, skin or SSI	2	5%	3	7.5%
Sepsis, fungal	0	0%	1	2.5%
UTI	16	40%	19	47.5%
Viral infection, skin	0	0%	1	2.5%
Other infection	0	0%	2	5%
Patients with no infections	14	35%	13	32.5%

Patients with multiple occurrences of the same type of infection appear only once.

**Tabla 6.4: Seguridad y eficacia de un bolo de ATG en pacientes con trasplante renal. R Samsel.<sup>88</sup>**

### **Enfermedad por CMV:**

El Citomegalovirus es un patógeno muy frecuente en el postrasplante, siendo el periodo de máximo riesgo los 6 primeros meses postrasplante, con evidencia de replicación vírica en 50-75% de los pacientes según series. El riesgo es mayor en los receptores seronegativos con donante seropositivo, los pacientes que reciben anticuerpos policlonales y en general los inmunosuprimidos en exceso.<sup>44</sup> También se ha descrito mayor incidencia con determinados grupos HLA. La **exposición** al virus expresada en la analítica por la presencia de IgG antiCMV positiva, se da en dos terceras partes de los donantes y receptores antes del trasplante. La **infección** se define como la detección del virus, en algún fluido corporal bien por método serológico o cultivo o detección del genoma (PCR). La **enfermedad** implica también la afectación clínica del paciente, siendo en el trasplante renal un factor predictor de menor supervivencia. La forma más frecuente de presentación es un síndrome pseudogripal con fiebre, con una posible elevación de las transaminasas y leucopenia. La afectación gastrointestinal es muy variada, con lesiones eritematosas, úlceras y pseudotumores, siendo este tipo de afectación de hasta un 39% en el trasplante de intestino. La neumonía por CMV es muy grave, produce un patrón típicamente intersticial en la radiografía de torax y requiere para el diagnóstico el aislamiento del virus del lavado broncoalveolar (LBA). Es de especial importancia el efecto inmunomodulador del virus, con un incremento de infecciones bacterianas tras la infección por el CMV y también un aumento del riesgo de rechazo agudo postrasplante. El diagnóstico incluye serología y procedimientos virológicos: cultivo, determinación de la antigenemia, PCR cuantitativa y métodos histológicos. El tratamiento se realiza con Ganciclovir IV ajustado a función renal durante 14 días, excepto en los casos de afectación intestinal, neurológica que se prolonga a un mínimo de 21 días. La profilaxis está indicada en receptores seronegativos con donante seropositivo, receptores infectados por CMV y aquellos que reciben globulinas antitimocitarias por el mayor riesgo. Hoy en día la profilaxis se realiza con Vaganciclovir durante 100 días postrasplante, con lo que se reduce el riesgo de enfermedad por CMV durante el primer año postrasplante, aunque los estudios de Humar concluyen que es mejor extenderla a 200 días.<sup>89</sup> El servicio de enfermedades infecciosas del Dr. Aguado del Hospital 12 de Octubre, ha planteado recientemente la profilaxis a los 14 días del postrasplante para que se provoque la respuesta celular

inicial a expensas de linfocitos CD8. Con esta pauta de inicio más tarde, han disminuido la incidencia de la infección CMV tardía, son datos aún no publicados. Este virus se ha relacionado con la aceleración de la aterosclerosis en el receptor en probable relación con la lesión endotelial que produce.

La incidencia de enfermedad CMV, en nuestro estudio fue mayor en los pacientes con inducción con Timoglobulina 60 (25,5%) versus 21 (7,1%) del grupo sin Timoglobulina, con diferencias estadísticamente significativas, al igual que en otros estudios publicados, sin embargo con respecto a la dosis recibida, aunque se observaron más casos entre los pacientes del grupo T con dosis acumuladas mayores de 5 mg/kg, las diferencias no fueron significativas.

En el ensayo randomizado de Charpentier en 555 trasplantes renales, con triple terapia versus inducción con anticuerpos policlonales, también se produjo una mayor incidencia de infección por CMV en los grupos que recibieron ATG frente al que recibió triple terapia.<sup>70</sup> Un estudio prospectivo realizado en Francia con 309 trasplantes renales y seguimiento a 12 meses, también encontró mayor tasa de infección CMV en el grupo con tratamiento de inducción con globulina antitimocitaria 32,5% frente al grupo con triple terapia convencional 19%, siendo las diferencias significativas desde el punto de vista estadístico en ambos estudios.<sup>90</sup> Igualmente Cantarovitch publicó en el 2008, los resultados del seguimiento a 20 años de 2 grupos de trasplantes renales n:123, randomizados a recibir tratamiento con triple terapia frente a inducción con anticuerpos policlonales, siendo la incidencia de infección CMV del 10 % en el primer grupo frente a 18% en el segundo grupo, aunque sin diferencias estadísticamente significativas.<sup>63</sup> En el ensayo randomizado francés de Abou-Ayache, Timoglobulina versus anticuerpo monoclonal (Daclizumab) publicado en el 2008, se analizó las diferencias en la tasa de infección CMV, encontrando un 51% en el grupo que recibió Timoglobulina frente a 39% del grupo con Daclizumab. La siguiente tabla 6.5 adjunta representa los resultados.<sup>91</sup> El impacto del CMV en el riesgo de rechazo, pérdida del injerto, infecciones oportunistas, tumores, enfermedad cardiovascular y mortalidad fue estudiado en otro ensayo multicentrico randomizado con seguimiento a 3 años, la incidencia de rechazo no era diferente entre grupos al cabo de 36 meses, por otra parte la infección/enfermedad CMV aumentaba el riesgo de otras infecciones, aunque a largo plazo no observaban diferencias en la aparición de otras complicaciones.<sup>92</sup>

	ITT population		On-therapy population
	Daclizumab n = 54	ATG n = 55	Daclizumab n = 50
CMV infections/syndrome/disease (%)	21 (39)	28 (51)	21 (42)
CMV infection	18 (83%)	19 (68%)	18 (86%)
CMV syndrome	1 (5%)	8 (29%)	1 (5%)
CMV disease	2 (10%)	1 (4%)	2 (10%)
Treated with intravenous ganciclovir	7 (33%)	12 (43%)	7 (33%)
Delay of onset of the first CMV episode			
Mean (days)	75 ± 46*	34 ± 26*	75 ± 46**
Median (interval) (days)	57 (29–168)	29 (16–89)	57 (29–168)

\*P (log-rank) = 0.015, \*\*P (log-rank) = 0.023.

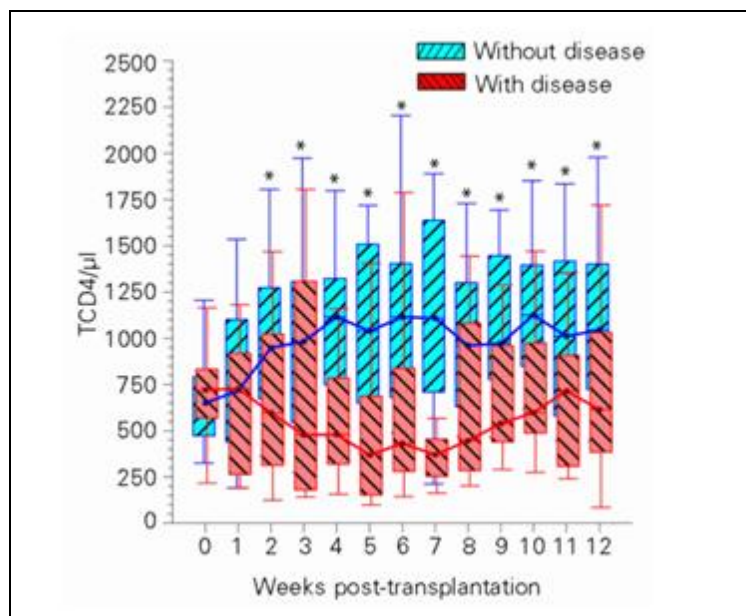
**Tabla 6.5: Incidencia de infección/Síndrome/enfermedad CMV. Abou-Ayache R.<sup>91</sup>**

En el trasplante páncreas- riñón, Huurman describió una tasa de infección CMV superior, más precoz (28 días frente 127 días) y más severa en el grupo con Timoglobulina, frente al de Daclizumab.<sup>93</sup> Igualmente en el ensayo randomizado de C. Noel, anticuerpos policlonales n:116, frente a monoclonales (Daclizumab) en una muestra de 120 pacientes, la incidencia de infecciones por Citomegalovirus fue de 18,6% frente al 10,5% respectivamente, aunque sin diferencias estadísticamente significativas.<sup>66</sup>

Todos los estudios comparativos triple terapia versus inducción con anticuerpos policlonales, coinciden en una mayor incidencia de infección por CMV, en el grupo tratado con dicha inducción. Castro en un seguimiento a 1 año retrospectivo, describió una incidencia de infección CMV de un 33 % en el grupo con tratamiento de inducción frente a un 23 % en el grupo que se trataba solo con triple terapia, pero sin diferencias

estadísticamente significativas.<sup>64</sup> Por otra parte Mourad estudió prospectivamente en 309 trasplantes renales, las diferencias entre el tratamiento de inducción versus no inducción, la incidencia de infección CMV fue 32,5% con tratamiento de inducción frente a 19 % sin inducción, siendo p: 0,009.<sup>90</sup> La incidencia de infección CMV en el ensayo randomizado canadiense, tratamiento triple terapia frente a inducción con Timoglobulina, fue del 10% frente a 18% respectivamente, aunque no significativo estadísticamente pero hay que resaltar que en los años 80, no existía profilaxis para la infección por CMV y este estudio recoge datos de entonces.<sup>63</sup>

En nuestros resultados al evaluar los linfocitos CD4 al primer y tercer mes, el recuento era inferior en los que padecían enfermedad CMV frente a los que no. Castro resaltó que la monitorización de las subpoblaciones linfocitarias junto con la antigenemia permite detectar pacientes con alto riesgo de desarrollar enfermedad CMV e iniciar a tiempo el tratamiento antiviral, así como disminuir la inmunosupresión. Los linfocitos T CD4 en mediana y rango intercuartílico así como la enfermedad por CMV se representan en la siguiente figura 6.5<sup>94</sup> Otros autores han comunicado resultados similares.<sup>95, 96</sup>



**Figura 6.5: Niveles de linfocitos CD4 células/mm<sup>3</sup> en sangre en pacientes con trasplante renal con o sin enfermedad por CMV.<sup>94</sup>**

### **Aceleración de la aterosclerosis y linfopenia:**

Varios estudios han hecho referencia a esta posible asociación, en pacientes que han recibido anticuerpos policlonales. La enfermedad cardiovascular es la causa más frecuente de muerte en el paciente trasplantado. Los factores de riesgo cardiovascular clásicos DM, HTA, obesidad, tabaquismo, dislipemia, etc. no explican la elevada prevalencia de enfermedad cardiovascular en estos pacientes. Los fármacos inmunosupresores contribuyen a la aparición de HTA, dislipidemia y alteración del metabolismo de la glucosa, por otra parte la diabetes postrasplante se presenta hasta en un 30 % empeorando el perfil metabólico y vascular del paciente.

Entre los múltiples factores no tradicionales que contribuyen al riesgo cardiovascular, se ha sugerido que la linfopenia podría ser uno de ellos. Algunos estudios realizados en roedores pudieron comprobar el efecto regulador de los linfocitos T sobre la proliferación de las células del músculo liso, durante el proceso de reparación del vaso, por lo que los linfocitos podrían proteger contra la progresión del proceso de aterosclerosis.

La posible participación del CMV en la progresión de la aterosclerosis, por daño a nivel endotelial del receptor y por tanto mayor riesgo cardiovascular como consecuencia de dicha infección es un tema en debate. Los eventos cardiovasculares así como la mortalidad cardiovascular en el análisis realizado por Kasiske, fueron más frecuentes en los pacientes que recibieron Timoglobulina.<sup>97</sup>.

Es característico de los pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) el mayor riesgo cardiovascular frente a la población no infectada. Otro grupo con elevado riesgo cardiovascular son los que padecen un lupus eritematoso sistémico (LES) son pacientes con mayor aterosclerosis que la población de similar edad y sexo, aunque en ellos es difícil diferenciar entre la posible contribución de la linfopenia y la atribuible a los tratamientos recibidos como los corticoides. Por otra parte en los pacientes sometidos al efecto de la bomba atómica la presencia de depleción linfocitaria también se asociaba a una elevada incidencia de patología cardiovascular frente a población de edad similar y riesgo.

Ducloux estudió la relación entre la depleción de linfocitos CD4 y el mayor riesgo cardiovascular en trasplantes renales, encontrando una relación entre ambas variables siendo el RR: 1 cuando los linfocitos CD4 eran inferiores a 300/mm<sup>3</sup>. El riesgo relativo de padecer un evento cardiovascular se representa en la tabla 6.6 adjunta.<sup>98</sup>

En nuestro estudio la mortalidad cardiovascular no fue mayor en los pacientes que recibieron Timoglobulina, supuso un 35,3 % de las muertes incluyendo las muertes súbitas en el grupo T frente al 37,7 % en el grupo no T, desconocemos la prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular (HTA, dislipemia, etc) entre los grupos.

*Table 3. Cox model: relative risks (RR) of cardiovascular event (CVE) and 95% CI*

Variable		RR <sup>a</sup>	95% CI	P
CD4 (/mm <sup>3</sup> )	<299 (1st quartile)	1	–	–
	299; 471 ( <i>versus</i> 1st quartile)	0.34	0.13 to 0.92	0.033
	471; 663 ( <i>versus</i> 1st quartile)	0.10	0.02 to 0.46	0.003
	≥663 ( <i>versus</i> 1st quartile)	0.10	0.01 to 0.80	0.030
Age	<51 yr	1	–	–
	≥51 yr	5.84	1.64 to 20.75	0.006
Tobacco consumption	No	1	–	–
	Yes	2.99	1.27 to 7.02	0.012
History of CVE	No	1	–	–
	Yes	4.24	1.68 to 10.71	0.002
Serum homocysteine (μmol/L)	<13.1 (1st quartile)	1	–	–
	13.1; 16.9 ( <i>versus</i> 1st quartile)	2.35	0.46 to 12.03	0.307 <sup>b</sup>
	16.9; 21.0 ( <i>versus</i> 1st quartile)	1.31	0.21 to 8.02	0.772 <sup>b</sup>
	≥21.0 ( <i>versus</i> 1st quartile)	5.77	1.28 to 26.08	0.023

<sup>a</sup> Cox model is adjusted for duration since kidney transplant and gender.  
<sup>b</sup> Nonsignificant at  $\alpha = 5\%$

**Tabla 6.6: Riesgo relativo de evento cardiovascular (Modelo de Cox). Ducloux.<sup>98</sup>**

### **Tumores y terapia de inducción:**

La prevalencia de tumores es diferente en los distintos estudios publicados de diferentes programas de trasplante renal, sin embargo todos coinciden en el incremento de la incidencia claramente con la edad, en la población que recibe un trasplante renal. Según el registro ANZDATA el riesgo relativo estandarizado para todas las neoplasias es de 1,35 en diálisis y 3,27 para los trasplantados. Los tumores de piel y aparato génito-urinario típicamente son más frecuentes en el postrasplante, sin embargo no lo son el de máma, colon, pulmón y próstata, típicos de la población general.<sup>99</sup> Al analizar las diferencias entre trasplantados y población general, Kasiske observó como los tumores de piel no melanocíticos, el sarcoma de Kaposi y los linfomas no Hodgkin tuvieron una incidencia 20 veces mayor que la población general y el cáncer renal 15 veces mayor.<sup>100</sup>

En la patogenia de los tumores postrasplante está implicada la inmunosupresión, por acción directa del fármaco y por depresión del sistema inmune mantenida que favorece las infecciones oportunistas por virus potencialmente oncogénicos, y por alteración de sus componentes, como las células natural Killer que intervienen en la vigilancia y destrucción precoz de células neoplásicas.

