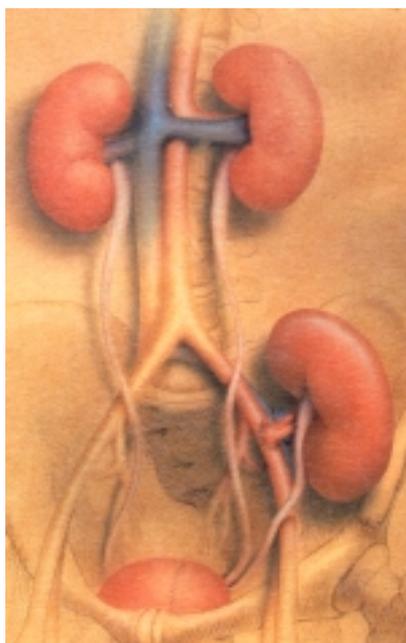


EXPERIENCIA CON MICOFENOLATO MOFETIL EN EL TRASPLANTE RENAL

MEMORIA PRESENTADA PARA LA OBTENCIÓN
DEL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA

Rafael José Esteban de la Rosa



DEPARTAMENTO DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE GRANADA
GRANADA, 2001



SEBASTIÁN CEREZO MORALES, Jefe del Servicio de Nefrología del Hospital Universitario San Cecilio de Granada y profesor titular de la Universidad de Granada

CERTIFICA: Que el trabajo de investigación que se expone en la presente Tesis Doctoral *EXPERIENCIA CON MICOFENOLATO MOFETIL EN EL TRASPLANTE RENAL* ha sido realizado bajo mi dirección en el Departamento de Medicina de la Universidad de Granada, correspondiendo fielmente a los resultados obtenidos.

Una vez redactada ha sido revisada por mi y la encuentro conforme para ser presentada y aspirar al grado de Doctor en Medicina ante el Tribunal que en su día se designe.

Y para que así conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes extiendo el presente en la ciudad de Granada, siendo el día veinte de Abril del año dos mil uno.



JUAN DE DIOS LUNA DEL CASTILLO, profesor titular de la
Universidad de Granada

CERTIFICA: Que el trabajo de investigación que se
expone en la presente Tesis Doctoral *EXPERIENCIA CON
MICOFENOLATO MOFETIL EN EL TRASPLANTE RENAL*
ha sido realizado bajo mi dirección en el Departamento de
Medicina de la Universidad de Granada, correspondiendo
fielmente a los resultados obtenidos.

Una vez redactada ha sido revisada por mi y la encuentro
conforme para ser presentada y aspirar al grado de Doctor en
Medicina ante el Tribunal que en su día se designe.

Y para que así conste, en cumplimiento de las disposiciones
vigentes extiendo el presente en la ciudad de Granada, siendo el día
veinte de Abril del año dos mil uno.

*“Una de las cualidades esenciales del clínico
es su humanitarismo, pues el secreto
del cuidado del paciente consiste
en interesarse por él”.*

Dr. Francis Peabody.

*A mi familia y especialmente
a mi esposa e hijo, sin cuyo
constante aliento no hubiese
merecido la pena tal esfuerzo.*

Agradecimientos

A D. Juan de Dios Luna, profesor titular de la Universidad de Granada, admirado maestro, por aceptar desde el primer momento dirigir y supervisar este trabajo de investigación, sin cuyo esfuerzo hubiese sido posible.

A D. Sebastián Cerezo, Jefe del Servicio de Nefrología del Hospital Universitario San Cecilio de Granada y profesor titular de la Universidad de Granada, por el gran interés y ayuda en la dirección técnica de esta tesis.

A D^a Concepción Asensio, Jefa del Servicio de Nefrología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada, que me ha animado al desarrollo de este estudio.

A D. Juan Bravo, colega del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada, quien me ha brindado valiosas sugerencias durante la preparación de este trabajo, así como planteamientos críticos y generosos consejos.

A D. Enrique García Olivares, profesor titular de la Universidad de Granada, por sus esmeradas correcciones formales y de contenido de la presente memoria.

A mis colegas del Hospital Universitario Virgen de las Nieves, y especialmente a D. Francisco, D^a María Dolores y D^a Gracia por su inestimable ayuda.

A D^a María del Carmen, técnico del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada, por su amabilidad, esfuerzo y dedicación.

A D. Francisco Samaniego, Jefe de Sección del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada, por sus consejos y explicaciones técnicas.

A D^a Purificación, por su inapreciable contribución en la organización de este trabajo.

A los pacientes que han colaborado y hecho posible el presente estudio.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	17
1. Consideraciones generales.	17
2. Aspectos decisivos en la búsqueda de nuevos inmunosupresores a finales de los años 80: nefropatía crónica del injerto renal.....	19
2.1. Recuerdo histórico de la Inmunosupresión en el trasplante renal.....	19
2.2. Nefropatía crónica del injerto renal. Factores inmunológicos y no inmunológicos. Nefrotoxicidad por ciclosporina A y rechazo agudo.....	21
3. Nuevos inmunosupresores.....	33
4. Cellcept®: micofenolato mofetil / ácido micofenólico. Desarrollo y experiencia clínica en el trasplante renal.	37
4.1. Generalidades.....	37
4.2. Propiedades farmacológicas del micofenolato mofetil - ácido micofenólico... 38	
4.2.1. Farmacocinética.	38
4.2.2. Metabolismo linfocitario de las purinas. Mecanismo de acción del ácido micofenólico.....	41
4.3. Experiencia clínica con micofenolato mofetil en el trasplante renal. Indicaciones.	47
5. Monitorización de la terapia inmunosupresora en el trasplante renal... 65	
5.1. Monitorización Farmacocinética de los agentes inmunosupresores.	67
5.2. Monitorización Anatomopatológica.	68
5.3. Monitorización Inmunológica.....	69
5.4. Futuro de la monitorización de los agentes inmunosupresores en el trasplante renal.....	75
6. Virus de la hepatitis C y trasplante renal.	79
II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	81
III. PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODO	83
1. Diseño del estudio y pacientes.	83
2. Grupos y protocolo de estudio. Aparatos, técnicas empleadas y unidades de las variables.	87
2.1. Constitución y clasificación de los grupos.....	87
2.2. Características basales de la muestra.	87
2.3. Protocolo de estudio, variables y unidades de medida.	88
2.4. Descripción de las técnicas, procedimientos y aparatos empleados en cada una de las determinaciones.	90
2.4.1. Hemograma y bioquímica en sangre periférica.	90
2.4.1.1. Toma de muestra.....	90
2.4.1.2. Instrumentos: equipo y reactivos.....	90
2.4.2. Nivel valle de ciclosporina A en sangre entera.....	92
2.4.2.1. Toma de muestra.....	92
2.4.2.2. Preparación de la muestra. Procedimiento.....	92

2.4.2.3. Principio de la prueba.	94
2.4.2.4. Instrumentos: equipo y reactivos.	95
2.4.3. Recuento linfocitario absoluto y de las subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica por citometría de flujo.	96
2.4.3.1. Generalidades sobre citometría de flujo.	96
2.4.3.2. Principio de la prueba.	99
2.4.3.3. Toma de muestra.	101
2.4.3.4. Preparación de la muestra. Procedimiento.	101
2.4.3.5. Determinaciones.	102
2.4.3.6. Instrumentos: equipo y reactivos.	104
3. Método estadístico y soporte informático.	105
IV. RESULTADOS	109
1. Análisis de las características de la muestra.	109
1.1. Grupo Estudio.	109
1.2. Grupo control CyA.	112
1.3. Grupo control AZA.	113
1.4. Análisis de las características en los tres grupos de trasplantados.	114
1.4.1. Sexo.	114
1.4.2. Edad del paciente.	115
1.4.3. Etiología de insuficiencia renal.	116
1.4.4. Número de trasplante renal.	117
1.4.5. Tiempo desde el trasplante renal hasta el inicio del estudio.	117
1.4.6. Identidades HLA-DR compartidas entre donante (D) y receptor (R).	118
1.4.7. Inducción con anticuerpos antilinfocitarios.	118
1.4.8. Edad del donante.	118
2. Análisis de la evolución del peso en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.	120
2.1. Peso: Comparaciones entre grupos instante a instante.	120
2.2. Peso: Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.	122
2.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.	122
2.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.	122
2.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.	123
3. Análisis de la evolución de la dosis diaria de los inmunosupresores empleados y los niveles valle de CyA.	125
3.1. Análisis de la evolución de la dosis diaria de prednisona y las comparaciones entre grupos.	125
3.1.1. Dosis diaria de Prednisona: Comparaciones entre grupos instante a instante.	125
3.1.2. Dosis diaria de Prednisona: Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.	126
3.1.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.	126
3.1.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.	126
3.1.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.	126
3.2. Análisis de la evolución de la dosis diaria de ciclosporina A y de las comparaciones entre grupos.	127
3.2.1. Dosis diaria de CyA: Comparaciones entre grupos instante a instante.	127

3.2.2. Dosis diaria de ciclosporina A: Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.	128
3.2.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.	128
3.2.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.	129
3.2.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.	129
3.3. Análisis de la evolución de los niveles valle de ciclosporina A en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.	129
3.3.1. Nivel valle de ciclosporina A: Comparaciones entre grupos instante a instante.	130
3.3.2. Nivel valle de ciclosporina A: Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.	131
3.4. Análisis de la evolución de la dosis diaria de micofenolato mofetil en el grupo estudio.	131
3.5. Análisis de la evolución de la dosis diaria de azatioprina en el grupo AZA. .	132
4. Análisis de la evolución de la creatinina sérica en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos. Evolución de la pendiente de la creatinina sérica en el grupo estudio.	135
4.1. Creatinina sérica: Comparaciones entre grupos instante a instante.	135
4.2. Creatinina sérica: Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.	138
4.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.	138
4.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.	139
4.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.	139
5. Análisis de la evolución del hemograma en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.	141
5.1. Análisis de la evolución del recuento de hematíes en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.	141
5.2. Análisis de la evolución de la hemoglobina en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.	142
5.3. Análisis de la evolución del hematocrito en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.	143
5.4. Análisis de la evolución del recuento plaquetario en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.	144
5.5. Análisis de la evolución del recuento leucocitario en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.	145
5.5.1. Recuento Leucocitario: Comparaciones entre grupos instante a instante.	145
5.5.2. Recuento Leucocitario: Comparaciones entre instantes grupo a grupo.	147
6. Análisis de la evolución del recuento linfocitario absoluto y de las subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica en cada grupo y las diferencias entre grupos.	148
6.1. Análisis de la evolución del recuento linfocitario absoluto en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.	148
6.1.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.	148
6.1.2. Comparaciones entre instantes grupo a grupo.	150
6.1.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.	150
6.1.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.	151
6.1.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.	151

6.2. Análisis de la evolución del recuento de linfocitos CD3+ en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.....	152
6.2.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.....	152
6.2.2. Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.....	154
6.2.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.....	154
6.2.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.....	154
6.2.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.....	154
6.3. Análisis de la evolución del recuento de linfocitos CD3+CD4+ en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.....	155
6.3.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.....	155
6.3.2. Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.....	156
6.3.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.....	156
6.3.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.....	156
6.3.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.....	156
6.4. Análisis de la evolución del recuento de linfocitos CD3+CD8+ en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.....	157
6.4.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.....	158
6.4.2. Comparaciones entre instantes grupo a grupo.....	159
6.4.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.....	159
6.4.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.....	159
6.4.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.....	160
6.5. Análisis de la evolución del cociente linfocitario CD4/ CD8 en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.....	161
6.5.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.....	161
6.5.2. Comparaciones entre instantes grupo a grupo.....	163
6.5.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.....	163
6.5.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.....	163
6.5.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.....	163
6.6. Análisis de la evolución del recuento de linfocitos CD16+CD3- en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.....	164
6.6.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.....	165
6.6.2. Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.....	166
6.6.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.....	166
6.6.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.....	166
6.6.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.....	166
6.7. Análisis de la evolución del recuento de linfocitos CD19+ en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.....	167
6.7.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.....	168
6.7.2. Comparaciones entre instantes grupo a grupo.....	169
6.7.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.....	169
6.7.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.....	169
6.7.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.....	169
7. Análisis de la evolución del colesterol total y triglicéridos en el grupo Estudio.....	172
7.1. Evolución del tratamiento hipolipemiante.....	172
7.2. Evolución del colesterol total.....	173
7.3. Evolución de los triglicéridos.....	173

8. Análisis de la evolución de las enzimas AST/ GOT, ALT/ GPT, γ -GT y fosfatasa alcalina total en el grupo estudio.	175
9. Otras asociaciones.	180
9.1. Edad del receptor.	180
9.1.1. Edad del receptor versus dosis diaria de ciclosporina A.	180
9.1.2. Edad del receptor versus recuento de linfocitos CD19+.	181
9.1.3. Edad del receptor versus recuento de linfocitos CD3+CD4+.	183
9.1.4. Edad del receptor versus recuento de linfocitos CD16+CD3-.	185
9.1.5. Otros.	186
9.2. Sexo del receptor.	187
9.2.1. Sexo del receptor versus creatinina sérica.	187
9.2.2. Sexo versus peso.	187
9.2.3. Sexo versus recuento de linfocitos CD3+CD8+.	188
9.3. Serología del virus de la hepatitis C.	189
9.3.1. AcVHC versus edad del receptor.	189
9.3.2. AcVHC versus tiempo de evolución del trasplante renal.	190
9.3.3. AcVHC versus recuento de linfocitos CD16+CD3-.	191
9.4. Edad del donante y antecedente de rechazo.	192
9.4.1. Edad del donante versus creatinina sérica.	192
9.4.2. Antecedente de rechazo del injerto versus creatinina sérica.	193
9.5. Función renal del injerto y poblaciones linfocitarias en sangre periférica.	194
V. DISCUSIÓN.	201
1. Seguridad clínica del micofenolato mofetil asociado a ciclosporina A y prednisona en el trasplante renal.	201
2. Efecto del micofenolato mofetil sobre la evolución de la función renal en el trasplante renal.	207
3. Recuento linfocitario y su distribución en sangre periférica en el trasplante renal estable. Efecto inmunomodulador del régimen inmunosupresor de mantenimiento. Diferencias según características basales del receptor. Función renal y recuento de linfocitos NK.	214
3.1. Evolución del recuento linfocitario y su distribución en sangre periférica según el régimen inmunosupresor de mantenimiento en el trasplante renal estable.	215
3.2. Diferencias del recuento linfocitario y su distribución en sangre periférica según edad y sexo del receptor en el trasplante renal estable.	221
3.3. Evolución del recuento linfocitario y su distribución en sangre periférica según la serología del virus de la hepatitis C en el trasplante renal.	226
3.4. Función renal del injerto y recuento de linfocitos CD16+CD3- en sangre periférica: ¿una asociación espuria?	228
4. Función renal del injerto según edad del donante, sexo y peso del receptor.	233
VI. CONCLUSIONES.	237
VII. BIBLIOGRAFÍA.	239

I. INTRODUCCIÓN

1. Consideraciones generales.

“Garantizar la vida de un ser humano gracias a la sustitución de uno de sus órganos destruido por un órgano sano... representa ciertamente la epopeya más apasionante de la ciencia médica de nuestro siglo, tanto en lo que supone de hazaña terapéutica como por su significación y sus repercusiones en el conocimiento de nuestro universo biológico” (Vicente, 1994). El trasplante renal como terapia sustitutiva para aquellas personas que sufren insuficiencia renal crónica terminal se erige en una eficaz herramienta y exponente de referencia para conseguir este objetivo. Por ello, los recursos humanos, sociales, sanitarios, científicos, jurídicos y económicos destinados a tal fin, y todos los esfuerzos que contribuyan a su mejora serán siempre insuficientes.

Han sido muchos los avances en el plano científico-médico que han fuertemente posicionado al trasplante renal como una modalidad normalizada de tratamiento renal sustitutivo. Uno de ellos, con nombre propio, la farmacoterapia inmunosupresora sobre la que Grinyó (1998) en su editorial *“Inmunosupresión: hacia el 2000”* perfila el futuro inminente, y deja entrever la exigencias clínicas que se avecinan: “El simbolismo mítico de los milenios parece obligar a cambios muy tangibles marcando puntos de inflexión en los distintos ámbitos de la actividad humana... El progreso de las ciencias no escapa a esta percepción”. No cabe duda que son numerosos los ensayos que debe vencer un nuevo agente inmunosupresor desde que es esbozado a la comunidad científica hasta su comercialización y empleo rutinario. Sin embargo, la investigación clínica del mismo presenta

numerosos escollos, ya porque la acción específica de la nueva droga sobre cada una de las fases de la alorrespuesta no puede ser estudiada individualmente, ya porque los verdaderos objetivos son los propios resultados sobre la población trasplantada más que los continuos, fragmentados y cambiantes modelos de alorreactividad inmunológica. Estas dificultades pueden crear un gran abismo entre la acción molecular de la droga y la situación clínica. Por otra parte, los logros del trasplante renal conseguidos con el empleo de ciclosporina A como droga de mantenimiento solamente pueden ser superados con cuidadosos ensayos clínicos capaces de definir con claridad el papel del nuevo inmunosupresor, y en definitiva, establecer ya la superioridad (considerando las variables supervivencia del injerto, episodios de rechazo, función del injerto,...), o la equivalencia clínica con mejor perfil toxicológico (Kahan, 1993). En los últimos 5 años la eclosión de nuevos inmunosupresores, cada vez más selectivos, fruto de la investigación básica sostenida en años y expresión del mejor conocimiento de la aloinmunidad en lo que concierne al papel que juegan linfocitos y citoquinas en la inducción de rechazo agudo e inducción de tolerancia (Mannon et al, 1999), viene a intentar satisfacer las demandas no resueltas con la inmunosupresión previa. En este instante los estudios de seguimiento adquieren especial protagonismo.

A continuación esbozaremos aspectos decisivos que han motivado la búsqueda de nuevos inmunosupresores, y cómo se desarrolló el micofenolato mofetil (MMF). Plantearemos las dificultades que entraña la búsqueda de un criterio inmunológico que permita monitorizar el trasplante renal. Finalmente haremos algunas consideraciones sobre el virus C en el trasplante renal. Tales premisas nos servirán para apoyar las inquietudes que animaron el presente trabajo de investigación.

2. Aspectos decisivos en la búsqueda de nuevos inmunosupresores a finales de los años 80: nefropatía crónica del injerto renal.

2.1. Recuerdo histórico de la Inmunosupresión en el trasplante renal.

Desde 1936 en que Voronoy realizase el primer trasplante renal en humanos, han sido muchas las cotas superadas, y muchas las personas que en la actualidad se benefician de este tratamiento.

Con la finalidad de comprender los determinantes que propiciaron el desarrollo de nuevos agentes inmunosupresores puede resultar de interés un recuerdo histórico de la inmunosupresión en el trasplante renal (tabla 1).

Tabla 1. Pasado, presente y futuro de la inmunosupresión en el trasplante renal.

1960	Irradiación total. Inmunosupresión con Azatioprina (Calne, Zukoski), Corticoides (Starzl).
1967	Anticuerpo policlonal antilinfocitarios (Starzl).
1978	Ciclosporina A (Calne et al).
1983	Anticuerpo monoclonal OKT3 (Cosimi).
1990	FK-506
1995-2001	Micofenolato mofetil, rapamicina, brequinar, mizoribina, leflunomida, deoxispergualina, SK&F 105685, Ac-anti IL2-R, otros Ac.

El tremendo avance en inmunosupresión hace 40 años comenzó con la descripción del efecto inmunosupresor de la 6-mercaptopurina (6-MP) por Schwartz y Dameshek (1959), y la posterior introducción clínica de su

derivado imidazólico, azatioprina (AZA) por Calne et al (1962). En estos años fueron descritas las leyes básicas que rigen el rechazo, los antígenos del complejo principal de histocompatibilidad y las diferencias entre individuos. Pronto se incorporaron los corticoides (prednisona, P), constituyéndose la doble terapia inmunosupresora AZA + P. Con esta pauta raramente se consiguieron supervivencias del injerto renal a 5 años superiores al 50 %.

El primer ensayo clínico fase I empleando ciclosporina A fue realizado por Calne et al (1978) en siete trasplantados renales. La eficacia y tolerancia de la droga condujo a la realización de ensayos clínicos a gran escala (Europeo, 1983; Canadiense, 1986) en los que se puso de manifiesto la superioridad de la terapia CyA + P frente al régimen clásico AZA + P para la prevención del rechazo agudo, mejorando la supervivencia de los injertos a corto plazo.

Como terapia de mantenimiento la CyA se ha empleado asociada a esteroides y/ o AZA, y ocasionalmente en monoterapia. Con esta droga los episodios de rechazo agudo han evolucionado frecuentemente de forma poco sintomática (sin la clásica triada grave de fiebre, injerto grande y doloroso), adquiriendo gran relevancia la valoración de una constelación de parámetros bioquímicos, ecográficos, isotópicos e histológicos (revisado por Alsina, 1997).

2.2. Nefropatía crónica del injerto renal. Factores inmunológicos y no inmunológicos. Nefrotoxicidad por ciclosporina A y rechazo agudo.

Tras diez años empleando regímenes a base de CyA, hasta bien entrados los años 90, se evidencian los problemas no resueltos, principalmente derivados de su toxicidad y de la relativa elevada incidencia de rechazo agudo, por cuanto que se trata de factores etiopatogénicos de nefropatía crónica, y por ende, de fracaso tardío del injerto renal. Si bien el avance ha sido importante respecto a la preservación de órganos, descenso de la mortalidad por complicaciones infecciosas y el tratamiento contra el rechazo agudo, con notable incremento de la supervivencia de los injertos en el primer año en torno al 80 % (Azuma et al, 1994), apenas se ha mejorado la supervivencia de los mismos a 10 años (Knigth et al, 1991; Schweitzer et al, 1991). En nuestro centro la supervivencia del injerto a 1, 5 y 10 años con la terapia más habitual hasta 1996 consistente en linfoglobulina + prednisona + CyA (n= 113) es del 83, 70 y 64 %, respectivamente (Bravo, datos no publicados). Todo ello pone de manifiesto que las medidas farmacológicas tan eficaces para tratar el rechazo agudo son inadecuadas para prevenir la nefropatía crónica.

La nefropatía crónica del injerto, definida como el progresivo deterioro de la estructura y función del injerto en meses o años, es resultado de la interacción inmunológica y no inmunológica entre injerto y receptor. La histología está dominada por proliferación miointimal y obliteración vascular, glomerulo-esclerosis, fibrosis intersticial y atrofia tubular, con infiltrado inflamatorio (Paul et al, 1993). Al recapitular sobre los factores etiopatogénicos de la nefropatía crónica del injerto (tabla 2), ha llegado a ser

costumbre diferenciarlos en factores inmunológicos o aloantígeno-dependientes y no inmunológicos o aloantígeno-independientes, en aras de una mayor claridad principalmente clasificatoria, sin perjuicio de que con frecuencia interactúen por ambas vías. Es evidente que ambos determinantes son capaces de activar las mismas células, mediadores moleculares de lesión y remodelado tisular del injerto, que conducen a muy semejantes si no idénticas lesiones histopatológicas (figura 1). Vg, la activación antígeno-específica de los linfocitos T, la exposición crónica a ciclosporina A o la hipertensión glomerular condicionan todas la producción local del β -TGF (Kehrl et al, 1986; Shehata et al, 1995; Shankland et al, 1994), un polipéptido con potentes efectos sobre la proliferación y diferenciación celular, modulador de la respuesta inmunológica y promotor del depósito de material extracelular y de fibrosis.

Tabla 2. Factores Etiopatogénicos de Nefropatía Crónica del Trasplante Renal.

A. Factores Inmunológicos.

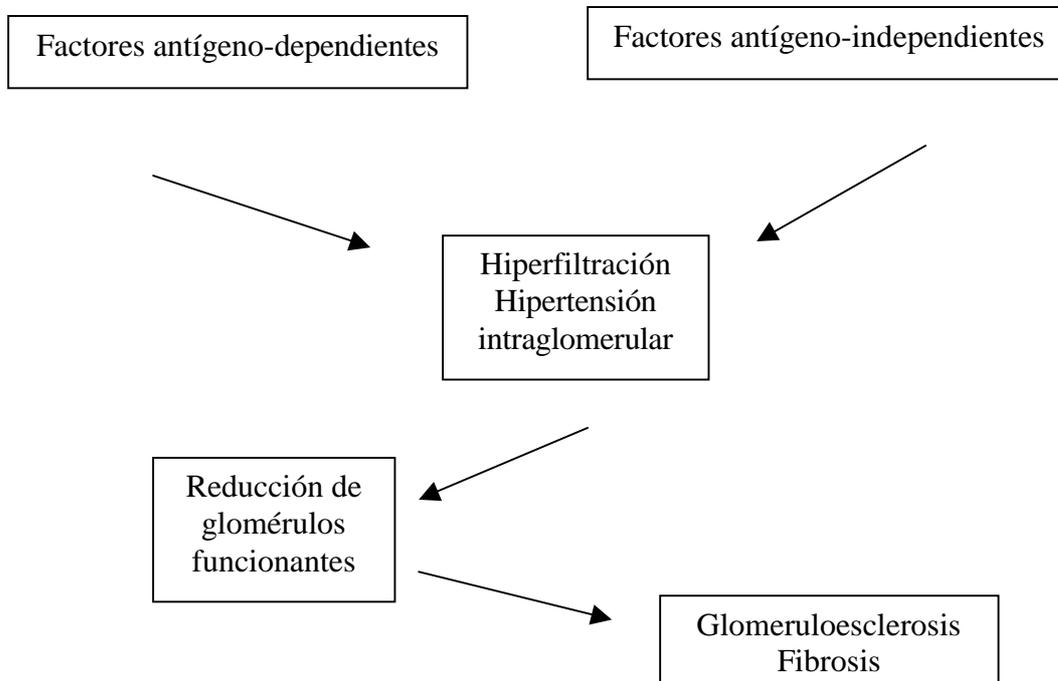
- Rechazo agudo. Rechazo agudo subclínico. Rechazo crónico.
- Incompatibilidad HLA entre donante y receptor.
- Baja inmunosupresión.
- Recidiva de la nefropatía de base en el injerto (nefropatía IgA, ...).
- Nefrotoxicidad por drogas (CyA, tacrolimus, ...).

B. Factores No Inmunológicos.

- Edad extrema del donante (<5 y >60 años, debido a “baja masa nefronal”). Lesiones previas en el injerto: donante añoso.
- Función renal postrasplante retardada.
- Preservación peri-implante; lesiones del injerto por fenómenos de isquemia-reperfusión*.
- Hiperlipemia, Obesidad, Diabetes mellitus, Hipertensión arterial e intraglomerular (hiperfiltración), Hiperhomocisteinemia, Tabaquismo. Enfermedad vascular. Factores genéticos.
- Infecciones (en particular por citomegalovirus*).
- Uropatía obstructiva.

*: tales factores pudieran participar también por mecanismos lesionales inmunológicos.

Figura 1. Mecanismo lesional de los factores inmunológicos y no inmunológicos sobre el trasplante renal.



Destacamos que algunos determinantes de nefropatía crónica ofrecen una fuerte limitación de intervención, por lo que es sobre otros, como la inmunosupresión o la injuria asociada a fenómenos de isquemia-reperfusión, donde con frecuencia se centra el plan de actuación. Respecto a los primeros, nos vamos a referir a la compatibilidad HLA entre donante/ receptor y a la edad del donante.

El análisis de la base de datos europea sobre trasplante renal confirmó que el mejor emparejamiento HLA se asoció con supervivencias del injerto superiores: ninguna incompatibilidad empleando injertos de cadáver resultó en una supervivencia del 79 % en 5 años, y una vida media de 13,2 años, frente al 51 % y 7,8 años, respectivamente, de aquellos injertos sin ninguna compatibilidad (Thorogood et al, 1992). Resultados semejantes informó Opelz en el estudio cooperativo (1992). Sin embargo, este efecto beneficioso

del emparejamiento HLA sobre la supervivencia desaparece en aquellos injertos que han sufrido uno o más episodios de rechazo agudo (Zhou et al, 1994), o proceden de donantes mayores de 60 años (Delmonico, 2000). Los resultados de Matas et al (2000), obtenidos del análisis de cerca de 1200 trasplantados renales, subrayan la importancia de evitar la función renal retardada del injerto y los episodios de rechazo agudo, con la finalidad de reducir el rechazo crónico, la pérdida de injertos, y por ende, mejorar la supervivencia de los injertos a largo plazo. Por el contrario, sugieren que la compatibilidad HLA no es un determinante esencial para la conseguir supervivencias prolongadas.

Los mayoría de los estudios sobre los factores de riesgo de nefropatía crónica del injerto casi siempre se han centrado sobre las circunstancias post-donación, pero cada vez es más evidente que la edad del donante y la calidad del injerto antes del implante son determinantes pronósticos de la función renal a largo plazo. Se ha estimado que la edad del donante justifica el 30 % de la variación de la función renal en injertos de más de un año de evolución (Gjertson, 1997). Por otra parte, los trasplantes procedentes de donantes > 50 años muestran una supervivencia en el primer año del 71 % frente al 93 % de aquellos procedentes de donantes < 50 años (Matas et al, 2000). En nuestro centro, el análisis sobre 542 trasplantes arroja una supervivencia del injerto a 5 años del 80 %, ya empleando injertos procedentes de donantes menores (n= 482) como mayores de 60 años (n= 60), si bien a 10 años ésta es del 74 vs 59 %, respectivamente (Bravo, datos no publicados). Los injertos procedentes de donantes añosos (>65 años) con frecuencia nunca normalizan la función renal, circunstancia que estaría asociada a lesiones crónicas preexistentes, condicionando hipertrofia nefronal. En este punto la biopsia puede ayudar a establecer su pronóstico, y diferenciar entre un injerto subóptimo o una

inmunosupresión insuficiente. La función renal del injerto homólogo pudiera ser de utilidad pronóstica (Bravo, datos no publicados).

De manera resumida, podemos decir que la nefropatía crónica del trasplante se iniciaría con traumas continuos de baja intensidad en diversas estructuras del injerto, derivados de mecanismos inmunológicos y no inmunológicos. Se produciría una respuesta por las células renales e infiltrantes, con liberación de una cascada de mediadores (factores de crecimiento, citocinas, complemento,...), que podrían inducir depósito de material, lesión tisular y remodelado del injerto, abocando a la llamada arterioesclerosis gradual del injerto (Paul et al, 1998a).

A continuación se resumen las principales limitaciones del uso de ciclosporina A en el trasplante renal, efecto nefrotóxico y elevada incidencia de rechazo agudo, que en definitiva son las que han favorecido la introducción de nuevos agentes inmunosupresores.

1) Nefrotoxicidad por ciclosporina A.

Los efectos adversos achacados a ciclosporina A son amplios, renales y sistémicos, la mayoría dosis-dependiente (tabla 3; Gruber et al, 1991). Debido a que la ventana terapéutica de la CyA es estrecha, una aproximación para dosificar la droga consiste en monitorizar el nivel valle sanguíneo predosis (C-0), cuyo rango terapéutico con frecuencia se define según el momento evolutivo del trasplante y la inmunosupresión asociada, y modulado por criterios clínicos (revisado por Kasiske, 1998). Aunque puede resultar útil la dosificación de CyA empleando el rango de la concentración valle terapéutica en sangre, ya que existe cierta asociación entre ésta y la situación clínica, la predicción de rechazo agudo o

nefrotoxicidad que se puede establecer sobre individuos en particular es baja. En general se admite que cuando los niveles valle de CyA en sangre total son superiores a 250-300 ng/ mL el incremento de la creatinina sérica se debe a nefrotoxicidad, mientras que si se encuentran por debajo de 100 ng/ mL se debe a rechazo agudo (Kahan, 1995). Sin embargo, la dificultad para dosificar CyA surge cuando episodios de nefrotoxicidad, infección o rechazo agudo ocurren en los “niveles terapéuticos” (Lindholm, 1995). Aunque la formulación Neoral ha mejorado la asociación entre concentración valle e incidencia de rechazo agudo respecto a la formulación clásica de ciclosporina, con gran frecuencia fracasa (revisado por Belitsky et al, 2000). Ello marca la imperfección de tal determinación y pone de manifiesto la dificultad para definir de forma absoluta rangos de concentraciones valle terapéuticos y tóxicos, por lo que el ajuste de la dosis debe ser muy individualizado.

Un indicador más sensible para monitorizar la exposición a la droga y que se correlaciona mejor con la situación clínica, rechazo agudo y pérdida del injerto, respecto a otros parámetros farmacocinéticos (incluido el nivel C-0) es el área bajo la curva concentración-tiempo. La necesidad de múltiples extracciones para su cálculo hace que sea impracticable como técnica clínica de rutina. Sin embargo, y en el esfuerzo por optimizar la efectividad de la formulación Neoral de la mano de parámetros farmacocinéticos y centrados en la fase de absorción (primeras cuatro horas tras la dosis), son esperanzadores los resultados cosechados en el trasplante cardíaco y hepático estable, donde la determinación aislada de la concentración sanguínea de la droga tras dos horas de administrar la dosis (C-2) ha sido mejor predictor de exposición a la droga y de eventos clínicos que el nivel C-0, con superior asociación con el área bajo la curva (revisado por Belitsky et al, 2000). Esta aproximación está siendo evaluada en el trasplante renal.

A pesar de las múltiples manifestaciones adversas asociadas al uso de la ciclosporina A, es el efecto deletéreo sobre la función renal a largo plazo el que con frecuencia limita su empleo y dosificación terapéutica, con la consecuente administración a dosis subóptima e incremento de alorreactividad por infrainmunosupresión.

La nefrotoxicidad aguda por ciclosporina A cursa con disfunción renal asociada a vasoconstricción renal, disminución del flujo plasmático renal y reducción del filtrado glomerular, y comúnmente sin cambios histopatológicos (Varani et al, 1984).

Tabla 3. Efectos adversos asociados a Ciclosporina A

1. Renales:
 - Nefrotoxicidad, síndrome hemolítico-urémico
 - Hiperpotasemia, hipomagnesemia, acidosis metabólica hiperclorémica
 - Hipertensión arterial
 2. Neurológicos: temblor, parestesias, crisis comiciales
 3. Digestivos: Hepatotoxicidad
 4. Metabólicos: hiperuricemia, hiperglucemia
 5. Dermatológicos: hipertriosis, hiperplasia gingival
 6. Neoplasias: Linfomas, sarcoma de Kaposi
-

En cuanto a la nefropatía crónica por ciclosporina A, a veces es difícil de definir histológicamente, al menos en trasplantados renales, donde las lesiones por rechazo crónico son semejantes y superponibles a las producidas por CyA. Por ello, la progresión de esta nefropatía crónica tóxica y su

contribución a la pérdida del injerto renal es difícil de valorar, e incluso se puede confundir con infrainmunosupresión, que conduce a resultados similares (Bennett, 1996). Las lesiones renales crónicas por CyA se caracterizan por arteriopatía hialina, atrofia tubular con fibrosis intersticial focal o difusa, vacuolización isométrica y mitocondrias gigantes en las células del túbulo proximal (Myers et al, 1984). Estas lesiones se han puesto de manifiesto incluso en pacientes no renales tratados con dosis bajas, entre 3-5 mg/ Kg/ día (Pei et al, 1994; Young et al, 1994), alcanzando gran relevancia en trasplantados de corazón en quienes la nefrotoxicidad por esta droga ha representado una causa relevante de morbi-mortalidad (Goldstein et al, 1997).

En el trasplante renal ha suscitado polémica la asociación entre dosis bajas de mantenimiento de ciclosporina A y nefropatía crónica del injerto. Burke et al (1994) observó dicha asociación en trasplantados tratados con prednisona y CyA a dosis inferior a 4 mg/ kg/ día al año del trasplante, mientras que otros estudios no han corroborado estos resultados (Massy et al, 1995).

Respecto a la patogenia de la nefrotoxicidad por ciclosporina A existen datos suficientes para presumir que un paso clave radica en el bloqueo de la calcineurina, no así en el de la enzima cis-trans isomerasa (Sigal et al, 1991; Dumont et al, 1992).

Aunque son múltiples los subproductos que pueden intervenir, alterando el balance vasodilatador-vasoconstrictor local a favor de este último y el perfil intrarrenal de citoquinas y factores de crecimiento, toma especial protagonismo el sistema endotelina 1- “transforming growth factor beta” (β -TGF), posiblemente asociado a una respuesta Th2. La ciclosporina A activaría la expresión del gen de la endotelina 1, cuya liberación se ve

incrementada por acción de la angiotensina II, provocando la primera su efecto vasoconstrictor directo. Por otra parte, la endotelina 1 es capaz de activar el gen del β -TGF, y a su vez este producto estimula la síntesis de endotelina 1, estableciéndose un sistema de retroalimentación positivo. El efecto fibrogénico del β -TGF es el responsable en última instancia de los cambios fibroescleróticos observados en la nefrotoxicidad crónica por CyA (Hutchinson, 1998). La inmunosupresión que induce ciclosporina A para prevenir el rechazo agudo, que inhibe preferentemente la respuesta celular CD4+Th1, pudiera contribuir a la desviación inmunológica hacia una respuesta CD4+Th2 (revisado por Shirvan, 1999). Esta respuesta se puede perpetuar por citoquinas de tipo 2 producidas por macrófagos activados, linfocitos NK y células T CD8+ en el injerto. Las citoquinas producidas por esta respuesta tipo 2 pueden permitir la activación de linfocitos B, células endoteliales y musculares lisas, que colectivamente participan en la patogenia de la nefropatía crónica del injerto, a través de la producción de aloanticuerpos, factores de crecimiento que inducen fibrosis, depósito de matriz extracelular e hiperplasia miointimal de los vasos.

En este contexto es relevante resaltar las evidencias sobre la resistencia del bloqueo inducido por ciclosporina A sobre la respuesta inmunológica asociada al reconocimiento antigénico indirecto (Sawyer et al, 1993). Aunque no existen claras evidencias sobre la activación preferente de un tipo de respuesta sobre la otra en el proceso de rechazo vs tolerancia del aloinjerto, estudios clínicos en biopsias de injerto renal sugieren que el rechazo crónico se asocia con altos niveles de IL-10 intrainjerto, mientras que el rechazo agudo lo hace con un perfil de citoquinas Th1 (Oliveira et al, 1998). Las evidencias experimentales y clínicas apoyan la hipótesis sobre la respuesta CD4+Th2 inducida por el reconocimiento indirecto como responsable relevante del proceso de iniciación y/ o mantenimiento del

rechazo crónico, pudiendo incluso ser acentuada incluso por agentes inmunosupresores, como ciclosporina A y rapamicina (revisado por Shirvan, 1999).

Otro posible mecanismo de toxicidad renal por CyA pudiera estar mediado por radicales libres de oxígeno generados en su metabolismo, ya provocando directamente peroxidación lipídica y daño celular, ya tras la reacción con óxido nítrico, dañando además el efecto vasodilatador de este último (Walker et al, 1990; Serino et al, 1993).

El efecto inhibitorio de la CyA sobre el transportador de membrana glicoproteína-P, normalmente expresado en las células del túbulo proximal e implicado en la acumulación de sustancias citotóxicas endógenas o exógenas, no está suficientemente explorado como mecanismo de nefrotoxicidad (Okamura et al, 1993).

2) Rechazo Agudo. Rechazo Agudo subclínico.

Con ciclosporina A se ha “tocado techo” en cuanto a la reducción de la incidencia de rechazo agudo, que oscila entre el 27-58 % (Grinyó et al, 1997). En nuestro centro con la terapia linfoglobulina + prednisona + CyA (n= 220) hemos obtenido una incidencia del 31 % (Bravo, datos no publicados).

A menudo los estudios de supervivencia del trasplante renal se expresan en términos de “vida media”, que representa el tiempo que transcurre desde el primer año de trasplante hasta que la mitad de los injertos se han agotado. Aunque esta aproximación permite estudiar supervivencias a largo plazo despreciando las pérdidas precoces, sí es relevante señalar que muchos de estos análisis se basan en seguimientos no suficientemente prolongados y que la tasa de pérdida tardía del injerto se asume como lineal, lo que probablemente sea incorrecto (Ferguson, 1995). A pesar de tales dificultades, del análisis que reporta Matas et al (1994) se

desprende que un solo episodio de rechazo agudo en el primer año de trasplante reduce en promedio la vida media de los primeros trasplantes de 45 ± 11 años a 25 ± 8 años, mientras que uno o varios episodios de rechazo agudo tras el primer año de trasplante disminuyen la vida media 3 ± 1 año y 5 ± 11 años, respectivamente.

Los estudios de Ferguson (1995), Van Saase et al (1995) y Massy et al (1996) vienen a recordar que el rechazo agudo no es una entidad unitaria, y corroborando las observaciones previamente comentadas, desmarcan la frecuencia, duración y severidad histológica del rechazo agudo como predictores de baja supervivencia del injerto.

El valor de la biopsia de injerto renal se ha incrementado notablemente en los años 90 con el desarrollo y aplicación de las técnicas de biología molecular en el tejido renal (Strehlau et al, 1997; Oliveira et al, 1997), la mejorada e internacionalmente consensuada clasificación de la patología del injerto renal (Isoniemi et al, 1994; Colvin et al, 1997), destacando con nombre propio la *clasificación de Banff* (Racusen et al, 1999), y las nuevas formas de evaluar específicamente la patología crónica del injerto, como es la lamelación de la membrana basal capilar peritubular y el incremento de muerte celular por apoptosis (Laine et al, 1997; Morozumi et al, 1997).

Con estos prolegómenos surge, muy próximo al rechazo agudo, otro factor patogénico de nefropatía crónica, el rechazo agudo subclínico, caracterizado por tubulitis aislada y función renal normal. El trabajo de revisión de Solez et al (1997) pone de manifiesto la polémica suscitada sobre la necesidad de las biopsias programadas precoces en trasplantados con función renal estable, y se define el rechazo agudo subclínico: del análisis de varios protocolos de biopsias programadas evaluadas según la clasificación

de Banff se puede concluir que los injertos con tubulitis aislada y función renal normal que no fueron tratados presentaron a los 24 meses valores de creatinina sérica más elevadas que aquellos que recibieron tratamiento esteroideo al tercer mes.

Tsamandas et al (1997) estudiaron el significado del hallazgo de tubulitis en biopsias de injerto renal con nefropatía crónica, obtenidas entre el 9-108 meses postrasplante. La función renal mejoró con terapia antirrechazo en 7 de los 17 pacientes, sugiriendo que el rechazo agudo fue genuino y valioso de tratar. Los autores concluyen que los pacientes con respuesta terapéutica al rechazo no pueden ser diferenciados de los casos refractarios a través de creatinina sérica, grado de tubulitis, porcentaje de glomeruloesclerosis o la suma de puntuaciones de rechazo agudo o crónico según la clasificación de Banff. De ahí que un ensayo terapéutico puede estar justificado preferentemente en tales casos.

Aunque es predecible que el desarrollo tecnológico a largo plazo pueda eliminar la necesidad de la biopsia del injerto renal empleando procedimientos no invasivos capaces de vigilar y detectar alorreactividad en el mismo, y un apunte en este sentido pudiera realizarse a través de la detección de anticuerpos contra antígenos HLA del donante (Mc Kenna et al, 2000), a corto plazo estas aproximaciones están incrementando el rendimiento del manejo diagnóstico, pronóstico y terapéutico del trasplantado renal.

3. Nuevos inmunosupresores.

La búsqueda y selección de la droga inmunosupresora idónea, que sea bien tolerada y actúe de forma específica, es continua y enérgica. Los beneficios e inconvenientes de las drogas clásicas son bien conocidos. Aunque cada una muestra efectos adversos específicos - vg, ciclofosfamida puede producir cistitis hemorrágica (Levine et al, 1993), ciclosporina puede causar nefrotoxicidad e hipertensión arterial, y metotrexate puede condicionar hepatopatía y mielosupresión (Jolivet et al, 1983) -, comparten una serie de efectos adversos a corto y largo plazo. A corto plazo los inmunosupresores pueden incrementar la susceptibilidad para sufrir infecciones herpéticas y otras, por lo que es deseable que cuando sean suspendidos la respuesta inmunológica se restablezca con prontitud. La patología neoplásica es el riesgo de la terapia inmunosupresora a largo plazo, y con nombre propio los linfomas, cuya magnitud y relevancia está bien definida en pacientes trasplantados (Penn, 1988), así como en otros inmunosuprimidos (Baker et al, 1987). Dos factores predisponen al desarrollo de linfomas: uno es la inhibición de la vigilancia por los linfocitos T contra la transformación inducida por el virus de Epstein-Barr sobre los linfocitos B, como ocurre con ciclosporina (Rickinson et al, 1984); el segundo son las injurias cromosómicas, que pueden convertir una proliferación policlonal de linfocitos B en un proceso maligno (Klein et al, 1989). Los metabolitos de la ciclofosfamida, agentes alquilantes, pueden condicionar un efecto mutagénico y carcinogénico, y además sus efectos sobre la serie linfoide no son rápidamente revertidos (De Neve et al, 1989). Metotrexato, que inhibe la síntesis de timidina así como la síntesis de novo de las purinas, cursa con efecto antiproliferativo, que no es más potente sobre la población linfocitaria que sobre otros tipos celulares, incluyendo

los precursores hematopoyéticos, fibroblastos y células endoteliales (Jolivet et al, 1983; Hirata et al, 1989). Azatioprina, y su metabolito 6-mercaptopurina (6-MP), inhibe la síntesis de las purinas: tras transformarse en ácido 6-tioinosínico, análogo del inosín monofosfato (IMP), es capaz de inhibir las enzimas inosín-monofosfato deshidrogenasa (IMPDH), fosforribosil-pirofosfato aminotransferasa y adenilo-succinato sintetasa. Esta inhibición no es revertida tras la adición de nucleótidos púricos, lo cual pone de manifiesto el bloqueo no selectivo de la IMPDH (Dayton et al, 1992). Uno sus metabolitos se incorpora al DNA en forma de tioguanosina, condicionando el efecto mutagénico de la droga (Herlia et al, 1988).

A tenor de todo lo expresado, y en concreto en el campo del trasplante renal, surge la necesidad de nuevos agentes inmunosupresores con efecto inmunosupresor potente, reversible y selectivo sobre la población linfocitaria, libres de efecto hepatotóxico, nefrotóxico y mutagénico, y que mejoren los resultados actuales respecto a incidencia de rechazo agudo, nefropatía crónica y supervivencias del injerto y paciente a largo plazo. Una vez más se intenta cumplir el aforismo de *“ofrecer años a la vida y vida a los años”* de nuestros pacientes.

Fruto del mejor conocimiento de la biología linfocitaria y del fenómeno inmunológico que subyace en la alorreactividad y tolerancia del trasplante de órganos y tejidos, los nuevos agentes inmunosupresores se han desarrollado inmersos en la filosofía de obtener y mantener una inmunosupresión adecuada, sin comprometer la calidad de vida del paciente, y adquieren su importancia en regímenes que permitan reducir toxicidad, con frecuencia dosis-dependiente, sin perder potencia inmunosupresora, y donde se explote la actividad sinérgica de los mismas. En los últimos años el repertorio ha cambiado en cuantía, especificidad y bondad teórica (tabla 4).

 Tabla 4. Nuevos Inmunosupresores.

Droga	Mecanismo de acción
FK-506	- Inhibición de la calcineurina.
Rapamicina	- Inhibición de la proliferación del linfocito T mediada por IL-2/ IL-2R
Mizoribina	- Inhibición de la síntesis de purinas.
Micofenolato mofetil	- Inhibición de la síntesis de novo de las purinas. - Inhibición de la glicosilación de moléculas de adhesión.
Brequinar	- Inhibición de la síntesis de novo de pirimidinas. - Inhibición de la glicosilación de moléculas de adhesión. - Inhibición de la diferenciación de la célula B.
Leflunomida	- Inhibición de la tirosino-fosforilación. - Inhibición de la síntesis de novo de pirimidinas.
Deoxispergualina	- Inhibición de la mitogénesis de las células B y T. - Inhibición de la producción de anticuerpos.
Basilimab y Daclizumab	- anticuerpos monoclonales contra el receptor de la IL-2 (quimérico y humanizado, respectivamente).

La tendencia más reciente de la inmunosupresión en el trasplante renal se polariza hacia estrategias que permitan reducir dosis y niveles de inhibidores de la calcineurina asociando drogas exentas de efecto nefrotóxico y fibrogénico, como micofenolato mofetil (MMF) y rapamicina. Estas medidas pudieran adquirir particular relevancia en injertos subóptimos (Danovitch, 1999).

A continuación se detallan aspectos específicos de MMF (Cellcept[®], Roche), un inmunosupresor con efecto antiproliferativo reversible, de acción

más potente sobre los linfocitos que sobre otra estirpe celular, y libre de efecto nefrotóxico. Quizá esta droga pueda ofrecer la opción deseada que permita rebajar efectos adversos de otras drogas suplementando inmunosupresión.

4. Cellcept[®]: micofenolato mofetil / ácido micofenólico. Desarrollo y experiencia clínica en el trasplante renal.

4.1. Generalidades.

El micofenolato mofetil (MMF) es el éster derivado del ácido micofenólico (AMF), producto de la fermentación de varias especies del hongo *Penicillium* (*P. gaullum*, *P. stoloniferum*, *P. brevicompactum*), descubierto y bautizado por Alsberg y Black en 1913. Inició su andadura como antibiótico y agente anticancerígeno. En los años 70 se desarrollaron ensayos clínicos para el tratamiento de la psoriasis, que no llegaron a completarse (Epinette et al, 1987; Lynch et al, 1977).

El interés se reanudó cuando, en la búsqueda de un compuesto que tuviese efectos antiproliferativos y selectivos para los linfocitos, se descubrió el ácido micofenólico (AMF). Dos fueron las observaciones que sugirieron que la vía de novo de las síntesis de las purinas, y no la vía de ahorro era crucial para la respuesta proliferativa de los linfocitos T y B humanos. Por una parte, los niños con déficit de adenosín desaminasa (ADA), enzima que regula la conversión de adenosín monofosfato (AMP) en IMP, y viceversa, ofrecían una disminución selectiva en el número y función de los linfocitos T y B, con recuentos de neutrófilos, eritrocitos y plaquetas normales (Giblett et al, 1972); por otra, los jóvenes con déficit de la enzima hipoxantina-guanosín fosforribosil transferasa (HGPRT, síndrome de Lesch-Nyhan), que interviene en la síntesis de purinas por la vía de ahorro, no presentaban esta alteración linfocitaria (Allison et al, 1975).

4.2. Propiedades farmacológicas del micofenolato mofetil - ácido micofenólico.

Los datos que a continuación se exponen se han extraído principalmente de los trabajos de Allison et al (1991; 1993a; 1993b; 1996), considerando en otras citas bibliográficas aspectos más específicos.

4.2.1. Farmacocinética.

El MMF es el morfolinoetil éster del ácido micofenólico, también denominado 2-morfolinoetil (E)-6-(1,3-dihidro-4-hidroxi-6-metoxi-7-metil-3-oxo-5-isobenzofuranil)-4-metil-4-hexenoato. Se trata de un ácido débil, de peso molecular 433,5 y fórmula empírica $C_{23}H_{31}NO_7$ (figura 2). Se encuentra en forma de polvo cristalino blanco, ligeramente soluble en agua (43 μ gr/ ml a pH 7,4), más en medio ácido (4,27 mg/ ml a pH 3,6), y totalmente soluble en acetona y metanol.

El MMF es un profármaco hidrosoluble que carece de actividad farmacológica. Tras la administración oral se absorbe de forma completa en el intestino delgado, y no es detectable en plasma ya que sufre un proceso de desesterificación en la propia pared intestinal, hepática y sanguínea mediante el cual se transforma en AMF, su metabolito activo. Éste alcanza la concentración plasmática máxima unos 50 minutos tras su administración oral, con alta biodisponibilidad (94%).

Se une en un 97 % a la albúmina plasmática, lo que justifica en parte una semivida de eliminación prolongada, en torno a 16 horas. A su paso por el hígado es metabolizado por la glucuronil-transferasa, para rendir glucurónido fenólico de AMF (GAMF), metabolito sin actividad

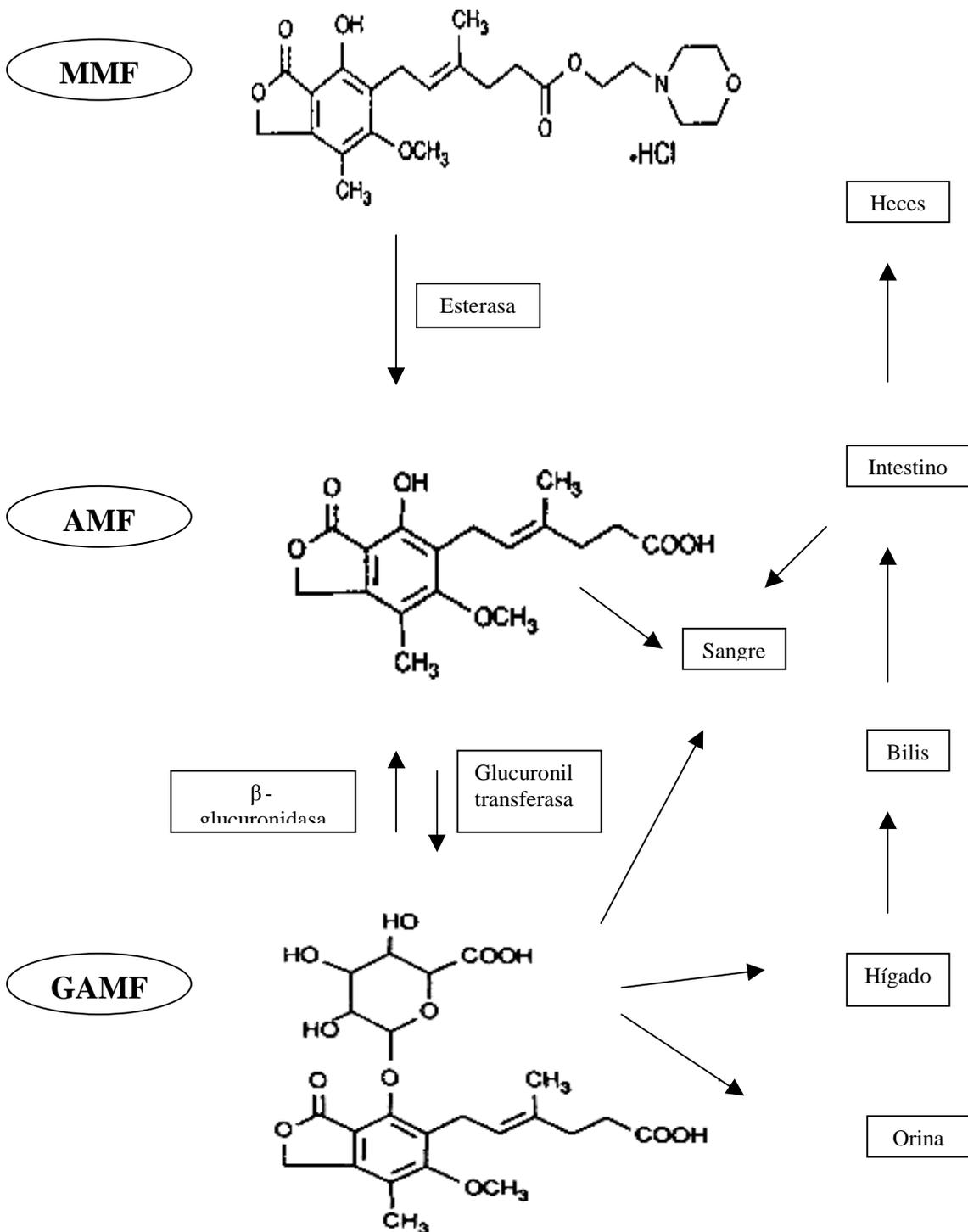
farmacológica que circula unido a albúmina. Una alta proporción de este producto se elimina vía biliar, alcanzando duodeno. Posiblemente esta circunstancia participe en los efectos adversos gastrointestinales, ya que en esta localización se encuentra a altas concentraciones. Recientemente se ha identificado un metabolito del AMF, el acil-glucurónido del AMF, que pudiera inducir algunos de los efectos tóxicos de la droga a través de la liberación de citoquinas proinflamatorias, como IL-6 y TNF- α . (Wieland et al, 2000). Este efecto no se ha observado con AMF ni con su glucurónido-fenólico.

En duodeno, las bacterias intestinales hidrolizan el GAMF condicionando una circulación enterohepática del AMF. Ello explica la variación intersujetos de la vida media del AMF, así como de la presencia de un segundo pico de concentración plasmática que habitualmente se detecta entre 6-12 horas tras la ingesta de MMF. La coadministración de colestiramina produce una reducción de AMF del orden del 40 %, lo que es identificativo de una circulación enterohepática importante.

El fármaco principalmente se elimina por vía renal (93 %), en forma de GAMF, empleando mecanismos de filtrado glomerular y secreción tubular. Una pequeña proporción del GAMF (6 %) se elimina sin hidrolizar por las heces (figura 2).

En caso de insuficiencia renal o función renal retardada del injerto, el aclaramiento de GAMF se ve reducido, si bien el hecho de que este metabolito carezca de efectos farmacológicos explica la ausencia de necesidad de ajuste de dosis. En cualquier caso, la falta de experiencia clínica con dosis elevadas de MMF aconseja evitar la administración de dosis diarias superiores a 3 gr.

Figura 2. Estructura del micofenolato mofetil (MMF), ácido micofenólico (AMF) y glucurónido fenólico del AMF (GAMF). Rutas de conversión, circulación enterohepática y excreción.



4.2.2. Metabolismo linfocitario de las purinas. Mecanismo de acción del ácido micofenólico.

La respuesta inmunológica que conlleva el rechazo del aloinjerto depende principalmente de la capacidad de proliferación linfocitaria. Las células proliferan por división mitótica, precisando para ello la síntesis de ADN, que precisa nucleótidos de purina y pirimidina.

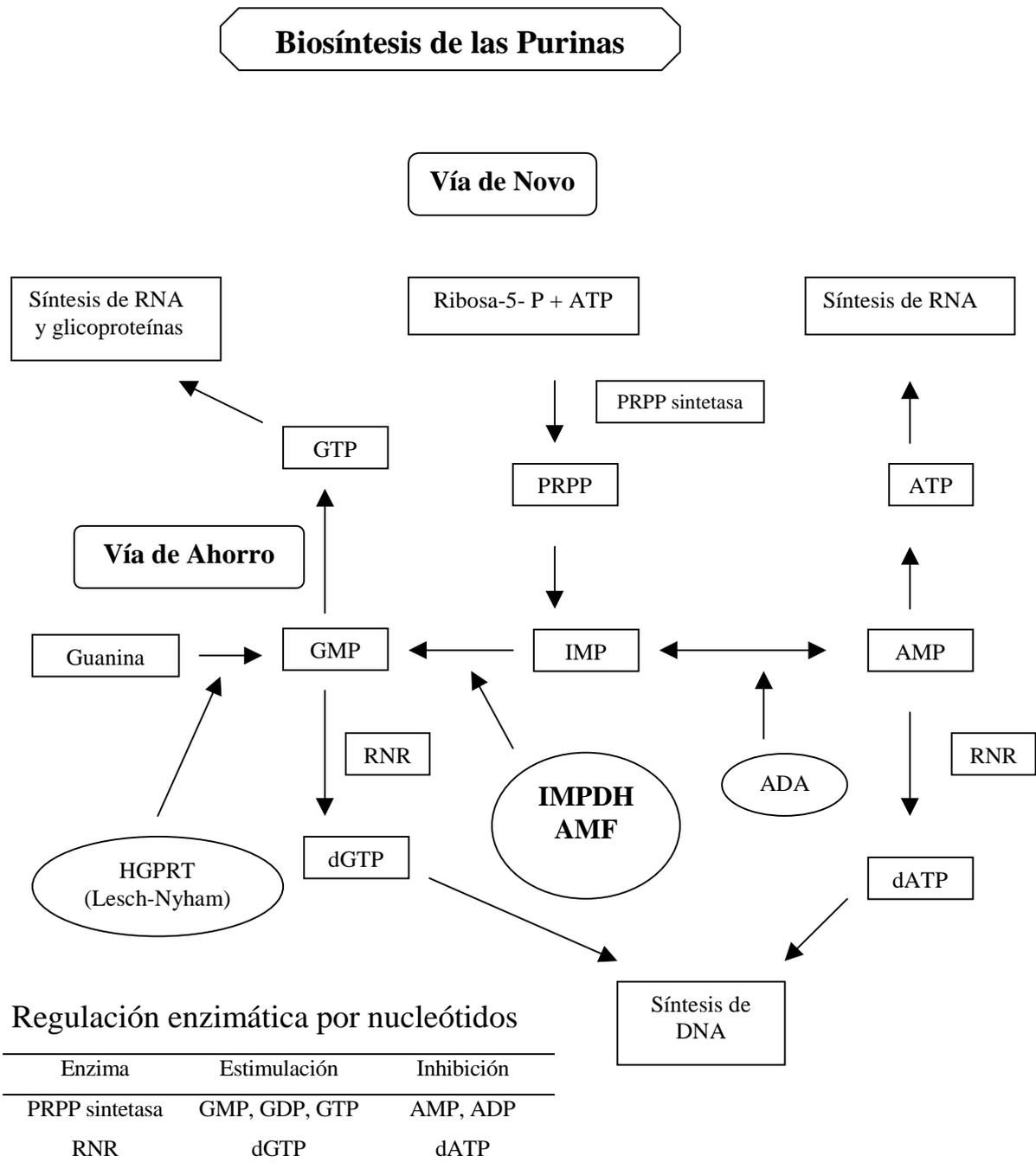
Las purinas (nucleótidos de adenosina y guanosina) se sintetizan a través de dos rutas metabólicas principales: la vía de novo y la vía de ahorro (figura 3). La vía de novo emplea moléculas más elementales, ribosa-5-fosfato y ATP, que ganando complejidad se transforman sucesivamente en fosforribosil pirofosfato (PRPP) e inosín-monofosfato (IMP). Éste a su vez puede originar adenosín monofosfato (AMP). Un paso metabólico clave es el catalizado por la enzima inosín-monofosfato deshidrogenasa (IMPDH), que transforma IMP en GMP, y subsecuentemente en el resto de los nucleótidos de guanosina (GDP, dGDP y dGTP) necesarios para la biosíntesis de DNA. Mientras que la mayoría de las células, como fibroblastos, células endoteliales y epitelio intestinal, emplean con eficiencia ambas vías para la biosíntesis de purinas, y las neuronas preferentemente la vía de ahorro, los monocitos, linfocitos T y B usan exclusivamente la vía de novo, por lo que un bloqueo de esta ruta metabólica provoca un efecto antiproliferativo selectivo sobre estas líneas celulares.

En linfocitos humanos es crucial la actividad de dos enzimas, fosforribosil-pirofosfato sintetasa (PRPP sintetasa) y ribonucleótido reductasa (RNR), reguladas alostéricamente por nucleótidos: la primera es inhibida por nucleótidos de adenosina (AMP y ADP) pero activada por los de guanosina (GMP, GDP, GTP) (García et al, 1977); mientras que la actividad catalítica de la segunda enzima se ve reducida tras su unión a ATP, e incrementada

tras fijar dGTP que reduce ADP. Por tanto, un exceso de nucleótidos de adenosina, y/ o depleción de nucleótidos de guanosina, puede reducir el “pool” de PRPP, y un exceso de dATP y/ o defecto de dGTP puede inhibir la actividad de la enzima ribonucleótido reductasa, reduciéndose los substratos precisos para la actividad de la DNA polimerasa. En otras palabras, para la proliferación linfocitaria en respuesta a estímulos antigénicos y mitogénicos son necesarios niveles adecuados de nucleótidos de guanosina y deoxi-guanosina, y un exceso de nucleótidos de adenosina o deoxi-adenosina condicionaría un efecto inhibitorio de la proliferación.

Debido a la importancia de los nucleótidos de guanosina y deoxi-guanosina en la activación de las enzimas PRPP sintetasa y RNR, respectivamente, fue postulado que la depleción de GMP (y por ende de GTP y dGTP) tras inhibición de la enzima IMPDH tendría efectos antiproliferativos.

Figura 3. Esquema de la Biosíntesis de las Purinas: Vía de novo y de ahorro. El ácido micofenólico (AMF) inhibe la enzima IMP deshidrogenasa, que provoca depleción de GMP, GTP y dGTP; fosforribosil-pirofosfato sintetasa (PRPP sintetasa), ribonucleótido reductasa (RNR).



De las posibles drogas con efecto inhibitorio selectivo de la IMPDH, en 1982 se diseñó el programa de desarrollo del ácido micofenólico (AMF), en lugar de otros como mizoribina, ribavirina o tiazofurina. Ello se debió a dos motivos principales que a priori le conferían un mejor perfil de seguridad a largo plazo: 1) no precisar fosforilación previa para producir tal inhibición, y 2) no tratarse de un análogo de nucleótidos, con los efectos negativos que ello pudiera comportar (alteraciones del DNA y de las enzimas reparadoras del mismo). El AMF es un potente inhibidor de la fase S del ciclo celular, a través de una inhibición selectiva, reversible y no competitiva de la enzima IMPDH. Esta enzima, que regula la vía de novo de la síntesis de los nucleótidos de guanosa, se expresa intracelularmente en dos isoformas: IMPDH tipo I o constitutiva, y tipo II o inducible. Ambas están constituidas por 514 aminoácidos, ofreciendo una homología del 84 %. La isoforma tipo I es expresada en la mayoría de las células, así como en linfocitos en fase de reposo; y la tipo II, presente en células leucémicas y tumorales de ovario, es predominante en linfocitos T y B activados. Esta última isoforma es cinco veces más sensible al efecto del AMF que la tipo I. La inhibición de esta enzima provoca depleción de IMP, y por ende, bloqueo y depleción intracelular de GMP y del resto de los nucleótidos de guanina (GTP, dGDP y dGTP). Ello interfiere la producción de los precursores necesarios para la síntesis de DNA y RNA durante la respuesta proliferativa de los linfocitos T y B. Este efecto antiproliferativo es revertido tras la adición al medio de GTP y dGTP.

La depleción de GTP por AMF bloquea la transferencia de fucosa y manosa a glicoproteínas, algunas de las cuales son moléculas de adhesión (selectinas, VCAM-1, VLA-4) que facilitan la unión entre leucocitos y células endoteliales-células diana. Por este mecanismo el AMF podría reducir

el reclutamiento de linfocitos y monocitos hacia zonas de inflamación, como el tejido sinovial en pacientes afectados de artritis reumatoide, y aloinjertos vascularizados en situación de rechazo, por lo que esta droga pudiera incluso bloquear el rechazo en curso. A través de este mismo mecanismo el AMF pudiera reducir las lesiones asociadas a fenómenos de isquemia-reperfusión en el aloinjerto (Paul et al, 1998b). En contra de lo comentado, el trabajo experimental de González N et al (2001) ha observado empeoramiento del fracaso renal agudo postisquémico de las ratas tratadas con MMF.

Por otra parte, el AMF es capaz de inhibir la formación específica de anticuerpos, así como la proliferación muscular de los vasos, de fibroblastos y células endoteliales, factores patogénicos asociados a la arteriopatía del rechazo crónico de aloinjertos (Foegh, 1990). Además, el AMF induce apoptosis en líneas celulares humanas linfoides y monocíticas, lo que puede promover efectos antiproliferativo y anti-inflamatorio (Cohn et al, 1999). Un efecto protector adicional asociado a AMF puede consistir en una menor tasa de apoptosis del epitelio tubular durante la primera semana del trasplante, y sin cambios en la proliferación de otras células renales (Pardo-Mindán et al, 1999). En la tabla 5 se resumen las acciones biológicas in vitro del AMF.

A diferencia de los inhibidores de la calcineurina, el AMF no parece inhibir la producción de citoquinas por linfocitos activados, y en particular la de IL-2 (Eugui et al, 1991; Chang et al, 1993), lo que sugiere que no interfiere las fases de activación precoz linfocitaria. Tampoco parece interferir la actividad quimiotáctica y bactericida de los neutrófilos, por cuanto que no los depleciona de GTP.

Tabla 5. Acciones biológicas in vitro asociadas a AMF.

- bloqueo de la síntesis de novo de las purinas por depleción intracelular de GTP y dGTP.
 - inhibición selectiva de la proliferación de linfocitos T y B.
 - inducción de apoptosis en líneas celulares linfocitarias y monocíticas.
 - inhibición de la proliferación muscular de los vasos.
 - inhibición de la síntesis específica de anticuerpos.
 - inhibición de la transferencia de manosa y fucosa a glicoproteínas.
-

Una observación experimental relevante es la señalada por Alfieri et al (1993) respecto al efecto inhibitorio del AMF sobre la proliferación de linfocitos B con infección reciente o establecida por el virus de Epstein-Barr. Si fuese extrapolable a humanos cabría esperar una menor incidencia de linfomas durante el tratamiento “protector” con AMF. Este efecto beneficioso probablemente estaría anulado en aquellos linfomas localizados en sistema nervioso central, ya primario ya metastásico, debido a que la droga no atraviesa la barrera hematoencefálica.

Blaheta et al (2000) han observado un efecto inhibitorio del MMF concentración-dependiente sobre la síntesis endotelial de prostaglandina E2 (PGE2), potente inmunosupresor endógeno capaz de interferir múltiples funciones de las células T. Desconocemos el papel que pueda jugar tal inhibición en el trasplante de órganos.

Estudios recientes sugieren que el AMF puede interferir la respuesta proliferativa de células T, no sólo inhibiendo la biosíntesis de purinas sino también la de pirimidinas. El mecanismo molecular podría explicarse a través del bloqueo que induce el AMF sobre la enzima aminofosforribosil-transferasa, que cataliza el primer paso de la biosíntesis de purinas. Esto

podría incrementar el pool de fosforribosil-pirofosfato, que estimularía la biosíntesis de UTP (Qiu et al, 2000).

4.3. Experiencia clínica con micofenolato mofetil en el trasplante renal. Indicaciones.

En los primeros estudios fase I en trasplantados renales tratados con MMF junto a ciclosporina y esteroides ya se ponía de manifiesto una menor frecuencia de rechazo agudo en los pacientes que recibieron dosis de MMF de 2 gr/ día o superior (17%), con un perfil de efectos adversos y complicaciones infecciosas comparables a los tratados con dosis menores (Sollinger et al, 1992). Otro hallazgo interesante consistió en los buenos resultados de la droga frente al rechazo agudo en curso y el refractario a anticuerpos antilinfocitarios (Sollinger et al, 1993), lo cual sugirió un nuevo mecanismo de acción de la droga a través de una menor expresión de moléculas de adhesión.

Posteriormente, ha sido en los tres amplios ensayos clínicos fase III, randomizados, multicéntricos, doble ciego a seis meses (tabla 6) donde se ha demostrado que el MMF en asociación con ciclosporina y prednisona condiciona una reducción significativa de la incidencia de rechazo agudo probado en biopsia en los primeros seis meses del trasplante renal. En el *Estudio Europeo* (European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group, 1995), en el que se enrolaron 491 pacientes, la frecuencia de rechazo agudo fue del 17,0 % , 13,8 % y 46,4 % para los pacientes tratados con 2 gr/ día de MMF, 3 gr/ día de MMF y placebo, respectivamente. En el *Estudio Americano* (Sollinger for the US Renal Transplant Mycophenolate Mofetil

Study Group, 1995), donde participaron 499 pacientes, la frecuencia de rechazo agudo fue del 47,6 % en el grupo control azatioprina, frente al 31,1 % y 31,3 % en aquellos que recibieron MMF a dosis de 2 y 3 gr/ día, respectivamente. Los resultados del *Estudio Tricontinental* (Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group, 1996), realizado sobre 503 pacientes, son superponibles a los ya expresados, con una incidencia de rechazo agudo en los grupos tratados con 2 y 3 gr/ día de MMF del 19,7 % y 15,9 %, respectivamente, frente al 35,5 % en el grupo azatioprina. A raíz de tales ensayos la dosis terapéutica de MMF en el trasplante renal se ha establecido entre 2-3 gr/ día. En nuestro centro con la terapia prednisona + CyA + MMF, empleando dosis de esta última entre 1-2 gr/ día la incidencia de rechazo agudo se ha rebajado al 13,2 % (Bravo, datos no publicados).

Tabla 6. Resumen del tratamiento inmunosupresor en los tres ensayos clínicos multicéntricos, randomizados, doble ciego a seis meses.

	USA	Tricontinental	Europeo
Régimen MMF	2 gr/ día: 1 gr cada 12 horas vo 3 gr/ día: 1,5 gr cada 12 horas vo		
Régimen Control	AZA 1-2 mg/ Kg/ día	AZA 100-150 mg/ día	Placebo
Inducción ATG	Si	No	No
IS concomitante	ciclosporina A y esteroides		

El análisis de los tres ensayos durante un año de seguimiento (Halloran et al, 1997), con un total de 1493 pacientes, ha puesto nuevamente de manifiesto la menor frecuencia de rechazo agudo en el grupo tratado con MMF (3 gr 16,5 %; 2 gr 19,8%) frente al grupo placebo/ azatioprina (40,8 %), observando además mejor función renal en los grupos tratados con MMF

en los meses 3º, 6º y 12º. La supervivencia del injerto fue del 89,2 % y 90,4 % en los pacientes tratados con 2 y 3 gr/ día de MMF, respectivamente, que comparada con la del 87,6 % en grupo placebo/ azatioprina no resultó diferente.

No obstante, tales beneficios terapéuticos con MMF se han acompañado de efectos adversos, más usuales en aquellos tratados con 3 gr/ día, y con frecuencia mitigados reduciendo o espaciando dosis. Se trató principalmente de problemas digestivos (diarrea, dolor abdominal, náuseas, vómito), hematológicos (anemia, leucopenia, trombopenia) e infecciones oportunistas (en particular por citomegalovirus, CMV). En la tabla 7 se recoge de forma resumida la incidencia acumulada de los principales efectos adversos registrados en el *Estudio Europeo* durante tres años seguimiento, diferenciados en tres periodos: hasta el mes 6º, año 1º y 3º (European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group, 1999). El apartado infección por CMV de la tabla incluye viremia, síndrome y enfermedad invasiva por citomegalovirus. La incidencia de enfermedad citomegálica invasiva fue superior en el grupo MMF 3 gr (6,9 %) respecto al grupo MMF 2 gr (3,0 %) y grupo placebo (2,4 %).