La asociación entre depleción de linfocitos CD4 y la aparición de tumores sólidos, tumores cutáneos y enfermedad linfoproliferativa postrasplante (PTLD) fue observada por Ducloux en un estudio retrospectivo realizado en una población de 281 trasplantes renales seguidos durante  $42 \pm 9$  meses; presentaron cáncer 22 (7,9%) pacientes, siendo en estos el recuento de CD4 inferior ( $234 \pm 126$  células/mm<sup>3</sup> versus  $543 \pm 214$  /mm<sup>3</sup>) con diferencias estadísticamente significativas y destacando en el análisis de regresión de Cox un descenso del riesgo de desarrollar tumor en aquellos con un recuento elevado de linfocitos CD4.<sup>101</sup>

La posible asociación entre la linfopenia y los tumores también fue analizada por Guichard, en un primer estudio observó una asociación con incremento de la incidencia de cáncer de piel, sin embargo en un segundo estudio posterior realizado en 433 trasplantes renales, aunque objetivó un descenso importante de los linfocitos CD3, CD4, CD8 a lo largo de casi 10 años, no pudo demostrar que existiera una asociación estadísticamente significativa entre los tumores de tracto genitourinario y la linfopenia

persistente.<sup>102</sup> Un estudio similar retrospectivo lo llevó a cabo Glowacki en 966 trasplantes renales divididos en 2 grupos distintos de tratamiento, ATG versus anti-CD25, observó entre sus resultados un recuento de linfocitos ( $CD4 < 300/mm^3$ ) en un 69,8% de los pacientes tratados con Timoglobulina, frente a un 12% del grupo tratado con Basiliximab, en el postrasplante inmediato, siendo las diferencias estadísticamente significativas. Esta depleción linfocitaria permanecía a los 5 años en un 12,2 % y a los 10 años en un 9,2% en los del grupo con ATG, sin embargo el análisis multivariable de regresión lineal no evidenció correlación entre descenso de linfocitos T CD4 y los tumores sólidos malignos postrasplante.<sup>103</sup> Thibaudin analizó en 250 trasplantes renales sucesivos tratados con ATG, el recuento linfocitario y la incidencia de tumores a 10 años, aquellos que padecían algún tumor, presentaban menores recuentos de linfocitos, sin embargo el tratamiento con ATG, no se asociaba directamente con la aparición de cancer, de tal forma que sólo pudo corroborar asociación entre los tumores postrasplante con la edad y el tiempo de evolución.<sup>104</sup> En el año 2006 Kauffman publicaba una revisión extensa sobre la incidencia del cáncer en 3 distintas épocas del tratamiento inmunosupresor en 5 programas de trasplante diferentes, destacaba entre los datos del organ procurement transplantation network/ united network for organ sharing (OPTN/UNOS) una reducción del riesgo de tumores de hasta un 55%, mediante el tratamiento con inhibidores m-tor. El porcentaje de tumores de 5 centros se representa en las tablas adjuntas 6.7 y 6.8.<sup>105</sup>

Nosotros no obtuvimos diferencias significativas en la incidencia de tumores en relación con la persistencia de linfopenia a partir del 1º año.

**Table 3A.** Tumor percentages from five single center and five transplant registry programs.

Reference, country	Number of patients with tumors/number of tumors	Total skin	SCC	BCC	Kaposi	Melanoma	Lymphoma
[50] (1995), England	70/80	42 (52.5)	30 (37.5)	12 (15)			7 (8.8)
[51] (1996), Italy	76/76	48 (63)	26 (26.3)	11 (14.5)	13 (17)	4 (5.3)	3 (3.9)
[58] (1997), France	133/139	52 (37.4)			9 (6.5)	4 (2.9)	20 (14.4)
[52] (2003), Spain	95/102	49 (48)	23 (22.5)	23 (22.5)	8 (7.8)	3 (2.9)	8 (7.8)
[48] (1999), the USA	87/88	2 (2.3)	1 (1.2)				16 (18)
[53] (2000), Northern Ireland	86/103	48 (47)	32 (31)	16 (15.5)			11 (10.7)
[55] (2000), Denmark	175/209	118 (56.5)				3 (1.4)	11 (5.3)
[49] (2003), Italy	172/175		12 (6.8)	Not counted	39 (22.3)		38 (21.7)
[59] (2004), ANZTR	1412/1545	Not counted	Not counted	Not counted	28	183	231
[54] (2000), CTR	10 955/11 663	4406 (37.8)	2855 (24.5)	1240 (10.6)	467 (4.0)	227 (1.9)	1953 (16.7)
OPTN/UNOS	2505	1030 (41.1)	694 (27.7)	317 (12.7)	28 (1.1)	65 (2.6)	429 (17.1)

Values are given as *N* (%).

**Tabla 6.7: Porcentaje de tumores de 5 centros y registros de 5 programas de trasplante.**<sup>105</sup>

**Table 3B.** Solid tumor percentages from five single center and five transplant registry programs.

Reference	Total number of solid tumors	GU	GI	Respiratory	Liver	Breast	Endocrine	Other
[50]	38 (47.5)	12 (15)	6 (7.5)	6 (7.5)	1 (1.3)	1 (1.3)		12 (15)
[51]	25 (32.8)	13 (17)	3 (3.9)	2 (2.6)	2 (2.6)	2 (2.6)	1 (1.3)	3 (3.9)
[58]	49 (35.3)							
[52]	38 (37.3)	11 (10.8)	5 (4.9)	6 (5.9)				16 (15.6)
[48]	70 (80)	15 (17)	12 (13.6)	15 (17)		5 (5.7)	1 (1.2)	22 (25)
[53]	44 (43)	10 (9.7)	9 (8.7)	4 (3.9)		5 (4.9)	1 (1.0)	15 (14.5)
[55]	81 (38.8)	29 (13.9)	15 (7.2)	15 (7.2)		11 (5.3)	2 (1.0)	9 (4.3)
[49]	86 (49)	24 (13.7)	17 (9.7)	7 (4)		8 (4.6)		30 (17)
[59]	1103	388	188	119	27	87	31	263
[54]	4610 (39.5)	1325 (11.4)	530 (4.5)	652 (5.6)	187 (1.6)	363 (3.1)	139 (1.2)	1414 (12.1)
OPTN/UNOS	1056 (42.2)	310 (12.4)	114 (4.6)	150 (6.0)	20 (0.8)	96 (3.8)	32 (1.3)	334 (13.3)

Total solid tumors = All tumors – Skin cancers (including Kaposi's and melanoma) – Lymphomas.  
 Values are given as N (%).  
 Percentage was calculated out of number of tumors in Table 3A.

GU: Génito-urinario, GI: gastrointestinal.

**Tabla 6.8: Porcentaje de tumores sólidos de 5 centros y registros de 5 programas de trasplante. OPTN/UNOS.**<sup>105</sup>

Varios estudios han buscado comparar los diferentes preparados de globulinas antilinfocitarias que existen, con el fin de analizar si se producen diferencias en la incidencia de tumores. Hardinger realizó en el 2008 un ensayo randomizado, en 48 trasplantes renales, destacando un aumento de la incidencia de tumores entre los que recibían Timoglobulina al cabo de 5 años, frente al grupo que recibía ATGAM, pero incluía las recurrencias de tumores de novo, no siendo significativo cuando no las incorporaba al análisis.<sup>106</sup> Otro estudio similar, llevado a cabo por Ducloux, comparó ATG en 129 pacientes, con Timoglobulina en 65 pacientes siendo la incidencia de tumores no cutáneos de 3,9% con ATG y de 12,3% con Timoglobulina y el RR de desarrollar un tumor de 2,16 (IC: 1- 4,4) para la Timoglobulina.<sup>107</sup>

Múltiples estudios han hecho referencia a la asociación de las infecciones virales con los tumores postrasplante. Es bien conocida la asociación de virus Epstein Barr (VEB) con la enfermedad linfoproliferativa postrasplante (PTLD) y con el cáncer nasofaríngeo; el sarcoma de Kaposi con el virus Herpes Humano (VHH) tipo 8; el virus herpes papiloma (VHP) con el cáncer de piel y también se ha asociado al tumor gastrointestinal.<sup>108</sup> El Papilomavirus humano se asocia al cáncer de vulva, vagina y pene

El grado de asociación de los virus con distintos tumores se representa en la tabla de Vajdic 6.9. En nuestro estudio no disponemos de datos sobre estas infecciones y su correlación con los tumores en este grupo de pacientes.

<b>Table 5.</b> Degree of Evidence Related to Carcinogenicity of Viral Agents in Specific Organs and Tissues of Humans			
Viral Agent	Evidence of Causality		
	Sufficient	Limited	Inconclusive
Hepatitis B virus <sup>14</sup>	Liver		
Hepatitis C virus <sup>14</sup>	Liver		
Human T-cell lymphotropic virus type I <sup>15</sup>	Non-Hodgkin lymphoma*		
Human herpesvirus 8 <sup>16</sup>	Kaposi sarcoma, non-Hodgkin lymphoma†		
Epstein-Barr virus <sup>16</sup>	Nasopharynx, Hodgkin disease, non-Hodgkin lymphoma‡		Salivary gland, stomach, lung
Human papillomavirus <sup>17,18</sup>	Tongue, mouth, tonsil, oropharynx, anus, vulva, vagina, cervix, penis	Nonmelanoma skin, periungual skin, larynx, eye§	Esophagus, nasal cavity, colon, lung, breast, ovary, prostate, bladder
*Adult T-cell lymphoma. †Primary effusion lymphoma. ‡Burkitt lymphoma, sinonasal angiocentric T-cell lymphoma, and immune-suppression related lymphoma. §Conjunctival carcinoma.			

**Tabla 6.9: Grado de evidencia de la carcinogenicidad debida a virus.** <sup>108</sup>

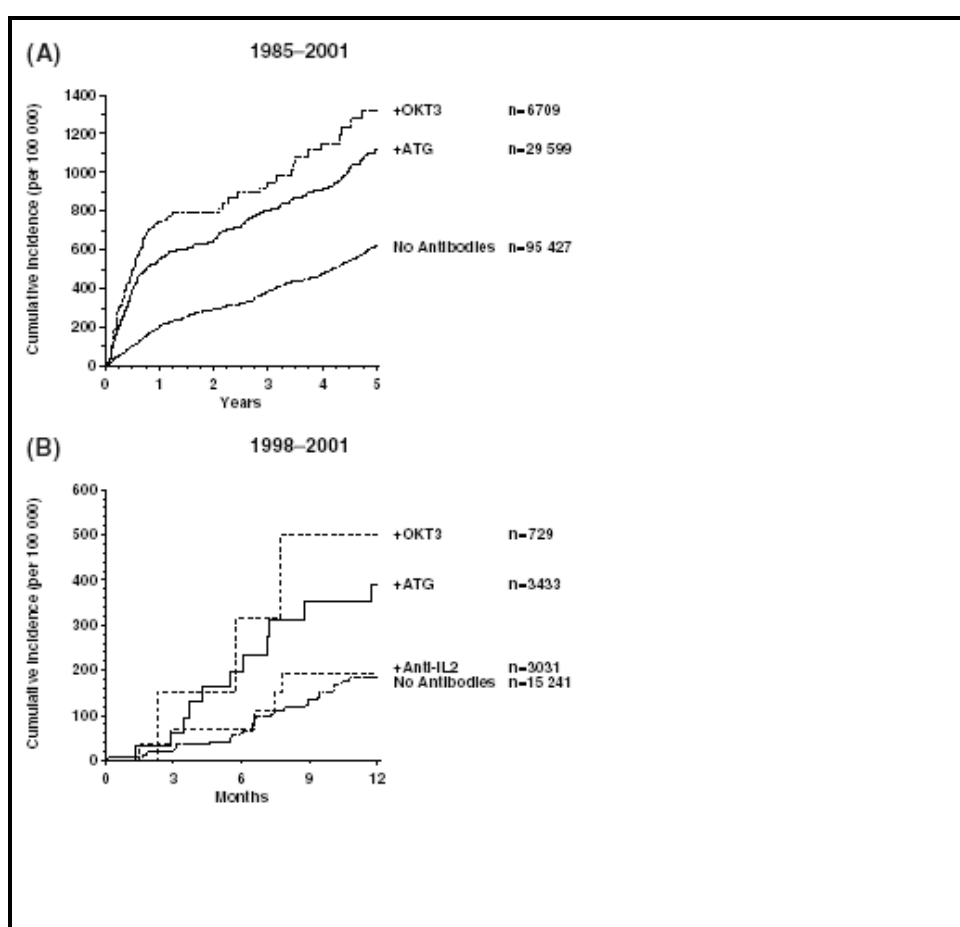
En la literatura se ha descrito un aumento de la incidencia de tumores asociado a una inmunosupresión intensa, fundamentalmente en el cáncer de piel. Los tumores benignos de piel son muy frecuentes según el registro australiano un 30% de incidencia acumulada a los 5 años del trasplante renal, parece que la frecuencia de estos tumores aumenta con el tiempo de duración de la inmunosupresión. Los tumores cutáneos suelen asociarse a verrugas, lesiones premalignas y queratosis actínica, suelen estar en áreas de exposición solar, en ancianos frecuentemente se localizan en la cabeza. Los malignos son menos frecuentes.

En nuestro estudio observamos un aumento de la incidencia de forma significativa, de carcinoma epidermoide y basocelulares cutáneos, en los pacientes que recibieron inducción con Timoglobulina, 13,5% frente a 7,5% en el grupo no T, por otra parte en el grupo con dosis mayores de 5 mg/kg, la incidencia fue superior frente a los que recibieron dosis menores de 5 mg/kg, aunque sin diferencias significativas.

Otros tumores como el sarcoma de Kaposi se suele presentar en el postrasplante precoz, dentro de los primeros 12 meses, las lesiones se suelen limitar a la piel en más del 75% de los casos, nódulos rojo-violáceos, e infiltrados angiomatosos. Es predominante la afectación a nivel de las piernas y con menor frecuencia puede provocar una afectación visceral que lleva asociado mucho peor pronóstico. En nuestra serie no se describe ningún caso de sarcoma de Kaposi.

Los trastornos linfoproliferativos postrasplante (PTLD) aparecen generalmente en los primeros años postrasplante. Los análisis de registros de datos indican una incidencia de 1-2% de los trasplantes renales, siendo el riesgo 10- 20 veces mayor que en la población general.<sup>109</sup> Es característica la asociación en un 90% al VEB. La forma benigna es de tipo mononucleosis infecciosa y aparece en las primeras semanas de iniciado el tratamiento antirrechazo, la forma fulminante es difícil de diferenciar de una sepsis y provoca una afectación multiorgánica. Inicialmente la proliferación de linfocitos B es policlonal, posteriormente se transforma en monoclonal. La forma tardía aparece después del primer año, se suele presentar localizada con afectación del injerto renal, pulmonar y hepática. Kasiske ha publicado en el 2011 un estudio epidemiológico comparativo entre diferentes registros, destacando diferencias en incidencia y factores asociados a un aumento de riesgo de PTLD como las edades extremas (menores de 18 años y ancianos), la serología VEB del donante positiva y del receptor negativa, la seronegatividad del receptor para CMV en el momento del trasplante y también el tratamiento con terapias deplecionantes de linfocitos T. En su análisis, no logra discernir el papel de los fármacos inmunosupresores como factor de riesgo de PTLD, solo resalta el papel de las terapias deplecionantes de linfocitos.<sup>110</sup> Kirk no observó asociación entre el PTLD y un potente fármaco que depleciona linfocitos T como es el Alemtuzumab (anticuerpo monoclonal anti CD52).<sup>111</sup>

En nuestro estudio no presentaron más PTLD los pacientes que recibieron Timoglobulina. Sin embargo una de las series más extensas publicadas, la de Opelz, encontró una mayor incidencia de linfomas en los que recibían inducción con anticuerpos mono/ policlonales, entre datos de 45140 trasplantes renales, como se puede observar en la siguiente figura 6.6. El tratamiento con globulinas antilinfocitarias y OKT3 incrementaba el riesgo de linfoma, sin embargo esto no se producía con antiIL-2, en el estudio de Opelz. Por otra parte la utilización de OKT3 o ATG en el tratamiento del rechazo agudo incrementaba de forma significativa el riesgo de linfoma en los que no habían recibido tratamiento de inducción.<sup>112</sup>



**Figura 6.6: Efecto de la inducción con anticuerpos en la incidencia de linfoma no Hodgkin en receptores de trasplante renal en 2 periodos. A/ Periodo 1985-2001. B/ Periodo 1998-2001. Opelz.<sup>112</sup>**

Entre los resultados de Opelz, destacaba un RR de 7 en los 30779 pacientes sin rechazo agudo frente a RR de 29 en 1399 pacientes tratados con ATG y RR 21,5 para 1298 tratados con OKT3, los resultados de Opelz se muestran en la siguiente figura.