Del análisis pormenorizado de los efectos no deseados, se puede comprobar que los trasplantados tratados con 2 gr/ día de MMF en el 2º y 3º año de seguimiento registraron una incidencia acumulada de complicaciones gastrointestinales del 14,7 % (incluyendo diarrea 7,3 %, dolor abdominal 3,7 %, náuseas 1,9 % y vómitos 1,8 %), leucopenia en el 1,8 %, anemia en el 2,5 % y trombopenia en el 1,3 %. No se informó ningún caso de infección por citomegalovirus ni herpes simple. La patología tumoral maligna a tres años se distribuyó de la manera siguiente: 5, 3 y 2 casos en los grupos placebo, 2 y 3 gr/ día de micofenolato mofetil, respectivamente.

Tabla 7. Estudio Europeo. Efectos adversos e infecciones oportunistas. Incidencia acumulada en el mes 6º, año 1º y 3º de seguimiento.

	Placebo (n= 166)	MMF 2 gr (n= 165)	MMF 3 gr (n= 160)
	A / B / C	A / B / C	A / B / C
Diarrea (%)	12,7 / 13,9 / ND	12,7 / 13,9 / 21,2	15,6 / 16,9 / 26,3
Dolor abdominal (%)	10,8 / 11,4 / ND	11,5 / 12,1 / 15,8	11,3 / 11,9 / 14,4
Nauseas (%)	2,4 / 2,4 / ND	4,2 / 4,8 / 6,7	6,3 / 7,5 / 9,4
Vómito (%)	1,2 / 1,8 / ND	2,4 / 2,4 / 4,2	3, / 4,4 / 6,3
Leucopenia (%)	4,2 / 4,2 / ND	10,9 / 12,1 / 13,9	13,8 / 16,3 / 20,0
Anemia (%)	1,8 / 2,4 / ND	4,2 / 4,8 / 7,3	6,8 / 8,1 / 15,0
Trombopenia (%)	4,8 / 4,8 / ND	4,2 / 4,8 / 6,1	3,1 / 4,4 / 5,6
Infección CMV (%)	15,7 / 15,7 / ND	18,8 / 18,8 / 18,8	21,9 / 22,5 / 23,7
Infección herpes simple (%)	6 / 6,0 / ND	14,5 / 15,2 / 15,2	11,3 / 11,9 / 14,4
Infección herpes zoster (%)	1,8 / 2,4 / ND	6,7 / 6,7 / 8,5	5 / 6,3 / 8,1

ND: no disponible; A, B y C corresponden al mes 6º, año 1º y 3º de seguimiento, respectivamente.

En el *Estudio Americano* los efectos adversos más frecuentes fueron anemia, hipertensión y diarrea. Por grupos, cada paciente al menos sufrió un efecto adverso en el 97,6 % para el grupo azatioprina, en el 98,2 % para el grupo MMF 2 gr, y en el 98,8 % para el grupo MMF 3 gr. La incidencia de anemia e hipertensión resultó semejante en los tres grupos (rangos entre 35,8-38,6 % y 30,3-32,3 % para anemia e hipertensión, respectivamente). La diarrea fue más frecuente en los grupos tratados con MMF (azatioprina 23,8 %; MMF 2 gr 31,5 %; MMF 3 gr 37,3 %). Si bien fueron numerosos los efectos adversos, muy pocos de ellos provocaron la retirada de la droga, y fue la leucopenia y sepsis las principales causas de salida del estudio, con una frecuencia semejante por grupos. La incidencia de infección citomegálica invasiva resultó superior en el grupo MMF 3 gr (10,8 %) y MMF 2 gr (9,1 %) respecto al grupo azatioprina (6,1 %).

En el *Estudio Tricontinental* a tres años (Mathew for the Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group, 1998), en términos globales, se pone nuevamente de manifiesto la mayor incidencia acumulada de complicaciones gastrointestinales, hematológicas e infecciosas asociadas al empleo de micofenolato mofetil, con efecto dosis-dependiente, que probablemente refleje sobreinmunosupresión (tabla 8). Se diagnosticaron 1 (0,6 %), 2 (1,2 %) y 3 casos (1,8 %) de trastornos linfoproliferativos en los grupos Aza, 2 y 3 gr/ día de MMF, respectivamente, mientras que otras malignidades fueron descritas en 6 (3,7 %), 4 (2,3 %) y 9 (5,5 %) ocasiones, respectivamente. La incidencia acumulada de efectos adversos no se incrementó sustancialmente al tercer año respecto al 1° de seguimiento.

Tabla 8. Estudio Tricontinental. Efectos adversos e infecciones oportunistas. Incidencia acumulada al 3° año de seguimiento.

	Aza (n= 162)	MMF 2 gr (n= 171)	MMF 3 gr (n= 164)
Diarrea (%)	19,8	35,1	38,4
Dolor abdominal (%)	25,9	29,8	34,1
Nauseas (%)	21,6	19,3	24,4
Vómito (%)	7,4	16,4	19,5
Leucopenia (%)	30,9	19,9	37,8
Anemia (%)	9,3	15,8	11,6
Trombopenia (%)	12,3	8,8	6,1
Infección CMV (%)	19,1	19,9	24,4
Infección herpes simple (%)	24,1	22,2	26,8
Infección herpes zoster (%)	9,3	8,2	12,8

Moreso et al (1998) ha señalado el potente efecto inmunosupresor que se consigue al combinar MMF junto a CyA y prednisona, así como aspectos diferenciales respecto a la inmunosupresión acompañante y el riesgo de enfermedad citomegálica durante seis meses tras el trasplante. En el grupo tratado con 3 gr/ día de MMF asociado a bajas dosis de CyA y prednisona

(grupo D, n= 15) observó una frecuencia de leucopenia semejante respecto al grupo que recibió la misma dosis de MMF (grupo C, n= 28) con dosis plena de CyA y esteroides (39,3 % versus 40 %), si bien la incidencia de enfermedad citomegálica resultó superior en el grupo C respecto al D (35,7 % versus 6,7 %, $p < 0,01$).

En el periodo 1995/ 2000 se evaluaron en nuestro centro 274 trasplantados, registrando una incidencia de infección y enfermedad citomegálica del 33,6 y 15 %, respectivamente. Independientemente de la terapia inmunosupresora asociada, en el grupo tratado con MMF tales incidencias fueron del 18,6 y 9,8 %, respectivamente, frente al 15,0 y 5,1 % en el grupo no tratado (Bravo, datos no publicados).

Fritsche et al (1998) introdujeron MMF en 44 trasplantados renales que llevaban $5,8 \pm 4,8$ años de evolución, y sufrían deterioro progresivo del filtrado glomerular. Antes de iniciar la nueva terapia inmunosupresora, 32 de ellos estaban tomando azatioprina, que se retiró. La medicación concomitante consistió en prednisona (n= 38), ciclosporina A (n= 38) y tacrolimus (n= 2). La dosis inicial de MMF fue de 29 ± 5 mg/ Kg/ día, y durante el seguimiento ($10,1 \pm 4,9$ meses) se redujo a 26 ± 6 mg/ Kg/ día. En 10 pacientes hubo que reducirla en 17 ocasiones por problemas gastrointestinales. Se registró al menos un efecto adverso en el 56,8 % de la muestra, objetivándose 33 efectos adversos en 25 pacientes, la mayoría gastrointestinales. Dicha medicación se suspendió en 8 trasplantados (18 %): cuatro por intolerancia digestiva, uno por leucopenia, uno por anemia y dos por fracaso del injerto. Tras la conversión no se registraron cambios significativos de las enzimas hepáticas.

Puig et al (1999) han evaluado los factores de riesgo que influyen sobre la severidad de los efectos adversos asociados a MMF en combinación con prednisona y CyA, en 96 trasplantados renales tras seis meses de tratamiento. La dosificación del nuevo fármaco se estableció según el peso corporal del paciente: < 55 Kg 1,5 gr/ día; 55-80 Kg 2 gr/ día; > 80 Kg 2,5 gr/ día. En 40 de ellos se introdujo MMF en el postrasplante inmediato, en 37 al menos tras 6 meses del trasplante por sospecha de rechazo crónico, y en los 19 restantes por posible nefrotoxicidad asociada a CyA, confirmada en biopsia en nueve de ellos. En 33 pacientes (32,3 %) se registraron uno o más efectos adversos. La complicación más frecuente fue la debilidad (20,8 %), seguido de infección (19,7 %), diarrea y leucopenia (15,6 %, respectivamente), y anemia (10,4 %). Debilidad y diarrea se presentaron con mayor frecuencia en la población femenina, en aquellos con valores de creatinina sérica superiores, y en quienes se introdujo la droga tardíamente respecto al momento del trasplante. A pesar de reducir dosis hubo que suspender la droga en el 11,5 % del total de pacientes: en el 5,2 % (5/96) por debilidad severa, en el 4,2 % (4/96) por diarrea intratable, y en el 2,1 % (2/96) por anemia. La anemia y moderada leucopenia se resolvió reduciendo temporalmente la dosis. Los episodios infecciosos fueron más frecuentes en los trasplantados de mayor edad, acumulándose la frecuencia viral en la fase de inducción, y la etiología bacteriana en aquellos que se administró tardíamente.

Agraz et al (1999) evaluaron los efectos adversos asociados a MMF en dieciocho trasplantados renales con injertos procedentes de donantes cuyas edades se comprendieron entre 60-87 años. El tiempo medio desde el trasplante hasta la introducción del nuevo fármaco fue de $14 \pm 9,6$ meses, con función renal estable si bien deteriorada (CrS superior a $180 \mu\text{mol/ L}$). El

régimen inmunosupresor previo consistió en CyA y prednisona. La nueva droga se introdujo a dosis de 1 gr/ día, incrementada hasta 2 gr/ día, y con reducción progresiva de la dosis de CyA hasta su retirada cuando fue posible, o bien, si la nueva droga no se toleró hasta conseguir niveles entre 75-100 ng/ml. Durante el seguimiento ($10,33 \pm 4,27$ meses) ningún paciente presentó episodio de rechazo agudo, nefrotoxicidad ni hepatotoxicidad. Once de ellos (61 %) sufrieron alguna complicación: seis reducción de la serie roja, uno leucopenia, cinco síntomas digestivos, dos anemia y síntomas digestivos, y dos herpes zoster. No hubo ningún caso de enfermedad citomegálica. La medicación fue suspendida en seis de estos 11 trasplantados (33,3 % del total): dos por intolerancia digestiva, dos por anemia refractaria a reducción de dosis, uno por infección severa por herpes zoster y uno por éxitus. En los cinco restantes la reducción de dosis de MMF (1 gr/ día) con introducción de CyA hizo remitir la situación clínica y/ o analítica hacia la normalidad.

A tenor de los buenos resultados para la prevención del rechazo agudo en el trasplante renal, con un perfil de efectos adversos considerado aceptable, el MMF ha ganado posiciones como inmunosupresor ampliando las indicaciones ya sugeridas por Allison et al (1993b) en el trasplante renal, así como en el tratamiento de otros aloinjertos y enfermedades de base inmunológica (tabla 9). En este nuevo posicionamiento del MMF en la inmunosupresión del trasplante posiblemente también hayan contribuido aspectos puramente económicos. El análisis basado sobre los resultados de los tres ensayos clínicos fase III a seis meses comparando MMF con placebo y azatioprina, pone de manifiesto que el protocolo profiláctico que empleó MMF generó una reducción del costo entre el 19 y 38 %. Esta reducción estuvo asociada a menor frecuencia de rechazo agudo, menor número de

nefrectomías y de sesiones de hemodiálisis, y menor tiempo de hospitalización (Louis-Touizer et al, 1996).

Tabla 9. Indicaciones de micofenolato mofetil.

A. En el trasplante renal.

1. Regímenes de inmunosupresión (IS) para la prevención y tratamiento del rechazo agudo.
 2. Regímenes de IS para la prevención y tratamiento del rechazo crónico (Weir et al, 1997; Campistol et al, 1999; González et al, 2001).
 3. Regímenes de IS con reducción/ retirada de esteroides (Steroid withdrawal Study Group, 1999).
 4. Regímenes de IS con reducción/ retirada de inhibidores de calcineurina (Grinyó, 1999).
 5. Regímenes de IS del injerto subóptimo (Agraz et al, 1999; Theodorakis et al, 2000).
-

B. Otras indicaciones.

1. Otros trasplantes:
 - corazón (Seebacher et al, 1999),
 - pulmón (Zuckermann et al, 1998),
 - hígado (Platz et al, 1998),
 - riñón-páncreas (Reddy et al, 2000),
 - médula ósea (Yu et al, 1998).
 2. Enfermedades autoinmunes:
 - lupus eritematoso sistémico y nefropatía lúpica (Gaubitz et al, 1999),
 - artritis reumatoide (Goldblum, 1993),
 - psoriasis (Epinette et al, 1987); pénfigo (Grundmann-Kollmann et al, 1999).
 - enfermedad intestinal inflamatoria (Neurath et al, 1999);
 3. Glomerulonefritis (Briggs et al, 1998).
 4. Vasculitis (Nowack et al, 1999).
-

La siguiente inquietud con MMF ha sido la de valorar el comportamiento de esta droga respecto a la evolución de la función renal del injerto a largo plazo, y principalmente en aquel grupo de trasplantados con injertos afectados de *nefropatía crónica*, ya que cada año se pierden entre el 4 y 6 % de los injertos por esta condición. La supervivencia del injerto en los tres

primeros años del trasplante no parecen estar condicionada por la nefropatía crónica, si bien su supervivencia se ve reducida (Serón et al, 1997). Los protocolos de biopsias de injerto renal seriadas han estimado incidencias de nefropatía crónica en torno al 42 % tras tres meses del trasplante (Serón et al, 1997), del 20 y 39 % tras seis meses (Rush et al, 1995; Dimény et al, 1995), y del 64 % tras 24 meses (Isoniemi et al, 1992). Las aproximaciones histopatológicas para establecer la frecuencia de esta entidad son de gran valía, si bien en muchas ocasiones solamente expresan situaciones clínicas ya anunciadas, que cursan con valores de creatinina sérica elevada y proteinuria. Otras veces, por el contrario, son un verdadero escollo, y nos encontramos con valores de creatinina sérica próximos a la normalidad asociados a datos histológicos de cronicidad (Isoniemi et al, 1992).

La alorreactividad a antígenos del donante es considerada el primer factor de riesgo de nefropatía crónica. Sin embargo, otros factores contribuyen claramente al desarrollo de esta condición, como la edad del donante, el tiempo de isquemia fría y la exposición a ciclosporina A (tabla 10, modificada de Serón et al, en impresión). Con ello queda patente la contribución en la patogenia de la nefropatía crónica del trasplante de las lesiones preexistentes, las lesiones por fenómenos de isquemia-reperfusión y la nefrotoxicidad asociada a ciclosporina.

Tabla 10. Predictores independientes de nefropatía crónica del trasplante. Modificado de Serón et al (en impresión).

	Riesgo Relativo	IC al 95%
Edad del donante	1,02	1,01 - 1,05
Tiempo de isquemia fría	1,05	1,01 - 1,10
Rechazo agudo	2,29	1,14 - 4,62
Exposición a CyA	1,006	1,002 - 1,010

Por otra parte, para prevenir o reducir el riesgo de nefropatía crónica del injerto se están desarrollando nuevos protocolos que continúen suministrando una adecuada inmunosupresión, de forma que prevengan o atenúen la alorreactividad pero con mínimo riesgo de nefrotoxicidad. A tal efecto se han diseñado diversas estrategias que emplean *inmunosupresores libres de nefrotoxicidad*, como rapamicina o micofenolato mofetil, junto a dosis reducidas de agentes anticalcineurínicos, con la finalidad de minimizar sus efectos nefrotóxicos dosis-dependiente. Tales regímenes que reducen el riesgo de nefrotoxicidad por drogas pudieran rebajar tanto la incidencia de los episodios de rechazo agudo como el riesgo de nefropatía crónica (Grinyó, 1999). Estas nuevas aproximaciones, además de incrementar el nivel de inmunosupresión en comparación con la terapia clásica, modifican la calidad de la misma.

Grinyó (1999) ha esbozado algunas alternativas respecto a la inmunosupresión de mantenimiento para el mejor manejo clínico del trasplante renal en general, y especialmente de la nefropatía crónica del trasplante. Finalmente insiste como la más prometedora para evitar y revertir la disfunción del injerto en aquella que asocia MMF con bajas dosis de CyA, sin desdeñar otra estrategia más radical, vanguardista y arriesgada como es la monoterapia con MMF, en la filosofía de emplear una inmunosupresión libre de nefrotoxicidad y efecto aterogénico (Keunecke et al, 2000). Respecto a la primera, la experiencia de Grinyó en 24 trasplantados con función renal normal, donde redujo progresivamente la dosis de ciclosporina hasta 2 mg/Kg/ día al 5º año de trasplante para conseguir niveles entre 50-100 ng/ml, es muy esperanzadora ya que no observó elevación de la creatinina sérica ni descenso de su aclaramiento. Además, no se incrementó la proteinuria, sugiriendo que en esta población dicha terapia no causó nefropatía crónica.

A continuación comentaremos algunos de los trabajos más relevantes donde se ha evidenciado el efecto beneficioso del régimen de mantenimiento que incluye MMF sobre la función renal del trasplante renal así como de otros trasplantes.

Han sido interesantes los resultados preliminares de Mazuecos et al (1997) en once trasplantados renales con disfunción crónica: tratados con MMF (2 gr/ día) durante seis meses junto a la terapia previa consistente en prednisona y CyA, observaron que la pendiente de la inversa de la CrS ($1/\text{CrS}$) al 6º mes mejoró significativamente respecto a los seis meses antes del tratamiento (preMMF: $-0,0744$ vs postMMF: $+0,0194$; $p < 0,01$), lo que sugiere que esta droga puede servir para mejorar la función renal del injerto con disfunción crónica. Esto se produjo sin cambios en la dosificación de CyA ni de la proteinuria.

Esperanzadores resultados han publicado Weir et al (1997): introdujeron MMF en 28 trasplantados renales con deterioro progresivo de la función renal, a la vez que reducían la dosis de CyA a la mitad (en una media de $24,3 \pm 7,7$ meses tras el trasplante; tabla 11). Azatioprina fue retirada en estos pacientes. No hubo ningún episodio de rechazo agudo, y además se revirtió la evolución deletérea de la función renal en la mayoría de los pacientes: descendió la creatinina sérica en 21 de los 28 pacientes evaluados. La pendiente mensual de la $1/\text{CrS}$ cambió de negativa a positiva, lo que indicó que los cambios terapéuticos redundaron en una mejora de la función renal.

Tabla 11. Evolución de la dosis de CyA y MMF, y de la pendiente de la 1/ CrS. Estudio de Weir et al (1997).

	preMMF	postMMF	p
Dosis CyA (mg/ Kg/ día)	3,2 ± 1,1	1,6 ± 0,9	< 0,001
Pendiente de 1/ CrS (mg/ dl) ⁻¹ / mes	-0,006 ± 0,002	+0,007 ± 0,003	< 0,001
Dosis de MMF (mg/ día)	0	1.779 ± 71	

Hueso et al (1998) evaluaron 16 trasplantados de más de un año de evolución en tratamiento previo con esteroides y CyA, y deterioro moderado de la función renal. Tras la introducción de MMF (2 gr/ día) la dosis de ciclosporina se redujo progresivamente hasta conseguir en un mes niveles entre 40-60 ng/ mL. No hubo ningún caso de rechazo agudo durante los seis meses de seguimiento. Sin embargo, la reducción de la dosis media de CyA se asoció con una mejoría significativa de la función renal, reflejada a través del descenso de la CrS e incremento del filtrado glomerular (FG) (tabla 12). Además, mejoró la tensión arterial diastólica (p= 0,04), mientras que la proteinuria permaneció estable. Los niveles de TGF-β1 en plasma descendieron de forma significativa una vez reducida la dosis de CyA, observando asociación entre niveles de CyA vs TGF-β1 (r= 0,536; p= 0,0016). De esta forma, tanto el efecto presor como el fibrogénico de la CyA puede ser atenuado reduciendo dosis. Por otra parte, el propio MMF ha demostrado reducir la expresión de TGF-β en modelos experimentales (Nadeau et al, 1996), por lo que esta droga puede también haber contribuido a la reducción de los niveles de TGF-β observados en estos pacientes.

Tabla 12. Evolución de la dosis y nivel valle de CyA, de la CrS y FG. Estudio de Hueso et al (1998).

	preMMF	postMMF	p
Dosis de CyA (mg/ Kg/ día)	3,8 ± 1,4	2,2 ± 0,7	< 0,01
Nivel valle de CyA (ng/ mL)	148 ± 36	53 ± 19	< 0,001
CrS (µmol/ L)	210 ± 46	172 ± 41	< 0,001
FG (mL/ min/ 1,73 m ²)	33 ± 12	39 ± 14	< 0,02

Semejantes beneficios sobre la función renal han informado Fritsche et al (1998) en Alemania. Introdujeron MMF en 44 trasplantados tratados con CyA, con deterioro progresivo del filtrado glomerular ($5,8 \pm 4,8$ años de trasplante). Los niveles valle medios de CyA antes y tras la adición de MMF fueron 140 ± 33 y 124 ± 30 ng/ ml ($p= 0,01$). La reducción de la dosis de CyA y adición de MMF enlenteció la tasa de deterioro de la función renal: el descenso del filtrado glomerular durante los seis meses previos a las modificaciones terapéuticas fue de $2,3 \pm 3,6$ mL/ minuto/ mes, mientras que tras los cambios establecidos tal deterioro se situó en $0,27 \pm 2,3$ mL/ minuto/ mes ($p= 0,008$). La proteinuria no varió con el nuevo tratamiento (preMMF: $1,2 \pm 2,7$ gr/ día vs postMMF: $1,1 \pm 2,1$ gr/ día).

Asimismo, Islam et al (1998) iniciaron tratamiento con MMF en 35 trasplantados cuya CrS se había incrementado más de un 20 % respecto a la basal. Al mismo tiempo, redujeron progresivamente la dosis de CyA de $4,12 \pm 1,77$ a $2,52 \pm 1,21$ mg/ kg/ día en un seguimiento medio de 15 meses ($p < 0,01$). Otra vez más, la función renal mejoró: la CrS descendió de $3,14 \pm 1,0$ a $2,57 \pm 0,82$ mg/ dL ($p < 0,01$).

Agraz et al (1999) también han observado una reducción progresiva de la CrS media tras la introducción de MMF y reducción de la dosis de CyA (tabla 13), sin detectar episodio de rechazo agudo alguno durante el seguimiento.

Tabla 13. Evolución de la CrS tras la introducción de MMF y reducción de la dosis de CyA. Estudio de Agraz et al (1999).

	mes 0	mes 3º	mes 6º	mes 9º	mes 12º
CrS ($\mu\text{mol/L}$)	265,4 \pm 79,1	208,3 \pm 63,6	216,4 \pm 65,8	193,4 \pm 61,1	172 \pm 31,1
n	18	18	17	14	7

En todos los instantes $p < 0,05$ respecto al basal.

Pudiera resultar atrevido el trabajo de Zanker et al (1998), quienes transformaron la monoterapia con CyA en monoterapia con MMF en 13 trasplantados renales estables. Durante cuatro semanas se introdujo MMF (2 gr/ día) junto a CyA hasta conseguir niveles de ácido micofenólico en sangre entre 2 y 6 $\mu\text{g/mL}$. Posteriormente, la ciclosporina fue retirada gradualmente, con reducción semanal de 25 mg. Este grupo de pacientes no recibió ninguna inmunosupresión adicional. Durante el seguimiento (46-501 días) la función renal mejoró en todos los pacientes tratados con MMF: la CrS media se vio reducida en torno al 20 % respecto a la observada durante la monoterapia con CyA.

Campistol et al (1999) evaluó durante 6 meses a 31 trasplantados renales con diagnóstico de rechazo crónico adicionando MMF (2 gr/ día) a la inmunosupresión previa (prednisona y CyA). Objetivó descenso de la CrS en 19 (61 %), sin cambios en 4 (13 %), e incremento en 8 (26 %). La CrS media vio una reducción no significativa (basal: 2,75 \pm 0,92 vs mes 6º: 2,59 \pm 0,75

mg/ dl). Sin embargo, sí constató un cambio significativo, de negativo a positivo, de la pendiente mensual media de la $1/\text{CrS}$ cuando se introdujo el nuevo fármaco. Concurrió una reducción significativa de la dosis media de CyA (basal: $2,80 \pm 1,13$ vs mes 6º: $2,61 \pm 1,15$ mg/ Kg/ día; $p < 0,001$) y del nivel valle medio (143 ± 55 vs 120 ± 51 ng/ mL; $p < 0,01$), ambos no propuestos en el diseño. El rango de proteinuria no varió con el nuevo fármaco ($1,4 \pm 1,7$ vs $1,5 \pm 1,8$ gr/ día).

De gran valor son los resultados procedentes del Estudio Multicéntrico Español sobre la nefropatía crónica del trasplante tratada con MMF (González et al, 2001): se evaluaron 122 pacientes afectados de nefropatía crónica establecida con biopsia, 61 previamente tratados con CyA y prednisona a los que se añadió MMF (2 gr/ día), y 61 con CyA, prednisona y azatioprina, esta última sustituida por MMF (2 gr/ día). El seguimiento mediano fue de 18 meses (13-36 meses). Se comparó la pendiente de la $1/\text{CrS}$ tres años antes de la introducción de MMF y al final del seguimiento, observando ligera mejoría de la función renal (3 años preMMF: $-0,0002$ vs postMMF: $-0,000007$; $p < 0,001$). En aquellos tratados previamente con azatioprina también se objetivó el cambio previo (preMMF: $-0,002$ vs postMMF: $-0,000041$; $p < 0,001$), así como en el subgrupo donde no hubo diferencias del nivel valle de CyA en los instantes 0 y 365 días ($n = 65$; preMMF: $-0,002$ vs postMMF: $-0,00002$; $p < 0,001$). No detectaron variación en los valores de colesterol total y proteinuria. Concluyen con que la adición de MMF permite enlentecer la progresión de la insuficiencia renal en pacientes con nefropatía crónica, independientemente de los niveles de CyA.

Este efecto beneficioso de MMF sobre la función renal también se ha puesto de manifiesto en trasplantados cardíacos con nefropatía progresiva ($\text{CrS} > 250 \mu\text{mol/ L}$; Dureau et al, 2000): la sustitución de CyA por MMF ($n= 8$) condicionó una mejoría de la función renal, con cambio de la pendiente media mensual de la $1/ \text{CrS}$ tras la introducción de la nueva droga (mes 12° preMMF: $-0,000056$ vs mes 12° postMMF: $+0,00007$; $p < 0,01$).

Otras expectativas creadas en torno a MMF en el trasplante se concentran en la posibilidad de prolongar la supervivencia de pacientes e injertos a través de la reducción de factores de riesgo cardiovascular (Aakhus et al, 1999; Quaschnig et al, 1999).

Keunecke et al (2000) cambió en 46 trasplantados renales la monoterapia con un inhibidor de la calcineurina por monoterapia con MMF (2 gr/ día, niveles valle de AMF entre 2-6 $\mu\text{gr/ mL}$) en un grupo seleccionado libre de esteroides, con la finalidad de reducir el factor nefrotóxico y aterogénico. Tres meses tras la conversión ($n= 38$) observó descenso de la CrS ($1,90 \pm 0,64$ vs $1,74 \pm 0,57 \text{ mg/ dL}$; $p= 0,006$), con reducción del colesterol total (223 ± 44 vs $199 \pm 37 \text{ mg/ dL}$; $p < 0,001$), triglicéridos (182 ± 75 vs $157 \pm 83 \text{ mg/ dL}$; $p < 0,002$) y de la tensión arterial sistólica (142 ± 12 vs $130 \pm 13 \text{ mmHg}$; $p < 0,001$) y diastólica (86 ± 7 vs $79 \pm 8 \text{ mmHg}$; $p < 0,001$). La conversión fracasó en 8 pacientes, 5 de ellos por rechazo agudo cortico-sensible restaurando el agente anticalcineurínico, 2 por intolerancia al nuevo fármaco, y uno por decisión propia.

Schrama et al (2000) estudió en un grupo de trasplantados renales con función renal estable ($n= 17$) la conversión a MMF (2 gr/ día) con retirada progresiva de CyA en etapas (reducción a un tercio de la dosis a las 20

semanas de la introducción de MMF, y retirada a las 40 semanas), manteniendo la misma dosis de esteroides. Dos de ellos salieron del protocolo en la fase de dosis baja de ciclosporina por rechazo agudo y diarrea, respectivamente. El resto (n= 15) completó la conversión sin incidencias, observando tras la retirada de ciclosporina una reducción del colesterol total ($6,29 \pm 1,11$ vs $5,75 \pm 0,97$ mmol/ L; $p < 0,01$), descenso de la creatinina sérica (130 ± 20 vs 114 ± 24 μ mol/ L; $p < 0,01$), incremento de su aclaramiento (66 ± 11 vs 80 ± 17 ml/ min; $p < 0,01$), y reducción de la tensión arterial sistólica y diastólica ($p < 0,01$). El descenso de los triglicéridos, en torno al 15 % tras la retirada de ciclosporina, no llegó a la significación.

5. Monitorización de la terapia inmunosupresora en el trasplante renal.

A pesar del mejor conocimiento de los mecanismos implicados en la alorrespuesta y de la introducción de nuevos agentes en los protocolos de inmunosupresión en el trasplante renal, poco se ha avanzado sobre la individualización de la dosis y de las drogas inmunosupresoras (Danovitch, 1999). Parece razonable pensar que no todos los trasplantados requieren lo mismo. Antes del contar con ciclosporina A ya se habían cosechado éxitos de supervivencia prolongada en trasplantados renales, si bien para incrementarla del 50 % al 85 % hubo que tratar a todos los pacientes con esta droga. De forma semejante, para reducir la frecuencia de rechazo agudo del 50 al 25 % la gran mayoría de los pacientes reciben MMF. Desafortunadamente no podemos predecir qué pacientes perderán sus injertos sin CyA o cuáles sufrirán rechazo agudo sin MMF.

La dosificación individualizada de las drogas inmunosupresoras también es un escollo, ya que aunque es crucial para la prevención de parte de la morbi-mortalidad asociada al trasplante, como son las infecciones oportunistas, rechazo agudo, nefropatía crónica del injerto y patología neoplásica, son múltiples las pruebas propuestas para realizarla debido a que ninguna satisface plenamente las necesidades. A tales pruebas se les exige que sean accesibles, informativas y no invasivas.

A continuación se esbozarán las múltiples pruebas propuestas en el trasplante renal para monitorizar y ajustar la dosis de los agentes inmunosupresores, las dificultades a tal efecto, la necesidad de una monitorización independiente al régimen inmunosupresor (que con frecuencia es múltiple), y en particular los esfuerzos realizados desde el

campo de la inmunología. Finalmente, resumiremos las propuestas realizadas para la monitorización del MMF. Con fines clasificatorios se pueden contemplar tres criterios para monitorizar y dosificar la terapia inmunosupresora: 1) criterios farmacocinéticos de las drogas, 2) criterios histopatológicos, y 3) criterios inmunológicos (tabla 14; modificado de Alsina, 1997; y Burdick et al, 1998).

Tabla 14. Monitorización de la terapia inmunosupresora del trasplante renal.

A. Monitorización Farmacocinética de las drogas.

1. Concentración valle predosis (C-0).
2. Área bajo la curva concentración-tiempo.
3. Concentración a 2ª hora postdosis (C-2).

B. Monitorización Anatomopatológica.

1. Rechazo Agudo. Rechazo agudo subclínico.
2. Nefropatía Crónica. Nefrotoxicidad por drogas.

C. Monitorización Inmunológica de las drogas.

1. Test cutáneos.
 2. Pruebas de linfocitotoxicidad específica in vitro: Ac anti-HLA del donante.
 3. Análisis de la respuesta inmunológica no específica.
 4. Recuento linfocitario, marcadores de diferenciación y activación en sangre periférica.
 5. Análisis de citoquinas en plasma e intralinfocitarias (dicotomía Th1/Th2).
 6. Análisis de la actividad enzimática de la calcineurina y de la IMPDH.
-

5.1. Monitorización Farmacocinética de los agentes inmunosupresores.

En los años 70, la única manera de establecer que el régimen inmunosupresor del trasplantado renal resultaba inadecuado, ya por exceso o defecto, era de manera retrospectiva tras un episodio de infección o rechazo, respectivamente. El deseo por mejorar la prescripción individualizada era fehaciente. No fue hasta la incorporación de la ciclosporina A, cuando se pudo comenzar a determinar el efecto sobre cada paciente y ajustar la dosis según criterios farmacocinéticos de la droga, empleando la concentración predosis en sangre, y con ello evitando la dosis estándar (revisado por Kasiske, 1998). Esta forma de dosificación se ha extendido a otros inmunosupresores actuales, como tacrolimus y ácido micofenólico.

El estudio del área bajo la curva concentración-tiempo, si bien se ha correlacionado fuertemente con la situación clínica, no ha tenido gran predicamento entre los profesionales para la dosificación rutinaria de CyA por motivos obvios. Respecto a la formulación Neoral de CyA, actualmente se está evaluando el nivel C-2, es decir, la concentración en la 2ª hora tras la toma del fármaco, ya que existen evidencias procedentes del trasplante de hígado y corazón de que pudiera correlacionarse mejor con el área bajo la curva y los eventos clínicos que la clásica concentración predosis, C-0 (Belitsky et al, 2000).

5.2. Monitorización Anatomopatológica.

No cabe duda que la biopsia es una excelente herramienta para identificar cambios patológicos derivados de situaciones de rechazo y/ o toxicidad, y por ello se ha erigido como la “prueba de oro” para evaluar la disfunción del injerto renal. Sin embargo, en ocasiones solamente indica un proceso en curso o que ya ha ocurrido.

De ahí el interés que ha suscitado la biopsia precoz programada y el concepto de rechazo agudo subclínico por cuanto que expresa alorreactividad, y de alguna forma infra-inmunosupresión (Lipman et al, 1996).

Serón et al (1997) pone de manifiesto que la biopsia renal precoz programada puede diferenciar aquellos trasplantados con riesgo de sufrir pérdida del injerto por nefropatía crónica: el protocolo de biopsias de injerto renal programadas al tercer mes realizado sobre 98 pacientes estables indicó que aquellos con diagnóstico de nefropatía crónica (n= 41) habían sufrido una mayor incidencia de episodios de rechazo agudo antes de la biopsia (24,3 vs 3,9 %; p= 0,003), los niveles valle medios de CyA habían sido superiores (242 ± 74 vs 214 ± 59 ngr/ mL; p= 0,049), y la supervivencia actuarial del injerto fue más baja (80,5 vs 94,4 %; 0,024).

Nickerson et al (1998) han observado que el hallazgo de rechazo agudo subclínico en un protocolo de biopsias programadas a 6 meses es un predictor independiente de creatinina sérica más elevada a los 24 meses del trasplante. Estos resultados son complementados por el estudio prospectivo de Rush et al (1998), donde la función renal del injerto a dos años fue mejor en aquellos trasplantados randomizados para biopsia programada del 1-3 meses postrasplante tratados con esteroides si hubo rechazo agudo subclínico, sobre los que fueron randomizados para no biopsia, y por tanto no tratados si

existió tal evento. Ello hace pensar que el incremento de la inmunosupresión pudiera rebajar la incidencia rechazo agudo, tanto clínico como subclínico (Nickerson et al, 1999).

Quizá estos protocolos u otros que empleasen tecnologías más avanzadas pudieran servir para identificar aquel grupo de trasplantados donde se debiera de forma individualizada incrementar la inmunosupresión. A pesar del beneficio que puede ofrecer la biopsia renal programada como técnica predictora de nefropatía crónica, por cuanto que es capaz de diagnosticar situaciones de rechazo agudo subclínico, no deja de ser una prueba invasiva, por lo que posiblemente no llegue a incorporarse como técnica predictiva en la práctica clínica ordinaria.

5.3. Monitorización Inmunológica.

Como una alternativa para explorar el efecto específico de la droga han surgido pruebas que intentan vigilar el estado inmunológico del paciente, en la filosofía de establecer criterios predictivos de situaciones de riesgo, que puedan conducir a intervenciones mucho más precoces, y por tanto, evitar cambios clínicos e histopatológicos que fuesen en detrimento del paciente y del injerto. Por otra parte, se ha pretendido que tales pruebas sirvieran para individualizar la terapéutica.

Las primeras pruebas consistieron en tests cutáneos (Rolley et al, 1974), análisis de la respuesta linfocitaria in vitro (Bach et al, 1973) y análisis de la inmunocompetencia no específica (Smith, 1992). La elevación del cociente linfocitario CD4/ CD8 se ha asociado con episodios de rechazo agudo (Grinyó et al, 1984; Mestre et al, 1988), si bien no ha sido corroborada

por otros autores (Kreis et al, 1984; Helling et al, 1984). Resultados procedentes de trasplantados cardíacos sugirieron que la proporción de las poblaciones linfocitarias en sangre periférica pudiera predecir el evento de rechazo agudo con una sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo del 62 %, 90 % y 82 %, respectivamente (Klanke et al, 1989; Schübel et al, 1990). Ninguna de estas pruebas llegó a emplearse de manera generalizada, unas por tratarse de pruebas dificultosas, otras porque los datos no confirmaban asociación clínica robusta. Otro motivo pudo ser la gran mejora sobre la supervivencia de los injertos renales que supuso la dosificación de ciclosporina a través de la concentración valle en sangre.