El análisis multivariable del Australia and New Zealand transplant registry (ANZTR) indicaba un incremento de la incidencia de linfomas, cáncer de cervix, vulva y vagina en pacientes que recibieron tratamiento inmunosupresor con anticuerpos mono/policlonales, sin embargo no hay diferencias entre grupos en nuestro estudio.<sup>113</sup> Por otra parte los resultados del análisis multivariable del programa de trasplante del norte de Italia de Pedotti, entre los años 1990-2000 entre 3520 receptores resaltó como los anticuerpos policlonales constituían un factor de riesgo independiente RR 1,6 (IC: 1-2.6) para el desarrollo de cualquier tumor.<sup>114</sup> Además un análisis multivariable de Cox de Cherikh que recogía 38519 trasplantes renales del periodo 1997 al 2000, registro del organ procurement and transplantation network/ united network for organ sharing (OPTN/ UNOS) encontraba una incidencia de PTLD en 0,81% de 4343 pacientes con anticuerpos policlonales, 0,85% en 2710 pacientes que recibieron anticuerpos monoclonales, frente a 0,5% en 23000 receptores que no recibieron tratamiento de inducción.<sup>115</sup>

En los trasplantes hepáticos se realizó un estudio similar con 122 pacientes, la incidencia de PTLD era de 8,3 % en el grupo que recibía terapia de inducción frente a un 2,1 %. También en el estudio de Bustami eran las diferencias significativas, con una muestra de 41658 trasplantes renales, siendo el incremento del riesgo 1.78 veces mayor de padecer un PTLD postrasplante en los que recibieron tratamiento de inducción, pero hay que destacar que no aumentaba el riesgo de desarrollar tumores sólidos de novo. La incidencia de PTLD en función de recibir terapia de inducción, se muestra en la figura 6.7.<sup>116</sup>

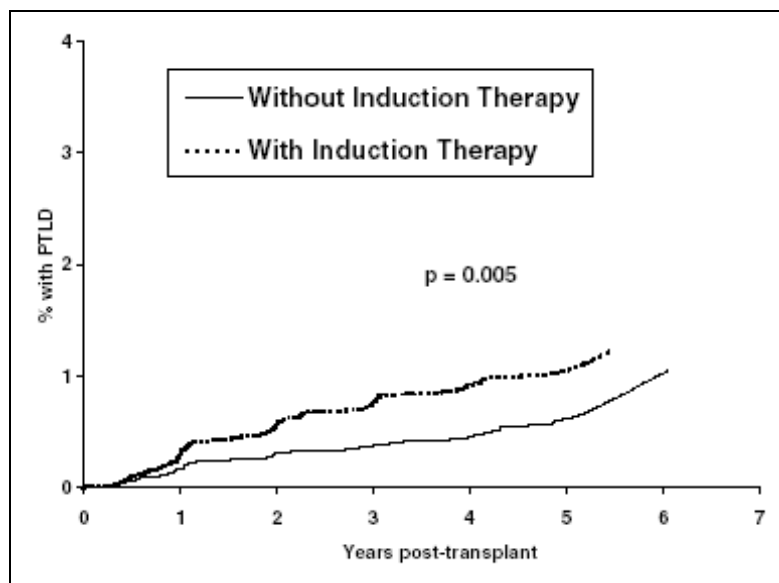


Figura 6.7: Incidencia de PTLD con o sin terapia de inducción. Bustami.<sup>116</sup>

Cuando se analizaba cada uno de los fármacos destacaba un RR: 3 (IC 1,5-5,8) en el grupo que recibía Timoglobulina como se puede observar en la siguiente tabla 6.8.

Factor <sup>1</sup>	%	RR	95% CI	p-value
Induction: ATG	9.0	1.50	(0.93, 2.43)	0.10
Induction: rabbit antithymocyte globulin	5.7	3.00	(1.53, 5.89)	0.001
Induction: muromonab-CD3	10.1	1.71	(1.12, 2.63)	0.014
Induction: daclimuzab	8.1	1.92	(1.08, 3.41)	0.027
Induction: basiliximab	12.4	1.83	(1.05, 3.18)	0.032
Induction: no	54.2	1.00	Ref	

<sup>1</sup>Modelo ajustado por edad, genero, raza, ethnia, peso, serologías Hepatitis C, Hepatitis B, tiempo desde la 1ª diálisis, año del trasplante, y Diabetes. Valor de p <0,34 para encontrar diferencias.

Tabla 6.8: RR de desarrollar un PTLD según el tratamiento de inducción. Bustami.<sup>116</sup>

El registro de datos de la OPTN/UNOS sobre 59560 receptores de trasplante renal, destacó un aumento significativo del riesgo de PTLD en el grupo tratado con Timoglobulina,  $p: 0,025$ . La incidencia difería según el tratamiento de inducción 0,43% sin inducción, 0,38% con Basiliximab, 0,67% con Timoglobulina y 0,37% con Alentuzumab con diferencias significativas.<sup>104</sup> Por otra parte el meta-análisis de Marks para analizar la incidencia de PTLD en pacientes que recibieron Timoglobulina en los años 1999-2009 con seguimiento a 5 años (incluidos estudios con trasplante cardiaco), mostró entre 2246 receptores de trasplante renal una incidencia de PTLD de 0,98%, pero sin diferencias estadísticamente significativas con la dosis de Timoglobulina acumulada.<sup>117</sup>

En el ensayo randomizado de Cantarovich triple terapia en 63 pacientes, frente a inducción con Timoglobulina en 60 pacientes, con un seguimiento a 20 años de los pacientes trasplantados en los años 1985 y 1986, la incidencia de tumores fue 22% en el grupo con inducción versus 11,7 % pero no observaron diferencias significativas ni tampoco en la incidencia de linfomas 3% versus 5%. Quinlan realizó un estudio retrospectivo con los datos del registro científico de receptores de trasplante (SRTR) de los años 1997-2007 incluyendo 283890 pacientes. Entre los que padecían linfoma el 79% eran VEB positivo. El riesgo aumentaba con el tiempo de trasplante, y se observó un riesgo relativo de PTLD de 2,13 (1,67-2,72) sin diferencias estadísticamente significativas.<sup>118</sup> Frenberg recogió una cohorte de 11081 trasplantes renales realizados en los años 1970-2008, entre los que se observaban 153 casos de linfoma no Hodgkin (LNH). En aquellos que recibieron altas dosis de globulinas antitimocitarias el riesgo relativo de tener un LNH fue alto de 8,8 (1,9-3,8), pero tampoco significativo desde el punto de vista estadístico.<sup>119</sup> Nosotros no obtuvimos diferencias significativas en la incidencia de tumores en relación con la persistencia de linfopenia a partir del 1º año, ni en el trastorno linfoproliferativo postrasplante.

El resumen de los estudios que tratan los PTLD se describe en la tabla 6.9

<b>Estudios</b>	<b>PTLD</b>	
<b>referencias</b>	<b>RR (IC 95%)</b>	<b>p</b>
Pedotti <sup>114</sup>	1,6 (1-2,6)	<0,05
Cherikh OPTN/UNO <sup>115</sup>	1,29 (0,8-2,03)	ns
Bustami <sup>116</sup>	1,78 (1,53-5,81)	<0,05
Quinlan <sup>118</sup>	2,13 (1,67-2,72)	ns
Frenberg <sup>119</sup>	8,8(1,9-3,8)	ns

**Tabla 6.9: Estudios que analizan RR (IC 95%) de PTLD en trasplante renal.**

El carcinoma renal lo observamos en nuestro estudio en el 5% sin diferencias entre ambos grupos, este tumor puede ocurrir sobre riñones propios o sobre el injerto. El tumor de cervix suele pasar desapercibido por lo que es necesario hacer exámenes rudimentarios en trasplantadas. Este tumor tiene buen pronóstico si se trata a tiempo. En nuestra serie no se describe ninguno. El cáncer de pulmón fue mayor en el grupo que no recibió Timoglobulina, aunque desconocemos si existen diferencias entre los 2 grupos en cuanto a los factores de riesgo como el tabaquismo.

En el momento actual no hay evidencias de que algún tratamiento específico provoque algún tipo de tumor, más bien parece que el mayor riesgo se debe a una excesiva inmunosupresión. Sin embargo la inmunosupresión por sí sola no es suficiente para explicar la elevada prevalencia de tumores en los trasplantados. Hay que considerar otros factores de riesgo como la genética, tóxicos como el tabaco, las radiaciones, fármacos citostáticos, e infecciones crónicas víricas, también la diferente zona geográfica. El grupo francés que más ha estudiado la linfopenia, analizó la función tímica pretrasplante (midiendo Trec) para predecir el riesgo de cáncer postrasplante, después de 8-10 años de evolución, en pacientes que recibieron ATG. Los niveles de Trec, que determinaban la función tímica, eran menores en pacientes que desarrollaban cáncer con diferencias significativas. En el análisis multivariable, los Trec pretrasplante, en su estudio constituían el único factor predictivo de cáncer.<sup>120</sup>

### **Rechazo agudo y terapia de inducción:**

El rechazo agudo (RA) es una causa frecuente de pérdida del injerto en el primer año, pero además es un factor predictor del desarrollo de nefropatía crónica del trasplante. La tasa de rechazo agudo está influenciada por la presencia de anticuerpos anti- HLA. Los pacientes pueden hiperinmunizarse a partir de transfusiones sanguíneas, embarazos, y rechazo de injertos renales previos. Las guías KDIGO incluyen como factores de riesgo de rechazo agudo un elevado mismatch, la etnia afroamericana, un PRA mayor de 0, la presencia de anticuerpos donante específicos (ADE), y un tiempo de isquemia fría superior a 24h.<sup>44</sup> Hoy en día según la lista de espera de los pacientes hiperinmunizados pueden suponer un 30-50%. La hiperinmunización puede tener como consecuencia el aumento de la frecuencia de retraso en la función del injerto, rechazo agudo humoral y rechazo crónico. El manejo de estos pacientes es complicado e incluye protocolos de plasmaféresis e inmunoadsorción. La terapia de inducción parece favorecer la evolución del injerto renal en la mayoría de los estudios.

Nuestros resultados en incidencia de rechazo agudo no difieren de los publicados en otros estudios, encontramos menor número de rechazos en el grupo con Timoglobulina con diferencias estadísticamente significativas, no había diferencias entre grupos en cuanto a los factores de riesgo de RA como el mismatch, el PRA, o el tiempo de isquemia fría.

Los ensayos randomizados comparativos de anticuerpos policlonales frente a monoclonales difieren en los resultados sobre incidencia de RA. Algunos autores como Sollinger, Lebranchu, Mourad, Abud-Ayache y Ciancio, no encontraron diferencias en la incidencia de RA demostrado por biopsia.<sup>147-151</sup> Sin embargo Brennan observó menor tasa de RA en el grupo tratado con ATG frente a Basiliximab (16 % frente a 26 %) aunque era un ensayo no doble ciego y no se redujo la incidencia de retraso en la función del injerto 40,4 % frente a 44,5%.<sup>65</sup> El estudio randomizado, Timoglobulina frente a Daclizumab de C. Noel, mostró una menor incidencia de rechazo con Timoglobulina, (p:0,002) rechazos más intensos con Daclizumab (aunque sin diferencias significativas) y aparición del rechazo significativamente más precoz con Daclizumab (13 frente a 35 días; p: 0,007).<sup>66</sup>

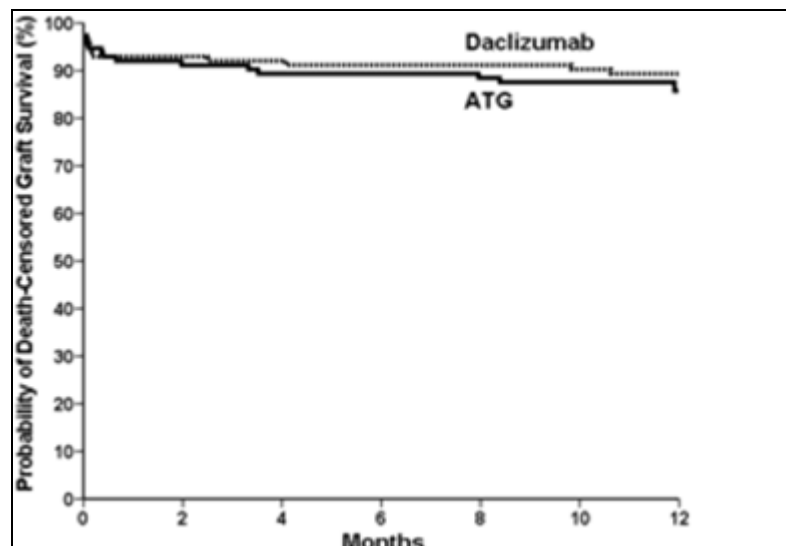
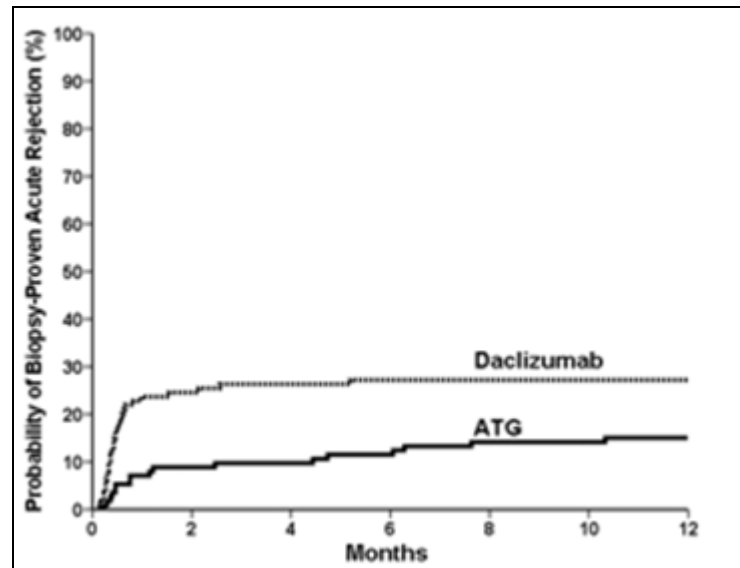


Figura 6.8: 1º Gráfico: Probability of acute rejection. 2º Probability of death censored allograft survival.<sup>66</sup>

Entre los estudios que comparan globulinas antitimocitarias frente a triple terapia el estudio randomizado canadiense, tratamiento de inducción con ATG versus triple terapia, mostró una incidencia de rechazo agudo menor en el grupo con inducción de forma significativa 28% versus 75%.<sup>63</sup> Igualmente Charpentier estudió 555 pacientes tratados con inducción con ATG frente a triple terapia siendo la incidencia de RA 26,6% en el grupo ATG, tacrolimus y esteroides frente a 37 % en el grupo con

ciclosporina, micofenolato y esteroides al cabo de 6 meses, con diferencias estadísticamente significativas.<sup>70</sup>

Un grupo de trasplante de Alicante estudió la evolución de 2 grupos: triple terapia e inducción con Timoglobulina, observando una incidencia de rechazo agudo a los 2 años de 6% en el grupo con Timoglobulina frente a 30 %, con diferencias significativas estadísticamente, aunque sin diferencias al cabo de 2 años en cuanto a la incidencia de infecciones oportunistas, y de tumores.<sup>121</sup> Considerando distintos niveles de PRA, el RR de rechazo agudo entre los hiperinmunizados, se reducía 2,3 veces en los tratados con Timoglobulina frente a los que no recibían inducción en el estudio retrospectivo de Castro.<sup>64</sup>

El meta-análisis chino de los ensayos clínicos randomizados del año 2009 con 891 pacientes, en cuanto a la inducción con anticuerpos policlonales, observó mejor resultado con globulinas antilinfocitarias frente a la no inducción tanto, para reducir la incidencia de rechazo crónico (RR 0.70; 95% IC: 0.57-0.84) como de rechazo agudo a los 6 meses (RR 0.68; 95% IC: 0.49-0.96) y a los 12 meses (RR 0.67; 95% IC: 0.50-0.89).<sup>122</sup>

Nuestra tasa de rechazos agudo fue significativamente mayor en el grupo que no recibió Timoglobulina 41,5% versus 25,9%. Comparando con otros estudios es similar en el grupo T a la descrita en el estudio de Cantarovich y similar a la del estudio publicado por Castro. En la tabla 6.10 siguiente se recogen algunos estudios que analizan el rechazo agudo, según el tipo de tratamiento inmunosupresor recibido con diferencias significativas entre grupos.

	<b>Timoglob</b>	<b>Basilix/Dacliz</b>	<b>No inducción</b>	<b>p</b>
Brennan <sup>65</sup>	15,65%	25,50%		0,02
C. Noel <sup>66</sup>	15%	27,2%		0,016
Mourad <sup>90</sup>	15,20%		30,4%	0,002
Castro <sup>64</sup>	16%	42%	70%	0,02
Cantarovitch <sup>63</sup>	28%		75%	0,0001
Franco <sup>121</sup>	6,00%		30%	0,003
Charpentier <sup>70</sup>	22,6%		37%	<0,05

**Tabla 6.10: Estudios que analizan la incidencia de rechazo agudo según el grupo de tratamiento. Timoglobulina versus Basilix/ Daclizumab y Timoglobulina versus no inducción.**

### **Supervivencia del injerto renal**

Existen una serie de factores asociados con mayor riesgo de pérdida del injerto renal, entre los factores inmunológicos esta: el rechazo agudo, la escasa compatibilidad HLA, la sensibilización previa con anticuerpos antiHLA y el incumplimiento terapéutico y entre los no inmunológicos: la lesión por isquemia reperusión, la edad del donante, la HTA, la hiperlipidemia, la diabetes, proteinuria y nefrotoxicidad crónica por anticalcineurínicos y las infecciones.

La supervivencia del injerto en la muestra global de pacientes a 10 años de seguimiento, fue inferior en el grupo que recibió Timoglobulina a pesar de la menor incidencia de rechazo agudo, no hay diferencias entre factores de riesgo como baja compatibilidad HLA, ni sensibilización previa con anticuerpos antiHLA. Hay que considerar que supervivencia del injerto a largo plazo está condicionada por la aparición de la nefropatía crónica del injerto, siendo la incidencia en la época de la ciclosporina elevada hasta un 60%, en el estudio de Navikell.<sup>123</sup> En nuestro grupo de estudio al ser los trasplantados que recibieron Timoglobulina de años anteriores frente a los del grupo

que no recibió, un número menor de pacientes pasaron a tacrolimus. Sólo un 3,6% se convirtieron de ciclosporina a tacrolimus (grupo T) frente a un 12 % de los pacientes del grupo no T.

En muchos pacientes se disminuyó el tratamiento inmunosupresor de mantenimiento como consecuencia de las infecciones como el CMV, conduciendo a largo plazo a nefropatía crónica del injerto. Observamos que la aparición de enfermedad por Citomegalovirus conllevaba menor supervivencia del injerto en el grupo con Timoglobulina de forma significativa.

En estudios comparativos frente a anticuerpos monoclonales como el de C. Noel del 2009, Timoglobulina frente a Daclizumab, la función renal al año medida por creatinina plasmática era similar con creatinina:  $1,7 \pm 1,2$  mg/dl versus  $1,5 \pm 0,6$  mg/dl.<sup>66</sup> El estudio español de Rodrigo realizado en 4861 pacientes sobre tratamiento de inducción, observó una mayor tasa de supervivencia del injerto en aquellos que la recibían frente a los que no  $14,09$  años IC ( $13,7-14,4$ ) versus  $13,59$  años IC ( $13,33-13,85$ ) con diferencias significativas, pero se trata de un estudio retrospectivo. Un 14% de los pacientes que recibieron inducción perdieron el injerto, frente a un 15,6 % que no. Esta diferencia en supervivencia del injerto, no era similar en todos los grupos. En el grupo de edad menor de 55 años, la pérdida del injerto era de 15% frente a 17,6% en los que no recibían inducción, pero estas diferencias no se observaban en los de edad mayor de 55 años.<sup>72</sup> Por otra parte en el ensayo randomizado canadiense, unicéntrico, el tratamiento de inducción con Timoglobulina, frente a la no inducción, mejoraba la supervivencia del injerto sólo durante el primer año y no en los años posteriores.<sup>63</sup>

La supervivencia del injerto en pacientes hiperinmunizados no mejora según la dosis de Timoglobulina, Gluck y Turner comparando dos grupos que recibieron (dosis mayor de 7,5mg/kg o inferior) no encontraron relación independiente entre la dosis de rATG y la supervivencia del injerto (hazard ratio: 0.85, P=0.79, IC 95% 0,26-2,7 para grupo de dosis mayor frente al inferior) concluyendo que dosis inferiores a 7 mg/kg son igual de eficaces y producen menos efectos secundarios.<sup>124</sup>

De entre estudios que analizan supervivencia de injerto en pacientes que reciben anticuerpos policlonales o monoclonales destacan el ensayo randomizado de Beaudreuil que comparaba globulina antitimocítica en 20 pacientes, frente a antagonistas del

receptor IL-2 en otros 20 trasplantes; no encontraron diferencias significativas en cuanto a supervivencia del injerto a los 10 años, 45% versus 35%.<sup>125</sup> Sin embargo el estudio comparativo de Patel, Basiliximab versus globulina antitimocítica derivada de conejo (rATG) en obesos observó una mejor supervivencia del injerto al cabo de  $47 \pm 10$  meses con rATG 63,6 % frente a 90,3%, así como en no obesos 68,2% frente a 88,7% con diferencias estadísticamente significativas, entre las variables secundarias no había diferencias en la tasa de infecciones de la herida y víricas.<sup>126</sup> El meta-análisis de los ensayos clínicos randomizados de Szczech, obtuvo una mejoría de la supervivencia del injerto tras la inducción con anticuerpos policlonales, aunque sin diferencias significativas, por baja representatividad estadística.<sup>127</sup>

### **Supervivencia del paciente:**

Tras el trasplante renal se incrementa la mortalidad cardiovascular por asociación de factores de riesgo pretrasplante y postrasplante. La mortalidad infecciosa y de origen tumoral también aumenta, contribuyendo a ello la inmunosupresión acumulada. Por otra parte la disfunción del injerto renal postrasplante es otro factor de riesgo de mortalidad.

La curva de supervivencia de Kaplan-Meier de nuestro grupo de estudio, mostró diferencias significativas en cuanto a la supervivencia del paciente a lo largo de 10 años, siendo menor en el grupo que recibió Timoglobulina.

Los resultados de los estudios de supervivencia en el trasplante renal, difieren mucho en la literatura, según las características del receptor y del donante, según el país, y el tipo de trasplante.

-Supervivencia según las características del receptor: En general los ensayos que incluyeron pacientes de bajo riesgo inmunológico, no observaron diferencias en la supervivencia del injerto renal, ni del paciente tras la inducción con anticuerpos policlonales. Así en el estudio randomizado triple terapia convencional (grupo 1) versus inducción con Timoglobulina (grupo 2) la supervivencia del paciente era respectivamente en el grupo 1 frente al grupo 2: 83% versus 88% a los 10 años, 64% versus 54% a los 20 años, sin diferencias estadísticamente significativas.<sup>90</sup> Por otra parte el estudio de Kuo HT con una muestra entre los años 2003-2008 de 44 mil receptores de trasplante renal y seguimiento de 834 días, entre los que recibían

anticuerpos policlonales de inducción, aquellos con 0 mismatch, tenían una menor incidencia de rechazo agudo durante los 6 primeros meses, pero sin diferencias en cuanto a la supervivencia del injerto y del paciente a largo plazo, al comparar con los que no recibieron inducción.<sup>128</sup> Sin embargo en los pacientes de alto riesgo inmunológico, es posible que la supervivencia sea mejor con globulinas antitimocitarias, dada la menor incidencia de rechazo agudo. El estudio de Mai M. resaltó que los pacientes hiperinmunizados (HI) con anticuerpos donante específicos identificados, pueden ser trasplantados satisfactoriamente utilizando inducción con rATG e inmunoglobulina intravenosa, con función renal y supervivencia del injerto similar que los de bajo riesgo inmunológico.<sup>129</sup>

Entre los estudios publicados de comparación con anticuerpos monoclonales (grupo II), la supervivencia del paciente al primer año, de Noel era semejante en ambos (grupo I, 95,6% y grupo II, 96,5%).<sup>66</sup> Igualmente el análisis multivariable de Bunnapradist con 24 mil pacientes de la UNOS, los que recibían Timoglobulina estaban más hiperinmunizados, retransplantados o con retraso de la función del injerto pero el tipo de agente de inducción (Timoglobulina, Zenapax, y Simulet) no influyó en la supervivencia del injerto, HR para Timoglobulina 1,07 (0,96-1,19).<sup>130</sup>

Considerando la edad del receptor, un estudio de Patel destacó que los pacientes mayores de 60 años, con retraso de la función renal del injerto y una dosis acumulada de rATG mayor de 6 mg/kg, presentaron una supervivencia menor de 50% al cabo de 2 años, siendo la supervivencia al 3º año inferior en los pacientes de mas de 60 años (80% versus 95%; p = 0,02).<sup>131</sup> Dados los mayores riesgos derivados del uso de anticuerpos policlonales en población anciana, Laftavi y colaboradores compararon dos grupos tratados con inducción a dosis baja (dosis de rATG en ancianos: 2,96±1,29 versus dosis en jóvenes: 3,2±2,11 mg/kg) mas triple terapia de anticalcineurínico, micofenolato y prednisona, con el fin de evaluar en ancianos (mayores de 65 años) la seguridad de bajas dosis de Timoglobulina, observaron una supervivencia del paciente 86,6% y del injerto 97,6% a los 3 años similar a los jóvenes y sin diferencias en la tasa de infecciones.<sup>132</sup>

Las diferentes comorbilidades presentes en el receptor pueden contribuir a una menor supervivencia, recientemente un grupo español ha ensayado un nuevo score de riesgo de mortalidad, utilizando el modelo multivariable de regresión de Cox y la comorbilidad emergente pasado el primer año después del trasplante (edad, Diabetes Mellitus,

proteinuria mayor de 1gramo en el 1º año, función renal, inmunosupresores y anticuerpos positivos para el virus C), combina los factores de riesgo clásicos con los propios de trasplante y resulta útil para identificar pacientes con alto riesgo de mortalidad en los 3 primeros años postrasplante.<sup>133</sup>

-Supervivencia según el tipo de trasplante: Varios trabajos realizados en diferentes modalidades de trasplante también han observado una supervivencia inferior con el tratamiento de inducción, entre ellos el estudio retrospectivo de Higgins, en trasplante cardiaco de bajo riesgo inmunológico, sobre todo debido a una mayor morbilidad infecciosa y tumoral.<sup>134</sup> Sin embargo el estudio de Hachem en el trasplante de pulmón, obtuvo mejor supervivencia del injerto en aquellos que recibieron inducción con Timoglobulina frente a los que no, aunque el diseño era retrospectivo.<sup>135</sup> En relación al trasplante hepático hay pocos estudios por la menor utilización de Timoglobulina, dada la diferente respuesta inmunológica.

- Supervivencia según el país trasplantador: en Estados Unidos la supervivencia es inferior a la española según resultados de análisis comparativos, como el del grupo español de Serón, el porcentaje de receptores con injerto funcionante a los 10 años era 71,5% en España frente a 53,4% en EEUU ( $p < 0,001$ ), con una muestra de 9609 de EEUU y 3808 españoles y la supervivencia del receptor 86% en España y 67.3% en EEUU.<sup>136</sup>

En cuanto a la etiología de mortalidad en el trasplante renal, la principal causa es fundamentalmente cardiovascular. En nuestro estudio la mortalidad cardiovascular fue la principal pero no fue mayor en los pacientes que recibieron Timoglobulina, supuso un 35,3 % de las muertes incluyendo las muertes súbitas en el grupo T frente al 37,7 % en el grupo no T, desconocemos la prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular (HTA, dislipemia, etc) entre grupos. Sin embargo en los últimos años la incidencia de muerte asociada a tumores ha aumentado. En el registro australiano ANZTR de Chang, las muertes por cáncer a los 10 años eran elevadas, un 26 % entre los 420 tumores no cutáneos registrados en 6596 trasplantes renales.<sup>137</sup>

Igualmente en el análisis de Howard, la mortalidad por tumores esta incrementándose en probable relación con receptores más añosos y una inmunosupresión más intensa. Las causas según la época se representan en la siguiente tabla 6.11.<sup>138</sup>

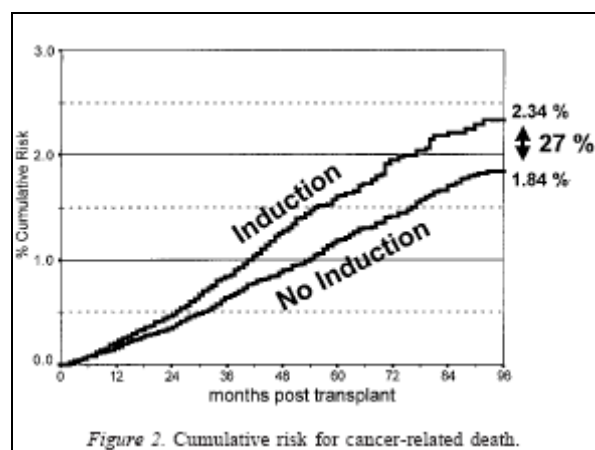
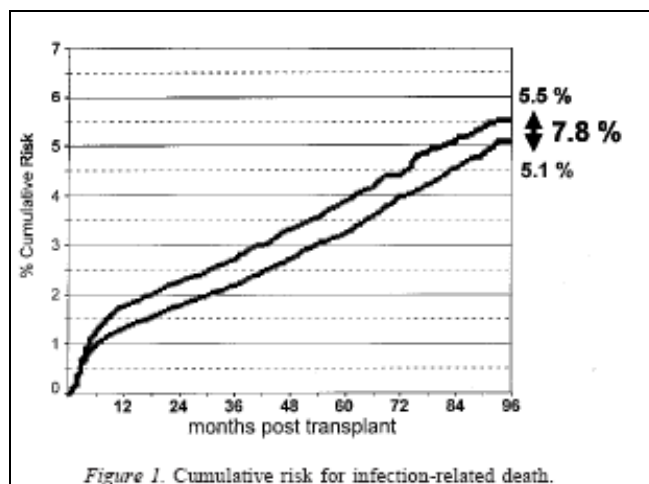
**Table 7.** Causes of death for kidney transplants performed during 1970–1999 by transplant era (adapted from Howard *et al.* [102]).