Sin embargo, sí tuvo una gran acogida la monitorización de la depleción de linfocitos T en sangre periférica durante el tratamiento con anticuerpos antilinfocitarios (Thomas et al, 1979), ya en la terapia de inducción o en el tratamiento del rechazo agudo cortico-resistente, perdurando hasta nuestros días por cuanto que ha resultado útil y eficaz para la adopción de una prescripción individualizada, que evita inmunosupresión inadecuada, tanto por exceso como por defecto, y con ello es capaz de reducir la frecuencia de efectos adversos, principalmente infecciosos (Cosimi, 1995).

Hoy día, cada vez es más notoria la imperfección de la dosificación de CyA según el nivel valle en sangre, observando la misma incidencia de rechazo agudo a pesar del empleo de la nueva formulación en microemulsión, Neoral (Noble et al, 1995). Con ello toma nuevamente cuerpo la idea de que la fuerza innata de un sistema tan complejo como para provocar un episodio de rechazo sea diferente en cada individuo, y que un nivel en sangre de un inmunosupresor puede producir diferentes efectos en diferentes pacientes. Estas hipótesis abren la búsqueda de un “criterio inmunológico” que defina la

eficacia del agente inmunosupresor - de la misma manera que la tensión arterial refleja el efecto de la terapia antihipertensiva -, y que pudiera ser predictivo de situaciones de riesgo antes de que clínicamente se manifestaran. El mejor conocimiento de los fenómenos de tolerancia y rechazo del aloinjerto (revisado por Mannon et al, 1999; y Shirvan, 1999) así como del mecanismo de acción de los agentes inmunosupresores pudieran ayudar al diseño de estrategias orientadas a monitorizar la alorreactividad y/ o el efecto biológico supresor de los mismos sobre sus dianas. La mayor selectividad del mecanismo de acción de la inmunosupresión empleada pudiera facilitar la aproximación a aquella porción del sistema inmunológico que modifica, y por tanto más exacta sería la valoración del efecto.

Han sido múltiples los aspectos del sistema inmunológico investigados para monitorizar el trasplante renal en la idea de “racionalizar” el tratamiento inmunosupresor (revisado por Alsina, 1997; Burdick et al, 1998). A continuación repasaremos aquellos en uso y sobre los que en la actualidad se sigue investigando, como son los marcadores linfocitarios de superficie, el análisis de anticuerpos anti-HLA del donante, el perfil de citoquinas intralinfocitarias, y la actividad enzimática de la calcineurina y de la IMPDH en sangre periférica total y aislados linfocitarios.

Clásica y eficaz es la monitorización del recuento de las poblaciones linfocitarias en sangre periférica durante el tratamiento con anticuerpos antilinfocitarios, tanto en adultos como en pacientes pediátricos, para la prevención y tratamiento del rechazo agudo (Brun et al, 1995; Grandtnerova

et al, 1997; Masri et al, 1997). Hoy día, las nuevas drogas están reduciendo las indicaciones de dicha terapia.

Alamartine et al (1992) han estudiado la población de linfocitos NK en trasplantados renales afectos de neoplasia maligna e infección por citomegalovirus. Observaron que los recuentos medios de células NK en trasplantados estables (n= 162) y aquellos afectos de neoplasia maligna (n= 13) no difirieron, mientras que fueron superiores en los que sufrían infección citomegálica (n= 15). No nos podemos pronunciar sobre la hipótesis sugerida con la que cierra este original respecto a la asociación entre deficiencia de células NK y mayor incidencia de neoplasias de novo en trasplantados renales.

En monitorización es fundamental distinguir entre rechazo e infección vírica. En este sentido, se han descubierto diversas modificaciones linfocitarias en sangre periférica, principalmente asociadas a infección citomegálica.

Berge et al (1998) han observado en trasplantados renales con infección viral primaria una expansión en sangre periférica de linfocitos T CD8+ con sobreexpresión de granzima y L-selectina, a diferencia de aquellos trasplantados con rechazo agudo o función renal estable. Otros autores han publicado reducción de linfocitos T CD4+ y CD8+, e incremento de linfocitos B en sangre periférica previo a la infección citomegálica (Nordoy et al, 1999; Besancon-Watelet et al, 2000), reducción de la producción de citoquinas Th1 in vitro durante la misma (Essa et al, 2000), así como una expansión de linfocitos T gamma-delta tras el episodio infeccioso (Dechanet et al, 1999).

Si bien es clásico y de práctica rutinaria el estudio de anticuerpos anti-HLA del donante contra el aloinjerto previo al trasplante (crossmatch), dicha monitorización no se suele realizar habitualmente durante el seguimiento del mismo. Hoy día, el avance tecnológico que han supuesto las pruebas de citometría de flujo y ELISA en la detección de dichos anticuerpos, y la asociación marcada en numerosos estudios entre la presencia de anticuerpos anti-HLA en el post-trasplante y situaciones clínicas de rechazo agudo y crónico así como menor supervivencia del aloinjerto, sugieren que tal monitorización puede ser clínicamente útil así como suministrar alguna luz sobre los mecanismos de rechazo (revisado por Mc Kenna et al, 2000). De los doce trabajos sobre trasplante renal evaluados por estos autores, en siete de ellos se ha observado asociación entre rechazo agudo y presencia de anticuerpos anti-HLA: los pacientes con anticuerpos sufrieron una frecuencia de rechazo agudo entre 2 y 10 veces superior; mientras que en aquellos sin anticuerpos la frecuencia de rechazo crónico fue inferior y la supervivencia del injerto superior.

La serie de Christiaans et al (1998) arroja una supervivencia del injerto renal a 5 años del 34 % para aquellos con anti-HLA medidos por citometría de flujo, frente al 76 % en aquellos sin anticuerpos. El hallazgo de anti-HLA de novo en el 14-45 % de trasplantados con injerto funcional a 5 años indica que tales anticuerpos no causan necesariamente rechazo inmediato y que muchos de estos pacientes pueden tener función renal normal a pesar de su presencia. Por ello serán precisos estudios de seguimiento de estos pacientes para establecer si aquellos que sufren rechazo proceden de este grupo.

Abe et al (1997) señalan la fuerte implicación entre presencia de anti-HLA y rechazo crónico: anticuerpos reactivos frente a células B del donante

fueron detectados en 25/ 29 pacientes con diagnóstico de rechazo crónico, comparado con 5/ 33 trasplantados con función renal estable.

Se ha buscado el perfil de citoquinas en plasma que pudiera definir aquella población de trasplantados renales con riesgo de sufrir infección aguda, rechazo agudo, e incluso mejor respuesta al tratamiento antirrechazo, con resultados poco robustos (Daniel et al, 1995).

Masri et al (1998, 1999) han observado asociación entre el perfil de citoquinas intralinfocitarias y ciertas situaciones clínicas. Los pacientes con rechazo agudo expresaron una combinación de citoquinas Th1 elevada asociada a un perfil Th2 bajo; pacientes con función renal estable ofrecieron un perfil Th1 bajo con Th2 normal; pacientes con infección viral tuvieron niveles de CD4/IL-2/IL-4 y CD8/IL4 normales con CD8/IFN/IL-2 elevados. Un hallazgo interesante fue la asociación observada entre el perfil de citoquinas Th2 (CD3/IL-4/IL-10) y rechazo crónico. No está claro si los elevados niveles intralinfocitarios de CD3/IL-4/IL-10 son causa de este proceso o se trata de un subproducto inocente, aunque ya hay datos en el sentido primero (Oliveira et al, 1998).

La monitorización de marcadores de activación linfocitaria por citometría de flujo se ha sugerido como una herramienta útil para establecer diagnóstico diferencial de la disfunción del injerto renal, y al menos distinguir entre episodio de rechazo agudo e infección citomegálica vs nefrotoxicidad aguda por CyA (Beik et al, 1998).

Los estudios de Ishida et al (2000a, 2000b) en trasplantados renales sugieren la utilidad clínica de la monitorización en sangre periférica por citometría del antígeno linfocitario CD15S como marcador diagnóstico de

rechazo agudo, e incluso como predictor de la eficacia del tratamiento antirrechazo. Se trata de un antígeno expresado en linfocitos T y B activados que actúa de ligando para las moléculas de adhesión E-selectina (CD62E) y P-selectina (CD62P), las cuales se encuentran principalmente en células endoteliales activadas y plaquetas. Este marcador no se expresó en trasplantados sin rechazo (n= 23) ni voluntarios sanos (n= 18). De los 17 pacientes con diagnóstico histológico de rechazo agudo, el 82 % (14/17) cursó con fuerte expresión del antígeno linfocitario CD15S y respuesta a la terapia esteroidea; mientras que los tres restantes, con baja expresión del mismo, se mostraron cortico-resistentes.

Pudiera resultar ventajoso cuantificar directamente el efecto supresor de la droga sobre su diana. Ello se ha investigado sobre CyA, cuya actividad inmunosupresora está mediada a través de la inhibición de la calcineurina, enzima con actividad fosfatasa, calcio y calmodulin-dependiente (Liu et al, 1991; Frumen et al, 1992; Batiuk et al, 1994). Se ha observado asociación entre las concentraciones en plasma de CyA y la cuantificación intracelular de IL-2 en linfocitos T CD4+ de sangre periférica (Sindhi et al, 2000).

5.4. Futuro de la monitorización de los agentes inmunosupresores en el trasplante renal.

Con el empleo de MMF la frecuencia de rechazo agudo se ha rebajado. Por el contrario, toman mayor relevancia los problemas derivados del exceso de supresión. Tales circunstancias nos obligan a individualizar cada vez más

el tratamiento inmunosupresor, ya sea empleando criterios clínicos, bioquímicos, farmacocinéticos o inmunológicos.

La dosificación del MMF en trasplantados renales inicialmente se realizó según una pauta fija entre 2-3 gr/ día, atendiendo las especificaciones de los estudios multicéntricos. Posteriormente, dos modalidades para monitorizar la inmunosupresión mediada por AMF han sido propuestas con la finalidad de individualizar la dosificación, y con ello evitar una inmunosupresión inadecuada:

- 1) el nivel valle y área bajo la curva (atendiendo a criterios farmacocinéticos de la droga), y
- 2) la actividad enzimática de la inosín-monofosfato deshidrogenasa (IMPDH, valorando aspectos farmacodinámicos de la misma).

La concentración valle y el área bajo la curva del ácido micofenólico se han determinado empleando técnicas de cromatografía (Sugioka et al, 1994; Tsina et al, 1996; Shaw, 1997) e inmunoensayo (Wollenberg et al, 1998; Brunet et al, 1999). Con inmunoensayo, el rango valle terapéutico de AMF en plasma, asociado a menor frecuencia de rechazo agudo y efectos adversos, se ha establecido entre 2-6 $\mu\text{gr/ mL}$ (Land, 1999; Keunecke et al, 2000). Ésta última se trata de una determinación que está arraigando en la práctica clínica por ser útil y poco compleja.

La determinación de la actividad de la enzima inosín-monofosfato deshidrogenasa (IMPDH) en sangre total o en linfocitos aislados, enzima crucial en la proliferación linfocitaria, es capaz de cuantificar el efecto biológico ejercido por la droga. Langman et al (1995) observaron una reducción del 50 % de la actividad enzimática con concentraciones de AMF entre 2-5 mg/ L, tanto en sangre total humana como en linfocitos aislados, detectando asociación inversa entre la concentración en sangre de AMF y

actividad IMPDH. En trasplantados renales estables, la administración oral de MMF produjo un pico de inhibición enzimática en sangre total entre el 40-90 % en las primeras 6 horas - que se correspondió con el pico de AMF en plasma -, un mantenimiento de la inhibición durante 4 horas postdosis y una gradual restauración a valores predosis (Sanquer et al, 1998); mientras que en trasplantados con sospecha de rechazo agudo dicha actividad apenas fue inhibida y se asoció a problemas de absorción de micofenolato mofetil. Storck et al (1998) sugiere que la determinación de la actividad enzimática en trasplantados renales debería realizarse sobre la fracción aislada de células mononucleares en lugar de en sangre total por posible sobreestimación de la actividad IMPDH en esta última, a favor de una mejor individualización de la dosis de MMF. A pesar de los esfuerzos, se trata de una determinación por consolidar.

A diferencia de los inhibidores de la calcineurina, el AMF no parece inhibir la producción de citoquinas por linfocitos activados, lo que sugiere que no interfiere las fases de activación precoz linfocitaria (Eugui et al, 1991). Debido al efecto antiproliferativo selectivo que ejerce sobre la población linfocitaria, íntimamente implicada en los fenómenos de tolerancia y rechazo de aloinjertos, esta droga pudiera reducir el recuento linfocitario absoluto, modular las poblaciones linfocitarias y los marcadores de activación en sangre periférica (Gummert et al, 1999). Ello reflejaría al menos una parte de su actividad inmunosupresora, y quizá pudiera servir para monitorizar su efecto supresor.

Los nuevos regímenes de inmunosupresión, que cuentan con combinaciones de agentes cada vez más potentes y selectivos en la filosofía de reducir alorreactividad y con ello infrainmunosupresión, han condicionado un incremento principalmente de las complicaciones infecciosas (Stratta et al, 1997). Allison et al (1993b) sugieren que quizá ello pudiera deberse, en el

afán por intensificar la inmunosupresión, a una pobre valoración del efecto combinado de las drogas, atendiendo a criterios preestablecidos. Clara es la dificultad que entraña la valoración exacta de la inmunosupresión administrada cuando se emplea asociación de drogas. La variación interindividual del efecto supresor de cada agente y las interacciones farmacocinéticas que aún no están bien establecidas (Filler et al, 2000) nos abocan a una terapia empírica clásica previa al desarrollo y mejor ajuste del test farmacocinético correspondiente para cada droga. Además dicho test posiblemente tendrá que ofrecer diferentes puntos de ajuste según la inmunosupresión concomitante.

Con todas estas dificultades presentes, sería deseable desarrollar parámetros, quizá inmunológicos, que pudieran cuantificar y monitorizar el efecto supresor directo de las droga en sus dianas correspondientes, y por ende, reflejasen la actividad inmunosupresora. Ello podría ser útil para predecir situaciones de riesgo y establecer protocolos de actuación en fases más precoces. Dada la complejidad y redundancia del sistema inmunológico resulta aparente que la monitorización de un parámetro aislado será insuficiente (Masri et al, 1999).

6. Virus de la hepatitis C y trasplante renal.

La infección por el virus de la hepatitis C es la causa más común de enfermedad hepática crónica del trasplantado renal. En la mayoría de las ocasiones el paciente ha sido infectado en diálisis, siendo factores de riesgo para adquirir la infección el tiempo en diálisis y el número de transfusiones sanguíneas (Druwe, 1994). La prevalencia de esta infección en el trasplante renal, determinando anticuerpos mediante técnicas de ELISA de 2^a generación y test de confirmación RIBA, oscila entre el 8,3-57 % según las series (Druwe et al, 1994; Pereira, 1993). En el sur de Europa se encuentra entre el 15-30 %, y en nuestro centro es del 23,9 % (Bravo, datos no publicados). La desaparición de los anticuerpos después del trasplante es excepcional: la positividad se mantiene a lo largo de los años, y en torno al 90 % de los casos la determinación del RNA viral en suero es positiva (Goffin et al, 1995).

No cabe duda que la infección por virus C en el trasplantado renal puede condicionar mayor frecuencia de complicaciones hepáticas, y por tanto reducir la supervivencia de los pacientes (Stempel et al, 1993; Davis et al, 1994; Goffin et al, 1994). Es relevante señalar que en torno al 60 % de los trasplantados renales seropositivos para el virus C tienen criterios de enfermedad hepática crónica (transaminasas elevadas mantenidas durante más de seis meses; Morales, 1995). Este autor, en su serie de 91 trasplantados renales C positivos seguidos durante 65 meses de media, muestra que el 56 % de ellos reunían criterios de hepatopatía crónica, de los cuales en el 5,5 % se agravó, precisando trasplante hepático tres pacientes (3,3 %). Sin embargo, el 38,4 % restante mantuvo en todo momento una bioquímica hepática normal. Por lo tanto, parece haber dos patrones evolutivos: uno marcado por la

presencia de hepatopatía crónica clínicamente significativa, y otro con biología hepática normal con pocas implicaciones clínicas.

En la patogenia de la hepatopatía por virus C participan factores virales así como la inmunidad del paciente. La asociación entre la lesión hepática y los niveles séricos de ARN-VHC sugiere un efecto citopático directo del virus (Coelho-Little et al, 1995). Por otra parte, la participación del sistema inmunológico del paciente queda ejemplificada por la mejoría transitoria de transaminasas tras la administración de esteroides, y la relación inversa entre viremia y reactividad inmunológica (Fong et al, 1994). En la población trasplantada interviene además la terapia inmunosupresora, que sin lugar a duda debe contribuir a la heterogeneidad de las manifestaciones clínicas, desde un portador del virus de la hepatitis C estable a una hepatopatía rápidamente progresiva (Kliem et al, 1996). Existen datos que sugieren que la infección por virus C en el trasplante renal condiciona cierta inmunodeficiencia, que se manifiesta en una menor incidencia de rechazo agudo y mayor frecuencia de infecciones graves si los comparamos con trasplantados seronegativos (Corell et al, 1995; Morales et al, 1996).

En este punto, es pertinente considerar una prevención de la hepatopatía postrasplante por virus C, basada en 1) un régimen inmunosupresor individualizado y juicioso que impida la progresión de la hepatopatía sin riesgo razonable de rechazo, y 2) una especial vigilancia de las infecciones.

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Los buenos resultados cosechados con micofenolato mofetil en el trasplante renal, ya en la prevención del rechazo agudo, ya en el tratamiento de la nefropatía crónica del trasplante, así como respecto a la posibilidad de reducir factores de riesgo cardiovascular de la mano de un perfil clínico relativamente seguro si bien mejorable, han posicionado a esta sustancia en un lugar privilegiado en el campo de la inmunosupresión del trasplante. Posiblemente el avance en la situación ya consolidada con ciclosporina se haya debido a la amplia y específica regulación que ejerce sobre factores inmunológicos y no inmunológicos. Sospechamos que el efecto antiproliferativo que induce el ácido micofenólico sobre la población linfocitaria, a través de un mecanismo inhibitorio y selectivo de la biosíntesis de novo de las purinas, pudiera cuantificarse en sangre periférica. Sería esperable constatar una reducción linfocitaria, si bien no podemos establecer una predicción sobre la magnitud o la subpoblación más deprimida.

Esta perspectiva de la nueva droga nos animó a realizar el presente estudio. Se trata de un diseño observacional con seguimiento en tres grupos de trasplantados renales estables, dos de ellos tratados con sendos regímenes inmunosupresores de mantenimiento clásicos consistentes en prednisona + CyA, y prednisona + CyA + azatioprina, y el tercero al que se añadió micofenolato mofetil en triple terapia junto a prednisona + CyA. Los objetivos planteados fueron los siguientes:

1. Valorar la seguridad clínica relativa de micofenolato mofetil en nuestra población de trasplantados renales, y en particular en aquellos con serología positiva para el virus de la hepatitis C.

2. Establecer la evolución de la función renal que condiciona micofenolato mofetil asociado a prednisona y CyA .

3. Evaluar los efectos y aspectos diferenciales de tres terapias inmunosupresoras de mantenimiento sobre la evolución del recuento linfocitario y su distribución en sangre periférica en tres grupos de trasplantados renales estables, y en particular la modulación que pudiera condicionar la adición de micofenolato mofetil junto a prednisona y CyA.

4. Evaluar la posible utilidad clínica de la monitorización de las poblaciones linfocitarias en sangre periférica en el trasplantado renal tratado con micofenolato mofetil.

III. PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODO

1. Diseño del estudio y pacientes.

Desde Junio de 1996 hasta Septiembre de 1997 (fechas en que se enrolaron el primero y último paciente, respectivamente) se evaluó un grupo de trasplantados renales revisados en nuestro centro a través de un diseño observacional no aleatorio con grupos control, y seguimiento de doce meses.

Se constituyó un grupo Estudio de trasplantados renales a quienes, en tratamiento previo de con prednisona y CyA (Sandimmun Neoral[®], Novartis Farmacéutica) se les agregó un nuevo inmunosupresor, MMF (Cellcept[®], Roche), a dosis inicial de 1-1,5 gr/ día durante el mes 1° de seguimiento con incremento posterior, quedando la dosis de mantenimiento entre 2-2,5 gr/ día.

Los criterios de inclusión y exclusión se detallan en las tablas 15, 16 y 17. Tales criterios se construyeron con el espíritu de evaluar una muestra homogénea, y evitar inconvenientes interpretativos. A continuación se explican aspectos decisivos en la adopción de dichos criterios.

A priori no aceptamos el aumento de inmunosupresión con una tercera droga en trasplantados renales con función renal normal (creatinina sérica < 1,4 mg/ dL. Sin embargo, sí lo realizamos en aquellos que recibían dosis de ciclosporina $A \leq 4$ mg/ Kg/ día, ya que esta circunstancia pudiera

asociarse a un incremento del riesgo de disfunción crónica del injerto (Burke et al, 1994). Otros autores no comparten esta opinión (Massy et al, 1995). Así mismo, se excluyeron aquellos trasplantados con creatinina sérica $\geq 3,2$ mg/ dL.

Se excluyeron del estudio aquellos trasplantados con alguna de las siguientes características:

a) Menos de un año de evolución del trasplante renal. Este criterio se estableció con la finalidad de estudiar una población de trasplantados renales homogénea en cuanto a la dosis de los inmunosupresores empleados.

b) Recuento leucocitario $< 3.500 / \text{mm}^3$, antecedente de neoplasia o infección graves, y hepatopatía crónica (y en especial la de etiología vírica C y B). La adición de la nueva droga a trasplantados con estas características les pudiera condicionar mayor morbi-mortalidad. Se definió hepatopatía crónica aquella que cursó con elevación recurrente o persistente de las enzimas hepáticas durante los seis meses previos al estudio.

c) Tratamiento previo con azatioprina (Imurel[®], Medeva Pharma), y colagenosis como causa de insuficiencia renal. Estas circunstancias pudieran per sé introducir algún sesgo en alguna de las variables estudiadas, y en concreto sobre las subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica.

Para el análisis de la serie roja se excluyeron los trasplantados con características que pudieran condicionar su evolución, como es la estenosis de la arteria renal, tratamiento con inhibidores de la enzima de conversión de

la angiotensina (IECA), teofilinas o eritropoyetina humana recombinante (rHuEPO) (Bakris et al, 1990; Danovitch et al, 1995; Perazella et al, 1995).

Tabla 15. Criterios de inclusión generales.

1. CrS entre 1,5-3,1 mg/ dL y/ o dosis de CyA \leq 4 mg/ Kg/ día.
 2. Régimen inmunosupresor con prednisona y CyA previo al estudio.
-

Tabla 16. Criterios de exclusión generales.

1. Trasplante renal de menos de 1 año de evolución.
 2. CrS \geq 3,2 mg/ dL.
 3. Recuento leucocitario $<$ 3.500 /mm³.
 4. Enfermedad neoplásica o infecciosa graves antes o durante el estudio.
 5. Hepatopatía crónica.
 6. Insuficiencia renal por colagenosis (LES, ...).
 7. Contribución al estudio con menos de tres determinaciones.
 8. Tratamiento previo con azatioprina.
-

Tabla 17. Criterios de exclusión para la evaluación de la serie roja.

1. Sufrir estenosis de la arteria renal $>$ 50 % con diagnóstico angiográfico.
 2. Recibir tratamiento con IECA, rHuEPO o teofilinas.
-

De igual forma, se constituyeron dos grupos control según el régimen inmunosupresor de mantenimiento:

- grupo control CyA, tratado con prednisona + CyA.
- grupo control AZA, tratado con prednisona + CyA + azatioprina.

Estos grupos control se estudiaron por dos motivos:

- 1) para discernir con cierta seguridad que los efectos observados en el grupo Estudio no fuesen atribuidos a la evolución natural del trasplante, y sí a la nueva droga inmunosupresora administrada; y
- 2) para establecer aspectos diferenciales entre los tres regímenes inmunosupresores de mantenimiento, principalmente respecto a la evolución del recuento linfocitario absoluto y las poblaciones linfocitarias en sangre periférica.

La selección de los trasplantados en ambos grupos control se realizó según los criterios de exclusión 1 al 7 de la tabla 16 y los criterios de la tabla 17.

2. Grupos y protocolo de estudio. Aparatos, técnicas empleadas y unidades de las variables.

El seguimiento de los pacientes se realizó desde la consulta de trasplante renal del centro con arreglo al plan de investigación que se describe.

2.1. Constitución y clasificación de los grupos.

Los trasplantados se incluyeron en cada uno de los tres grupos atendiendo a las características y criterios establecidos, y siguiendo la cronología habitual de las revisiones periódicas, hasta completar el tamaño de muestra prefijado para cada grupo:

- grupo Estudio (P + CyA + MMF): n= 30
- grupo Control CyA (P + CyA): n= 15
- grupo Control AZA (P + CyA + AZA): n= 15

2.2. Características basales de la muestra.

A continuación se detallan las características registradas de la muestra:

1. Sexo y edad del paciente.
2. Etiología de la insuficiencia renal (IR).
3. Número del trasplante: 1º / 2º.
4. Tiempo de evolución del trasplante hasta el momento de estudio (años).
5. Identidades HLA-DR compartidas entre donante (D) y receptor (R): 1 / 2.
6. Inducción inmunosupresora con anticuerpos antilinfocitarios: globulina policlonal antilinfocitaria (GAL), anticuerpo monoclonal murino OKT3.
7. Biopsia del injerto renal previa al estudio: Si / No, y en caso afirmativo el diagnóstico.

8. Serología viral: AcVHC y AgHBs: positivo / negativo.
9. Tratamiento con IECA, rHuEPO y teofilinas: sí / no.
10. Edad del donante.

2.3. Protocolo de estudio, variables y unidades de medida.

En el grupo Estudio se recogieron las variables que se expresan a continuación en los tiempos basal, meses 1º, 3º, 6º y 12º respecto al inicio del tratamiento con MMF:

1. Sintomatología (con especial atención a la patología digestiva, infecciosa y tumoral).
2. Peso (Kg).
3. Dosis de prednisona (mg/ Kg/ día).
4. Dosis de CyA (mg/ Kg/ día).
5. Dosis de azatioprina (mg/ Kg/ día).
6. Dosis de MMF (mg/ Kg/ día y gr/ día).
7. Nivel valle de CyA en sangre total (ng/ mL).
8. Creatinina sérica (CrS, mg/ dL).
9. Hemograma: Recuento leucocitario (células/ mm³); hemoglobina (Hb, gr/ dL); hematocrito (Hto, %); hematíes (células/ mm³); recuento plaquetario (células/ mm³).
10. Triglicéridos (mg/ dL) y colesterol total (mg/ dL) en suero.
11. AST/ GOT (U/ L), ALT/ GPT (U/ L), γ -GT (U/ L) y fosfatasa alcalina total (U/ L) en suero.
12. Recuento linfocitario absoluto y de las subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica (células / μ L): Recuento linfocitario absoluto, de linfocitos CD3+ (linfocitos T), CD3+CD4+, CD3+CD8+, cociente CD4/ CD8, CD16+CD3- (linfocitos natural killer, NK), y CD19+ (linfocitos B).

En el grupo Estudio se calculó la reducción porcentual media (RP, %) de cada una de las subpoblaciones linfocitarias entre los instantes 6° y 12° respecto al basal con la finalidad de objetivar la magnitud relativa de las variaciones observadas. La fórmula empleada fue la siguiente:

$$\text{RP media (\%)} = (1 - (\text{instante}^n / \text{instante basal})) \times 100$$

Donde *instanteⁿ* toma el valor del recuento medio linfocitario en cada uno de los meses 6° y 12°, e *instante basal* toma el valor de dicho recuento en dicho instante. Las unidades expresan porcentaje de reducción media.

De forma retrospectiva se registró el valor de CrS en los meses 12°, 9°, 6° y 3° antes de iniciar tratamiento con MMF con la finalidad de poder calcular y comparar la pendiente mensual de la CrS antes y después del nuevo tratamiento. Debido al comportamiento errático de estas determinaciones no fue posible el ajuste lineal para obtener las pendientes con todos los puntos para todos los individuos; por ello se tomó una “pendiente media” por individuo, empleando para su cálculo únicamente los valores del mes 12° pretratamiento con MMF (preMMF), basal y mes 12° tras el inicio del mismo (postMMF). Las fórmulas empleadas fueron las siguientes:

- Pendiente mensual preMMF: $(\text{CrS } 12^\circ \text{ mes preMMF}) - (\text{CrS basal}) / 12 \text{ meses}$.
- Pendiente mensual postMMF: $(\text{CrS basal}) - (\text{CrS } 12^\circ \text{ mes postMMF}) / 12 \text{ meses}$.

Esta variable calculada, pendiente de la CrS, expresa el cambio medio de la CrS por unidad de tiempo (en este caso mensual), expresando las unidades en mg/ dL/ mes.

Se consideró variación de CrS cuando ésta fue superior a 0,20 mg/ dL.

En ambos grupos control se estudiaron las mismas variables que en el grupo Estudio, con determinaciones basal, meses 1º, 3º, 6º y 12º, excepto en cuanto a las variables triglicéridos, colesterol total, AST/ GOT, ALT/ GPT, γ -GT, fosfatasa alcalina total (FAt) y CrS pre-estudio.

2.4. Descripción de las técnicas, procedimientos y aparatos empleados en cada una de las determinaciones.

2.4.1. Hemograma y bioquímica en sangre periférica.

2.4.1.1. Toma de muestra.

Las muestras de sangre periférica total se extrajeron en ayunas entre las 8 y las 10 horas de la mañana, en la unidad de extracción de sangre del hospital:

- bioquímica: 6 mL de sangre en tubo Venoject[®] II (Terumo; autosep[®]).
- hemograma: 3,0 mL de sangre en tubo Venoject[®] (Terumo; UT 053 STK, con 0,06 mL de EDTA (K3) al 0,235 mol/ L.

2.4.1.2. Instrumentos: equipo y reactivos.

a) Hemograma. Se determinó concentración de hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), hematíes, recuento leucocitario y plaquetario empleando un sistema Technicon H3 RTC/ RTX (Miles Inc, Diagnostic División, Tarrytown, NY, 10591-5097 USA).

Para las siguientes determinaciones bioquímicas se empleó el analizador automático de química clínica BM/ Hitachi 747, y los reactivos correspondientes, todos ellos suministrados por la compañía Boehringer Mannheim (BM), y siguiendo las especificaciones recomendadas para cada ensayo.

b) Creatinina sérica (CrS). El ensayo se realizó en suero, empleando el método fotométrico de Jaffé rate-blanked con compensación, y los reactivos con nº de referencia 1 127 632 (R1: lejía de sodio: 0,20 mol/ L) y 1 127 659 (R2: ácido pícrico: 25 mmol/ L), ambos de BM.

c) Triglicéridos. El ensayo se realizó en suero, empleando el método GPO-PAP (test color enzimático) y el reactivo con nº de referencia 1 488 902 (tampón/4-clorofenol/ enzimas) de BM.

d) Colesterol total. El ensayo se realizó en suero, empleando el método CHOD-PAP (test color enzimático) y el reactivo con nº de referencia 1 489 704 de BM.

e) Aspartato-aminotransferasa (AST/ GOT). El ensayo se realizó en suero, empleando método de IFCC (test enzimático) y los reactivos con nº de referencia 1 360 183 (R1: tampón; R1a: enzimas /coenzima) y 1 127 764 (R2: alfa-oxoglutarato), ambos de BM.

f) Alanina-aminotransferasa (ALT/ GPT). El ensayo se realizó en suero, empleando método de IFCC (test enzimático) y los reactivos con nº de

referencia 1 360 205 (R1: tampón; R1a: enzima /coenzima) y 1 127 799 (R2: alfa-cetoglutarato), ambos de BM.

g) 3-glutamilttransferasa (3-GT). El ensayo se realizó en suero, empleando test color enzimático, y los reactivos con nº de referencia 1 360 809 (R1: tampón /glicilglicina) y 1 355 058 (R2: diluyente /substrato), ambos de BM.

h) Fosfatasa alcalina total (FAt/ ALP). El ensayo se realizó en suero, empleando el “Método standard optimado” de la Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (test enzimático) y los reactivos con nº de referencia 1 360 787 (R1: tampón) y 1 360 795 (R2: tampón/ p-nitrofenilfosfato), ambos de BM.

2.4.2. Nivel valle de ciclosporina A en sangre entera.

2.4.2.1. Toma de muestra.

Las muestras de sangre periférica se extrajeron en ayunas entre las 8 y las 10 horas de la mañana, en la unidad de extracción de sangre del hospital, empleando 3,0 ml de sangre en tubo Venoject (Terumo[®]): UT 053 STK, con 0,06 mL de EDTA (K3) al 0,235 mol/ L.

2.4.2.2. Preparación de la muestra. Procedimiento.

Una vez reunidas todas las muestras a determinar, se procede:

a) Identificación de todas y cada una de las muestras con números (1,2,3, ..., n). Con la misma numeración identificamos una serie de tubos de

microcentrífuga del tipo Eppendorf. Emplearemos dos tubos Eppendorf que identificamos como controles (C1 y C2), necesarios en la técnica.

b) Se toman 100 μL de sangre de cada muestra previa agitación en vórtex durante 10-15 segundos, que depositamos en el fondo del tubo Eppendorf correspondiente marcado con el mismo número. Con los controles 1 y 2 procedemos de igual forma, si bien la agitación de estos la realizamos a mano invirtiendo el tubo repetidas veces.

c) Se añaden 300 μL de reactivo precipitante (metanol) en cada tubo Eppendorf, cuya función es la de lizar las células, dejar la ciclosporina solubilizada y precipitar la mayor parte de las proteínas de la sangre.

d) Se agita la mezcla, en vórtex 10-15 segundos una vez las muestras preparadas.

e) Se incuba el tubo de microcentrífuga a temperatura ambiente (18-25°) al menos durante un minuto.

f) Se centrifugan las muestras durante 10 minutos a velocidad máxima.

g) Del sobrenadante se trasvasan 100 μL de cada tubo Eppendorf a los pocillos de muestras COBAS MIRA[®]. Estos son introducidos en la gradilla de muestras número 1 del analizador, con el orden siguiente:

C1	pocillo 1
C2	pocillo 2
muestra 1	pocillo 3
muestra 2	pocillo 4
muestra n	pocillo n +2

h) Las muestras ya están preparadas para su medición. Entonces colocamos los reactivos y el diluyente en las gradillas destinadas para ello inmediatamente a la izquierda de la primera gradilla de muestras. Conectamos el aparato y procedemos a la programación del ensayo.

2.4.2.3. Principio de la prueba.

El ensayo Emit[®] 2.000 (enzyme-multiplied immunoassay technique) emplea una técnica inmunoenzimática homogénea de competencia semiautomatizada para el análisis de ciclosporina A en sangre entera (Mc Millan, 1989; Kahan, 1989; Schran et al, 1987).

Se basa en la competencia por los sitios de unión de anticuerpos de ciclosporina. La ciclosporina de la muestra compite con la ciclosporina en el reactivo enzimático B que está marcado con la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6P-DH). La enzima activa (no unida) transforma el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) oxidado del reactivo de anticuerpo A en NADH, lo cual resulta en un cambio de absorbancia cinética que puede ser medido espectrofotométricamente. La actividad enzimática disminuye al unirse al anticuerpo, lo cual facilita la medición de la concentración de ciclosporina en la muestra en términos de actividad enzimática.

2.4.2.4. Instrumentos: equipo y reactivos.

Los ensayos para medir ciclosporina A valle en sangre se realizaron con los siguientes instrumentos:

a) Analizador de sistemas de química COBAS MIRA[®] (Roche Diagnostic Systems, Inc.), conectado a un ordenador del tipo PC que controla la programación de los ensayos, el almacenamiento de resultados, el envío de resultados e informes y la preparación de datos estadísticos.

b) Ensayo específico de ciclosporina A Emit[®] 2.000 de Syva Company, suministrado por Dade Behring Inc. (nº de referencia 6R019) incluye:

- Reactivo A de anticuerpo: anticuerpos monoclonales de ratón reactivos hacia ciclosporina A; glucosa-6-fosfato, dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD), cloruro sódico y otros.

- Reactivo B enzimático: ciclosporina A marcada con glucosa-6-fosfato deshidrogenasa bacteriana (*Leuconostoc mesenteroides*), y otros.

- Diluyente específico.

c) Calibradores específicos, y metanol en calidad de reactivo.

d) Muestras de control de ciclosporina A (C1, C2 y C3).

2.4.3. Recuento linfocitario absoluto y de las subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica por citometría de flujo.

Antes de detallar la metodología con la que se realizaron estas determinaciones señalaremos aspectos esenciales sobre citometría de flujo.

2.4.3.1. Generalidades sobre citometría de flujo.

1) Definición.