Cause of death	Transplant era		
	1970–1979	1980–1989	1990–1999
Infection	42.0	42.0	28
Cardiac	9.6	23.8	30.2
Neurologic	2.4	5.2	8.5
Cancer	1.2	5.2	13.2

**Tabla 6.11: Causas de mortalidad en trasplantes renales 1970-1999. Howard.<sup>138</sup>**

Las causas de mortalidad en nuestro estudio fueron similares a las de Howard en la década 90-99. La muerte debida a infección fue superior en el grupo con Timoglobulina. Los fallecimientos por cancer no fueron diferentes entre los dos grupos. En relación a la dosificación de Timoglobulina en nuestro análisis se observó mayor mortalidad entre los que se trataban con dosis mayores de 5 mg/kg, frente a los que recibían menos de 5 mg/kg, aunque sin diferencias estadísticamente significativas.

Resultados más actuales del OPTN/UNOS nos informan que a nivel de mortalidad a 5- 10 años postraplante, los tumores son causa de muerte en el trasplante renal en un 14,5 %, siendo 18,7% en el hepático y 21 % en el cardíaco.<sup>139</sup> En el registro de Canadá con 760 trasplantes renales y una media de seguimiento de 13 años, la mortalidad era del 54% fundamentalmente por tumores.<sup>140</sup> Kauffman comparó los inhibidores de m-Tor, frente a los anticalcineurínicos, demostrando una reducción del riesgo de tumores del 60% con estos fármacos antiproliferativos.<sup>141</sup> Entre los estudios de mortalidad figura el de Meier- Kierche que incluía 73.707 trasplantes renales seguidos en EEUU durante 8 años, en este estudio destacaba un aumento del riesgo de mortalidad asociado a tratamiento de inducción con anticuerpos poli y monoclonales frente a no inducción. El riesgo de mortalidad de causa infecciosa era RR: 1,32 de causa cardiovascular RR: 1,27 y de causa tumoral RR: 1,35 con diferencias estadísticamente significativas. Las siguientes figuras 6.9 recogen estos datos.<sup>142</sup>



**Figuras 6.9: Asociación de la inducción con anticuerpos con causas específicas de mortalidad en el trasplante renal. Meier-Kriesche H-U.** <sup>142</sup>

Disponemos en la bibliografía de un estudio que analizaba la mortalidad en relación con la presencia de linfopenia. Los autores observaron que los pacientes con linfocitos  $CD4 < 300$  células/ $mm^3$  tenían una supervivencia inferior a los 5 años, con diferencias estadísticamente significativas como se observa en a figura 6.10.<sup>77</sup>

En el modelo de Cox, ajustado por edad y duración del trasplante renal, los pacientes que presentaban  $CD4 < 300$  células/ $mm^3$ , tenían un Hazard ratio (HR) de 4,6 (1.9-10.6) (tabla 6.12). Hay que considerar como limitaciones, que el estudio incluía a pacientes prevalentes. En nuestro modelo de Cox también es significativo el HR 6,35

(IC 95% 1,71-23,6). Otros autores han obtenido similares resultados en cuanto a mayor mortalidad asociada a Timoglobulina.<sup>143</sup>

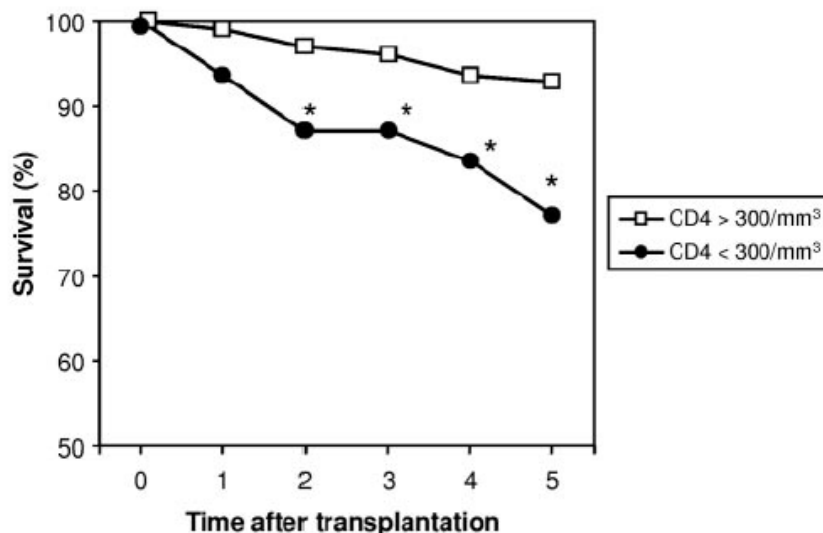
**Table 4. Cox model**

Variable	HR (95% CI)	P
CD4 <sup>+</sup> T cells (/mm <sup>3</sup> )		
≥300	1.00	
<300	4.63 (1.91 to 10.65)	0.001
Age (years)		
<43	1.00	
43 to 57	1.42 (0.79 to 3.51)	0.311
>57	3.15 (1.11 to 15.27)	0.042
CRP (mg/L)		
<3	1.00	
≥3	5.22 (1.63 to 16.70)	0.005

Cox model is adjusted for duration since kidney transplantation and gender.

**Tabla 6.12: Modelo de Cox. Ducloux.<sup>77</sup>**

En este estudio idearon una forma de medir la función tímica, determinando los Treccs (Tcell receptor excisión circles) o secuencias de cromosomas fragmentados para producir DNA episomal. Esto podría ayudar a identificar pacientes pretrasplante con alto riesgo para desarrollar depleción linfocitaria persistente en el tiempo, pero en la práctica es una técnica compleja y no disponible.



**Figura 6.10: Supervivencia a 5 años de seguimiento, según CD4 <300/ mm<sup>3</sup>.** <sup>77</sup>

Nuestra curva de supervivencia también muestra diferencias en cuanto a la menor supervivencia en los pacientes que presentaban linfocitos CD4 < 300 células/mm<sup>3</sup> en más de una determinación, pasado el primer año del trasplante.

Hurst y colaboradores analizaron una cohorte de 41 mil trasplantes renales para establecer la asociación entre leucopenia, neutropenia postrasplante y peor supervivencia del paciente y del injerto. Encontraron una incidencia de 14,5% de neutropenia y leucopenia postrasplante. El riesgo de pérdida del injerto era RR: 1,59 (IC 95%: 1,43-1,76) y el riesgo de muerte 1,74 (IC95%: 1,59-1,90) con diferencias estadísticamente significativas.<sup>144</sup>

Toussaint estudió las causas de muerte a los 5-18 años postrasplante en una muestra de 102 pacientes y encontró un 48% de mortalidad de causa vascular, un 21 % tumoral, y 18% por sepsis.<sup>145</sup> Nuestra mortalidad a 10 años era similar, excepto en la causa cardiovascular que representaba un 26,7% Touissant observó un 48% a 18 años, el tiempo de evolución aumenta el riesgo cardiovascular, elevando la mortalidad.

Turner estableció 2 grupos con diferente dosificación de Timoglobulina, el primero con 33 pacientes que recibieron dosis menor de 7,5 mg/ kg y el segundo con 63 pacientes, con una dosis mayor de 7,5 mg/Kg, siendo similar en ambos la tasa de

reducción del rechazo agudo y la supervivencia del injerto. Considerando estos últimos estudios publicados, probablemente la administración en monodosis, sea mejor que el régimen habitual.

En la unidad de infecciosas del Hospital 12 de Octubre se está estudiando el perfil inmunológico del paciente pretrasplante destacando entre sus resultados, aún no publicados una incidencia de 15- 20 % de pacientes con niveles bajos de linfocitos pretrasplante, que por tanto serían más susceptibles de persistir linfopenicos tras el tratamiento con globulinas policlonales. Para Kho MM y colaboradores este descenso en linfocitos T y B, en los pacientes con insuficiencia renal crónica antes del trasplante es estadísticamente significativo, con respecto a la población normal.<sup>146</sup>

Las principales limitaciones de nuestro estudio son las propias del diseño de un estudio de cohortes retrospectivo. El estudio de las subpoblaciones linfocitarias, inmunosupresión recibida, incidencia de infecciones severas, enfermedad CMV y tumores, se evaluó en la muestra de pacientes trasplantados en los años 1994 y 1998. No se pudieron recuperar algunas historias de pacientes fallecidos y esto puede representar un sesgo en el estudio de mortalidad por lo que el estudio de supervivencia se ha realizado en una población mayor tratada con los mismos protocolos que incluye también a estos pacientes.

Es importante la monitorización de las subpoblaciones de linfocitos para evitar una sobreinmunosupresión, con el fin de prevenir las infecciones y tumores en los años posteriores y mejorar la calidad de vida del paciente trasplantado. La determinación basal pretrasplante de los parámetros de inmunidad celular, puede permitir la oportunidad de hacer un mayor seguimiento individual, y tratamientos preventivos en aquellos pacientes de mayor riesgo de linfopenia y comorbilidad asociada. Sería interesante, establecer un score en función de la edad, comorbilidad y determinación de las subpoblaciones linfocitarias pretrasplante, para poder monitorizar más estrechamente al paciente con alto riesgo de depleción linfocitaria persistente, en caso de recibir inducción con anticuerpos policlonales.

Los principales ensayos clínicos randomizados que comparan anticuerpos policlonales frente a monoclonales se recogen a continuación en la tabla 6.14 y los que comparan anticuerpos policlonales frente a triple terapia en la 6.15.

**Tabla 6.14: Estudios comparativos Anticuerpos policlonales frente a los monoclonales.** (N: número de pacientes, ECR: ensayo clínico randomizado, TXR: trasplantes renales, TIF: tiempo de isquemia fría, ATG: globulina antitimocitaria, RA: rechazo agudo demostrado por biopsia, CsA: ciclosporina, FK: tacrolimus, Bas: basiliximab, Tac: daclizumab, MMF: Micofenolato mofetilo, E: esteroides, C1H: Campath.)

Ref <sup>a</sup>	Brennan <sup>65</sup>	Ciancio <sup>151</sup>	Ayache <sup>150</sup>	Mourad <sup>149</sup>	LeBranchu <sup>148</sup>	Sollinger <sup>147</sup>
<b>Pacientes/ Métodos</b>	N:278 no doble ciego Bas vs ATG; 12 meses	N:90 Dac vs ATG vs C1- H; 37 meses mediana	N:99 Dac vs ATG; 12 meses F/U	N:105 Bas vs ATG; 12 meses F/U	N:100 Bas vs ATG; 12-mes F/U	N:138 Bas vs ATG; 12-mes F/U
<b>Sujetos “Riesgo”</b>	63% caucasia 90% 1°TXR, TIF:26 h; 0% donvivo PRA 6%; pico PRA 14%	43% caucasian 100% 1°TXR TIF: 33h; 0% donvivo media HLA 4incom; 6% PRA>5%	No menciona raza, transplante, TIF, donante vivo o PRA	No menciona raza; 92% 1°TXR; TIF: 20,5h; 3% don vivo; PRA < 20%	93% caucasiano 100% 1°TXR TIF:20h; 0% donvivo; IncomHLA: 3,5 PRA <25%	81% caucasiano 91% 1°TXR, TIF:21h; 38% donvivo 32% ≥4incomp HLA;
<b>Inmunosupresión</b>	Todos MMF esteroides, CsA al 4° día.	Todos MMF; +esteroides para grupos ATG y Dac, permitido en grupo C1-H; FK cuando Cr<4 mg/dL	Todos MMF, y E CsA se inicia cuando cr.<2,5	Todos MMF; y esteroides, CsA cuando Cr.< 2,3 mg/dl en todos	Todos MMF; y E CsA si Bas, día 1 si ATG: Cr<2,7 mg/dl	Todos MMF,y E. CsA pautado: si Bas al 3día si ATG al 4- 5°día
<b>Resultados RA</b>	ATG (16%) Bas (26%) P<0.05	no diferencias 20% ATG 23% Dac y C1-H	no diferencias 17% Dac 15% ATG	no diferencias 9,6% Bas 9,4% ATG	no diferencias 8% ambos grupos	no diferencias 19% Bas v 20% ATG
<b>supervivencia</b>	Sup. injerto (91% ATG vs 90% Bas) Sup. paciente no diferente	sup injerto más baja en C1-H (74%); sin diferencias en ATG (81%) vs Dac (82%) sup paciente no diferen	Sup. injerto no diferente: 94% Dac vs 95% ATG; sup. paciente no diferente	Sup. injerto no diferente (94% Bas vs 96% ATG) Sup. paciente no diferente	Sup. injerto no diferente (94% Bas vs 96% ATG); Sup. paciente no diferencias	Sup. injerto no diferente (97% Bas vs 98% ATG); Sup. paciente no diferencias
<b>Eventos adversos</b>	Bas: leucopenia, ITU, infecciones virales y bacterianas	Sin diferencias, complicacion infecciosas 7(23%) vs 6 (20%)	Enf CMV: Dac < ATG	leucopenia, Infección CMV: Bas<ATG	Infec CMV: 6% Bas 19% ATG Infección: 64,7% Bas 86% ATG	42% ATG 11% Bas no signif

Referencias	Franco <sup>121</sup>	Castro <sup>64</sup>	Cantarovich <sup>63</sup>	Mourad <sup>90</sup>	Charpentier <sup>70</sup>
<b>Pacientes/ Métodos</b>	prospec 12-36 meses	retrospec 213 ATG 315 no ATG 1 año	123 TXR Triple terap vs ATG	309 TXR Prospec Triple terapia vs ATG 12 meses	555 TXR triple terapia vs ATG; 6 meses
<b>Inmunosup</b>	a/ timoglob b/ triple terapia	1/ timoglob 2/ simulet 3/ OKT3	1/csa, aza, E 2/ALG, csa,E	a/induc ATG. b/aza, tacrol y pred.	a/FK, MMF, E b/ ATG, FK, E c/csa,MMF,E
<b>Resultado RA</b>	a/ 6% b/30%	1/ 12% 2-3/ 50%	1/ 75% 2/ 28%	a/8.6%. b/8.9%	a/ 33% b/ 22,6 % c/37% p<0,05
<b>Resultado supervivencia</b>	superviven igual 97%			Sup.pacien / injerto similar diferen no significat	diferencias significat
<b>Eventos adversos 2°</b>	no diferencias	CMV 1/ 33% 3/23%	CMV 1/10%. 2/18%	Infec CMV: a/32.5% b/19% p<0,05	Mayor en grupo con ATG

Tabla 6.15: Estudios comparativos: Anticuerpos policlonales frente a triple terapia convencional.



## CONCLUSIONES

## 7- CONCLUSIONES.

1- El tratamiento con anticuerpos policlonales está asociado de forma significativa a una alteración de la inmunidad celular que se mantiene en el medio plazo. La depleción linfocitaria es principalmente a expensas de linfocitos CD4, que representan la parte fundamental del sistema inmune.

2- El uso de estos inmunosupresores se asocia a:

2.1- un aumento de la incidencia de infecciones severas.

2.2- incremento de enfermedad por CMV.

2.3- aumento del riesgo de tumores cutáneos.

2.4- menor riesgo de rechazo agudo del injerto renal.

2.5- peor supervivencia del injerto renal, en parte atribuida a la enfermedad CMV.

2.6- peor supervivencia del paciente.

3- La dosis de Timoglobulina recibida se correlaciona con los linfocitos CD4.

4- La supervivencia del paciente es inferior en los que tienen recuento de linfocitos  $CD4 < 300 \text{ células/mm}^3$  en más de una determinación, pasado el primer año del trasplante.