La citometría de flujo es una técnica empleada para la medición y análisis rápidos de “células o partículas biológicas” (en lo sucesivo “eventos”) individualizadas en suspensión unidas a anticuerpo fluorescente. Una vez que se ha incubado esta suspensión de eventos con un anticuerpo específico marcado con un fluorocromo, se hace pasar por un sistema de flujo laminar sobre el que incide un haz de luz, y con la ayuda de detectores específicos es capaz de identificar y enumerar tales eventos.

2) Elementos de un citómetro.

Un citómetro de flujo se compone de tres sistemas instrumentales:

2.1) Sistema fluhídrico.

2.2) Sistema óptico.

2.3) Sistema Informático.

2.1) Sistema fluhídrico o de inyección y manejo de la muestra.

Consiste en un mecanismo hidráulico presurizado que tiene como misión recoger la muestra y a través de una corriente coaxial de solución salina, conducirla hasta el canal de flujo o contaje, habitualmente formado por un elemento de cuarzo horadado en su centro.

Al quedar la muestra sometida a una presión envolvente se induce su flujo laminar hacia el canal capilar de contaje en forma de “elementos alineados” sobre los que incidirá la luz del sistema óptico.

La inyección se realiza por un sistema volumétrico compuesto de bomba y jeringa capaz de inyectar un volumen exacto de suspensión celular, y el sistema dispone de un contador volumétrico tipo Coulter para el recuento de las unidades celulares que fluyen por el capilar.

2.2) Sistema Óptico.

Está integrado por un haz luminoso junto a un sistema de lentes, filtros, espejos dicróicos y fotodetectores de dispersión y fluorescencia.

El haz luminoso empleado es del tipo láser, donde toda la radiación fotónica emitida se encuentra en fase, lo cual confiere a este tipo de luz gran uniformidad en la dirección y cromaticidad así como su gran intensidad frente a las fuentes de radiación lumínica no coherente (Vg. lámpara de mercurio). Existen diferentes tipos de láser, si bien el más utilizado es el de ión argón que emite a una longitud de onda de 488 nm.

2.3) Sistema Informático.

En general, consta de amplificadores de señal, un transformador analógico-digital y un ordenador, cuya función es la de generar, almacenar y analizar datos, proporcionando estudios estadísticos y representación gráfica de los mismos.

3) Funcionamiento de un citómetro.

Tras la introducción del tubo de ensayo con la muestra problema en la toma de muestra del citómetro, ésta es succionada por la jeringa conectada a una bomba hidráulica, y mediante canalizaciones es conducida hasta la

cámara de contaje donde es envuelta por un fluido salino que rodea a las células alineándolas en su centro hasta ser atravesadas por el haz de luz.

La incidencia del láser sobre las células proporciona señales ópticas recolectadas por dos tipos de fotodetectores:

- a) Fotodetectores de Dispersión axial y ortogonal.
- b) Fotodetectores de Fluorescencia.

a) Fotodetectores de Dispersión.

En ausencia de fluorocromos unidos a elementos celulares, la luz dispersa es colectada por dos fotodetectores diferentes en función del ángulo de la misma:

- Fotodetector de Dispersión frontal o delantera (Forward-scatter, FW-SC). Mide luz dispersa en configuración axial (entre 2-8°), y proporciona información sobre el tamaño del evento.
- Fotodetector de Dispersión ortogonal (Right-scatter, RT-SC). Mide luz dispersa en configuración ortogonal (a 90°), e informa sobre la complejidad intracelular o granularidad.

b) Fotodetectores de Fluorescencia.

Generalmente existen tres detectores para tres fluorocromos correspondientes. En la tabla 18 se detallan los fluorocromos que con más frecuencia se emplean en citometría de flujo, con sus correspondientes longitudes de onda de excitación y emisión máximas.

Tabla 18. Características de los principales fluorocromos.

Fluorocromo	Excitación máxima (nm)	Emisión máxima (nm)
Fluoresceína	495	520 (verde)
Ficoeritrina	495	576 (naranja)
Tetrametilrodamina	543	570 (naranja)
Cianina 3 y 5	575	670 (naranja)
Cyanoficoeritrina 3 y 5	495	670 (rojo)
Rojo Texas	596	620 (rojo)

Mediante el análisis de la información proporcionada por la configuración axial y ortogonal de los elementos que fluyen por el citómetro es posible agruparlos en distintas clases según tamaño y complejidad (Vg, linfocitos, monocitos, granulocitos,...), de forma que el instrumento discrimina entre ellas y es capaz de mostrarlas en diferentes ventanas electrónicas.

Con los detectores de fluorescencia identificamos cualquier tipo de célula que hemos incubado con el anticuerpo monoclonal específico conjugado con un fluorocromo.

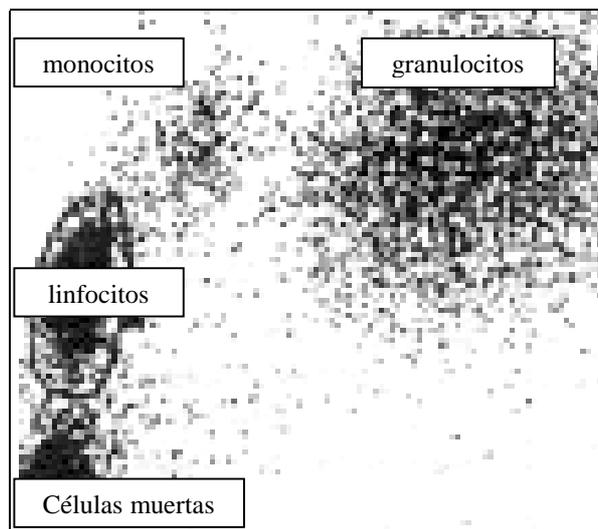
2.4.3.2. Principio de la prueba.

El marcaje específico de los leucocitos depende de la habilidad del anticuerpo monoclonal para unirse a la superficie de las células viables que expresan un determinante antigénico específico. Los anticuerpos monoclonales ORTHO[®] TRIO se añaden a una muestra de sangre entera y se unen a sus respectivos antígenos expresados en la superficie de los linfocitos. Durante el período de incubación de la muestra los linfocitos quedan

recubiertos con un anticuerpo monoclonal conjugado con su fluorocromo correspondiente.

Con el sistema de citometría de flujo inicialmente se constata la ausencia de autofluorescencia de la muestra (control negativo), y se identifican las poblaciones de linfocitos, monocitos y granulocitos (figura 4) con la ayuda de los detectores de dispersión (tamaño celular, FW-SC; y complejidad intracelular o granularidad, RT-SC). A partir de aquí se selecciona y sólo se trabaja con la población de linfocitos. Con la ayuda de los detectores de fluorescencia y el marcaje fluorescente de los anticuerpos monoclonales ORTHO[®] TRIO simultáneamente se identifican y enumeran linfocitos CD3+, linfocitos CD3+CD4+, linfocitos CD3+CD8+, linfocitos CD16+CD3- y linfocitos CD19+CD3-. El recuento linfocitario absoluto se calcula por medio de la suma de linfocitos CD3+, CD19+ y CD16+CD3-.

Figura 4. Ventana donde se identifican las poblaciones de linfocitos, monocitos y granulocitos.



2.4.3.3. Toma de muestra.

Las muestras se extrajeron entre las 8 y las 10 horas de la mañana en la unidad de extracción de sangre del hospital:

a) Se extraen 3,0 ml de sangre periférica en ayunas en tubo Venoject (Terumo[®]: UT 053 STK, con 0,06 ml de EDTA (K3) al 0,235 mol/L).

b) Tras invertirlo suavemente varias veces, las muestras se conservan a temperatura ambiente (no refrigeradas).

c) Para garantizar la exactitud en el contaje de glóbulos blancos y diferencial se realiza la técnica dentro de las 6 horas a partir de la recogida de las muestras.

2.4.3.4. Preparación de la muestra. Procedimiento.

a) Se utiliza un tubo de 12 × 75 mm por cada una de las muestras a analizar.

b) Se vierten 100 µL de sangre, bien mezclada, en el fondo del tubo.

c) Tras añadir 10 µL del reactivo ORTHO correspondiente, se mezclan agitando suavemente.

d) Se incuba durante 30 minutos a 4° C.

e) Posteriormente se añaden y mezclan 2 mL de reactivo lisador Ortho-mune[®] a cada tubo. Se trata de una solución de cloruro amónico y EDTA cuya función es la de lisar los hematíes, y poder estudiar la serie blanca.

f) Tras 10 minutos de incubación a temperatura ambiente las muestras están preparadas para su análisis por citometría de flujo, que se debe realizar antes de una hora.

2.4.3.5. Determinaciones.

Con la muestra de sangre de cada paciente se realizan tres determinaciones, empleando los anticuerpos monoclonales correspondientes (tabla 19).

Tabla 19. Panel de Anticuerpos monoclonales utilizados.

Antígeno	Ac monoclonal	Especificidad
IgG _{2a}	Control negativo	IgG _{2a}
CD4 / CD8 / CD3	OKT-4 / OKT-8 / OKT-3	T-4 / T-8 / T-3
CD16 / CD19 / CD3	NK / OK B-19 / OKT3	NK / B / T-3

1) Determinación del Control negativo.

Para esta determinación se empleó el reactivo ORTHO[®] TRIO Control (FITC / PE / CyP), que se proporciona como una mezcla de tres anticuerpos monoclonales murinos conjugados con los fluorocromos isocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE), y el tándem ciano-5-ficoeritrina (CyP).

Estos anticuerpos no son reactivos contra antígenos de superficie leucocitarios humanos. Se emplea para determinar un recuento absoluto de linfocitos a partir de dispersión de luz (RT-SC frente a FW-SC), para identificar marcajes no específicos en las ventanas electrónicas (RT-SC frente a fluorescencia), y para establecer las regiones negativas/ positivas en los citogramas de fluorescencia bicolors. Por tanto, se trata de un control de calidad, cuya negatividad garantiza la ausencia de autofluorescencia en la muestra.

2) Determinación de CD3, CD4 y CD8.

Para esta determinación utilizamos el reactivo ORTHO[®] TRIO CD4 / CD8 / CD3 (FITC / PE / CyP), suministrado como una mezcla de tres anticuerpos monoclonales murinos unidos a sus correspondientes fluorocromos:

CD4 – conjugado con isocianato de fluoresceína (FITC).

CD8 – conjugado con ficoeritrina (PE).

CD3 – conjugado con el tándem ciano-5-ficoeritrina (CyP).

Con este reactivo, simultáneamente identificamos y enumeramos linfocitos CD3+, linfocitos CD3+CD4+ y linfocitos CD3+CD8+ humanos en sangre total mediante citometría de flujo.

Primeramente se aísla la población de linfocitos mediante los detectores de tamaño (FW-SC) y granularidad (RT-SC), y posteriormente analizamos la captación de fluorescencia dependiente de los diferentes anticuerpos monoclonales marcados con fluorocromos.

3) Determinación de CD3, CD16 y CD19.

Para esta determinación utilizamos el reactivo ORTHO[®] TRIO CD16 / CD19 / CD3 (FITC / PE / CyP), suministrado como una mezcla de tres anticuerpos monoclonales murinos unidos a sus correspondientes fluorocromos:

CD16 – conjugado con isocianato de fluoresceína (FITC).

CD19 – conjugado con ficoeritrina (PE).

CD3 – conjugado con el tándem ciano-5-ficoeritrina (CyP).

Con este reactivo, simultáneamente identificamos y enumeramos linfocitos T (CD3+CD16-), linfocitos NK (CD16+CD3-) y linfocitos B (CD19+CD3-) humanos en sangre total mediante citometría de flujo.

Inicialmente se aísla la población de linfocitos mediante los detectores de dispersión (FW-SC y RT-SC), y posteriormente analizamos la captación de fluorescencia de los diferentes anticuerpos monoclonales marcados con fluorocromos.

2.4.3.6. Instrumentos: equipo y reactivos.

Los ensayos de citometría de flujo se realizaron con los siguientes instrumentos:

a) Citómetro de flujo láser CYTORON ABSOLUTE de ORTHO[®] (Diagnostic, Florida, USA). Incorpora láser de argón y sistema de detección tricolor (nº de referencia 310100).

b) Software Immuno Count II de ORTHO[®] (nº de referencia 310490).

c) Sistema informático inmunológico de ORTHO[®] (nº de referencia 310340 y 310330).

d) Kit de calibración ORTHO[®]-Count (nº de referencia 310300).

e) Anticuerpos monoclonales murinos ORTHO[®] TRIO:

- ORTHO[®] TRIO Control (nº de referencia 778 220).

- ORTHO[®] TRIO CD4/CD8/CD3 (nº de referencia 778 210).

- ORTHO[®] TRIO CD16/CD19/CD3 (nº de referencia 778 230).

El coeficiente de variación de la prueba osciló entre el 5-10 %.

3. Método estadístico y soporte informático.

Con objeto de alcanzar los objetivos de la tesis se llevó a cabo un análisis estadístico con las siguientes fases:

1. Para todas las variables del estudio se realizó una *estadística descriptiva* atendiendo a la distribución de las variables y a medidas básicas de resumen, y esto para cada uno de los grupos.

2. Con objeto de establecer la comparación de la evolución a lo largo del año en los tres grupos se llevó a cabo el *análisis del diseño factorial* de los tres factores:

a) el grupo, con tres niveles que son el grupo Estudio, el grupo CyA y el grupo AZA,

b) el instante con cinco niveles (determinación basal, meses 1º, 3º, 6º y 12º), y

c) el paciente con diferente número en cada grupo.

Los factores grupo e instante eran de efectos fijos y cruzados entre sí, mientras que el factor “paciente” era de efectos aleatorios y estaba anidado en el grupo. El problema que planteó el análisis del diseño fue que faltaron observaciones en diferentes pacientes, y aunque esta circunstancia se debió al azar, imposibilitaba el uso de los modelos lineales clásicos. Por ello tuvimos que emplear para el análisis del diseño modelos GEE (Generalized Estimable Equations).

En el análisis se tuvo en cuenta en primer lugar si la interacción grupo-instante era significativa. Si ésta no lo era se comprobó si había diferencias entre grupos (que en ese caso serían iguales para cada instante), y si había diferencias entre instantes (que en ese caso serían iguales para los diferentes grupos). Si la interacción fue significativa (lo que ocurrió en la mayoría de los casos) nos vimos obligados a comparar los diferentes grupos instante a instante (lo que se hizo con un análisis de la varianza previo y posteriores comparaciones por parejas usando la metodología de Bonferroni) y la comparación entre instante grupo a grupo, lo que se hizo usando el diseño de medidas repetidas con el método GEE, y posteriores comparaciones de Tukey entre los diferentes instantes. En algunas situaciones, y en aras de la claridad de los resultados, se empleó la metodología de los “contrastes a posteriori” -ad hoc- para resolver problemas concretos del análisis; la penalización fue en ese caso del tipo Bonferroni.

Con objeto de homogeneizar las varianzas, hipótesis clave en los métodos que hemos empleado, se hicieron transformaciones de los datos, como el logaritmo neperiano y la raíz cuadrada, cuando fueron necesarias.

3. Para estudiar la relación entre distintas variables cuantitativas se empleó el coeficiente de correlación lineal simple de Pearson, previa nube de puntos, y el test de significación oportuno.

4. La comparación de las diferentes variables en función de algunas de las características de los pacientes incluidos en el estudio (AcVHC, antecedente de rechazo,...) se hizo empleando el test de comparación de medias para muestras independientes siguiendo la metodología de Student

si las varianzas eran iguales, o la de Welch si es que las varianzas eran distintas.

5. Para comparar las pendientes individuales de variación de la CrS en el grupo Estudio preMMF y postMMF se calcularon tales pendientes, y se hizo un test de comparación de medias con muestras apareadas usando la metodología de la t-Student para muestras apareadas.

6. Para establecer comparaciones entre variables cualitativas se empleó el test de la Chi-cuadrado, y cuando éste no fue aplicable (debido al escaso tamaño de los valores esperados) se emplearon los tests exactos oportunos: test de Fisher para tablas 2 x 2, y test exacto para tablas de contingencia.

7. Los resultados de los contrastes de hipótesis realizados son expresados en términos de cantidad experimental (F_{exp} , t_{exp} , A^2_{exp}), grados de libertad (g.l.) y significación del test bilateral, es decir, el valor de p. Se aceptó la hipótesis alternativa (H1), es decir, definimos la significación estadística, siempre y cuando “p” fue menor de 0,05. Esta regla se relajó ligerísimamente con niveles de significación superiores, pero muy próximos al 5%, cuando se observó una tendencia temporal de diferencias entre o intra-grupos.

La base de datos y los análisis se realizaron empleando un ordenador del tipo PC Pentium III (256 SDRAM), con software Window 98, Office 2000, y los paquetes estadísticos SPSS 9.0 y Statgraphics Plus.

IV. RESULTADOS

De las variables analizadas con seguimiento hubo pérdida de muestra en distintos instantes y grupos debido al azar (ya porque no se extrajera la muestra de sangre en el instante correspondiente, ya porque no se procesara por mala calidad de la misma). En los siguientes capítulos se detallan los resultados de los distintos análisis llevados a cabo.

1. Análisis de las características de la muestra.

A continuación se resumen las características de los trasplantados incluidos en el estudio, clasificados en tres grupos en función de la terapia inmunosupresora de mantenimiento: grupo Estudio, grupo control CyA y grupo control AZA.

1.1. Grupo Estudio.

Se analizaron 31 de los 34 trasplantados que se enrolaron en el grupo tratado con micofenolato mofetil, excluyendo a tres: dos por retirada del nuevo fármaco al mes 1º de seguimiento, uno de ellos por infección respiratoria bacteriana que cursó con leucopenia, y otro por intolerancia digestiva; el tercer paciente se excluyó debido a que, aunque completó el 6º mes del protocolo, falleció posteriormente con el diagnóstico de linfoma en la necropsia. A un paciente se le suspendió la droga, una vez completado el 6º mes de estudio, por sufrir infección cutánea severa, y participó con las determinaciones ofrecidas hasta ese momento. El resto de los trasplantados (n= 30) continuó con micofenolato mofetil una vez cerrado el estudio. Durante el seguimiento no se registraron efectos adversos, y en particular

digestivos, infecciosos o tumorales, achacables al nuevo fármaco que obligaran a reducir dosis o suspenderlo. No hubo ningún caso de rechazo agudo. En la tabla 20 se caracteriza la distribución de la muestra de trasplantados del grupo Estudio respecto a la dosis diaria de ciclosporina A y creatinina sérica en el instante basal. Se puede observar que el subgrupo mayoritario recibía dosis de CyA ≤ 4 mg/ Kg / día y cursaba con valores de CrS $> 1,41$ mg/ dL. En la tabla 21 se resumen las características del grupo Estudio.

Tabla 20. Frecuencia absoluta y relativa de los trasplantados renales del grupo Estudio según la dosis diaria de CyA y CrS en el instante basal.

		Dosis de CyA (mg/ Kg/ día)	
		≤ 4	> 4
CrS (mg/ dL)	$\leq 1,40$	8 (25,8 %)	0
	$> 1,41$	21 (67,7 %)	2 (6,4 %)

Tabla 21. Características de los trasplantados del grupo Estudio.

	frecuencia	%	media	DT	rango
Sexo: M / V	11 / 20	35,5 / 64,5			
Edad (años)			46,13	11,47	24 – 62
Tiempo desde TR al inicio del estudio (años)			3,77	2,26	1,07 – 8,39
Edad donante			38,2	17,44	12 – 65
Etiología de la Insuficiencia Renal					
Glomerular	13	41,9			
Intersticial	8	25,8			
Quístico	4	12,9			
Vascular	1	3,2			
Alport	1	3,2			
No filiada	4	12,9			
Nº TR: 1º / 2º	29 / 2	93,5 / 6,5			
Identidad HLA-DR entre D/ R					
1	25	80,6			
2	6	19,4			
Inducción con Ac antilinfocitarios					
GAL	20	64,5			
OKT3	7	22,6			
GAL / OKT3	3	9,7			
Ninguno	1	3,2			
Biopsia Renal	6	19,4			
Rechazo Agudo	2				
Rechazo Crónico	4				
Ag Hbs: - / +	30 / 1	96,8 / 3,2			
Ac VHC: - / +	20 / 11	64,5 / 35,5			
Tratº rHuEPO	1	3,2			
Tratº IECA	6	19,4			

*En todas las variables estudiadas n= 31, excepto en Edad del donante donde n= 19.

1.2. Grupo control CyA.

En este grupo no hubo ningún trasplantado tratado con IECA o rHuEPO, ni previo al estudio recibió tratamiento con azatioprina. No hubo ningún caso de rechazo agudo durante el seguimiento. En la tabla 22 se resumen las características de los trasplantados incluidos en este grupo.

Tabla 22. Características de los trasplantados incluidos en el grupo CyA*.

	frecuencia	%	media	DT	rango
Sexo: M / V	10 / 9	52,6 / 47,4			
Edad (años)			46,39	12,88	22 – 67
Tiempo desde TR a inicio del estudio (años)			5,22	2,87	1,21 – 11,14
Edad donante			23,6	11,18	9 – 45
Etiología de la Insuficiencia Renal					
Glomerular	7	36,8			
Intersticial	3	15,8			
Quístico	4	21,1			
Diabetes	1	5,3			
No filiada	4	21,1			
Nº TR: 1º / 2º	19 / 0	100 / 0			
Identidad HLA-DR entre D/ R					
1	10	52,6			
2	3	15,8			
desconocido	6	31,6			
Inducción con Ac antilinfocitarios					
GAL	13	68,4			
OKT3	4	21,1			
Desconocido	2	10,5			
Biopsia Renal	1	0,05			
Rechazo Agudo	0				
Rechazo Crónico	1				
Ag Hbs: - / +	30 / 1	96,8 / 3,2			
Ac VHC: - / +	8 / 11	42,1 / 57,9			

*En todas las variables estudiadas n= 19, excepto en Edad del donante donde n= 10.

1.3. Grupo control AZA.

En este grupo no hubo ningún paciente tratado con rHuEPO. Durante el seguimiento no constatamos caso alguno de rechazo agudo. En la tabla 23 se recogen las características de los trasplantados incluidos en el grupo control AZA.

Tabla 23. Características de los trasplantados incluidos en el grupo AZA*.

	frecuencia	%	media	DT	rango
Sexo: M / V	8 / 7	53,3 / 46,7			
Edad (años)			45,86	12,84	20 – 61
Tiempo desde TR a inicio estudio (años)			4,26	3,37	1,15 – 10,77
Edad donante			35,9	21,61	9 – 68
Etiología de la Insuficiencia Renal					
Glomerular	2	13,3			
Intersticial	6	40			
Quístico	3	20			
Diabetes	1	6,7			
No filiada	3	20			
Nº TR: 1º / 2º	14 / 1	93,3 / 7,7			
Identidad HLA-DR entre D/ R					
1	12	80			
2	2	13,3			
desconocido	1	6,7			
Inducción con Ac antilinfocitarios					
GAL	8	53,3			
OKT3	4	26,7			
Desconocido	3	20,0			
Biopsia Renal	4	26,6			
Rechazo Agudo	4				
Rechazo Crónico	0				
Ag Hbs: - / +	15 / 0	100 / 0			
Ac VHC: - / +	2 / 13	13,3 / 86,6			
Tratº IECA	1	6,7			

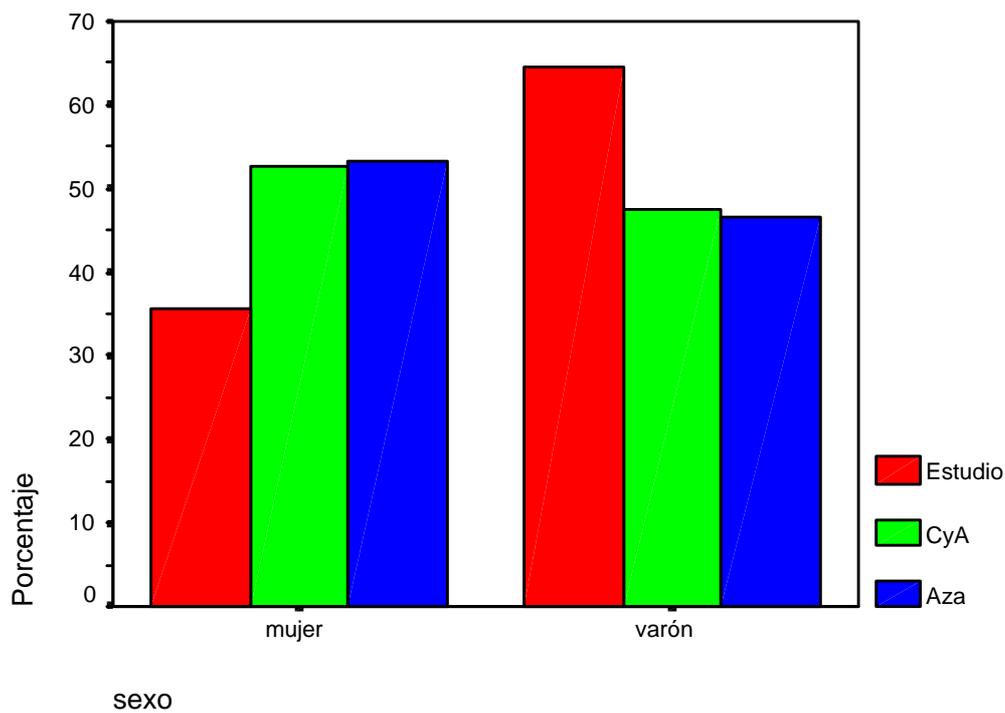
*En todas las variables estudiadas n= 15, excepto en Edad del donante donde n= 13.

1.4. Análisis de las características en los tres grupos de trasplantados.

1.4.1. Sexo.

No objetivamos diferencias significativas en cuanto a la proporción de hombres y mujeres en los tres grupos ($\chi^2_{exp} = 2,00$; 2 g.l.; $p = 0,37$; figura 5).

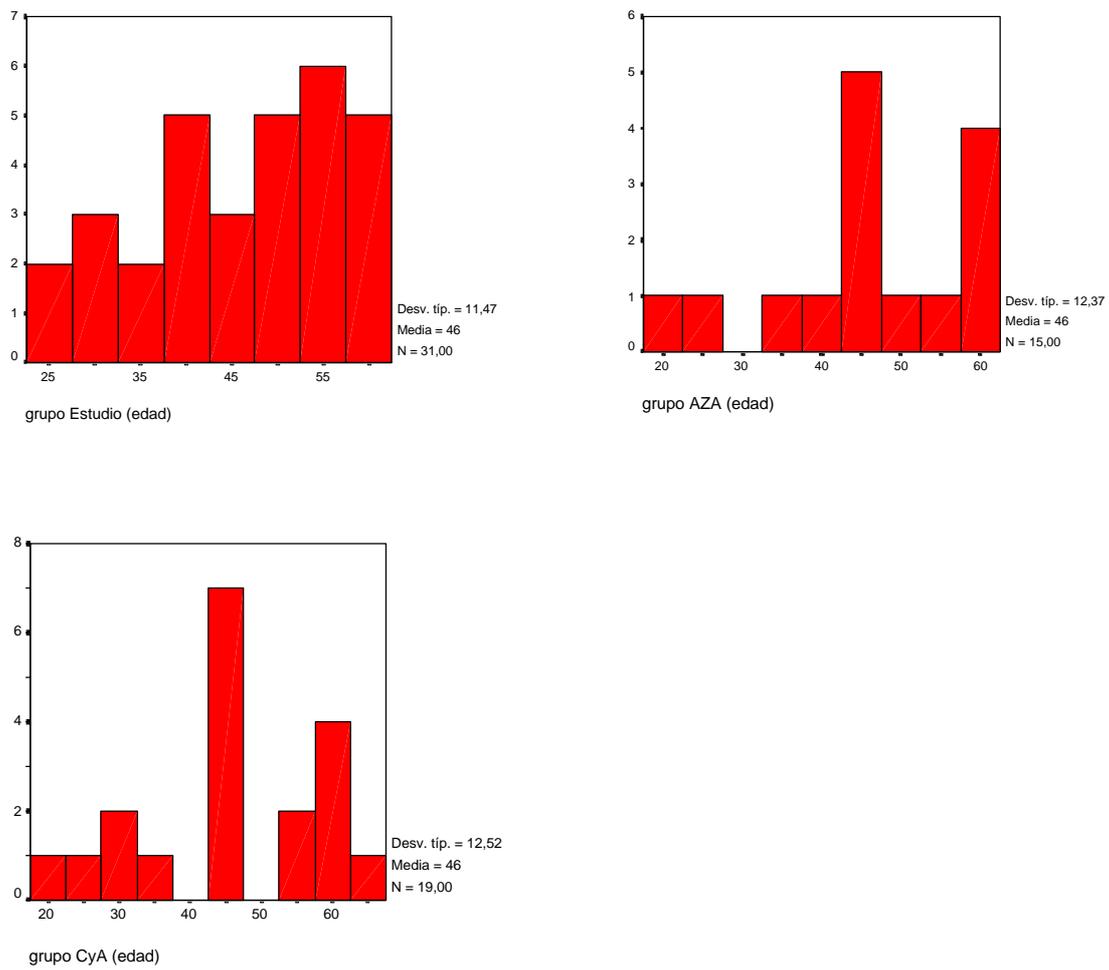
Figura 5. Distribución por sexo de los tres grupos.



1.4.2. Edad del paciente.

No se observaron diferencias en cuanto a la edad en los tres grupos ($F_{exp} = 0,01; (2, 60) g.l.; p = 0,99; \text{figura 6}$).

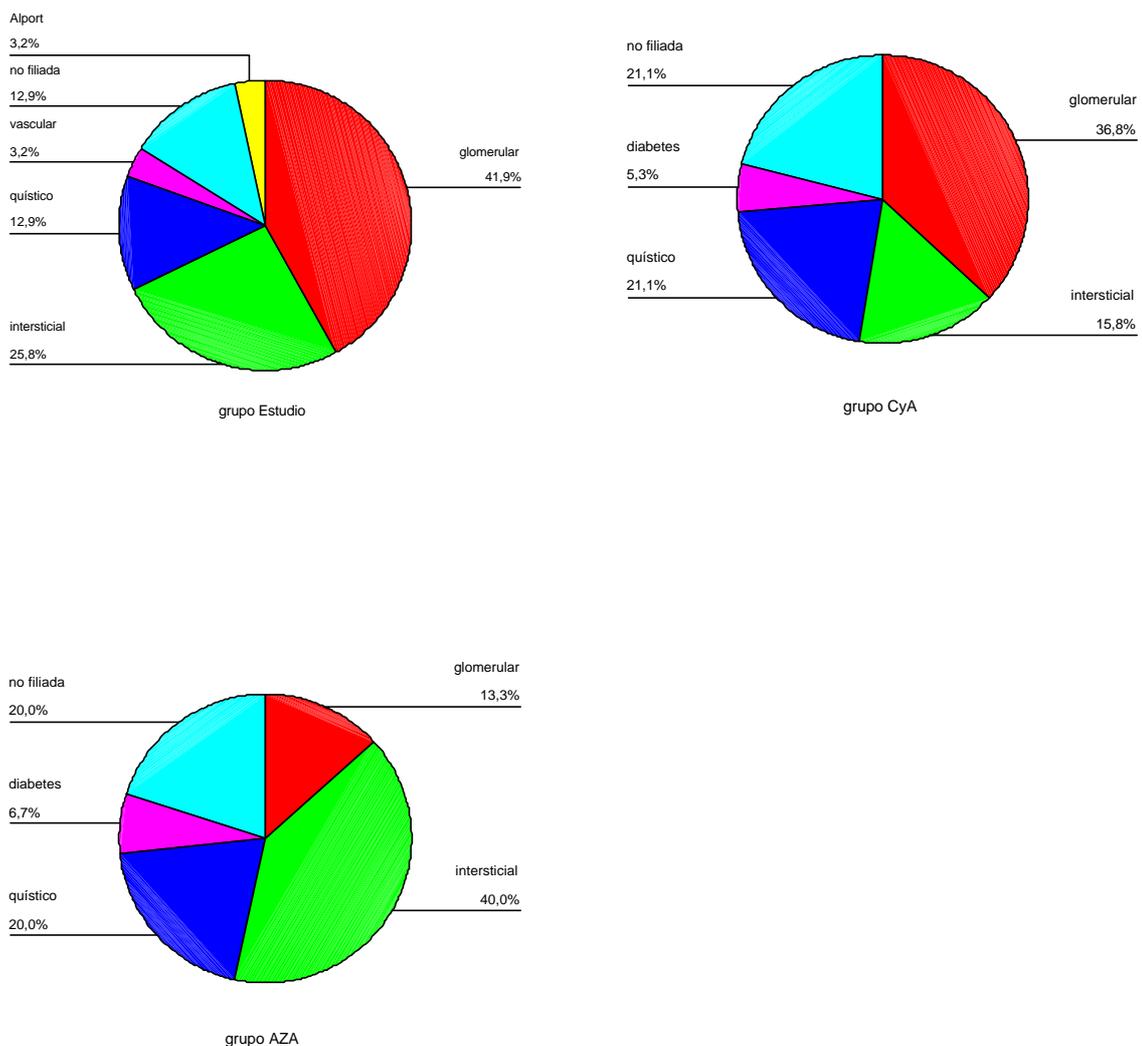
Figura 6. Distribución por edad del receptor en los tres grupos.



1.4.3. Etiología de insuficiencia renal.

Los porcentajes en cuanto a la causa de fallo renal en los tres grupos de trasplantados fueron semejantes ($p= 0,61$; figura 7), y en consonancia con las principales causas de insuficiencia renal observadas en los trasplantados de nuestro centro (periodo Abril/1983-Mayo/2001, $n= 606$): glomerular 31,35 %, intersticial 17,66 %, quística 12,05 %, no filiada 14,85 %, vascular 8,08 %, diabetes 4,29 %, sistémica 3,47 %, Alport-nefronoptosis 2,8 %, y otras 5,45 % (Bravo, datos no publicados).

Figura 7. Distribución etiológica de la insuficiencia renal por grupos.



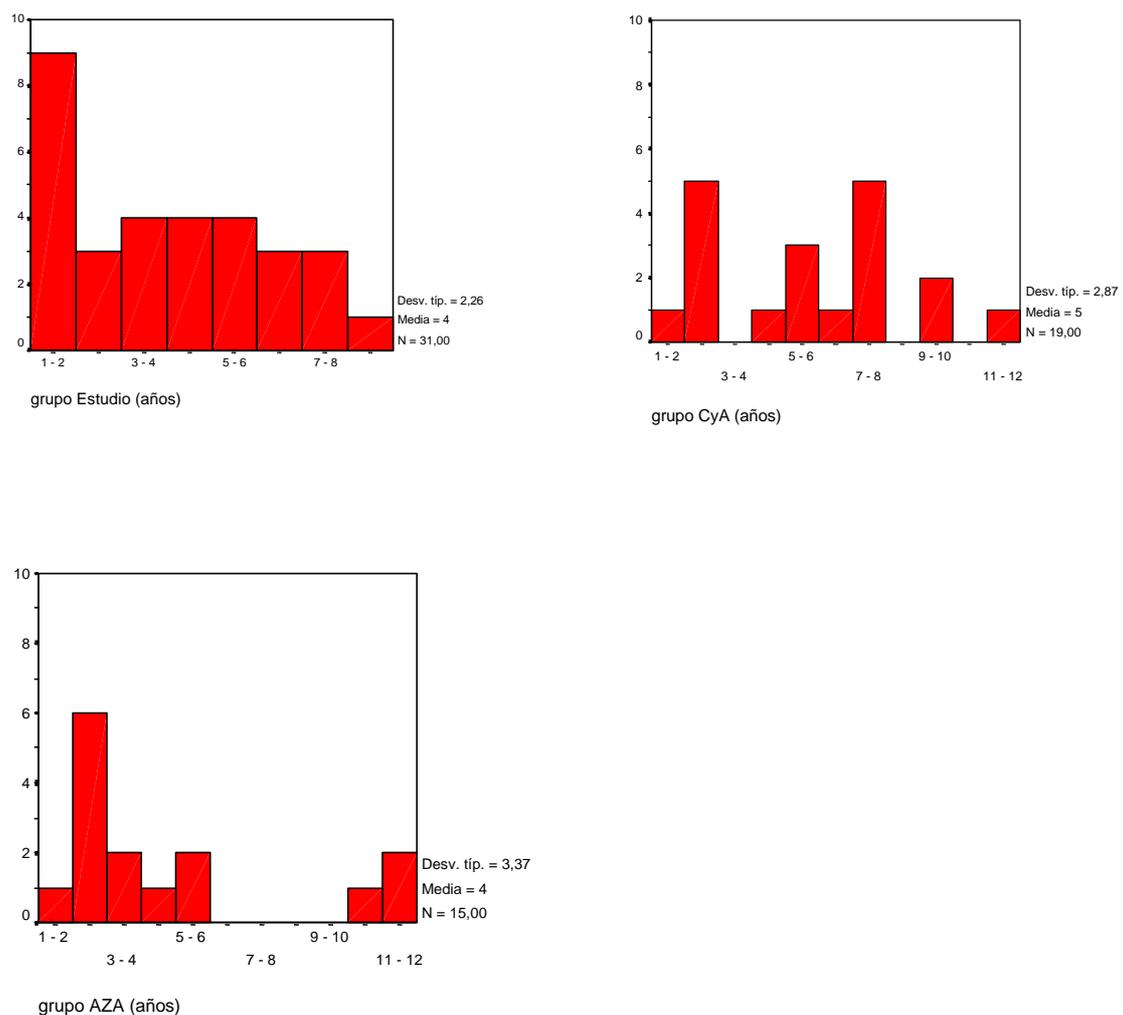
1.4.4. Número de trasplante renal.