## ANEXO

7- ANEXO

**CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS GRUPOS**

**Tabla 1: Características basales de los grupos.**

	<b>Grupo T</b>	<b>Grupo no T</b>	<b>p</b>
Edad donante (años)	41+-16	42+-16	0,1
Edad recept(años)	51+-13	49+-12	0,09
Sexo (Hombre/mujer)	64/47	92/50	0,24
t° isq. Fría (horas)	18,8+-5,6	19+-4,6	0,2
HLA match	2,08+-1,04	1,95+-1,03	0,31

**Tabla 2: Causas de Enfermedad Renal Crónica.**

<b>Etiología ERC</b>	<b>Grupo T n(%)</b>	<b>Grupo no T</b>	<b>p</b>
GN	23(20,7)	43(30,7)	ns
NTIC	23(20,7)	22(15,7)	ns
NAE	17(15,3)	8(5,7)	ns
PQ	18(16,2)	18 (12,9)	ns
DM- 1	5(4,5)	7(5)	ns
DM- 2	2(1,8)	4(2,9)	ns
Malformación	2(1,8)	4(2,8)	ns
No filiada	18(16,2)	26(18,4)	ns
Alport	0	5(3,6)	ns
Otras	3(2,7)	3(2,1)	ns

INMUNOSUPRESIÓN:

**Tabla 4: Niveles de Ciclosporina (valle)**

Ciclosporina	No Timoglobulina		Timoglobulina		p
	N	mediana (RIC)	N	mediana (RIC)	
csna año 1	97	172 (140-216)	91	273 (225-325)	0,06
csna año 2	97	140(116-180)	89	217(17-265)	0,03
csna año 3	70	136(100-169)	87	177(130-217)	0,01
csna año 4	87	125(11-160)	88	140(110-184)	0,08
csna año 5	81	130(90-147)	87	140(112-175)	0,03
csna año 6	74	108(80-147)	81	124(96-166)	0,01
csna año 7	76	107(85-131)	81	123(90-151)	0,24
csna año 8	71	96(80-124)	71	110(84-148)	0,24
csna año 9	66	86(74-110)	67	115(82-152)	0,07
csna año 10	59	95(65-115)	62	111(71-145)	0,17

**Tabla 5: Dosis de Prednisona (mg).**

Prednisona	No Timoglobulina		Timoglobulina		p
	N	mediana(RIC)	N	mediana (RIC)	
pred 1 mes	102	45(35-50)	94	40 (35-50)	0,45
pred 6 mes	102	10(10-10)	86	10 (10-15)	0,01
pred 1 año	101	10(10-10)	91	10 (10-10)	0,3
pred 2 año	101	10(10-5)	89	10 (10-5)	0,13
pred 3 año	101	10(10-5)	88	10 (0-10)	0,22
pred 4 año	100	10(10-5)	86	8,5(0-10)	0,85
pred 5 año	100	7,5(0-10)	86	10(10-5)	0,27
pred 6 año	96	5(0-10)	84	5(0-10)	0,98
pred 7 año	93	5(0-10)	85	5(0-10)	0,64
pred 8 año	91	5(0-10)	79	5(0-7,5)	0,41
pred 9 año	89	5(0-7,5)	76	1,25(0-10)	0,32
pred 10 año	87	2,5(0-5)	71	0(0-10)	0,25

**SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS**

**Tabla 6: Linfocitos totales en los 2 grupos**

Linfocitos	Timoglobulina		No Timoglobulina		p
	N	Mediana(RIC)	N	Mediana(RIC)	
año 1	91	1321 (945-1790)	101	1680(1302-2111)	0,0001
año 2	90	1370(1040-1824)	100	1767(1446-2173)	0,001
año 3	88	1308(926-1647)	100	1806(1399-2268)	0,0001
año 4	87	1417(1067-1734)	99	1908(1444-2373)	0,001
año 5	89	1396(970-1722)	100	1856(1378-2888)	0,001
año 6	86	1471(1140-1887)	97	1729(1377-2108)	0,0001
año 7	85	1564(1241-1904)	94	1613(1295-2162)	0,0001
año 8	78	1521(1204-2077)	92	1654(1257-1981)	0,007
año 9	76	1492(1184-2046)	90	1612(1249-1988)	0,86
año 10	69	1403(1162-1856)	87	1742(1257-2052)	0,08

**Tabla: procesamiento de casos, linfocitos anuales**

**Resumen del procesamiento de los casos**

	timo	Casos					
		Válidos		Perdidos		Total	
		N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
linfotot_1a	no	101	71,1%	41	28,9%	142	100,0%
	si	89	80,2%	22	19,8%	111	100,0%
linfotot_2a	no	101	71,1%	41	28,9%	142	100,0%
	si	88	79,3%	23	20,7%	111	100,0%
linfotot_3a	no	98	69,0%	44	31,0%	142	100,0%
	si	87	78,4%	24	21,6%	111	100,0%
linfotot_4a	no	99	69,7%	43	30,3%	142	100,0%
	si	88	79,3%	23	20,7%	111	100,0%
linfotot_5a	no	97	68,3%	45	31,7%	142	100,0%
	si	86	77,5%	25	22,5%	111	100,0%
linfotot_6a	no	96	67,6%	46	32,4%	142	100,0%
	si	85	76,6%	26	23,4%	111	100,0%
linfotot_7a	no	94	66,2%	48	33,8%	142	100,0%
	si	84	75,7%	27	24,3%	111	100,0%
linfotot_8a	no	91	64,1%	51	35,9%	142	100,0%
	si	78	70,3%	33	29,7%	111	100,0%
linfotot_9a	no	90	63,4%	52	36,6%	142	100,0%
	si	75	67,6%	36	32,4%	111	100,0%
linfotot_10a	no	87	61,3%	55	38,7%	142	100,0%
	si	69	62,2%	42	37,8%	111	100,0%

**Tabla 7: Linfocitos CD4 < 300 células/mm<sup>3</sup> anual según grupo de tratamiento**

	CD4	No Timoglobulina		Sí Timoglobulina		p
		N	%	N	%	
año 1	<300	7	7,0	36	42,4	<0,05
año 2	<300	2	2,1	18	24,7	<0,05
año 3	<300	5	5,3	15	22,1	<0,05
año 4	<300	5	5,1	17	22,7	<0,05
año 5	<300	5	5,3	6	8,0	ns
año 6	<300	5	5,4	5	6,3	ns
año 7	<300	4	4,3	9	11,3	<0,05
año 8	<300	5	5,6	7	9,9	<0,05
año 9	<300	2	2,3	6	8,3	<0,05
año 10	<300	0	0,0	5	7,8	<0,05

**Tabla 8: Linfocitos CD 4 céls/ mm<sup>3</sup> según tratamiento**

Linfocitos CD4	Timoglobulina		No Timoglobulina		p
	N	Mediana(RIC)	N	Mediana(RIC)	
CD4 año1	85	377 (213-567)	100	790 (582-1068)	0,0001
CD4 año 2	73	426 (307-612)	96	827 (497-1128)	0,001
CD4 año 3	68	425 (323-550)	95	821 (563-1087)	0,0001
CD4 año 4	75	453 (318-745)	99	834 (606-1187)	0,001
CD4 año 5	76	524(385-792)	96	856 (590-1104)	0,001
CD4 año 6	79	586 (416-872)	93	838 (626-994)	0,0001
CD4 año 7	80	654 (455-834)	93	818 (600-1033)	0,0001
CD4 año 8	71	646(440-883)	91	801(585-994)	0,007
CD4 año 9	64	725(473-904)	88	773(576-993)	0,86
CD4 año 10	63	611 (499-877)	85	766(568-1069)	0,08

**Tabla 9: Cociente CD4/CD8, Mediana (RIC).**

cociente CD4/CD8	Timoglobulina		No Timoglobulina		p
	N	mediana(RIC)	N	mediana(RIC)	
CD4/CD8 año1	76	0,7 (0,3-1,1)	76	1,6 (1,1-2,1)	0,0001
CD4/CD8 año2	62	0,8(0,5-1,4)	74	1,5 (1,03-2,3)	0,0001
CD4/CD8 año3	65	1 (0,7-1,6)	76	1,6 (1,1-2,2)	0,005
CD4/CD8 año4	65	1 (0,7-1,6)	76	1,6 (1,1-2,1))	0,009
CD4/CD8 año5	67	1,3 (0,8-2)	72	1,7 (1,1-2,5)	0,1
CD4/CD8 año6	69	1,3 (0,9-1,9)	70	1,6 (1,2-2,4)	0,01
CD4/CD8 año7	71	1,3 (0,9- 2)	70	1,6(1,3-2,2)	0,05
CD4/CD8 año8	64	1,4 (1-2)	66	1,6 (1,1-2,2)	0,48
CD4/CD8 año9	65	1,3 (0,9-2)	68	1,6 (1- 2,4)	0,33
CD4/CD8 añ10	56	1,6 (1-2,1)	66	1,7 (1,3-2,2)	0,52

**Tabla 11: Linfocitos CD8 céls/ mm<sup>3</sup>, según grupo de tratamiento**

Linfocitos CD8	Timoglobulina		No Timoglobulina		P
	N	mediana(RIC)	N	mediana(RIC)	
CD8 año1	86	469 (319-736)	100	509 (360-750)	0,003
CD8 año 2	72	470 (319-736)	96	551 (374-760)	0,01
CD8 año 3	69	436 (296-627)	95	537 (371-713)	0,04
CD8 año 4	75	494 (266-670)	99	566 (356-796))	0,05
CD8 año 5	77	425 (297-631)	96	544(345-729)	0,1
CD8 año 6	79	443 (324-638)	93	475 (327-664)	0,76
CD8 año 7	80	463 (353-654)	70	492 (339-685)	0,05
CD8 año 8	71	474(226-693)	90	487 (373-670)	0,57
CD8 año 9	65	484 (311-653)	88	491 (344-670)	0,89
CD8 año10	63	438 (239-617)	85	496 (358-621)	0,27

**Tabla 12: Evolución de linfocitos con marcador DR céls/ mm<sup>3</sup>.**

	Timoglobulina		No Timoglobulina		p
	N	mediana(RIC)	N	mediana(RIC)	
DR año1	74	369 (210-567)	77	800(558-1085)	0,0001
DR año 2	61	425(321-612)	74	827(506-1113)	0,001
DR año 3	55	426(303-549)	73	822(596-1123)	0,0001
DR año 4	63	447(318-745)	77	816(616-1170)	0,001
DR año 5	64	524(376-816)	73	837(628-1180)	0,001
DR año 6	67	607(374-827)	70	866(668-1150)	0,000.
DR año 7	69	628(406-793)	71	847(632-1034)	0,000.
DR año 8	63	646(403-883)	68	816(597-1047)	0,007
DR año 9	64	725(454-901)	68	757(578-1038)	0,86
DR año 10	56	604(493-850)	67	737(538-994)	0,08

**Tabla 13: Evolución de Linfocitos CD 25 céls/ mm<sup>3</sup>.**

Linfocitos CD25	Timoglobulina		No Timoglobulina		p
	N	mediana(RIC)	N	mediana(RIC)	
CD25 año 1	62	127 (79-256)	6	117 (78-251)	0,66
CD25 año 2	24	194(113-300)	2	234 (52-415)	0,62
CD25 año 3	29	147 (77-291)	29	125(55-326)	0,39
CD25 año 4	10	159 (117-229)	58	114 (63-240)	0,08
CD25 año 5	13	56 (41-127)	79	130 (69-240)	0,13
CD25 año 6	50	68 (39-146)	83	119 (59-260)	0,05
CD25 año 7	65	95 (57-160)	86	221(98-352)	0,0001
CD25 año 8	65	129 (74-227)	87	213 (92-415)	0,08
CD25 año 9	70	145 (89-320)	83	199(112-448)	0,08
CD25 año 10	62	178 (95-285)	80	278(146-543)	0,2

**Tabla 14: Dosificación de Timoglobulina y pacientes % con linfocitos CD4<300/mm<sup>3</sup>**

CD4<300/mm <sup>3</sup>	Dosis <5mg/kg		Dosis >5 mg/kg		p
	n	%	n	%	
año1	4	22,2%	31	49,2%	0,04
año2	2	11,7%	6	29,6%	0,14
año3	3	20%	12	23,5%	0,77
año4	3	16,6%	14	25,9%	0,42
año5	0	0	7	11,1%	0,14
año6	1	4,7%	4	7,4%	0,68
año7	1	5,5%	7	12,07%	0,43
año8	1	5,8%	6	12%	0,47
año9	1	6,25%	4	7,7%	0,84
año10	1	6,67%	4	8,7%	0,80

**Tabla 15: Asociación de la dosis de Timoglobulina con las variables**

	Dosis <5 mg/kg	Dosis>5 mg/kg	p
infecciones severas	8(38%)	28(40,5%)	0,83
enfermedad CMV	4(17,4%)	19(27,1%)	0,37

**Tabla 17: Tipos Tumores según grupo de tratamiento.**

<b>Tumor</b>	<b>No Timoglobulina</b>	<b>Timoglobulina</b>
	<b>(N=102)</b>	<b>(N=103)</b>
piel	(7%)	(14,5%)
máma	(0%)	(1,9%)
melanoma	(3%)	(1%)
linfoma	(3%)	(2%)
renal	(4%)	(5%)
múltiples	(5%)	(2%)
pulmón	(6%)	(1%)
páncreas	(1%)	(0%)
próstata	(3%)	(4%)

**Tabla 18: Causas de pérdida del injerto**

<b>Causas</b>	<b>No Timoglobulina</b>	<b>Sí Timoglobulina</b>
NCI	33(42,9%)	44(57%)
RA	19(57,6%)	14(42,4%)
Compl. Quir.	10(50%)	10(50%)
Otras	14(52%)	13(48%)
No viable	4(40%)	6(60%)
Recidiva GN	3(37,5%)	5(62,5%)
GN de novo	0	2(100%)
total	83(46,9%)	94(53%)

**Figura 19: Causa de mortalidad por grupo.**

	No Timoglobulina		Timoglobulina		p
	n	%	n	%	
<b>Sepsis</b>	15	23	27	32,9	ns
<b>Tumor</b>	18	27,7	18	21,9	ns
<b>Cardiovascular</b>	11	17	15	18,2	ns
<b>Otras</b>	7	10,7	10	12,1	ns
<b>Muerte súbita</b>	6	9,2	7	8,5	ns
<b>desconocida</b>	8	12,3	5	6,1	ns

## BIBLIOGRAFIA

## 8-BIBLIOGRAFIA

---

- <sup>1</sup> Hancock WW. Nephrology forum: the past, present and future of renal xenotransplantation. *Kidney Int* 1997;51(3) :932-44.
- <sup>2</sup> Morris PJ. Transplantation. A medical miracle of the XX century. *N.Engl. J. Med.* 2004;351(26) :2678-80.
- <sup>3</sup> Merrill J, Murray JE, Harrison JH. Successful homotransplantations of the human kidney between identical twins. *JAMA* 1956;160:277-282.
- <sup>4</sup> Calne RY, White DJ, Thiru S, Evans DB, McMaster P, Dunn DC, Craddock GN, Pentlow BD, Rolles K. Cyclosporine A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. *Lancet* 1978;2:1323-1327.
- <sup>5</sup> Sommer BG, Henry M, Ferguson RM. . Secuencial antilymphocyte and cyclosporine for renal transplantation. *Transplant proc* 1987;43:85-90.
- <sup>6</sup> Starl TE. The development of clinical renal transplantation. *Am J Kidney Dis* 1990;16(69):548-63.
- <sup>7</sup> Chew WB. Antilymphocyte serum. *J. Immunol* 1937:271-8.
- <sup>8</sup> Woodruff MF, Anderson NA. Effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and administration of antilymphocyte serum on the survival of skin homografts in rats. *Nature* 1963;200:702.
- <sup>9</sup> Stazl TE, Marchioro TL, Porter KA, Iwasaki Y, Cerilli GJ. The use of heterologous antilymphoid agents in canine renal and liver transplantation and in human homotransplantations. *Surg Gynecol. Obstet.* 1967;124:301-18.
- <sup>10</sup> Kreis H, Mansouri R, Descamps JM, Dandavino R, N'Guyen AT, Bach JF, Crosnier J. Antilymphocyte globulin in cadáver kidney transplantaron: a randomized trial based on T- cell monitoring. *Kidney Int* 19:438,1981.
- <sup>11</sup> Hardy MA, Nowygrod R, Elberg A, Appel G. Use of ATG in treatment of steroid resistant rejection. *Transplantation* 1980;29:162-4.
- <sup>12</sup> Pascual J, Quereda C. Steroid withdrawal in renal transplant patients on triple therapy with a calcineurin inhibitor and micophenolate mofetil: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Transplantation* 78:1548-1556, 2004.