La frecuencia con la que los tres grupos de pacientes recibieron un primer injerto renal resultó semejante ($p= 0,17$).

1.4.5. Tiempo desde el trasplante renal hasta el inicio del estudio.

No encontramos diferencias significativas entre grupos respecto al tiempo desde el trasplante al comienzo del estudio ($F_{exp}= 1,68$; (2;62) g.l.; $p= 0,19$; figura 8).

Figura 8. Distribución del tiempo de evolución del trasplante renal antes de iniciar el estudio en los tres grupos.



1.4.6. Identidades HLA-DR compartidas entre donante (D) y receptor (R).

Los porcentajes con la que los tres grupos compartieron con el donante dos identidades en los loci HLA-DR fueron semejantes ($p= 0,96$).

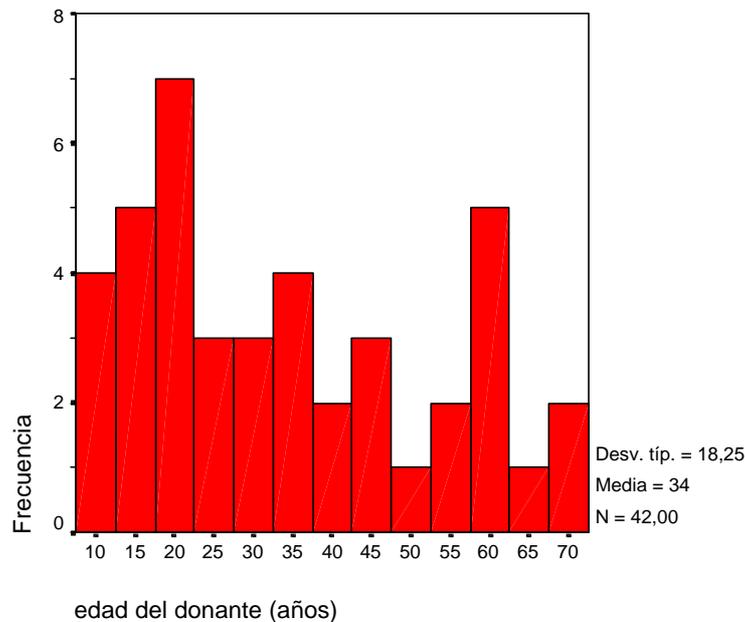
1.4.7. Inducción con anticuerpos antilinfocitarios.

Los porcentajes de pacientes en los tres grupos tratados con GAL u OKT3 en el periodo de inducción fueron similares ($A^2_{exp}= 10,367$; g.l. 8; $p= 0,24$).

1.4.8. Edad del donante.

No se observaron diferencias en cuanto a la edad media del donante en los tres grupos ($F_{exp}= 2,331$; (2; 39) g.l.; $p= 0,11$). En la figura 9 se detalla la distribución por edad del donante considerando los tres grupos de manera conjunta.

Figura 9. Distribución por edad del donante renal.



En resumen, no observamos diferencias entre los grupos respecto a las características basales. No obstante, se puede apreciar que el tiempo medio de evolución del trasplante renal en el grupo Estudio fue inferior al de los controles, y aún no siendo significativa el test no descartamos que tal circunstancia pudiera tener algún efecto.

2. Análisis de la evolución del peso en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

El test global instante-grupo fue significativo ($F_{\text{exp}} = 8,63$; (2; 60) g.l., $p < 0,05$), por lo que posteriormente se realizaron las comparaciones de los tres grupos en cada instante, así como las comparaciones entre los distintos instantes dentro de cada grupo. En la tabla 24 se detallan las medidas básicas de resumen para los diferentes grupos e instantes.

Tabla 24. Peso: Medidas de resumen descriptivo según grupo e instante.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	31	76,3	12,73	50,0	99,0
	CyA	19	66,6	11,82	39,7	87,0
	AZA	15	72,7	14,05	54,5	98,5
1	Estudio	31	76,0	12,71	50,0	99,0
	CyA	15	68,6	10,45	53,0	87,0
	AZA	15	72,6	14,22	53,0	99,0
3	Estudio	31	76,0	12,62	49,0	100,0
	CyA	19	66,7	11,82	40,2	86,1
	AZA	15	72,5	14,54	51,4	101,0
6	Estudio	31	75,5	12,60	48,0	100,5
	CyA	19	66,0	11,84	39,2	85,6
	AZA	15	72,4	14,58	51,5	102,5
12	Estudio	31	75,4	12,79	49,7	98,3
	CyA	16	66,5	12,84	40,0	86,0
	AZA	10	69,0	11,27	53,0	88,5

2.1. Peso: Comparaciones entre grupos instante a instante.

Los siguientes resultados se extrajeron de las tablas 25 y 26.

a) En el momento basal se observó que los tres grupos partían de distinto peso ($F_{\text{exp}} = 3,33$; (2; 62) g.l.; $p = 0,042$). Tras las comparaciones por parejas detectamos diferencias sólo entre los grupos Estudio versus CyA

($p < 0,05$), que consistieron en que, en promedio, el peso de los pacientes del grupo CyA fue inferior al observado en el grupo Estudio. El resto de las comparaciones no fueron significativas.

b) En el mes 1° de seguimiento no hubo diferencias entre los grupos ($F_{\text{exp}} = 1,78$; (2; 58) g.l.; $p = 0,18$).

c) En los meses 3°, 6° y 12° de seguimiento observamos diferencias significativas (o muy limítrofes) entre grupos en el mismo sentido que en el momento basal.

Tabla 25. Peso: Comparación global de grupos instante a instante.

		F_{exp}	g.l.	p
0	inter-grupos	3,326	2	0,042
	intra-grupo		62	
1	inter-grupos	1,779	2	0,178
	intra-grupo		58	
3	inter-grupos	3,069	2	0,054
	intra-grupo		62	
6	inter-grupos	3,205	2	0,047
	intra-grupo		62	
12	inter-grupos	2,939	2	0,061
	intra-grupo		54	

Tabla 26. Peso: Comparación por parejas de los grupos instante a instante.

		p
0	Estudio / CyA	0,037
	Estudio / AZA	1,000
	AZA / CyA	0,522
3	Estudio / CyA	0,048
	Estudio / AZA	1,000
	AZA / CyA	0,594
6	Estudio / CyA	0,042
	Estudio / AZA	1,000
	AZA / CyA	0,457
12	Estudio / CyA	0,077
	Estudio / AZA	0,496
	AZA / CyA	1,000

2.2. Peso: Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.

2.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.

No encontramos diferencias de peso en los distintos instantes ($F_{exp} = 0,18$; (4;120) g.l.; $p = 0,88$), ni diferencias atribuibles al sexo ($p > 0,05$).

2.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.

No encontramos diferencias de peso en los distintos instantes ($F_{exp} = 1,18$; (4; 65) g.l.; $p = 0,33$). En este grupo observamos que el peso medio del subgrupo femenino fue inferior al de los varones en todos los instantes (tabla 27).

Tabla 27. Peso: Comparación en el grupo CyA según sexo.

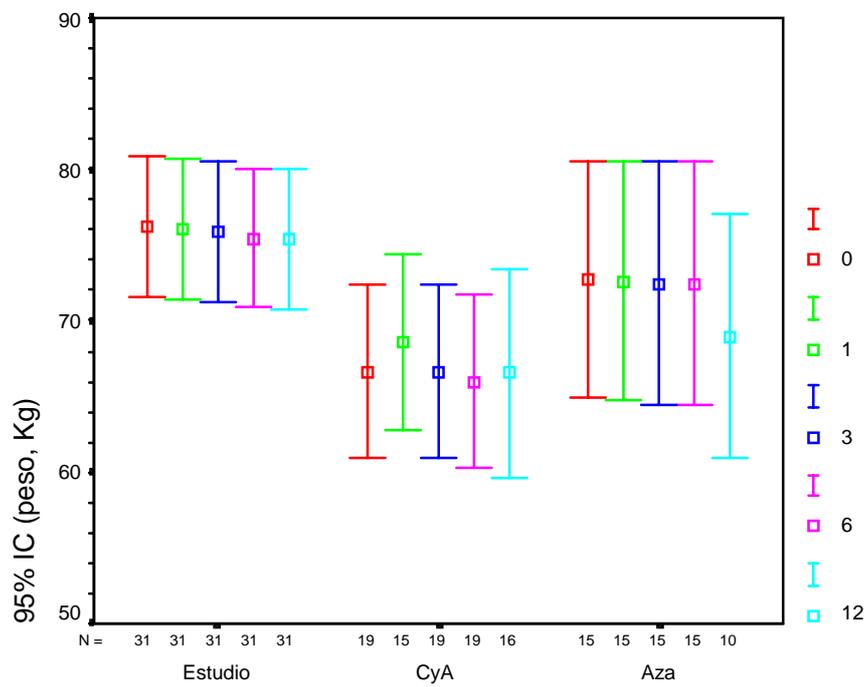
	sexo	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	mujer	10	60,0	12,74	3,289	10,96	< 0,01
	varón	9	73,9	4,03			
mes 1°	mujer	7	62,6	12,38	2,302	7,26	0,053
	varón	8	73,9	4,29			
mes 3°	mujer	10	59,8	12,40	3,498	11,13	< 0,01
	varón	9	74,3	4,09			
mes 6°	mujer	10	59,5	12,75	3,202	11,43	< 0,01
	varón	9	73,2	4,51			
mes 12°	mujer	9	59,8	13,42	3,254	9,81	< 0,01
	varón	7	75,2	4,06			

2.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.

No encontramos diferencias de peso en los distintos instantes ($F_{exp} = 0,36$; (4; 51) g.l.; $p = 0,84$), ni diferencias atribuibles al sexo ($p > 0,05$).

En resumen, el peso medio del grupo Estudio tendió a ser superior al de los grupos CyA y AZA, con significación limítrofe en algunos instantes (figura 10). Por otra parte, el peso medio se mantuvo estable en cada grupo en los distintos instantes. En cuanto al sexo, el peso medio resultó semejante entre mujeres y varones de los grupos Estudio y AZA, si bien las féminas del grupo CyA ofrecieron un peso medio inferior al de los varones en todos los instantes.

Figura 10. Evolución del peso durante el seguimiento en los tres grupos.



3. Análisis de la evolución de la dosis diaria de los inmunosupresores empleados y los niveles valle de CyA.

3.1. Análisis de la evolución de la dosis diaria de prednisona y las comparaciones entre grupos.

La interacción instante-grupo fue significativa ($F_{\text{exp}} = 6,81; (12; 243)$ g.l.; $p < 0,001$). Por ello realizamos las comparaciones tiempo a tiempo entre grupos, y entre tiempos dentro de cada grupo. En la tabla 28 se resume la estadística descriptiva de la variable por grupos y tiempos.

Tabla 28. Dosis diaria de Prednisona: Medidas descriptivas de resumen grupo-instante.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	31	0,124	3,25 E-2	0,05	0,20
	CyA	19	0,116	4,71 E-2	0,07	0,25
	AZA	15	0,105	4,89 E-2	0,01	0,17
1	Estudio	31	0,124	3,74 E-2	0,05	0,20
	CyA	15	0,105	3,54 E-2	0,07	0,18
	AZA	15	0,111	3,99 E-2	0,06	0,17
3	Estudio	31	0,122	3,79 E-2	0,05	0,20
	CyA	19	0,112	4,84 E-2	0,07	0,25
	AZA	15	0,110	3,70 E-2	0,06	0,17
6	Estudio	31	0,119	3,67 E-2	0,05	0,20
	CyA	19	0,111	4,74 E-2	0,07	0,25
	AZA	15	0,110	3,80 E-2	0,06	0,17
12	Estudio	31	0,112	3,86 E-2	0,05	0,20
	CyA	16	0,099	4,69 E-2	0,06	0,25
	AZA	10	0,118	3,68 E-2	0,06	0,17

3.1.1. Dosis diaria de Prednisona: Comparaciones entre grupos instante a instante.

De la tabla 29 se deduce que no hubo diferencias entre grupos en ninguno de los instantes.

Tabla 29. Dosis diaria de prednisona: Comparación global de grupos instante a instante.

		F_{exp}	g.l.	p
0	inter-grupos intra-grupo	1,061	2 62	0,352
1	inter-grupos intra-grupo	1,673	2 59	0,197
3	inter-grupos intra-grupo	0,612	2 62	0,546
6	inter-grupos intra-grupo	0,359	2 62	0,700
12	inter-grupos intra-grupo	0,787	2 54	0,460

3.1.2. Dosis diaria de Prednisona: Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.

3.1.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.

El test global entre instantes fue significativo ($F_{exp} = 4,79$; (4; 120) g.l.; $p < 0,01$), observando que la dosis de prednisona administrada en el mes 12° fue inferior a las previas ($p < 0,05$).

3.1.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.

Tras realizar el test global observamos diferencias de dosis de prednisona entre instantes ($F_{exp} = 4,96$; (4; 66) g.l.; $p < 0,01$): la dosis administrada en el mes 12° fue inferior a las previas ($p < 0,001$).

3.1.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.

No hubo diferencias entre instantes respecto a la dosis diaria de prednisona ($F_{exp} = 0,29$; (4; 51) g.l.; $p = 0,88$).

3.2. Análisis de la evolución de la dosis diaria de ciclosporina A y de las comparaciones entre grupos.

La interacción global grupo-instante fue significativa ($F_{\text{exp}} = 4,33$; (12; 241) g.l.; $p < 0,001$). Por ello realizamos las comparaciones por grupos instante a instante, y entre instantes dentro de cada grupo. El resumen descriptivo se expresa en la tabla 30.

Tabla 30. Dosis diaria de CyA: Medidas descriptivas de resumen según grupo e instante.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	31	3,14	0,639	1,76	4,65
	CyA	19	3,47	0,619	2,30	4,28
	AZA	15	3,44	1,097	1,94	5,24
1	Estudio	31	3,06	0,625	1,72	4,43
	CyA	16	3,42	0,619	2,30	4,25
	AZA	15	3,47	1,037	1,94	5,32
3	Estudio	31	3,05	0,636	1,74	4,37
	CyA	19	3,39	0,635	1,90	4,25
	AZA	15	3,39	1,034	1,94	5,44
6	Estudio	31	3,01	0,679	1,76	4,42
	CyA	19	3,38	0,639	1,92	4,29
	AZA	15	3,38	0,999	2,02	5,21
12	Estudio	31	2,88	0,664	1,52	4,50
	CyA	16	3,20	0,689	1,86	4,20
	AZA	10	3,72	0,917	1,98	5,08

3.2.1. Dosis diaria de CyA: Comparaciones entre grupos instante a instante.

De la tabla 31 se desprende que las únicas diferencias se establecen en el 12º mes de seguimiento ($F_{\text{exp}} = 5,31$ (2; 54) g.l. $p = 0,008$), donde observamos que la dosis de ciclosporina A que se administró al grupo Estudio fue inferior a la empleada en el grupo AZA ($p = 0,007$). No

encontramos diferencias en las otras comparaciones (AZA versus CyA: $p=0,255$; Estudio versus CyA: $p=0,427$).

Tabla 31. Dosis diaria de ciclosporina A: Comparación global de medias entre grupos instante a instante.

		F_{exp}	g.l.	p
0	inter-grupos	1,424	2	0,248
	intra-grupo		62	
1	inter-grupos	2,099	2	0,132
	intra-grupo		59	
3	inter-grupos	1,803	2	0,173
	intra-grupo		62	
6	inter-grupos	1,845	2	0,167
	intra-grupo		62	
12	inter-grupos	5,312	2	0,008
	intra-grupo		54	

3.2.2. Dosis diaria de ciclosporina A: Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.

3.2.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.

En el test global se objetivaron diferencias significativas entre instantes ($F_{exp}=9,94$; (4; 120) g.l.; $p<0,001$). De las comparaciones por parejas se objetivó que la dosis administrada al 12° mes fue significativamente inferior al resto de los valores en los distintos instantes ($p<0,01$). Las otras comparaciones fueron más erráticas, pero separando el basal de los otros tres instantes se obtuvo significación ($p<0,05$) en el sentido de que la dosis basal media fue superior a las dosis administradas en los tiempos 1° a 6° mes.

3.2.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.

El test global resultó significativo ($F_{exp} = 10,42$; (4; 66) g.l.; $p < 0,001$). En las posteriores comparaciones por parejas se obtuvo que al 12º mes la dosis media de ciclosporina A administrada fue inferior respecto al resto de los tiempos ($p < 0,01$). Así mismo, comprobamos que la dosis basal y mes 1º, de manera conjunta, fue mayor a la administrada en los meses 3º y 6º ($p < 0,05$).

3.2.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.

El test global no fue significativo ($F_{exp} = 1,55$; (4; 51) g.l.; $p = 0,20$).

3.3. Análisis de la evolución de los niveles valle de ciclosporina A en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

El test global grupo-instante fue significativo ($F_{exp} = 6,38$; (12; 240) g.l.; $p < 0,001$), por lo que realizamos las comparaciones por grupos instante a instante, y dentro de cada grupo entre los distintos instantes. En la tabla 32 se recogen las medidas descriptivas de la variable en los tres grupos.

Tabla 32. Nivel valle de ciclosporina A: Medidas descriptivas de resumen según grupo-instante.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	31	182,0	42,41	82	250
	CyA	19	195,1	41,21	108	278
	AZA	15	162,9	41,31	105	247
1	Estudio	31	182,2	35,03	106	270
	CyA	8	189,6	30,49	129	221
	AZA	8	148,8	18,27	114	170
3	Estudio	31	179,1	43,62	95	245
	CyA	17	170,0	35,17	104	248
	AZA	13	159,5	62,28	76	298
6	Estudio	30	186,9	99,04	97	674
	CyA	19	183,5	41,48	100	260
	AZA	15	154,9	27,82	93	198
12	Estudio	31	167,7	35,56	121	271
	CyA	16	171,6	34,69	119	246
	AZA	10	165,8	27,10	120	208

3.3.1. Nivel valle de ciclosporina A: Comparaciones entre grupos instante a instante.

De las comparaciones realizadas entre grupos (tabla 33) la única que resultó significativa fue la del mes 1º ($F_{exp} = 4,09$; (2; 44) g.l.; $p = 0,024$). Observamos que el nivel valle medio de ciclosporina A en el grupo AZA fue menor que en los otros grupos (Estudio versus AZA, $p = 0,036$; CyA versus AZA, $p = 0,044$). No hubo diferencias entre los grupos Estudio versus CyA ($p = 1,00$).

Tabla 33. Nivel valle de ciclosporina A: Comparación global de medias entre grupos instante a instante.

		F_{exp}	g.l.	p
0	inter-grupos intra-grupo	2,497	2 62	0,091
1	inter-grupos intra-grupo	4,085	2 44	0,024
3	inter-grupos intra-grupo	0,864	2 58	0,427
6	inter-grupos intra-grupo	1,020	2 61	0,367
12	inter-grupos intra-grupo	0,104	2 54	0,901

3.3.2. Nivel valle de ciclosporina A: Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.

No hubo diferencias entre instantes en cada uno de los grupos evaluados (tabla 34).

Tabla 34. Nivel valle de CyA: Test entre instantes dentro de cada grupo.

	F_{exp}	g.l.	p
grupo Estudio	0,63	4; 42	0,64
grupo CyA	2,21	4; 56	0,08
grupo AZA	0,53	4; 42	0,71

3.4. Análisis de la evolución de la dosis diaria de micofenolato mofetil en el grupo estudio.

Al comparar la dosis de micofenolato mofetil (gr/ día) el test global fue significativo ($F_{exp} = 432,55$; (4; 120) g.l.; $p < 0,001$). Las diferencias se establecieron entre el momento basal, donde no se administraba la droga, y el resto de los instantes, como era de esperar. Además se evidenció que la

dosis administrada al mes 1° fue inferior a la de los instantes posteriores ($p < 0,05$), que no se diferenciaron entre sí. En la tabla 35 se resume el estudio descriptivo de la variable.

Tabla 35. Dosis de micofenolato mofetil (gr/ día) en grupo Estudio: Medidas descriptivas de resumen.

Dosis de MMF	n	media	DT	mínimo	máximo
basal	31	0	0	0	0
mes 1°	31	1,63	0,364	1,00	2,00
mes 3°	31	1,94	0,170	1,50	2,00
mes 6°	31	1,90	0,271	1,00	2,00
mes 12°	31	1,98	0,227	1,00	2,50

Se comparó la dosis de micofenolato mofetil expresada en mg/ Kg/ día (tabla 36), con idénticos resultados a los expuestos.

Tabla 36. Dosis de micofenolato mofetil (mg/ Kg/ día) en el grupo Estudio: Medidas descriptivas de resumen.

Dosis de MMF	n	media	DT	mínimo	máximo
basal	31	0	0	0	0
mes 1°	31	22,23	6,981	11,36	40,00
mes 3°	31	26,35	5,786	15,50	40,82
mes 6°	31	26,12	6,553	11,70	41,67
mes 12°	31	27,05	5,927	11,59	40,24

3.5. Análisis de la evolución de la dosis diaria de azatioprina en el grupo AZA.

No encontramos diferencias de dosis de azatioprina administrada en los diferentes instantes ($F_{exp} = 0,73$; (4; 51) g.l.; $p = 0,57$). En la tabla 37 se

resume el estudio descriptivo de la variable dosis de azatioprina en el grupo AZA.

Tabla 37. Dosis diaria de Azatioprina: Medidas descriptivas de resumen.

Dosis de AZA	n	media	DT	mínimo	máximo
basal	15	1,18	0,361	0,56	1,97
mes 1°	15	1,14	0,408	0,56	2,00
mes 3°	15	1,17	0,400	0,57	2,05
mes 6°	15	1,14	0,398	0,56	2,07
mes 12°	10	1,07	0,311	0,62	1,70

En resumen, podemos señalar que las dosis empleadas de prednisona y ciclosporina A en los tres grupos han sido muy homogéneas (figura 11 y 12), con tendencia a la reducción durante el seguimiento en los grupos Estudio y CyA. El reajuste a la baja de esta última no ha repercutido de manera notoria sobre el nivel valle (figura 12). La dosis de azatioprina administrada al grupo AZA también ha sido homogénea (figura 14), mientras que en el grupo Estudio se puede comprobar cómo se ha introducido la nueva droga progresivamente en los primeros meses del estudio (figura 13).

Figura 11. Dosificación evolutiva media de prednisona en los tres grupos.

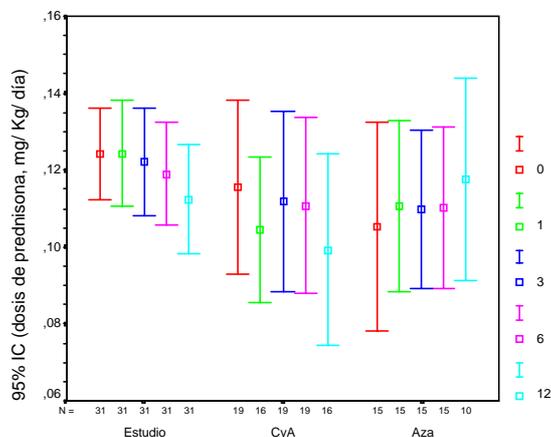


Figura 12. Evolución de la dosificación y nivel valle de CyA medios en los tres grupos.

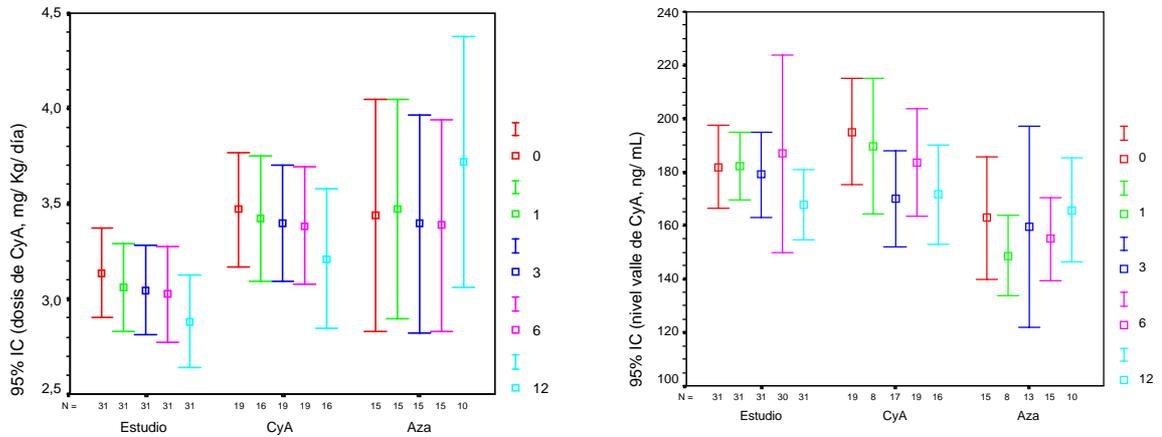


Figura 13. Dosificación evolutiva media de MMF en el grupo Estudio.

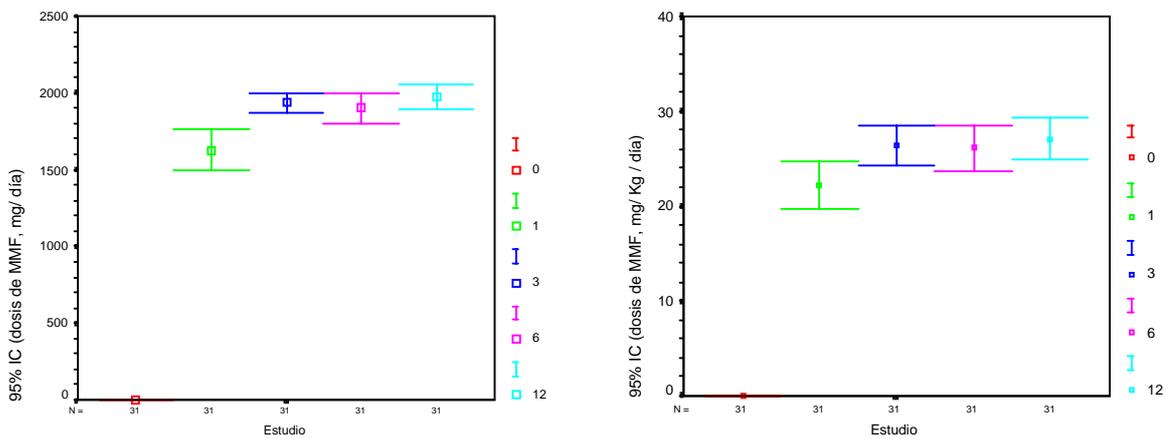
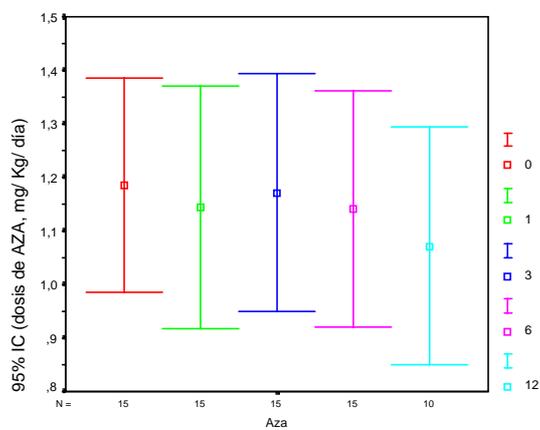


Figura 14. Dosificación evolutiva media de azatioprina en el grupo AZA.



4. Análisis de la evolución de la creatinina sérica en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos. Evolución de la pendiente de la creatinina sérica en el grupo estudio.

Hecho el test global, se comprobó que la interacción grupo versus instante fue significativa ($F_{\text{exp}} = 5,48$; (12; 256) g.l.; $p < 0,001$), por lo que posteriormente realizamos las comparaciones correspondientes. En la tabla 38 se resumen las medidas descriptivas de la variable en los tres grupos.

Tabla 38. Creatinina sérica: Medidas descriptivas de resumen según grupo e instante.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	31	1,77	0,455	1,1	3,1
	CyA	19	1,33	0,311	0,9	2,1
	AZA	15	1,68	0,567	1,0	2,9
1	Estudio	31	1,71	0,540	1,1	3,7
	CyA	13	1,30	0,349	0,9	2,0
	AZA	10	1,89	0,692	1,0	3,1
3	Estudio	31	1,65	0,449	1,0	2,8
	CyA	19	1,34	0,337	0,9	2,0
	AZA	15	1,74	0,684	0,9	3,1
6	Estudio	31	1,67	0,451	1,0	3,1
	CyA	19	1,34	0,269	0,9	2,1
	AZA	15	1,71	0,605	0,9	2,9
12	Estudio	31	1,70	0,413	1,0	2,9
	CyA	16	1,24	0,207	1,0	1,8
	AZA	9	1,71	0,595	0,8	2,8

4.1. Creatinina sérica: Comparaciones entre grupos instante a instante.

De las tablas 39 y 40 se extrajeron los siguientes resultados.

- a) En el instante inicial encontramos diferencias entre grupos ($F_{\text{exp}} = 5,84$; (2; 62) g.l.; $p < 0,01$): la CrS media del grupo CyA fue significativamente

menor que la del grupo Estudio ($p < 0,05$), y no llegó a diferenciarse de la CrS media del grupo AZA; no hubo diferencias entre los grupos Estudio versus AZA.

Al no establecerse diferencias entre los grupos Estudio y AZA, se realizó el contraste "a posteriori" entre estos dos últimos versus grupo CyA, observando una creatinina sérica media en el grupo CyA significativamente menor ($p < 0,05$).

b) En el mes 1° siguen apreciándose diferencias entre grupos ($F_{exp} = 4,00$; (2;51) g.l.; $p = 0,024$), y en las comparaciones por parejas se aprecian diferencias significativas (AZA versus CyA: $p = 0,034$) o cercanas a la significación (Estudio versus CyA: $p = 0,072$) en el sentido del resultado anterior.

c) Al mes 3° el test global encontró diferencias entre grupos ($F_{exp} = 3,43$; (2; 62) g.l.; $p = 0,039$), y las comparaciones por parejas mostraron tendencia a los resultados previos (Estudio versus CyA: $p = 0,098$; AZA versus CyA: $p = 0,063$).

d) Al 6° mes el test global fue significativo ($F_{exp} = 3,87$; (2; 62) g.l.; $p = 0,026$), y las comparaciones por parejas arrojaron el resultado anterior (Estudio versus CyA: $p = 0,05$; AZA versus CyA: $p = 0,06$).

e) Al 12° mes el test global entre grupos fue significativo ($F_{exp} = 7,35$; (2;53) g.l.; $p = 0,002$), y el comportamiento de las comparaciones por parejas fue semejante a los resultados previos.

Tabla 39. Creatinina sérica: Comparación global de medias entre grupos instante a instante.

		F_{exp}	g.l.	p
0	inter-grupos intra-grupo	5,843	2 62	0,005
1	inter-grupos intra-grupo	4,000	2 51	0,024
3	inter-grupos intra-grupo	3,426	2 62	0,039
6	inter-grupos intra-grupo	3,866	2 62	0,026
12	inter-grupos intra-grupo	7,354	2 53	0,002

Tabla 40. Creatinina sérica: Test entre grupos por parejas.

		p
0	Estudio / CyA	0,004
	Estudio / AZA	1,000
	AZA / CyA	0,077
1	Estudio / CyA	0,072
	Estudio / AZA	1,000
	AZA / CyA	0,034
3	Estudio / CyA	0,098
	Estudio / AZA	1,000
	AZA / CyA	0,063
6	Estudio / CyA	0,050
	Estudio / AZA	1,000
	AZA / CyA	0,060
12	Estudio / CyA	0,002
	Estudio / AZA	1,000
	AZA / CyA	0,022

4.2. Creatinina sérica: Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.

4.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.

El test no fue significativo ($F_{exp} = 2,20$; (4; 120) g.l.; $p = 0,073$), si bien se apreciaron indicios de significación entre instantes. Observadas las medias se partieron en dos grupos: hasta el mes 3° y a partir del mes 6°. La creatinina sérica media de los instantes basal, 1° y 3° fue superior al valor de la creatinina sérica media de los instantes 6° y 12° (test a “posteriori”, $p < 0,05$). Al considerar únicamente la CrS basal y en el mes 12°, observamos una reducción de la misma en el 45,16 % de los pacientes (14/31), no hubo variación en el 38,71 % (12/31), y se incrementó en el 19,35 % (6/31).

Se comparó la pendiente media mensual del movimiento de la creatinina sérica 12 meses antes y después del nuevo tratamiento (tabla 41). El test objetivó diferencias significativas entre ambas pendientes medias, consistente en un cambio de tendencia favorable de la función renal: antes del tratamiento hubo un ligero ascenso de la pendiente que se transformó en una ligera tendencia de descenso al 12° mes de seguimiento.

Tabla 41. Pendiente media mensual de la CrS 12 meses antes y después del tratamiento con MMF.

	n	media	DT	t_{exp}	g.l.	p
Pendiente preMMF	29	-0,0101	0,0245	2,073	28	0,048
Pendiente postMMF	29	+0,0055	0,0225			

4.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.

El test global no fue significativo ($F_{\text{exp}} = 0,44$ (4; 63) g.l. $p = 0,78$). Al considerar únicamente el valor de la creatinina sérica basal y al 12° mes no observamos variación de la misma (16/16).

4.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.

El test global no fue significativo ($F_{\text{exp}} = 1,35$ (4; 45) g.l. $p = 0,27$). Considerando la creatinina sérica basal y al 12° mes, en el 44,44 % no hubo variación, en el 44,44 % se redujo, y en el 11,11 % se incrementó.

A tenor de los presentes resultados podemos resumir que la función renal evolutiva del injerto fue distinta en los tres grupos (figura 15): por una parte, el grupo CyA partió de valores medios de creatinina sérica inferiores respecto a los grupos Estudio y AZA, que fueron bastante semejantes; por otra parte, en el grupo Estudio se observó un cambio de tendencia de la misma para mejorar durante el seguimiento (figura 16).

Figura 15. Evolución de la CrS en los grupos Estudio, CyA y AZA.

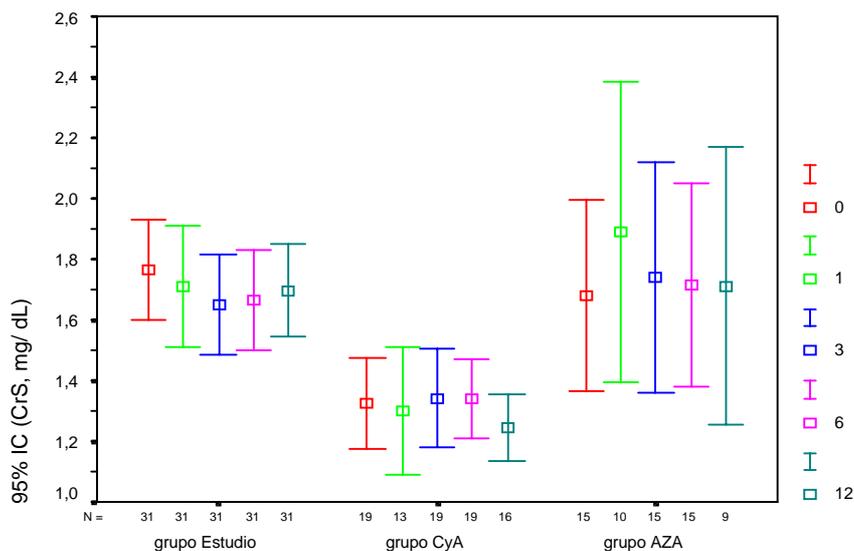
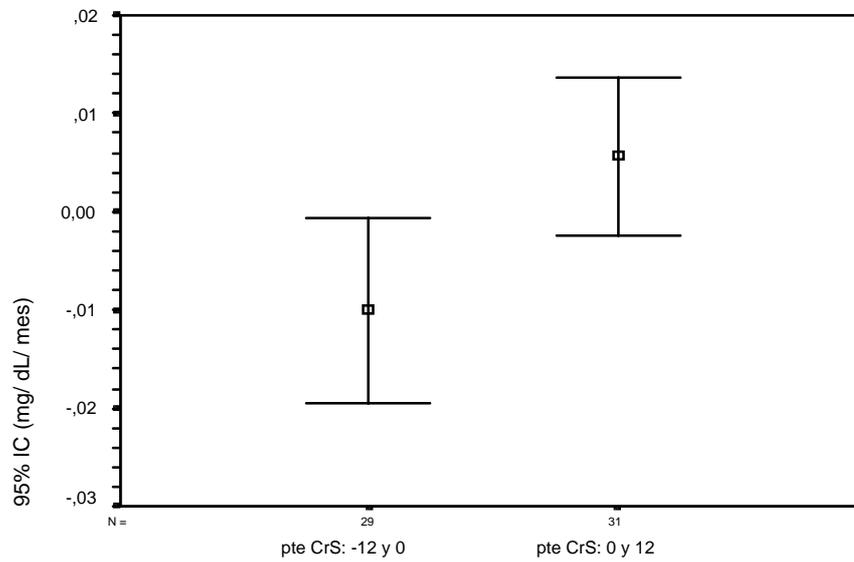


Figura 16. Pendiente de la CrS: preMMF y postMMF.



5. Análisis de la evolución del hemograma en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

5.1. Análisis de la evolución del recuento de hematíes en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

La interacción global grupo-instante no fue significativa ($F_{\text{exp}} = 0,97$; (12; 242) g.l.; $p = 0,48$), ni las diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 0,62$; (4; 242) g.l.; $p = 0,65$). Por último, las diferencias entre grupos fueron significativas ($F_{\text{exp}} = 3,18$; (2; 242) g.l.; $p = 0,043$): objetivamos que el recuento de hematíes en el grupo AZA fue inferior al de los otros grupos, y esto para todos los instantes ($p < 0,05$).

Como la interacción global no fue significativa, no hubo motivo por el que buscar diferencias dentro de cada grupo instante a instante. En la tabla 42 se detallan las medidas descriptivas de los tres grupos.

Tabla 42. Recuento de hematíes: Medidas descriptivas de resumen.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	25	4.484.800,0	524.357,70	3.120.000	5.870.000
	CyA	19	4.856.315,8	655.779,52	3.630.000	6.350.000
	AZA	14	4.307.857,1	451.240,66	3.540.000	5.100.000
1	Estudio	25	4.496.000,0	474.455,83	3.050.000	5.550.000
	CyA	13	4.738.461,5	542.476,51	4.000.000	5.680.000
	AZA	9	4.261.111,1	350.408,49	3.690.000	4.810.000
3	Estudio	25	4.502.400,0	585.756,49	2.870.000	5.690.000
	CyA	19	4.760.526,3	690.518,92	3.710.000	6.590.000
	AZA	14	4.272.142,9	329.315,81	3.580.000	4.800.000
6	Estudio	25	4.565.600,0	593.675,56	3.440.000	6.190.000
	CyA	19	4.774.210,5	658.063,79	3.560.000	6.570.000
	AZA	14	4.193.571,4	465.165,10	3.300.000	5.180.000
12	Estudio	25	4.548.000,0	581.248,66	3.500.000	6.400.000
	CyA	16	4.753.125,0	757.387,78	3.700.000	6.300.000
	AZA	8	4.183.750,0	479.670,65	3.400.000	4.800.000

5.2. Análisis de la evolución de la hemoglobina en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

La interacción global grupo-instante no fue significativa ($F_{\text{exp}} = 0,96$; (4;246) g.l.; $p = 0,50$). No encontramos diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 0,70$; (4;246) g.l.; $p > 0,50$) ni entre grupos ($F_{\text{exp}} = 0,63$; (2;246) g.l.; $p > 0,50$). Por todo ello no hubo motivos por los que realizar el resto de las comparaciones. En la tabla 43 se detallan las medidas descriptivas de los tres grupos.

Tabla 43. Hemoglobina: Medidas descriptivas de resumen.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	25	14,04	1,726	10,1	19,0
	CyA	19	14,56	1,524	11,5	17,1
	AZA	14	13,61	1,679	9,7	16,2
1	Estudio	25	13,97	1,612	9,7	18,3
	CyA	13	14,81	1,426	12,2	17,3
	AZA	9	13,74	1,851	9,7	15,9
3	Estudio	25	13,94	1,952	9,3	19,0
	CyA	19	14,49	1,495	12,0	16,8
	AZA	14	13,65	1,718	8,8	15,4
6	Estudio	25	14,05	1,792	10,8	19,2
	CyA	19	14,31	1,563	11,9	17,6
	AZA	14	13,44	1,768	9,2	15,6
12	Estudio	25	13,95	1,844	11,2	19,7
	CyA	16	13,95	2,208	9,5	18,2
	AZA	8	13,20	2,294	8,8	15,3

5.3. Análisis de la evolución del hematocrito en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

La interacción global grupo-instante no fue significativa ($F_{\text{exp}} = 0,71$; (4; 250) g.l.; $p = 0,58$). Tampoco se encontraron diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 0,39$; (4; 250) g.l.; $p = 0,83$), ni entre grupos ($F_{\text{exp}} = 0,43$; (2; 250) g.l.; $p = 0,65$). No hubo motivos por los que realizar el resto de las comparaciones. En la tabla 44 se detallan las medidas descriptivas de los tres grupos.

Tabla 44. Hematocrito: Medidas descriptivas de resumen.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	25	42,54	4,868	31,1	56,0
	CyA	19	43,56	4,125	37,2	51,3
	AZA	14	40,86	5,115	30,9	48,6
1	Estudio	25	42,25	4,485	30,0	54,0
	CyA	13	43,75	4,423	36,4	52,3
	AZA	9	40,90	5,219	29,8	46,8
3	Estudio	25	42,13	5,223	29,4	55,0
	CyA	19	42,88	3,773	35,9	48,7
	AZA	14	41,02	4,561	29,8	46,8
6	Estudio	25	42,24	5,051	33,8	57,8
	CyA	19	42,46	3,939	36,2	50,7
	AZA	14	39,99	4,863	31,0	46,3
12	Estudio	25	42,19	5,486	33,0	59,4
	CyA	16	42,15	5,859	32,0	54,0
	AZA	8	40,45	5,730	31,0	46,7

5.4. Análisis de la evolución del recuento plaquetario en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

La interacción global grupo-instante no fue significativa ($F_{\text{exp}} = 0,80$; (4; 246) g.l.; $p = 0,53$). Tampoco lo fueron las diferencias entre grupos ($F_{\text{exp}} = 1,01$; (2; 246) g.l.; $p = 0,37$), ni las diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 0,46$; (4; 246) g.l.; $p = 0,77$). Ante estos resultados no hubo motivos por los que realizar el resto de las comparaciones. En la tabla 45 se detallan las medidas descriptivas de los tres grupos.

Tabla 45. Recuento plaquetario: Medidas descriptivas de resumen.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	31	202.225,8	44.919,71	112.000	326.000
	CyA	19	213.000,0	64.085,01	113.000	355.000
	AZA	15	224.600,0	59.640,35	142.000	331.000
1	Estudio	31	210.258,1	56.231,05	110.000	361.000
	CyA	13	192.461,5	34.750,58	151.000	250.000
	AZA	9	212.111,1	51.425,78	154.000	288.000
3	Estudio	31	217.354,8	48.220,02	140.000	332.000
	CyA	19	220.526,3	54.261,06	143.000	343.000
	AZA	15	222.600,0	69.388,97	151.000	400.000
6	Estudio	31	205.967,7	49.499,82	110.000	324.000
	CyA	19	220.789,5	44.972,31	159.000	319.000
	AZA	15	227.933,3	56.610,78	141.000	338.000
12	Estudio	31	205.677,4	47.153,22	106.000	331.000
	CyA	16	225.062,5	69.424,75	143.000	382.000
	AZA	9	191.111,1	34.104,41	140.000	229.000

5.5. Análisis de la evolución del recuento leucocitario en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

La interacción global grupo-instante fue significativa ($F_{\text{exp}} = 3,21$; (12; 256) g.l.; $p < 0,001$), por lo que realizamos las comparaciones correspondientes. En la tabla 46 se detallan las medidas descriptivas de los tres grupos.

Tabla 46. Recuento Leucocitario: Medidas descriptivas de resumen.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	31	8.424,5	1.993,64	4.600	13.200
	CyA	19	6.935,8	1.802,97	4.080	10.840
	AZA	15	6.703,3	1.508,12	4.300	9.950
1	Estudio	31	7.799,4	1.626,68	5.200	12.600
	CyA	13	6.785,4	1.987,69	3.950	11.200
	AZA	10	7.017,0	1.476,17	4.300	9.490
3	Estudio	31	7.555,5	2.070,98	4.500	13.700
	CyA	19	7.456,8	2.365,93	3.710	14.300
	AZA	15	6.642,7	1.577,27	4.700	9.800
6	Estudio	31	7.752,9	2.164,77	3.600	12.300
	CyA	19	7.269,0	2.189,57	3.700	13.950
	AZA	15	6.856,0	1.172,19	5.300	9.330
12	Estudio	31	7.431,9	1.688,42	3.910	10.400
	CyA	16	6.861,9	1.758,71	4.250	11.430
	AZA	9	5.847,8	1.273,06	4.320	7.610

5.5.1. Recuento Leucocitario: Comparaciones entre grupos instante a instante.

De las tablas 47 y 48 se han extraído los siguientes resultados.

a) En el momento basal encontramos diferencias ($F_{\text{exp}} = 6,14$; (2; 62) g.l.; $p = 0,004$): el recuento leucocitario en el grupo Estudio fue superior al de los grupos AZA y CyA, quienes no difirieron entre sí.

b) En los meses 1º, 3º y 6º no hubo diferencias entre grupos ($p > 0,10$).

c) Al 12º mes las diferencias entre grupos ($F_{exp} = 3,30$; (2;53) g.l.; $p = 0,045$) pusieron de manifiesto que el recuento leucocitario del grupo Estudio fue superior al del grupo AZA, quedando el grupo CyA intermedio y sin diferenciarse de los otros dos.

Tabla 47. Recuento Leucocitario: Test de medias entre grupos instante a instante.

		F_{exp}	g.l.	p
0	inter-grupos	6,140	2	0,004
	intra-grupo		62	
1	inter-grupos	1,971	2	0,150
	intra-grupo		51	
3	inter-grupos	1,051	2	0,356
	intra-grupo		62	
6	inter-grupos	1,086	2	0,344
	intra-grupo		62	
12	inter-grupos	3,297	2	0,045
	intra-grupo		53	

Tabla 48. Recuento Leucocitario. Test de medias entre grupos por parejas.

		p
0	Estudio / CyA	0,022
	Estudio / AZA	0,012
	AZA / CyA	1,000
12	Estudio / CyA	0,803
	Estudio / AZA	0,043
	AZA / CyA	0,441

5.5.2. Recuento Leucocitario: Comparaciones entre instantes grupo a grupo.

El test global por grupo no demostró diferencias en los recuentos medios de leucocitos en los distintos instantes (tabla 49).

Como se puede comprobar en la tabla 46, no observamos ningún caso de leucopenia severa ($< 3500 /\text{mm}^3$) en el grupo tratado con micofenolato mofetil.

Tabla 49. Recuento Leucocitario: Tests entre instantes grupo a grupo.

	F_{exp}	g.l.	p
grupo Estudio	1,04	4; 120	0,39
grupo CyA	2,01	4; 63	0,10
grupo AZA	1,07	4; 45	0,38

Del presente bloque de resultados se puede sintetizar, por una parte, la ausencia de cambios evolutivos de la serie roja, recuentos plaquetario y leucocitario achacables a la nueva sustancia, micofenolato mofetil; por otra, el comportamiento evolutivo tan semejante del hemograma en los tres grupos de trasplantados a pesar del diferente régimen inmunosupresor de mantenimiento.

6. Análisis de la evolución del recuento linfocitario absoluto y de las subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica en cada grupo y las diferencias entre grupos.

6.1. Análisis de la evolución del recuento linfocitario absoluto en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

La interacción global grupo-instante fue significativa ($F_{\text{exp}} = 8,48$; (12; 260) g.l.; $p < 0,001$), por lo que se realizaron posteriormente las comparaciones correspondientes. En la tabla 50 se detallan las medidas descriptivas de los tres grupos.

Tabla 50. Recuento linfocitario absoluto: Medidas descriptivas de resumen.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	29	2.451,6	793,10	613	4.168
	CyA	19	2.689,1	786,73	1.589	4.087
	AZA	15	1.633,3	545,01	614	4.168
1	Estudio	29	2.721,5	1.217,44	910	7.180
	CyA	11	2.390,7	646,39	1.841	4.025
	AZA	14	2.004,4	493,39	1.445	2.783
3	Estudio	26	2.497,7	1.277,80	1.197	7.417
	CyA	17	2.608,9	794,15	1.413	3.887
	AZA	14	1.660,9	537,77	572	2.782
6	Estudio	31	2.154,6	813,37	613	3.858
	CyA	19	2.699,7	597,34	1.742	3.865
	AZA	10	1.821,3	612,71	988	3.263
12	Estudio	26	1.980,0	650,18	589	3.211
	CyA	15	2.359,1	786,65	1.225	3.973
	AZA	9	1.741,8	333,97	1.134	2.207

6.1.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.

De las tablas 51 y 52 se extrajeron los siguientes resultados.

- a) En el instante inicial objetivamos diferencias significativas entre los grupos ($F_{\text{exp}}= 9,26; (2; 60)$ g.l.; $p < 0,001$): el recuento linfocitario absoluto en el grupo AZA fue inferior al observado en los grupos Estudio y CyA ($p < 0,01$), sin que se establecieran diferencias entre estos últimos.
- b) Al mes 1° de seguimiento no se alcanzó la significación ($F_{\text{exp}}= 2,58; (2; 51)$ g.l.; $p= 0,086$).
- c) Al mes 3° las diferencias ($F_{\text{exp}}= 4,11; (2; 54)$ g.l.; $p= 0,022$) se detectaron nuevamente en el grupo AZA, que ofreció un recuento linfocitario absoluto menor que el de los otros grupos ($p < 0,05$).
- d) Al mes 6° encontramos diferencias ($F_{\text{exp}}= 5,71; (2; 57)$ g.l.; $p= 0,006$): el recuento linfocitario absoluto en los grupos Estudio y AZA fue menor que el observado en el grupo CyA ($p < 0,05$), sin detectar diferencias entre ellos.
- e) Al mes 12°, aunque entre los grupos sólo detectamos indicios de significación ($F_{\text{exp}}= 2,82; (2; 47)$ g.l.; $p= 0,07$), sí se puede observar cómo la media del recuento linfocitario absoluto del grupo CyA muestra una tendencia no significativa a ser superior al encontrado en los otros grupos.

Tabla 51. Recuento linfocitario absoluto: Comparación global de medias entre grupos instante a instante.

		F_{exp}	g.l.	p
0	inter-grupos intra-grupo	9,262	2 60	0,001
1	inter-grupos intra-grupo	2,578	2 51	0,086
3	inter-grupos intra-grupo	4,109	2 54	0,022
6	inter-grupos intra-grupo	5,705	2 57	0,006
12	inter-grupos intra-grupo	2,821	2 47	0,070

Tabla 52. Recuento linfocitario absoluto: Test entre grupos por parejas.

		p
0	Estudio / CyA	0,845
	Estudio / AZA	0,003
	AZA / CyA	0,001
1	Estudio / CyA	1,000
	Estudio / AZA	0,086
	AZA / CyA	0,996
3	Estudio / CyA	1,000
	Estudio / AZA	0,045
	AZA / CyA	0,035
6	Estudio / CyA	0,036
	Estudio / AZA	0,627
	AZA / CyA	0,009
12	Estudio / CyA	0,241
	Estudio / AZA	1,000
	AZA / CyA	0,090

6.1.2. Comparaciones entre instantes grupo a grupo.

6.1.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.

Encontramos diferencias entre instantes ($F_{exp} = 3,92$; (4;106) g.l.; $p = 0,005$): el recuento medio de linfocitos totales del 6° y 12° meses fue

inferior al observado en las determinaciones basal, 1º y 3º meses de estudio ($p < 0,01$).

6.1.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.

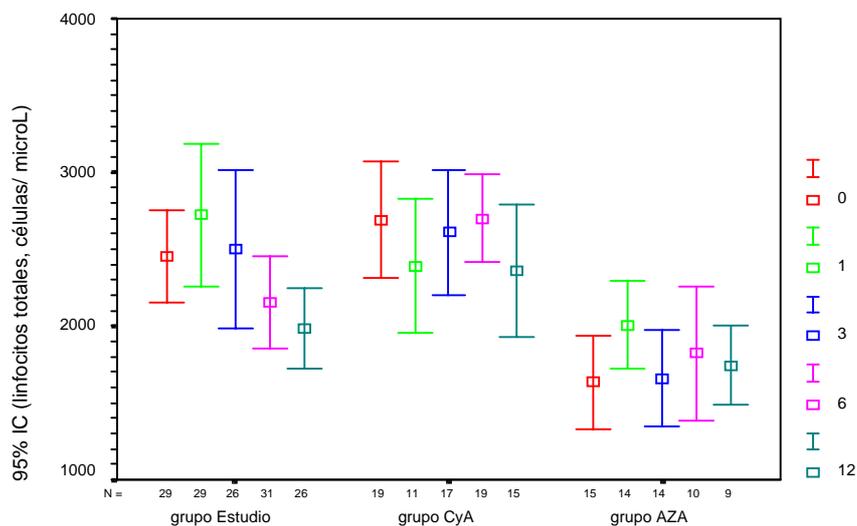
No se objetivaron diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 0,61$; (4;58) g.l.; $p = 0,66$).

6.1.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.

Hubo diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 2,69$; (4;43) g.l.; $p = 0,043$), si bien fueron erráticas.

En la figura 17 se representa de forma global la evolución del recuento linfocitario absoluto en sangre periférica por grupos.

Figura 17. Evolución del recuento linfocitario absoluto en sangre periférica en los grupos Estudio, CyA y AZA.



6.2. Análisis de la evolución del recuento de linfocitos CD3+ en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

Debido a que la interacción global grupo-instante fue significativa ($F_{exp} = 6,38; (12;238) \text{ g.l.}; p < 0,001$), posteriormente realizamos las comparaciones correspondientes. En la tabla 53 se detallan las medidas descriptivas de los tres grupos.

Tabla 53. Recuento de linfocitos CD3+: Medidas descriptivas de resumen.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	29	1.942,9	822,66	466	4.138
	CyA	19	2.157,5	764,94	1.030	3.430
	AZA	15	1.401,7	628,84	447	2.916
1	Estudio	29	2.118,0	1.015,88	499	5.328
	CyA	11	1.916,5	708,38	1.250	3.733
	AZA	14	1.638,8	482,49	927	2.512
3	Estudio	26	2.020,7	1.187,67	715	6.790
	CyA	17	2.134,9	799,12	1.194	3.520
	AZA	14	1.335,3	445,22	473	2.353
6	Estudio	31	1.734,1	735,04	519	3.284
	CyA	19	2.172,0	636,01	1.345	3.461
	AZA	10	1.545,0	641,73	675	3.015
12	Estudio	26	1.591,7	551,12	471	2.430
	CyA	15	1.803,7	751,95	1.006	3.426
	AZA	9	1.453,6	251,99	960	1.791

6.2.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.

De la tabla 54 se desprenden los siguientes resultados.

a) En el instante de selección observamos diferencias entre los grupos ($F_{exp} = 4,29; (2; 60) \text{ g.l.}; p = 0,018$). Tras las comparaciones por parejas detectamos que el recuento de linfocitos CD3+ en el grupo AZA fue menor

que el observado en el grupo CyA ($p= 0,017$), y sin poder establecer diferencias entre ambos grupos y el grupo Estudio.

b) Al mes 1° no observamos diferencias entre grupos ($F_{exp}= 1,51$; (2;51) g.l.; $p= 0,23$).

c) Al mes 3° se encontraron diferencias entre los grupos ($F_{exp}= 3,24$; (2; 54) g.l.; $p= 0,047$): el recuento de linfocitos CD3+ del grupo AZA fue inferior al de los otros grupos ($p < 0,05$).

d) Al 6° mes las diferencias entre grupos ($F_{exp}= 3,47$; (2; 57) g.l.; $p= 0,038$) se debieron a que el recuento de linfocitos CD3+ del grupo AZA fue inferior al del grupo CyA ($p < 0,05$), sin establecerse diferencias con el grupo Estudio.

e) Al 12° mes no hubo diferencias entre grupos ($F_{exp}= 1,13$; (2; 47) g.l.; $p= 0,331$), sin embargo la media de linfocitos CD3+ del grupo CyA ofreció una ligera tendencia no significativa a ser mayor que las otras dos.

Tabla 54. Recuento de linfocitos CD3+: Comparación global de medias entre grupos instante a instante.

		F_{exp}	g.l.	p
0	inter-grupos	4,292	2	0,018
	intra-grupo		60	
1	inter-grupos	1,509	2	0,231
	intra-grupo		51	
3	inter-grupos	3,242	2	0,047
	intra-grupo		54	
6	inter-grupos	3,474	2	0,038
	intra-grupo		57	
12	inter-grupos	1,131	2	0,331
	intra-grupo		47	

6.2.2. Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.

6.2.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.

Encontramos diferencias entre instantes ($F_{exp} = 2,83; (4;106)$ g.l.; $p = 0,028$). Tras realizar las comparaciones por parejas observamos que el recuento de linfocitos CD3+ al 6° y 12° meses fue inferior al encontrado en las determinaciones basal, 1° y 3° meses ($p < 0,01$).

6.2.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.

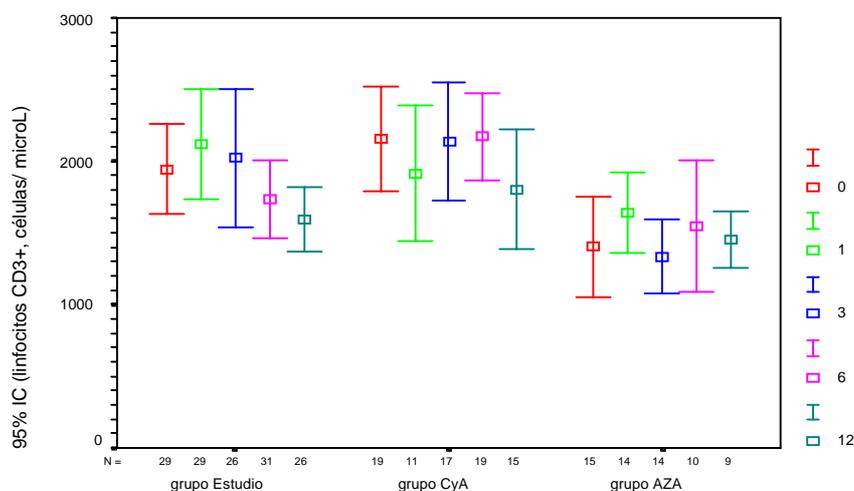
No hubo diferencias entre instantes ($F_{exp} = 0,92; (4;58)$ g.l.; $p = 0,46$).

6.2.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.

No hubo diferencias entre instantes ($F_{exp} = 1,92; (4;43)$ g.l.; $p = 0,12$).

En la figura 18 se representa de forma global la evolución del recuento de linfocitos CD3+ en sangre periférica por grupos.

Figura 18. Evolución del recuento de linfocitos CD3+ en sangre periférica en los grupos Estudio, CyA y AZA.



6.3. Análisis de la evolución del recuento de linfocitos CD3+CD4+ en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

Debido a que la interacción global grupo-instante fue significativa ($F_{\text{exp}} = 5,48$; (12; 244) g.l.; $p < 0,001$) realizamos las comparaciones por parejas correspondientes. En la tabla 55 se detallan las medidas descriptivas de los tres grupos.

Tabla 55. Recuento de linfocitos CD3+CD4+: Medidas descriptivas de resumen.

	n	media	DT	mínimo	máximo	
0	Estudio	29	896,6	378,71	177	1.804
	CyA	19	1.037,7	503,14	490	2.158
	AZA	15	786,1	387,44	150	1.721
1	Estudio	29	995,0	365,05	252	1.615
	CyA	11	837,8	191,74	477	1.138
	AZA	14	926,4	364,23	472	1.562
3	Estudio	26	920,1	396,48	111	1.788
	CyA	17	1.060,8	512,87	466	1.965
	AZA	14	781,6	306,75	57	1.253
6	Estudio	31	850,5	387,94	238	1.917
	CyA	19	1.061,0	474,98	562	2.221
	AZA	10	841,2	427,59	356	1.779
12	Estudio	26	809,7	337,77	150	1.404
	CyA	15	849,2	394,79	411	1.976
	AZA	9	841,0	249,98	489	1.326

6.3.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.

De la tabla 56 se desprende que en ninguno de los instantes hubo diferencias significativas entre los grupos.

Tabla 56. Recuento de linfocitos CD3+CD4+: Comparación global de medias entre grupos instante a instante.

		F_{exp}	g.l.	p
0	inter-grupos intra-grupo	1,532	2 60	0,224
1	inter-grupos intra-grupo	0,892	2 51	0,416
3	inter-grupos intra-grupo	1,735	2 54	0,186
6	inter-grupos intra-grupo	1,647	2 57	0,202
12	inter-grupos intra-grupo	0,050	2 47	0,951

6.3.2. Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.

6.3.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.

Se encontraron diferencias entre instantes ($F_{exp} = 2,48$; (4; 106) g.l.; $p < 0,048$). Tras las comparaciones por parejas se objetivó que el recuento de linfocitos CD3+ CD4+ al 6° y 12° meses fue inferior al observado en las determinaciones basal, 1° y 3° meses ($p < 0,05$).

6.3.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.

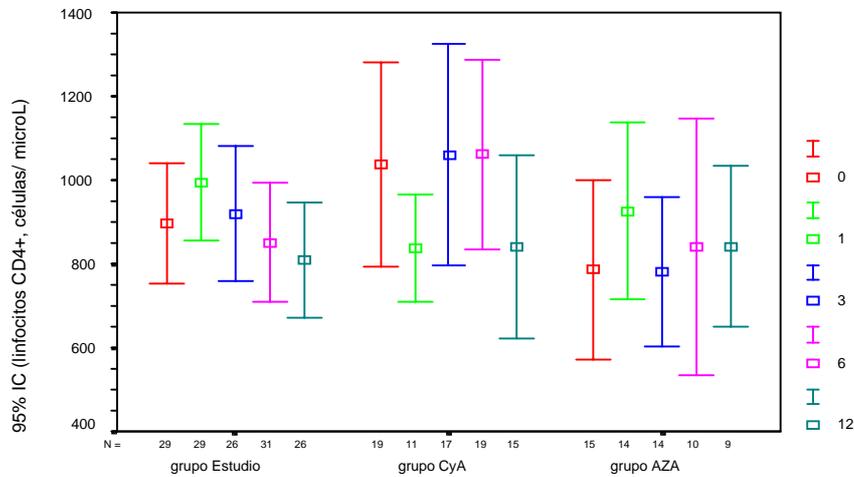
No se observaron diferencias ($F_{exp} = 0,34$; (4; 58) g.l.; $p = 0,85$).

6.3.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.

No se observaron diferencias ($F_{exp} = 1,81$; (4; 43) g.l.; $p = 0,14$).

En la figura 19 se representa de forma global la evolución del recuento de linfocitos CD3+CD4+ en sangre periférica por grupos.

Figura 19. Evolución del recuento de linfocitos CD3+CD4+ en sangre periférica en los grupos Estudio, CyA y AZA.



6.4. Análisis de la evolución del recuento de linfocitos CD3+CD8+ en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

Debido a que la interacción global grupo-instante fue significativa ($F_{\text{exp}} = 9,46$; (12; 226) g.l.; $p < 0,001$) realizamos las comparaciones por parejas correspondientes. En la tabla 57 se detallan las medidas descriptivas de los tres grupos.

Tabla 57. Recuento de linfocitos CD3+CD8+: Medidas descriptivas de resumen.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	29	927,2	573,95	230	2.788
	CyA	19	945,3	442,63	499	2.386
	AZA	15	519,9	292,06	152	1.090
1	Estudio	29	1.024,5	725,43	348	3.960
	CyA	11	913,2	618,93	397	2.660
	AZA	14	606,1	222,69	375	1.050
3	Estudio	26	965,9	844,79	301	4.612
	CyA	17	880,6	344,19	390	1.782
	AZA	14	485,4	163,84	246	971
6	Estudio	31	764,3	400,95	254	2.023
	CyA	19	932,1	355,33	370	1.993
	AZA	10	600,9	207,32	267	997
12	Estudio	26	665,7	317,70	288	1.362
	CyA	15	791,3	372,39	292	1.753
	AZA	9	518,6	161,52	354	861

6.4.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.

De la tabla 58 se extrajeron los siguientes resultados.

- a) En el momento basal hubo diferencias entre grupos ($F_{exp} = 4,23$; (2; 60) g.l.; $p = 0,019$) debidas a que el recuento de linfocitos CD3+ CD8+ en el grupo AZA fue menor al observado en los otros grupos ($p < 0,01$), sin que se pudieran establecer diferencias entre los grupos Estudio vs CyA.
- b) Al mes 1º no encontramos diferencias ($F_{exp} = 2,20$; (2; 53) g.l.; $p = 0,12$).
- c) Al mes 3º hubo indicios de significación ($F_{exp} = 2,92$; (2; 54) g.l.; $p = 0,062$), pero no se pudieron establecer diferencias en ninguna de las comparaciones por parejas.

d) Al mes 6° volvimos a encontrar indicios de significación entre grupos ($F_{\text{exp}} = 2,90$; (2; 57) g.l.; $p = 0,063$), pero sin diferencias en las comparaciones por parejas.

e) Al mes 12° no hubo diferencias entre grupos ($F_{\text{exp}} = 2,14$; (2; 47) g.l.; $p = 0,13$).

Tabla 58. Recuento de linfocitos CD3+CD8+: Comparación global de medias entre grupos instante a instante.

		F_{exp}	g.l.	p
0	inter-grupos	4,232	2	0,019
	intra-grupo		60	
1	inter-grupos	2,201	2	0,121
	intra-grupo		51	
3	inter-grupos	2,921	2	0,062
	intra-grupo		54	
6	inter-grupos	2,901	2	0,063
	intra-grupo		57	
12	inter-grupos	2,139	2	0,129
	intra-grupo		47	

6.4.2. Comparaciones entre instantes grupo a grupo.

6.4.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.

Observamos diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 4,58$; (4; 104) g.l.; $p = 0,002$). Tras las comparaciones por parejas pudimos observar que el recuento de linfocitos CD3+ CD8+ del 6° y 12° meses fue inferior al de las determinaciones precedentes ($p < 0,01$).

6.4.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.

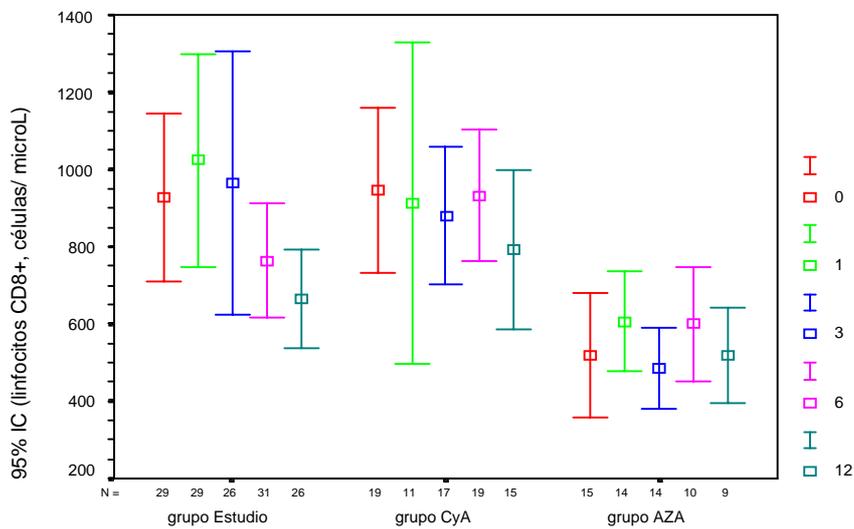
No hubo diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 1,98$; (4; 58) g.l.; $p = 0,11$).

6.4.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.

No hubo diferencias entre instantes ($F_{exp} = 1,36; (4; 43) \text{ g.l.}; p = 0,26$).

En la figura 20 se representa de forma global la evolución del recuento de linfocitos CD3+CD8+ en sangre periférica por grupos.

Figura 20. Evolución del recuento de linfocitos T CD8+ en sangre periférica en los grupos Estudio, CyA y AZA.



6.5. Análisis de la evolución del cociente linfocitario CD4/ CD8 en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

La interacción global grupo-instante fue significativa ($F_{\text{exp}} = 5,18$; (12; 260) g.l.; $p < 0,001$), y realizamos las comparaciones por parejas. En la tabla 59 se detallan las medidas descriptivas de los tres grupos.

Tabla 59. Cociente linfocitario CD4/ CD8: Medidas descriptivas de resumen.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	29	1,119	0,5357	0,38	2,53
	CyA	19	1,202	0,5528	0,33	2,63
	AZA	15	1,728	0,7962	0,52	3,43
1	Estudio	29	1,208	0,5832	0,30	2,89
	CyA	11	1,143	0,5113	0,35	1,97
	AZA	14	1,624	0,5920	0,45	2,62
3	Estudio	26	1,212	0,5518	0,37	2,28
	CyA	17	1,279	0,5574	0,41	2,64
	AZA	14	1,737	0,8211	0,14	3,20
6	Estudio	31	1,245	0,5013	0,422	2,425
	CyA	19	1,248	0,5718	0,282	2,808
	AZA	10	1,404	0,3688	0,465	1,784
12	Estudio	26	1,373	0,6188	0,416	2,638
	CyA	15	1,196	0,5249	0,472	2,130
	AZA	9	1,763	0,7029	0,600	3,226

6.5.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.

De la tabla 60 se extrajeron los resultados siguientes.

a) En el instante inicial hubo diferencias entre grupos ($F_{\text{exp}} = 5,18$ (2; 60) g.l. $p = 0,008$). Tras las comparaciones por parejas objetivamos que el

cociente linfocitario CD4/ CD8 en el grupo AZA fue superior a los otros grupos ($p < 0,01$), los cuales no difirieron entre sí.

b) Al mes 1° también hubo diferencias ($F_{exp} = 3,04$ (2; 51) g.l. $p = 0,057$) establecidas en el sentido previo ($p < 0,05$).

c) Al mes 3° las diferencias entre grupos ($F_{exp} = 3,39$; (2; 54) g.l.; $p = 0,041$) se establecieron de forma semejante a las previas ($p < 0,01$), sin encontrar diferencias entre los grupos Estudio vs CyA.

d) Al mes 6° no hubo diferencias entre grupos ($F_{exp} = 0,40$; (2; 57) g.l.; $p = 0,670$).

e) Al 12° mes hubo indicios de significación global entre grupos ($F_{exp} = 2,46$; (2; 47) g.l.; $p = 0,096$). Tales indicios se concretaron en que el cociente linfocitario CD4/CD8 en el grupo AZA fue superior al del grupo CyA ($p < 0,05$), mientras que el grupo Estudio se encontró entre ambos sin poderse diferenciar.

Tabla 60. Cociente linfocitario CD4/ CD8: Comparación global de medias entre grupos instante a instante.

		F_{exp}	g.l.	p
0	inter-grupos	5,180	2	0,008
	intra-grupo		60	
1	inter-grupos	3,036	2	0,057
	intra-grupo		51	
3	inter-grupos	3,387	2	0,041
	intra-grupo		54	
6	inter-grupos	0,403	2	0,670
	intra-grupo		57	
12	inter-grupos	2,464	2	0,096
	intra-grupo		47	

6.5.2. Comparaciones entre instantes grupo a grupo.

6.5.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.

Detectamos diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 5,34; (4; 106)$ g.l.; $p < 0,001$): hubo un *incremento gradual* del cociente en el tiempo, de manera que en el momento basal éste fue menor al observado en los meses 3° y posteriores ($p < 0,05$); el cociente al mes 1° fue menor al observado en el mes 12° ($p < 0,05$); y finalmente, no encontramos diferencias entre el cociente de los meses 3° versus 12°.

6.5.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.

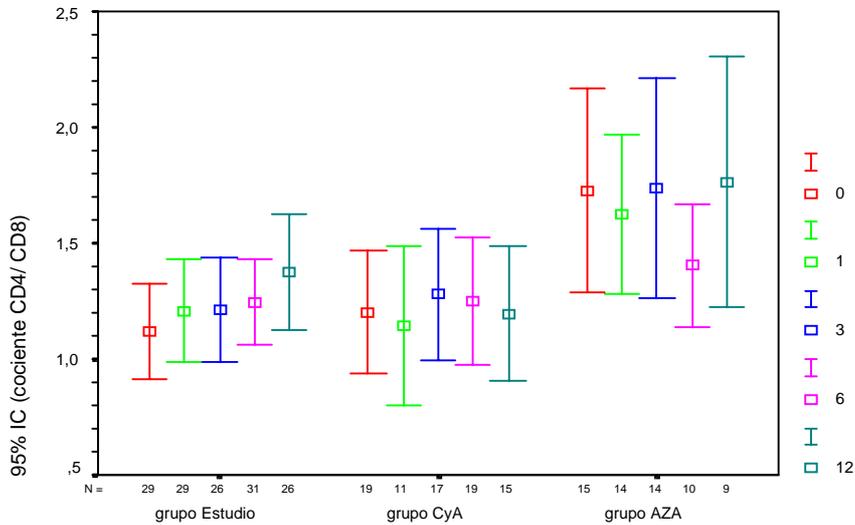
No hubo diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 1,23; (4; 58)$ g.l.; $p = 0,31$).

6.5.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.

No hubo diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 0,51; (4; 43)$ g.l.; $p = 0,73$).

En la figura 21 se representa de forma global la evolución del cociente linfocitario CD4/ CD8 por grupos.

Figura 21. Evolución del cociente linfocitario CD4/ CD8 en los grupos Estudio, CyA y AZA.