- <sup>13</sup> Pharmacology and side effects of cyclosporine and tacrolimus. Uptodate.
- <sup>14</sup> Brunet M, Millan O, Jimenez O, Campistol JM, Vidal E, Rojo I et al. New concepts in cyclosporine pharmacokinetic and dynamic monitoring: the impact of concomitant immunosuppression on target C2 concentrations. *Transplant Proc* 2004; 36 (2 Suppl): 437S-441S.
- <sup>15</sup> Guías SEN. Selección de receptor, protocolos de inmunosupresión. [www.senefro.org](http://www.senefro.org).
- <sup>16</sup> Webster AC, Woodroffe RC, Taylor RS, Chapman JR, Craig JC. Tacrolimus versus Cyclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients: meta-analysis and meta-regression for randomized controlled trial data. *BMJ* 331:810-814, 2005.
- <sup>17</sup> Nanvinkell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. Natural history, risk factors and impact of subclinical rejection in kidney transplantation. *Transplantation* 78: 1064-1068.
- <sup>18</sup> Monreso et al. Baseline immunosuppression is associated with histological findings in early protocol biopsies. *Transplantation* 2005, 80:807-814.
- <sup>19</sup> Nanvinkell BJ, Chapman JR, Bonovas G, Gruenewald SM. Oral ciclosporine but not tacrolimus reduces renal transplant blood flow. *Transplantation* 77:1457-1459, 2004.
- <sup>20</sup> Function and clinical applications of immunoglobulins. Uptodate.
- <sup>21</sup> Brennan DC, Flavin K, Lowell JA, Howard TK, et al. A randomized double blinded comparison of thymoglobulin versus ATGAM for induction of immunosuppressive therapy in adult renal transplant recipients. *Transplantation* 1999 ;67:1011-1018.
- <sup>22</sup> Mahmud N, Klipa D. Antibody immunosuppressive therapy in solid organ transplant. *MAbs* 2010(2)148-156.
- <sup>23</sup> A definition of irreversible coma. Report of the Ad Hoc committee of the Harvard Medical school to examine the definition of brain death. *JAMA* 1968; 205:337-340.
- <sup>24</sup> Miranda B, Matesanz R. Evolución de las características de los donantes en España. *Coordinación de trasplantes, el modelo español*. Grupo Aula medica SA. 1995:99-109.
- <sup>25</sup> Barrientos A. Trasplante renal procedente del donante en asistolia: experiencia del hospital Clínico San Carlos de Madrid. *Nefrología* 2001;21(4)101-103.
- <sup>26</sup> Halloran PF, Homik J, Goes N, Lui SL, Urmson J, Ramassar V, Cockfield SM. The injury response a concept linking non-specific injury, acute rejection and long term transplant outcomes. *Transplant Proc* 1997;29:79-81.

- <sup>27</sup> González E, Gutiérrez E, Hernández Y, Roselló G, et al. Anti CD 25 monoclonal antibody sequential immunosuppressive induction therapy in renal transplants with high risk of delayed graft function. *Transplant Proc* 37:3736-7,2005.
- <sup>28</sup> Sanchez fructuoso A, Barrientos A. Use of different immunosuppressive strategies in recipients of kidney from non Heart beating donors. *Transpl. Int.* 18:596-603,2005.
- <sup>29</sup> Cravedi P, Codreanu I, Satta A, Turturro M, et al. Cyclosporine prolongs delayed graft function in kidney transplantation are rabbit antihuman thymocyte globulins the answer? *Nephron Clin. Pract* 101;65-71,2005.
- <sup>30</sup> Mohty M. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond. *Leukemia* (2007) 21, 1387-1394.
- <sup>31</sup> Deeks ED, Ketaing GM. Rabbit antithymocyte (Thymoglobulin). A review of its use in the prevention and treatment of acute renal allograft rejection. *Drugs* 2009,69:11.1483.
- <sup>32</sup> Thymonews.com. Características de producción de la Thymoglobulin (Genzyme corp.2006). Ankersmit HJ et al. *Am J. Transplant* 203;3:743.  
Monti P. et al. *Int. Immunopharmacol* 2003;3:189.  
Zand MS, et al. *Trasplantation* 2005;79:1507-15.
- <sup>33</sup> Curso de trasplante renal on line. [www.setrasplante.org](http://www.setrasplante.org).
- <sup>34</sup> Naujokat C, Berges C, Fuchs D, Sadeghi M, Opelz G, Daniel V. Antithymocyte globulins suppress dendritic cell function by multiple mechanisms. *Transplantation* 2007;83:485-497.
- <sup>35</sup> Hardinger KL. Rabbit antithymocyte globulin induction therapy in adult renal transplantation. *Pharmacotherapy.* 2006 Dec;26(12):1771-83. Review.
- <sup>36</sup> Chappell D, Beiras-Fernandez A, Hammer C, Thein E. In vivo visualization of the effect of polyclonal Antithymocyte globulins on the microcirculation after Ischemia / Reperfusion in a primate Model. *Transplantation* 2006;81:552-558.
- <sup>37</sup> Kurata Y, Kato M, Kuzuya T, Miwa Y, Iwasaki K, Haneda M, et al. Pretransplant pharmacodynamic analysis of immunosuppressive agents using CFSE based T cell proliferation assay. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2009; 86,285-289.
- <sup>38</sup> Uslu A, Nart A, Coker I, Köse S. Two day induction with Timoglobulin in kidney transplantation risks and benefits. *Transplantation proceedings* 2004, 36,76-79.
- <sup>39</sup> Clark K. Monitoring antithymocyte globulin in renal transplantation. *Ann R Coll Surg Engl*; 78:536-540.

<sup>40</sup> Pedi VR, Bryant M, et al. Safety, efficacy and cost analysis of thymoglobulin induction therapy with intermittent dosing based on CD3 lymphocyte counts in kidney and ykidney pancreas transplant recipients. *Trasplantation* 2002; 73:1514-8.

<sup>41</sup> Agha IA, Rueda J, Alvarez A, Singer GG, et al. Short course induction immunosuppression with Thymoglobulin for renal transplant recipients. *Transplantation* 2002, 73:473-475.

<sup>42</sup> Klem P, Cooper JE, Weiss AS, Gralla J, Owen P, Chan L, Wiseman AC. Reduced dose Rabbit Anti thymocyte globulin induction for prevention of Acute rejection in high risk kidney transplant recipients. *Transplantation* 2009; 88 (7) 891-896.

<sup>43</sup> Boothpur R, Hardinger KL, Skelton RM. Serum Sickness after treatment with rabbit antithymocyte globulin in kidney transplant recipients with previous rabbit exposure. *Am journal of kidney disease* 2010 Jan;55(1):141-3.

<sup>44</sup> KDIGO. Clinical Practice Guidelines for the Care of Kidney Transplant Recipients. *Am J Transplant* 2009;9:S3.

<sup>45</sup> Naim R. Inmunología. En: Brooks G, Batel J, Morse S, editores. *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. El Manual Moderno. 6ª edición.* Buenos Aires-Argentina.2002:131-159.

<sup>46</sup> Regueiro J, López, C, Gonzalez S, Martínez E. La generación de la diversidad de los linfocitos T y B. En *Inmunología. Biología y Patología del Sistema Inmune. Médica Panamericana. 3ª edición.* Madrid-España. 2002:53-63.

<sup>47</sup> Jenifer E, Smith- Garvin. T cell activation. *Annu Rev Immunol* 2009;27:591-619.

<sup>48</sup> Transporte de antígenos a los órganos linfáticos secundarios. Curso on line de trasplante de órganos. [www.setrasplante.org](http://www.setrasplante.org)

<sup>49</sup> Chandraker A. Renal transplantation Section11. *Transplantation Immunobiology* chapter 63:2103-2118.

- <sup>50</sup> Liu W, Putnam AL, Xu-Yu Z, Szot GL, Lee MR CD 127 expression inversely correlates with Foxp3 and suppressive function of human CD 4 T reg cells. *J. Exp Med.* 2006;203(7):1701-1711.
- <sup>51</sup> Louis S, Braudeau C, Giral M, Dupont A. Contrasting CD 25 hi CD 4T cells/foxp3 patterns in chronic rejection and operational drug free tolerance. *Transplantation* 2006;81 (3) :398-407.
- <sup>52</sup> Boros P. and Bromberg J. Human foxp3 regulatory cells in transplantation. *Am J Transplant* 2009;9(8):1719-1724.
- <sup>53</sup> LaCorcia G, Swistak M, Lawendowski C, Duan S, et al. Policlonal rabbit antithymocyte globulin exhibits consistent immunosuppressive capabilities beyond cell depletion. *Transplantation* 2009;87:966-974.
- <sup>54</sup> Raewyn Broady, Jie Yu, et al. ATG-induced expression of FOXP3 in human CD4+ T cells in vitro is associated with T-cell activation and not the induction of FOXP3+ T regulatory cell. *Blood.* 2009 Dec 3;114(24):5003-6.
- <sup>55</sup> D'Addio F, Yuan X, Habicht A, Williams J, et al. A novel clinically relevant approach to tip the balance toward regulation in stringent transplant model. *Transplantation* 2010;15;90(3):260-9.
- <sup>56</sup> Morelon E, Lefrançois N, Besson C, Prévautel J, Brunet M, Touraine JL, et al. Preferential increase in memory and regulatory subsets during T- lymphocyte immune reconstitution after Thymoglobulin induction therapy with maintenance sirolimus vs. cyclosporine. *Transpl Immunol.* 2010 May;23(1-2):53-8.
- <sup>57</sup> Bluestone JA Liu W, Yabu JM, Laszik ZG, Putnam A, Belingheri M. The effect of coestimulatory and interleukin 2 receptor blockade on regulatory T cells in renal transplantation. *Am J Trasplant* 2008;8(10):2086-2096.
- <sup>58</sup> Segundo DS. Conversión to steroid free rapamycin reduces percentages of CD4 CD25 high foxp3 T cells in renal transplant patients. *Am J Transplant* 2007;7:S508.
- <sup>59</sup> Sewgobind VD, Kho MM, van der Laan LJ, Hendrikx TK, van Dam T, et al. The effect of rabbit anti-thymocyte globulin induction therapy on regulatory T cells in kidney transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2009 24(5):1635-1644.
- <sup>60</sup> Pearl JP, Parris J, Hale DA, Hoffmann SC, Bernstein WB, et al. Immunocompetent cells with a memory like phenotype are the dominant cell type following antibody mediated T-cell depletion. *American Journal of Transplantation* 2005;5:465-474.

<sup>61</sup>Neujahr C, Chen C, Huang X, Markmann JF, Cobbold S, et al. Accelerated memory cell homeostasis during T cell depletion and approaches to overcome it. *The Journal of immunology* 2006, 176: 4632-4639.

<sup>62</sup> Meier-Kriesche H-U, Li S, Gruessner RWG, et al. Immunosuppression: evolution in practice and trends, 1994–2004. *Am J Transplant.* 2006;6:1111–1131.

<sup>63</sup> Cantarovich M, Durrbach A, Hiesse C, et al. 20-year follow-up results of a randomized controlled trial comparing antilymphocyte globulin induction to no induction in renal transplant patients. *Transplantation.* 2008; 86:1732–1737.

<sup>64</sup> Castro MCR, Araujo LMP, Nahas WC, et al. Induction versus noninduction therapy in kidney transplantation: considering different PRA levels and different induction therapies. *Transplant Proc.* 2004;36:874–876.

<sup>65</sup> Brennan DC, Daller JA, Lake KD, Cibrik D, Del Castillo D, et al. Rabbit antithymocyte globuline versus Basiliximab in renal transplantation. *N Engl J Med.* 2006 Nov 9;355(19):1967-77.

<sup>66</sup> Noël C, Abramowicz D, Durand D, Mourad G, Lang P, Kessler M, et al. Daclizumab versus antithymocyte globulin in high-immunological-risk renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20(6):1385-92.

<sup>67</sup> Hardinger KL, Schnitzler MA, Miller B, Lowell JA, Shenoy S, et al. Five year follow up of thymoglobulin versus ATGAM induction in adult renal transplantation. *Transplantation* 78;136-141.

<sup>68</sup> Carver M. Selective action of rabbit antithymocyte globulin on OKT4 positive T cell subset in rhesus monkeys. *Transplant Proc* 1983;15:627.

<sup>69</sup> Levey AS, Schmid CH, Lau J. Antilymphocyte antibodies, renal transplantation and meta-analysis. *Ann Intern Med* 1998;128:863-865.

<sup>70</sup> Charpentier B, Rostaing L, Berthoux F, Lang P, Civati G, Touraine JL, et al. A three arm study comparing immediate tacrolimus therapy with antithymocyte globulin induction therapy followed by tacrolimus or cyclosporine A in adult renal transplant recipients. *Transplantation* 75:844,2003.

<sup>71</sup> Szczech LA, Berlin JA, Feldman HI. Antilymphocyte antibody induction therapy study group. The effect of antilymphocyte antibody induction therapy on renal allograft survival: a meta-analysis of individual patient level data. *Ann. Intern Med.* 1998;128:817-826.

<sup>72</sup> Rodrigo E et al. Heterogeneity of induction therapy in Spain: changing patterns according to year, center, indications and results. *NDT plus* 2010; 3(2) 9-14.

<sup>73</sup> Matas AJ, Kandaswamy R, Humar A, Payne WD, Dunn DL. Long term immunosuppression without maintenance Prednisone after kidney transplantation. *Ann Surg* 2004;240: 510-516.

<sup>74</sup> Müller T, Grebe SO, Neumann MC, Heymanns J et al. Persistent long term changes in lymphocyte subsets induced by polyclonal antibodies. *Transplantation* 1997, 64(10) 1432-1437.

<sup>75</sup> Oertel M, Sack U, Kohlhaw K, Lehmann I, et al. Induction therapy including antithymocyte globulin induces marked alterations in T lymphocytes subpopulations after liver transplantation: results of a long term study. *Transpl. Int* (2002)15:463-471.

<sup>76</sup> Olausson M. Is a persistently low level of T helper cells a marker of rejection in renal transplant recipients? *Transplant proc.* 1992;24:300.

<sup>77</sup> Ducloux D, Courivaud C, et al. Prolonged CD4 T cell lymphopenia increases morbidity and mortality after renal transplantation. *J Am Nephrol* 2010;21:868-875.

<sup>78</sup> Esposito L, Kamar N, Tkaczuk J, Abbal M, et al. Long term evolution of lymphocytes subsets after induction therapy base on continuous versus discontinuous administration of anti thymocyte globulin in renal transplant patients. *Transplant proc.* 2005 37;(2):785-7.

<sup>79</sup> Weimer R, Süsal C, Streller S, Yildiz S, Pelzl S, Opelz G, et al. ATG induction therapy: long term effects on Th1 but not on Th2 responses. *Transplant Int.* 2005 Feb;18(2):226-36.

<sup>80</sup> Monaco AP, Wood ML, Russell PS, Adult thymectomy: effects on recovery from immunologic depression in mice. *Science* 149:432-435,1965.

<sup>81</sup> Issa NC. Infectious complications of antilymphocyte therapies in solid organ transplantation. *Clin Infec Dis* 2009;48: 72-86.

<sup>82</sup> Clesca P, Dirlando M, Park SI, García R, Ferraz E. Thymoglobulin and rate of infectious complications after transplantation. *Transplantation proceedings* 2007; 39, 463-464.

<sup>83</sup> Blazik M, Hutchinson P, Jose MD, Polkinghorne KR, et al. Leukocyte phenotype and function predicts infection risk in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* (2005)20:2226-2230.

<sup>84</sup> Fernandez Ruiz M. Monitoring of cell mediated immune parameters identifies kidney transplant recipients at high risk of severe infection. Datos cedidos por la unidad de infecciosas del hospital 12 de Octubre.

<sup>85</sup> Fernandez Ruiz M. Baseline hipogamaglobulinemia and evolution of peripheral blood lymphocyte subsets predict the risk of infection in renal transplant recipients. Datos cedidos por la unidad de infecciosas del hospital 12 de Octubre.

<sup>86</sup> Carter JT, Melcher ML, Carlson LL, Roland ME, Stock PG, et al. Thymoglobulin associated CD4 T cell depletion and infection risk in HIV Infected renal Transplant recipients. American Journal of transplantation 2006;6:753-760.

<sup>87</sup> Randhawa P, Brennan DC. BK virus infection in transplant recipients an overview and uptodate. Am J Transplant 2006;6:2000-2005.

<sup>88</sup> Samsel R, Pliszczynski J, Chmura A, Korczak G, Włodarczyk Z, et al. Safety and efficacy of high dose ATG bolus administration on revascularization in kidney graft patients long term results. Ann Transplant,2008;13 (1):32-39.

<sup>89</sup> Humar A, Lebranchu Y, Vincenti F, Blumberg EA, et al. The efficacy and saffety of 200 days valganciclovir cytomegalovirus prophylaxis in high risk kidney transplant recipients. Am J Transplant 2010;10(5):1228-37.

<sup>90</sup> Mourad G, Garrigue V, Squifflet JP, Besse T, Berthoux F, Alamartine E, et al. Induction versus non induction in renal transplant recipients with Tacrolimus based immunosuppression. Transplantation 2001 Sep 27; 72(6):1050-5.

<sup>91</sup> Abou-Ayache R, Büchler M, Le Pogamp P, Westeel PF, et al . CMV infections after two doses of Daclizumab versus thymoglobulin in renal transplant patients receiving mycophenolate mofetil, steroids and delayed cyclosporine A. Nephrol Dial Transplant (2008) 23:2024-2032.

<sup>92</sup> Abou-Ayache R, Büchler M, Le Pogamp P, Westeel PF, Le Meur Y. The influence of CMV infections on patient and renal graft outcome: a 3 year, multicenter, observational study ( Post ACTAZ study) Transplant Proc. 2011Sep;43(7):2630-5.

<sup>93</sup> Huurman VA, Kalpoe JS, van de Linde P, Vaessen N, et al. Choice of antibody immunotherapy influences cytomegalovirus viremia in simultaneous Pancreas- Kidney transplant recipients. Diabetes Care 29:842-84, 2006.

<sup>94</sup> Castro SM, Sporleder H, Schröder R, Santos A. Lymphocyte subpopulations during cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. Braz J Med Biol Res. 2003 Jun;36(6):795-805.

<sup>95</sup> Essa S. CD4(+) T cell levels are decreased during active CMV infection in kidney transplant recipients. FEMS Immunol Med Microbiol 2002 sep 6;34(1) 17-32.

- <sup>96</sup> Egli A, Binet I, Binggeli S, Jäger C, Dumoulin A, et al. Cytomegalovirus-specific T-cell responses and viral replication in kidney transplant recipients. *J Transp Med* 2008 jun 9;6:29.
- <sup>97</sup> Kasiske BL, Chakkera HA, Roel J. Explained and unexplained ischemic Heart disease risk in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*.2000 Sep;11(9):1735-1743.
- <sup>98</sup> Ducloux D, Challier B, et al. CD4 cell Lymphopenia and atherosclerosis in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2003;14: 767-772.
- <sup>99</sup> Sayegh MH. Development of malignancy following solid organ transplantation. Up to date 2011.
- <sup>100</sup> Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson DT, Wang C. Cancer after kidney transplantation in the United States. *Am J Transplant* 2004; 4:905-13.
- <sup>101</sup> Ducloux D, Carron PL, et al. Lymphocyte subsets and assessment of cancer risk in renal transplant recipients. *Transpl Int* 2002;15:393.
- <sup>102</sup> Guichard G, Rebibou JM, Ducloux D, Simula-Faivre D, et al. Lymphocyte subsets in renal transplant recipients with the novo genitourinary malignancies. *Urol* 80:357,2008.
- <sup>103</sup> Glowacki F, Al Morabiti M, Lionet A, Labalette M. Long term Kinetics of a T lymphocytes subset in kidney transplant recipients: relationship with posttransplant malignancies. *Trasplantation proceedings*, 41, 3323-3325, 2009.
- <sup>104</sup> Thibaudin D, Alamartine E, et al: Long term kinetic of T Lymphocyte subsets in kidney transplant recipients: influence of anti T cell antibodies and association with postransplant malignancies. *Trasplantation* 80:1514, 2005.
- <sup>105</sup> Kauffman M, Cherikh WS, McBride MA, Cheng Y, Hanto DW. Postransplant de novo malignancies in renal transplant recipients: past and present. *Transplant international* 2006; 19 (8)607-620.
- <sup>106</sup> Hardinger KL, Rhee S, Buchanan P, Koch M, Miller B, et al. A prospective randomized double blinded comparison of Thymoglobulin versus Atgam for induction therapy: 10 years results. *Trasplantation* 2008;86(7):947-952.
- <sup>107</sup> Ducloux D, Kazory A, Challier B, Coutet J, et al. Long term toxicity of antilymphocyte globuline induction may vary with the choice of antilymphocyte induction. *Trasplantation* 2004;77:1029.
- <sup>108</sup> Vajdic CM, McDonald SP, McCredie MR, van Leeuwen MT, et al. Cancer incidence before and after kidney transplantation. *JAMA* 2006;296:2823-2831.

- <sup>109</sup> Caillard S, Dharnidharka V, Agodoa L, Bohen E, Abbott . Posttransplant lymphoproliferative disorders after renal transplantation in the united States in era of modern immunosuppression. *Trasplantation* 2005;80:1233-1243.
- <sup>110</sup> Kasiske BL, Kukla A, Thomas D, Wood Ives J, Snyder JJ. Lymphoproliferative disorders after adult kidney transplant, epidemiology and comparison of registry report with claims based diagnosis. *Am J kidney Dis.*2011;58,6:971-980.
- <sup>111</sup> Kirk AD. Dissociation of depletion induction and posttransplant lymphoproliferative disease in kidney transplants treated with Alemtuzumab. *Am J Transplant* 2003;7:2619-1625.
- <sup>112</sup> Opelz G, Döhler B. Lymphomas after solid organ transplantation a collaborative transplant study report. *Am J Trasplant* 2004;4:22.
- <sup>113</sup> Hibberd AD, Trevillian PR, Wlodarczyk JH, Gillies AH. Cancer risk associated with ATG /OKT3 in renal transplantation. *Transplant proc* 1999;31:1271.
- <sup>114</sup> Pedotti P, Cardillo M, Rossini G, Arcuri V, Boschiero L et al. Incidence of cancer after kidney transplant program. *Transplantation* 2003;76:1448.
- <sup>115</sup> Cherikh W, Kauffman HM, McBride MA, Maghirang J, Swinnen LJ, Hanto DW. Association of the type of induction immunosuppression with posttransplant lymphoproliferative disorder, graft survival and patient survival after primary kidney transplantation. *Transplantation* 76 (9), 15 Nov 2003, 1289-1293.
- <sup>116</sup> Bustami Rt, Ojo AO, et al.: Immunosuppression and the risk of posttransplant malignancies among cadaveric first kidney traNsplant recipients. *Am J Transplant* 4:87, 2004.
- <sup>117</sup> 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.
- <sup>118</sup> Quinlan, Landgren O, Morton LM, Engels EA. Hodgkin lymphoma among US solid organ transplant recipients. *Transplantation* 2010 Nov 15;90(9):1011-5.
- <sup>119</sup> Frenberg P, Edgren G, Adami J, Ingvar A. Time trends in risk determinants of Non Hodgkin Lymphoma in solid Organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2011Aug22.
- <sup>120</sup> Ducloux D, Carron PL, et al: Lymphocyte subsets and assessment of cancer risk in renal transplant recipients. *Transpl Int* 2002;15:393.
- <sup>121</sup> Franco A, Cotilla E, Roca S. Evolución de receptores de trasplante renal de alto y bajo riesgo inmunológico sometidos a diferente inmunosupresión. *Nefrología* 2009;29(6):557-561.

<sup>122</sup> Tian JH, Wang X, Yang KH, Liu AP, Luo XF, Zhang J. Induction with and without antithymocyte globulin combined with cyclosporine/ tacrolimus-based immunosuppression in renal transplantation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Transplant Proc.* 2009 Nov;41(9):3671-6.

<sup>123</sup> Navikell B, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, et al. The natural history of chronic allograft nephropathy. *New Engl J Med.* 2003;349:2326.

<sup>124</sup> Gurk-Turner C, Airee R, Philosophe B, Kukuruga D. Thymoglobulin dose optimization for induction therapy in high risk kidney transplant recipients. *Trasplantation* 2008 May 27; 85(10):1425-30.

<sup>125</sup> Beaudreil S, Durrbach A, Noury J, Ducot B, et al. Long term results: 10 years of a prospective trial comparing low tacrolimus - monoclonal antibody and antithymocyte globulin induction therapy in kidney transplantation. *Transpl Int* 2006;19 :814.

<sup>126</sup> Patel S, Pankewycz O, Kohli R, Said M. Obesity in renal transplantation. The role of induction therapy on long term outcomes. *Trasplant Proc.* 2011 Mar 43(2):469-71.

<sup>127</sup> Szczech LA, Berlin JA, Feldman HI. Antilymphocyte antibody induction therapy study group. The effect of Antilymphocyte antibody induction therapy on renal allograft survival: a meta-analysis of individual patient level data. *Ann. Intern Med.* 1998;128:817-826.

<sup>128</sup> Kuo HT, Huang E, Emami S, Pham PT. Effects of antibody induction on transplant outcomes in human leukocyte antigen zero-mismatch deceased donor kidney recipients. *Trasplantation* 2012 Mar 15;93(5):493-502.

<sup>129</sup> Mai ML, Ahsan N, Wadei HM, Genco PV . Excellent renal allograft survival in donor-specific antibody positive transplant patients-role of intravenous immunoglobulin and rabbit antithymocyte globulin. *Trasplantation* 2009;27;87(2),227-32.

<sup>130</sup> Bunnapradist\_S. Multivariate analysis of antibody induction therapy and their associated outcomes in deceased donor transplants. *Transplant proc.* 2005 Mar.37(2) 889-91.

<sup>131</sup> Patel SJ, Knight RJ, Suki WN, Abdellatif A. Rabbit antithymocyte induction and dosing in deceased donor renal transplant recipients over 60 years of age. *Clin Trasplant.* 2011;25(3):250-6.

<sup>132</sup> Laftavi MR, Patel S, Soliman MR, Alnimri M, et al. Low-dose thymoglobulin use in elderly renal transplant recipients is safe and effective induction therapy. *Transplant Proc.* 2011 Mar;43(2):466-8.

- <sup>133</sup> Hernandez Domingo, Sánchez Fructuoso A, González-Posada JM, Arias M, Campistol JM, Rufino M, Morales JM, Moreso F, Pérez G, Torres A, Serón D. A novel score for mortality in renal transplant recipients beyond the first posttransplant year. *Transplantation* 2009;88(6):803-809.
- <sup>134</sup> Higgins R. To induce or not to induce. *J Heart Transplant* 2005 24:392-400.
- <sup>135</sup> Hachem RR, Edwards LB, Yusef RD, Chakinala MM . The impact of survival after lung transplantation. *Clin Transplant* 2008;22:603-8.
- <sup>136</sup> Ojo A, Serón D. Diferencias entre EEUU y España en la evolución del injerto renal a largo plazo. Poster congreso de nefrología SEN2010.
- <sup>137</sup> Chang SH, Russ GR, Chadban SJ, et al. Trends in adult post-kidney transplant immunosuppressive use in Australia, 1991–2005. *Nephrology* 2008;13:171–176.
- <sup>138</sup> Howard RJ, Patton PR, Reed AI, Hemming AW, Van der Werf WJ, et al. The changing causes of graft loss and death after kidney transplantation. *Transplantation* 2002;73:1923.
- <sup>139</sup> Gallo P, Agozzino L, Angelini A, Arbustini E, et al. Causes of late failure after heart transplantation a ten year survey. *J Heart lung transplant* 1997;16:1113.
- <sup>140</sup> Tremblay F, Fernandes M, Habbab F, Edwards MD. Malignancy after renal transplantation: incidence and role of type of immunosuppression. *Ann Surg Oncol* 2002;9:785.
- <sup>141</sup> Kauffmann HM, Cherikh WS, Cheng Y, Hanto DW, Kahan BD. Maintenance of immunosuppression with m-tor inhibitors is associated with a reduced incidence of de novo malignancies. *Transplantation* 2005;80:883.
- <sup>142</sup> Meier-Kriesche H-U, Arndorfer JA, Kaplan B. Association of antibody induction with short and long term cause specific mortality in renal transplant recipients. *J. Am Soc Nephrol* 2002;13:769-772.
- <sup>143</sup> R. Ireland. Transplantation increased mortality risk in renal transplant recipients with ATG-induced CD4+ T-cell lymphopenia. *Nat Rev Nephrol.* 2010 Jul;6(7):386.
- <sup>144</sup> Hurst FP, Belur P, Nee R, Agodoa LY, Patel P. Poor outcomes associated with neutropenia after kidney transplantation: analysis of the United states renal data system. *Transplantation* 2011, Jul 15;92(1):36-40.
- <sup>145</sup> Toussaint C, Kinnaert P, Vereerstraeten P. Late mortality and morbidity five to eighteen years after kidney transplantation. *Transplantation* 1988; 45: 554.

<sup>146</sup> Kho MM. The effect low dose thymoglobuline on periferal T, B and NK cells in renal transplant. *Transplant immunol.*2012,Mar5.

<sup>147</sup> Sollinger H, Kaplan B, Pescovitz MD, Philosophe B. Basiliximab versus antithymocyte globuline for prevention of acute renal allograft rejection. *Transplantation*72:1915,2001.

<sup>148</sup> Lebranchu Y, Bridoux F, Büchler M, Le Meur Y et al. Immunoprophilaxis with Basiliximab compared with antithymocyte globuline in renal transplant patients receiving MMF containing triple therapy. *Am J Transplant* 2.48,2002.

<sup>149</sup> Mourad G, Rostaing L, Legendre C, Garrigue V. Sequential protocols using basiliximab versus antithymocyte globulins in renal transplant patients receiving Mycophenolate mofetil and esterooids. *Trasplantation* 75 :584,2004.

<sup>150</sup> Ayache R. et al. Two dose daclizumab induction treatment versus thymoglobulin in renal transplant patients receiving mycophenolate mofetil based immunosuppression. *Am J Transplant* 5 (11):187,2005.

<sup>151</sup> Ciancio G, Burke GW, Gaynor JJ, Carreno MR. A randomized trial of three renal transplant induction antibodies: early comparison of tacrolimus, micophenolate mofetil and steroids dosing and newer immune monitoring. *Transplantation* 80:457, 2005.