6.6. Análisis de la evolución del recuento de linfocitos CD16+CD3- en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

Debido a que la interacción global grupo-instante fue significativa ($F_{exp} = 4,93; (12; 246) \text{ g.l.}; p < 0,001$) realizamos las comparaciones por parejas correspondientes. En la tabla 61 se detallan las medidas descriptivas de los tres grupos.

Tabla 61. Recuento de linfocitos CD16+CD3-: Medidas descriptivas de resumen.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	29	408,3	381,08	91	1294
	CyA	19	433,0	307,91	128	1200
	AZA	15	254,0	247,48	11	745
1	Estudio	29	368,7	381,55	55	1572
	CyA	11	364,4	232,86	105	848
	AZA	14	250,0	226,32	12	624
3	Estudio	26	404,5	407,83	52	1579
	CyA	17	368,4	199,39	96	812
	AZA	14	247,4	246,51	20	889
6	Estudio	31	328,4	325,73	51	1335
	CyA	19	425,2	277,74	136	968
	AZA	10	166,7	154,32	19	465
12	Estudio	26	270,4	324,24	47	1370
	CyA	15	453,5	276,22	136	932
	AZA	9	197,9	169,73	45	546

6.6.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.

De la tabla 62 se deduce que en ninguno de los instantes se detectaron diferencias entre grupos.

Tabla 62. Recuento de linfocitos CD16+CD3-: Test global entre grupos instante a instante.

		F _{exp}	g.l.	p
0	inter-grupos	1,42	2	0,249
	intra-grupo		60	
1	inter-grupos	0,73	2	0,487
	intra-grupo		53	
3	inter-grupos	1,11	2	0,338
	intra-grupo		54	
6	inter-grupos	2,61	2	0,082
	intra-grupo		57	
12	inter-grupos	2,77	2	0,073
	intra-grupo		47	

6.6.2. Comparaciones entre instantes dentro de cada grupo.

6.6.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.

Hubo diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 2,60$; (4; 106) g.l.; $p = 0,0405$). Hechas las comparaciones por parejas observamos que el recuento de células CD16+CD3- al 6º y 12º meses fue inferior al de las determinaciones precedentes ($p < 0,01$).

6.6.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.

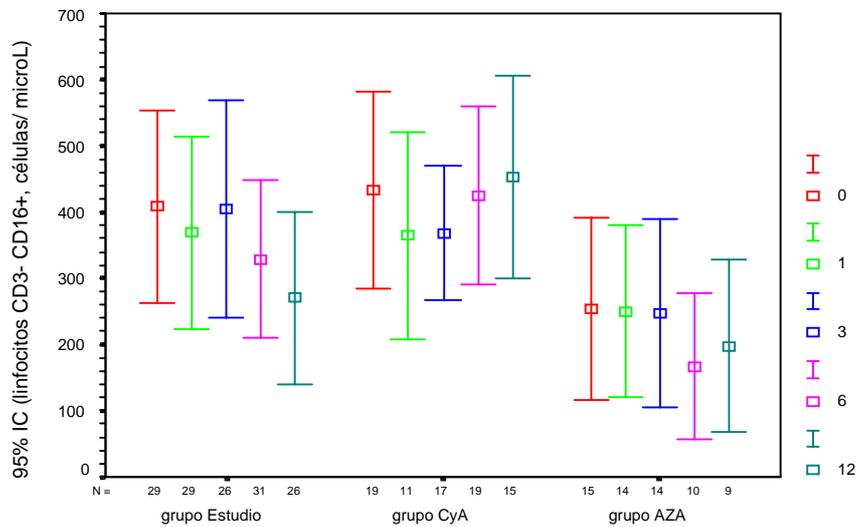
No hubo diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 0,47$; (4; 58) g.l.; $p = 0,76$).

6.6.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.

No hubo diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 1,04$; (4; 43) g.l.; $p = 0,39$).

En la figura 22 se representa de forma global la evolución del recuento de linfocitos CD16+CD3- en sangre periférica por grupos.

Figura 22. Evolución del recuento de linfocitos CD16+CD3- en sangre periférica en los grupos Estudio, CyA y AZA.



6.7. Análisis de la evolución del recuento de linfocitos CD19+ en los diferentes grupos y las diferencias entre grupos.

Debido a que la interacción global grupo-instante fue significativa ($F_{exp} = 6,10; (12; 246) g.l.; p < 0,001$) realizamos posteriormente las comparaciones por parejas correspondientes. En la tabla 63 se detallan las medidas descriptivas de los tres grupos.

Tabla 63. Recuento de linfocitos CD19+: Medidas descriptivas de resumen.

		n	media	DT	mínimo	máximo
0	Estudio	29	90,1	51,53	31	213
	CyA	19	78,8	45,53	24	147
	AZA	15	79,9	67,58	12	253
1	Estudio	29	90,8	62,89	25	283
	CyA	11	86,1	77,44	28	296
	AZA	14	101,7	85,29	11	274
3	Estudio	27	69,0	44,17	21	197
	CyA	17	79,0	50,20	26	183
	AZA	14	92,9	81,88	24	255
6	Estudio	31	64,9	44,03	16	198
	CyA	19	83,4	49,20	21	188
	AZA	10	104,0	73,94	14	227
12	Estudio	25	69,0	60,57	11	294
	CyA	15	68,7	41,93	25	178
	AZA	9	85,4	60,44	12	219

6.7.1. Comparaciones entre grupos instante a instante.

De la tabla 64 se deduce que en ningún instante encontramos diferencias entre grupos.

Tabla 64. Recuento de linfocitos CD19+: Test global de medias entre grupos instante a instante.

		F_{exp}	g.l.	p
0	inter-grupos	0,316	2	0,730
	intra-grupo		60	
1	inter-grupos	0,166	2	0,847
	intra-grupo		51	
3	inter-grupos	0,792	2	0,458
	intra-grupo		55	
6	inter-grupos	2,378	2	0,102
	intra-grupo		57	
12	inter-grupos	0,327	2	0,723
	intra-grupo		46	

6.7.2. Comparaciones entre instantes grupo a grupo.

6.7.2.1. Comparaciones en el grupo Estudio.

Hubo diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 5,02$; (4; 106) g.l.; $p < 0,001$). Hechas las comparaciones por parejas detectamos que el recuento de linfocitos CD19+ en los meses 3º, 6º y 12º fue inferior al observado en los instantes previos ($p < 0,01$). Dicha reducción fue superior al 20 %, tanto en el 6º como en el 12º mes de seguimiento respecto al basal (figura 23).

6.7.2.2. Comparaciones en el grupo CyA.

No hubo diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 1,63$; (4; 58) g.l.; $p = 0,18$).

6.7.2.3. Comparaciones en el grupo AZA.

No hubo diferencias entre instantes ($F_{\text{exp}} = 1,29$; (4; 43) g.l.; $p = 0,29$).

En la figura 24 se representa de forma global la evolución del recuento de linfocitos CD19+ en sangre periférica por grupos.

Figura 23. Evolución de la reducción porcentual media (RP) del recuento de linfocitos CD19+ en el grupo Estudio.

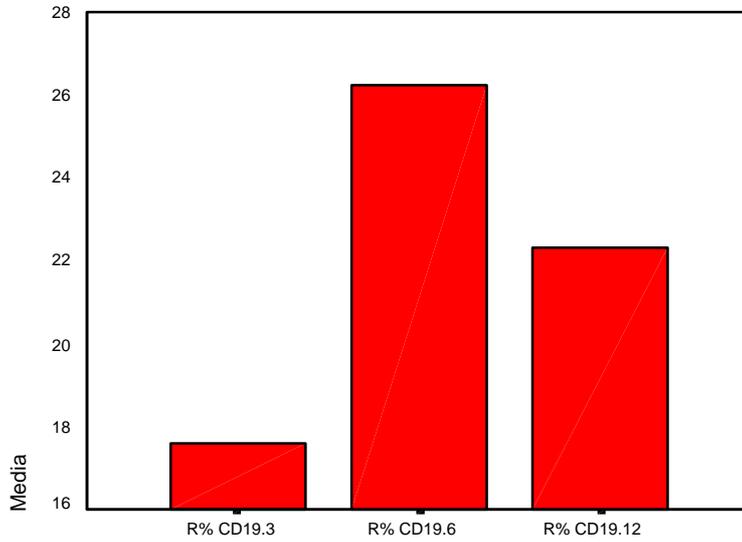
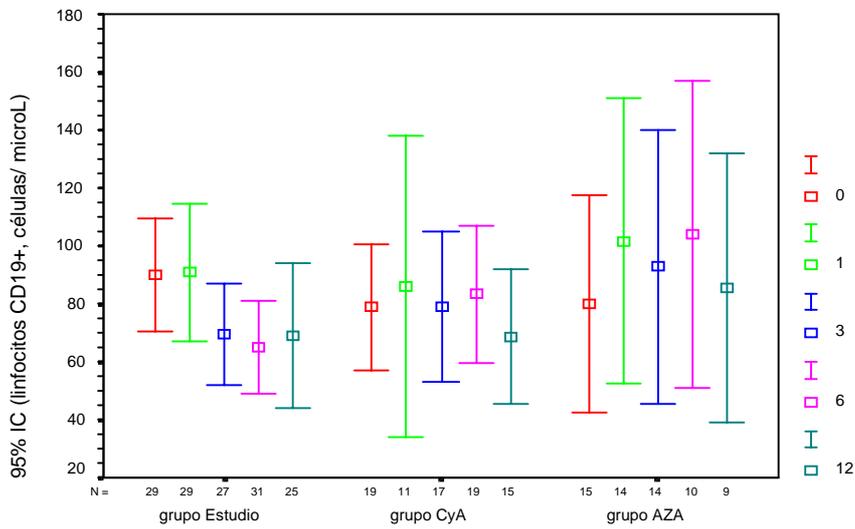


Figura 24. Evolución del recuento de linfocitos CD19+ en sangre periférica en los grupos Estudio, CyA y AZA.



Del presente capítulo de resultados podemos resumir las siguientes ideas:

1. La adición de micofenolato mofetil en el grupo Estudio provocó un descenso progresivo del recuento medio de linfocitos totales y de todas las subpoblaciones en sangre periférica, con incremento del cociente CD4/ CD8. Esta reducción fue más precoz e intensa sobre la población de linfocitos CD19+, y menos notoria sobre el recuento de linfocitos T CD4+.

2. En ambos grupos control no observamos variaciones significativas de dichas subpoblaciones linfocitarias durante los doce meses de seguimiento.

3. La terapia de mantenimiento prednisona y ciclosporina A cursó con recuentos de linfocitos totales y CD3+ superiores y cocientes CD4/ CD8 inferiores respecto a la terapia que además asoció azatioprina; en el grupo CyA hemos observado una tendencia media a mostrar recuentos de linfocitos CD3+CD8+ superiores respecto a los del grupo AZA. La asociación de micofenolato mofetil junto a prednisona y ciclosporina A, respecto a las poblaciones comentadas, condicionó una tendencia aproximativa desde valores semejantes al grupo CyA hasta valores cercanos al grupo AZA.

4. No se establecieron diferencias entre grupos según el régimen inmunosupresor de mantenimiento respecto a los recuentos de linfocitos CD3+CD4+, CD19+ y CD16+CD3-.

7. Análisis de la evolución del colesterol total y triglicéridos en el grupo Estudio.

Previo al análisis de la evolución del colesterol total y triglicéridos en la muestra, reflejamos la evolución del tratamiento hipolipemiente durante el seguimiento en los 31 trasplantados de este grupo.

7.1. Evolución del tratamiento hipolipemiente.

En el grupo de trasplantados que precisó tratamiento hipolipemiente, éste consistió en una estatina, salvo en un paciente que además precisó fibrato y colestipol.

En la tabla 65 se resume la variación de dicho tratamiento durante el seguimiento, estableciéndose cuatro subgrupos: los trasplantados que no precisaron droga hipolipemiente, quienes la mantuvieron a la misma dosis, la vieron aumentada o disminuida.

Tabla 65. Evolución del tratamiento con estatinas en el grupo Estudio.

Ninguno (n= 13)	Igual dosis (n= 11)	Aumento dosis (n= 5)	Descenso dosis (n= 2)
	3: 10 mg/ día 5: 20 mg/ día 3: 30 mg/ día	1: 10-30 mg/ día 4: inicio 20 mg/ día	1: 20-10 mg/ día 1: suspendido

En el 77,4 % de los trasplantados (24/31) la adición de micofenolato mofetil no condicionó variación en el régimen hipolipemiente establecido: 13 continuaron sin precisar medidas farmacológicas, y 11 continuaron con el mismo hipolipemiente a la misma dosis durante todo el seguimiento.

El comportamiento del resto de los pacientes fue el siguiente:

a) en el 16,1 % (5/31) se incrementó el tratamiento hipolipemiante: en un paciente se incrementó la dosis al 3° mes (de 10 a 30 mg/ día), y 4 comenzaron a tomar estatinas al mes 3°, a dosis de 20 mg/ día.

b) en el 6,5 % (2/31) se redujo el tratamiento hipolipemiante: a un paciente se le retiró la estatina al 6° mes (tomaba 20 mg/ día), y a otro se le redujo al mes 3° (de 20 a 10 mg/ día).

7.2. Evolución del colesterol total.

Tras el test global no encontramos diferencias significativas de los valores medios de colesterol total en los distintos momentos del seguimiento ($F_{\text{exp}} = 1,84$; (4; 113) g.l.; $p = 0,16$). En la tabla 66 se detallan las medidas descriptivas.

Tabla 66. Colesterol Total (mg/ dL): Medidas descriptivas de resumen.

	n	media	DT	mínimo	máximo
basal	31	235,6	44,50	124	346
mes 1°	26	242,7	52,09	147	362
mes 3°	30	240,8	42,74	176	343
mes 6°	30	226,7	36,43	154	285
mes 12°	31	225,5	35,82	154	308

7.3. Evolución de los triglicéridos.

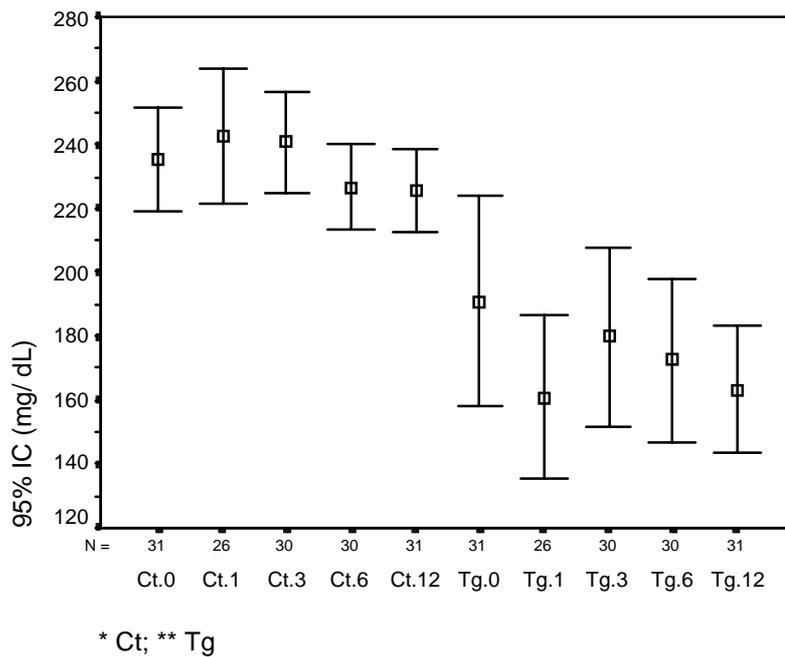
El test global no fue significativo ($F_{\text{exp}} = 1,39$; (4; 113) g.l.; $p = 0,24$), lo cual expresa que los valores medios de triglicéridos fueron semejantes durante el estudio. En la tabla 67 se detallan las medidas descriptivas.

Tabla 67. Triglicéridos (mg/ dL): Medidas descriptivas de resumen.

	n	media	DT	mínimo	máximo
basal	31	190,7	89,63	62	491
mes 1°	26	160,9	62,68	67	328
mes 3°	30	179,8	75,53	89	412
mes 6°	30	172,6	68,55	66	334
mes 12°	31	163,5	53,99	76	270

En resumen, la adición de micofenolato mofetil no comportó cambio significativo del perfil lipídico evaluado (figura 25) ni de la terapia hipolipemiente establecida en la mayoría de la muestra.

Figura 25. Evolución del colesterol total* y triglicéridos** en el grupo Estudio.



8. Análisis de la evolución de las enzimas AST/ GOT, ALT/ GPT, γ -GT y fosfatasa alcalina total en el grupo estudio.

Tras los test globales correspondientes (tabla 68) no objetivamos diferencias en los distintos momentos del seguimiento para las variables AST/ GOT, ALT/ GPT, γ -GT y fosfatasa alcalina total (FAt). En las tablas 69 a 72 se detallan las medidas descriptivas de las variables. No observamos diferencias de estas enzimas en función de la serología para el virus de la hepatitis C (tablas 73 a 76).

Tabla 68. Enzimas AST/ GOT, ALT/ GPT, γ -GT y FAt: Tests globales.

	F _{exp}	g.l.	p
AST/ GOT	1,80	4; 111	0,13
ALT/ GPT	2,71	4; 111	0,34
γ -GT	0,51	4; 111	0,73
FAt	0,82	4; 111	0,51

Tabla 69. AST/ GOT (U/ L): Medidas descriptivas de resumen.

	n	media	DT	mínimo	máximo
basal	31	25,6	10,19	11	54
mes 1º	25	28,4	30,48	11	170
mes 3º	30	26,3	13,21	10	79
mes 6º	30	22,9	12,12	10	65
mes 12º	30	20,5	8,52	8	51

Tabla 70. ALT/ GPT (U/ L): Medidas descriptivas de resumen.

	n	media	DT	mínimo	máximo
basal	31	25,3	12,11	8	57
mes 1°	25	32,9	56,20	7	296
mes 3°	30	23,6	16,55	5	85
mes 6°	29	21,5	14,45	5	67
mes 12°	31	21,3	13,23	5	62

Tabla 71. 3-GT (U/ L): Medidas descriptivas de resumen.

	n	media	DT	mínimo	máximo
basal	31	26,1	20,68	7	92
mes 1°	26	30,7	37,57	9	196
mes 3°	30	26,8	19,76	9	84
mes 6°	28	22,8	14,84	9	75
mes 12°	31	25,7	20,06	9	107

Tabla 72. FAt (U/ L): Medidas descriptivas de resumen.

	n	media	DT	mínimo	máximo
basal	31	184,7	65,14	107	386
mes 1°	26	181,3	69,61	94	400
mes 3°	29	175,8	48,12	104	297
mes 6°	30	163,3	47,84	42	277
mes 12°	30	175,5	49,90	88	290

Tabla 73. Grupo Estudio. Comparación de la enzima AST/ GOT según la serología del virus de la hepatitis C. Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	AcVHC	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	negativo	20	25,30	8,99	-0,227	29	0,822
	positivo	11	26,18	12,55			
mes 1°	negativo	15	21,53	7,84	-1,143	9,338	0,281
	positivo	10	38,60	46,77			
mes 3°	negativo	19	24,42	10,15	-1,006	28	0,323
	positivo	11	29,45	17,41			
mes 6°	negativo	19	23,74	13,07	0,491	28	0,627
	positivo	11	21,45	10,70			
mes 12°	negativo	20	21,10	9,26	0,539	28	0,594
	positivo	10	19,30	7,12			

Tabla 74. Grupo Estudio. Comparación de la enzima ALT/ GPT según la serología del virus de la hepatitis C. Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	AcVHC	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	negativo	20	22,60	8,81	1,447	13,46	0,171
	positivo	11	30,09	15,88			
mes 1°	negativo	15	18,87	9,15	1,281	9,13	0,232
	positivo	10	54,00	86,42			
mes 3°	negativo	19	19,47	11,44	1,612	13,29	0,130
	positivo	11	30,82	21,66			
mes 6°	negativo	18	20,11	11,22	0,587	14,32	0,566
	positivo	11	23,82	19,01			
mes 12°	negativo	20	20,30	13,49	0,537	29	0,595
	positivo	10	23,00	13,19			

Tabla 75. Grupo Estudio. Comparación de la enzima 3-GT según la serología del virus de la hepatitis C. Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

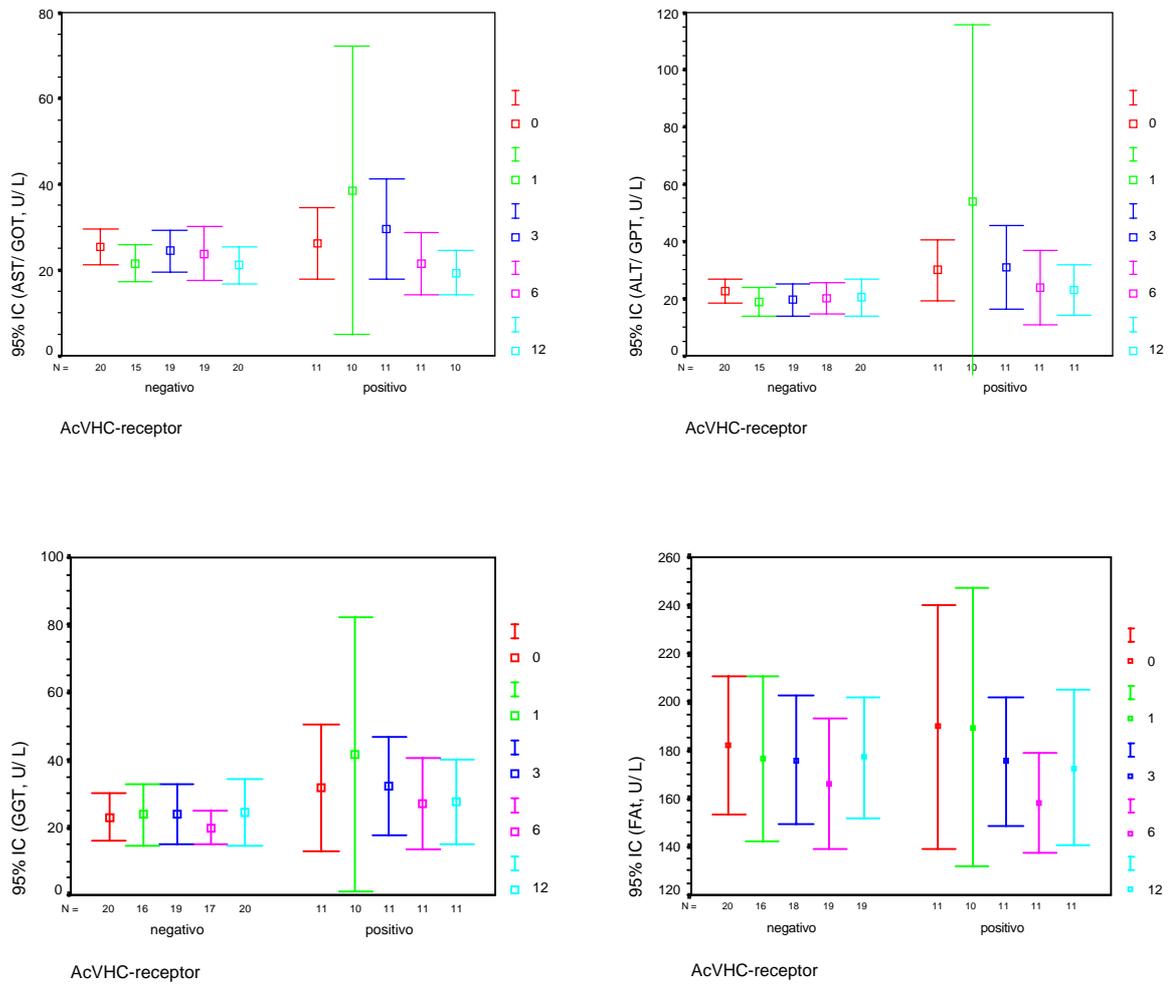
	AcVHC	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	negativo	20	23,10	15,27	-0,935	13,33	0,366
	positivo	11	31,64	28,08			
mes 1°	negativo	16	23,81	17,20	-0,971	10,05	0,354
	positivo	10	41,70	56,64			
mes 3°	negativo	19	23,74	18,31	-1,134	28	0,267
	positivo	11	32,18	21,89			
mes 6°	negativo	17	20,00	9,60	-1,096	12,93	0,293
	positivo	11	27,18	20,32			
mes 12°	negativo	20	24,45	21,18	-0,441	29	0,662
	positivo	10	27,82	18,62			

Tabla 76. Grupo Estudio. Comparación de la enzima FAt según la serología del virus de la hepatitis C. Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	AcVHC	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	negativo	20	182,05	60,74	-0,306	29	0,762
	positivo	11	189,64	75,35			
mes 1°	negativo	16	176,25	64,21	-0,461	24	0,649
	positivo	10	189,40	80,44			
mes 3°	negativo	18	176,00	53,79	0,029	27	0,977
	positivo	11	175,45	39,55			
mes 6°	negativo	19	166,21	56,04	0,507	27,97	0,616
	positivo	11	158,18	30,66			
mes 12°	negativo	19	177,16	52,19	0,231	28	0,819
	positivo	10	172,73	47,99			

En resumen, la nueva droga no condicionó cambios evolutivos de las enzimas hepáticas evaluadas, ni tan si quiera en el subgrupo seropositivo para el virus de la hepatitis C (figura 26).

Figura 26. Evolución de las enzimas AST / GOT, ALT / GPT, γ -GT y fosfatasa alcalina total en el grupo Estudio según la serología para el virus de la hepatitis C.



9. Otras asociaciones.

Se exploró la relación entre las variables estudiadas. Se consideraron a todos los individuos incluidos en el estudio en conjunto, y cuando se pudo también por grupos según el régimen inmunosupresor de mantenimiento. Se detallan aquellos resultados del análisis que fueron relevantes, agrupados en los siguientes apartados:

9.1. Edad del receptor.

9.2. Sexo del receptor.

9.3. Serología del virus de la hepatitis C del receptor.

9.4. Edad del donante y antecedente de rechazo.

9.5. Función renal del injerto y poblaciones linfocitarias en sangre periférica

9.1. Edad del receptor.

9.1.1. Edad del receptor versus dosis diaria de ciclosporina A.

Observamos asociación inversa entre la edad del trasplantado y la dosis diaria de CyA administrada, que resultó significativa en todos los instantes tanto al considerar a toda la muestra como en el grupo Estudio (tablas 77 y 78). Cabe reseñar que no detectamos asociación entre edad del paciente vs nivel valle de CyA.

Tabla 77. Toda la muestra. Asociación entre edad del receptor versus dosis diaria de ciclosporina A.

	r	p	n
basal	- 0,335	0,007	63
mes 1°	- 0,348	0,006	61
mes 3°	- 0,348	0,005	63
mes 6°	- 0,395	0,001	63
mes 12°	- 0,361	0,006	56

Tabla 78. Grupo Estudio. Asociación entre edad del receptor vs dosis diaria de CyA.

	r	p	n
basal	- 0,458	0,010	31
mes 1°	- 0,519	0,003	31
mes 3°	- 0,519	0,003	31
mes 6°	- 0,549	0,001	31
mes 12°	- 0,513	0,003	31

9.1.2. Edad del receptor versus recuento de linfocitos CD19+.

Encontramos asociación inversa entre la edad del receptor y el recuento de linfocitos CD19+, que fue significativa en todos los instantes al considerar a toda la muestra, en cuatro de ellos en el grupo Estudio, y en tres del grupo AZA (tablas 79 a 81).

Tabla 79. Toda la muestra. Asociación entre edad del receptor versus recuento de linfocitos CD19+.

	r	p	n
basal	- 0,464	0,001	61
mes 1°	- 0,394	0,004	53
mes 3°	- 0,448	0,001	57
mes 6°	- 0,392	0,002	58
mes 12°	- 0,508	0,001	48

Tabla 80. Grupo Estudio. Asociación entre edad del receptor versus recuento de linfocitos CD19+.

	r	p	n
basal	- 0,456	0,013	29
mes 1°	- 0,511	0,005	29
mes 3°	- 0,344	0,079	27
mes 6°	- 0,561	0,001	31
mes 12°	- 0,660	0,001	25

Tabla 81. Grupo AZA. Asociación entre edad del receptor versus recuento de linfocitos CD19+.

	r	p	n
basal	- 0,636	0,014	14
mes 1°	- 0,550	0,052	13
mes 3°	- 0,632	0,021	13

Comparada toda la muestra según dos grupos de edad, ≤ 45 vs > 45 años (tabla 82), observamos que los trasplantados mayores de 45 años mostraron recuentos medios de linfocitos B inferiores a los más jóvenes, con significación en todos los instantes.

Tabla 82. Toda la muestra. Comparación del recuento de linfocitos CD19+ según la edad del paciente: ≤ 45 vs > 45 años. Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	Edad	n	media	DT	t_{exp}	g.l.	p
basal	≤ 45	25	116,0	60,84	3,744	35,53	0,001
	> 45	36	65,2	35,81			
mes 1°	≤ 45	22	126,2	82,57	2,771	32,46	0,009
	> 45	31	71,1	51,49			
mes 3°	≤ 45	23	107,1	70,23	3,165	30,21	0,004
	> 45	33	58,3	32,53			
mes 6°	≤ 45	25	101,4	54,45	2,942	46,11	0,005
	> 45	33	61,9	45,12			
mes 12°	≤ 45	21	99,9	69,69	2,785	24,10	0,010
	> 45	28	53,6	30,11			

9.1.3. Edad del receptor versus recuento de linfocitos CD3+CD4+.

Encontramos asociación inversa entre la edad del receptor y el recuento de linfocitos CD3+CD4+, que en toda la muestra fue significativa en los instantes basal, meses 3°, 6° y 12°, y en tres de los cinco instantes en ambos grupos Estudio y CyA (tablas 83 a 85).

Tabla 83. Toda la muestra. Asociación entre edad del receptor vs recuento de linfocitos CD3+CD4+.

	r	p	n
basal	- 0,322	0,011	61
mes 1°	- 0,228	0,101	53
mes 3°	- 0,259	0,054	56
mes 6°	- 0,445	0,001	58
mes 12°	- 0,380	0,007	49

Tabla 84. Grupo Estudio. Asociación entre edad del receptor vs recuento de linfocitos CD3+CD4+.

	r	p	n
mes 1°	- 0,409	0,027	29
mes 3°	- 0,236	0,246	26
mes 6°	- 0,521	0,003	31
mes 12°	- 0,632	0,001	26

Tabla 85. Grupo CyA. Asociación edad del receptor vs recuento de linfocitos CD3+CD4+.

	r	p	n
basal	- 0,537	0,022	18
mes 3°	- 0,576	0,016	17
mes 6°	- 0,521	0,027	18
mes 12°	- 0,417	0,138	14

Comparada toda la muestra según dos grupos de edad, ≤ 45 vs > 45 años (tabla 86), observamos que los trasplantados mayores de 45 años mostraron recuentos medios de linfocitos CD3+CD4+ inferiores a los más jóvenes, y esto resultó significativo en los instantes basal, meses 1°, 6° y 12°.

Tabla 86. Comparación del recuento de linfocitos CD3+CD4+ según la edad del paciente: ≤ 45 vs > 45 años. Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	Edad	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	≤ 45	25	1049,5	500,42	2,339	36,79	0,025
	> 45	36	785,8	311,04			
mes 1°	≤ 45	22	1053,6	359,93	2,018	51	0,049
	> 45	31	867,5	308,79			
mes 3°	≤ 45	23	1035,0	515,58	1,567	34,52	0,126
	> 45	33	843,7	331,29			
mes 6°	≤ 45	25	1117,8	477,53	3,583	36,02	0,001
	> 45	33	734,6	276,73			
mes 12°	≤ 45	21	986,2	396,82	2,841	30,03	0,008
	> 45	28	710,6	231,08			

9.1.4. Edad del receptor versus recuento de linfocitos CD16+CD3-.

Encontramos asociación positiva entre la edad del receptor y el recuento de linfocitos CD16+CD3-, significativa en los instantes basal, meses 6° y 12° al considerar a toda la muestra (tabla 87).

Tabla 87. Toda la muestra. Asociación entre edad del receptor vs recuento de linfocitos CD16+CD3-.

	r	p	n
basal	0,287	0,025	61
mes 1°	0,230	0,097	57
mes 3°	0,222	0,100	56
mes 6°	0,330	0,011	58
mes 12°	0,290	0,043	49

Comparada toda la muestra según dos grupos de edad, ≤ 45 vs > 45 años (tabla 88), observamos que los trasplantados mayores de 45 años mostraron una tendencia media a ofrecer recuentos de linfocitos

CD16+CD3- superiores a los más jóvenes, que solamente resultó significativa en los instantes basal y mes 6°.

Tabla 88. Comparación del recuento de linfocitos CD16+CD3- según la edad del paciente: ≤ 45 vs > 45 años. Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	Edad	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	≤ 45	25	264,9	300,21	- 2,036	59	0,046
	> 45	36	431,5	323,54			
mes 1°	≤ 45	22	276,1	363,94	- 1,187	51	0,241
	> 45	31	382,5	288,43			
mes 3°	≤ 45	23	262,1	272,92	- 1,814	54	0,075
	> 45	33	419,1	346,40			
mes 6°	≤ 45	25	225,7	248,71	- 2,369	55,53	0,021
	> 45	33	396,9	301,08			
mes 12°	≤ 45	21	221,4	214,95	- 1,806	46,14	0,077
	> 45	28	363,0	332,40			

9.1.5. Otros.

En el grupo CyA hubo asociación inversa entre edad del receptor vs dosis diaria de prednisona, significativa en todos los instantes (tabla 89).

Tabla 89. Grupo CyA. Asociación edad del receptor vs dosis diaria de prednisona.

	r	p	n
basal	- 0,475	0,046	18
mes 1°	- 0,508	0,045	16
mes 3°	- 0,575	0,013	18
mes 6°	- 0,525	0,025	18
mes 12°	- 0,608	0,016	15

No detectamos otras asociaciones, y especialmente entre edad del paciente vs nivel valle de CyA y CrS.

9.2. Sexo del receptor.

Se realizaron las comparaciones de las distintas variables en cada uno de los instantes atendiendo a la variable sexo del receptor en toda la muestra. Se detallan aquellos resultados que fueron significativos. Las comparaciones por grupos cosecharon resultados erráticos, por lo que se han omitido.

9.2.1. Sexo del receptor versus creatinina sérica.

La CrS media en el grupo de mujeres tendió a ser inferior a la de los hombres, con significación en los instantes basal, meses 3° y 6°, y limítrofe en el mes 12° (tabla 90).

Tabla 90. Comparación de la CrS según sexo. Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	Sexo	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	mujer	29	1,43	0,488	2,905	63	0,005
	hombre	36	1,76	0,426			
mes 1°	mujer	22	1,49	0,625	1,691	52	0,097
	hombre	32	1,75	0,498			
mes 3°	mujer	29	1,38	0,488	3,031	63	0,004
	hombre	36	1,74	0,463			
mes 6°	mujer	29	1,41	0,510	2,650	63	0,010
	hombre	36	1,71	0,393			
mes 12°	mujer	24	1,44	0,512	1,902	54	0,063
	hombre	32	1,67	0,370			

9.2.2. Sexo versus peso.

El grupo de mujeres ofreció un peso medio inferior al de los hombres, que resultó significativo en los instantes basal, meses 3°, 6° y 12° (tabla 91).

Tabla 91. Comparación del peso según sexo. Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	Sexo	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	mujer	29	68,3	13,67	2,475	63	0,016
	hombre	36	76,1	11,94			
mes 1°	mujer	26	69,9	13,09	1,853	59	0,069
	hombre	35	75,9	12,05			
mes 3°	mujer	29	68,2	13,77	2,369	63	0,021
	hombre	36	75,8	11,99			
mes 6°	mujer	29	68,0	14,03	2,191	55,14	0,033
	hombre	36	75,2	11,92			
mes 12°	mujer	25	67,1	13,80	2,482	45,62	0,017
	hombre	32	75,5	11,18			

9.2.3. Sexo versus recuento de linfocitos CD3+CD8+.

El grupo de mujeres ofreció un recuento medio de linfocitos CD3+CD8+ inferior al de los hombres, significativo en los instantes basal, meses 1°, 3° y 12° (tabla 92).

Tabla 92. Comparación del recuento de linfocitos CD3+CD8+ según sexo. Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	Sexo	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	mujer	29	687,9	305,22	2,312	50,29	0,025
	hombre	34	961,7	606,29			
mes 1°	mujer	23	638,3	211,90	3,102	36,09	0,004
	hombre	31	1082,6	758,80			
mes 3°	mujer	25	592,8	250,64	2,811	39,00	0,008
	hombre	32	1001,8	772,57			
mes 6°	mujer	25	690,6	310,53	1,776	58	0,081
	hombre	35	861,4	402,36			
mes 12°	mujer	22	567,5	221,98	2,336	45,46	0,024
	hombre	28	762,9	364,83			

9.2.4. Sexo versus cociente linfocitario CD4/ CD8.

El cociente CD4/ CD8 fue superior en el grupo de mujeres (tabla 93), con significación en los instantes basal, meses 1º, 3º y 12º .

Tabla 93. Comparación del cociente linfocitario CD4/ CD8 según sexo. Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	Sexo	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	mujer	29	1,49	0,688	2,299	61	0,025
	hombre	34	1,12	0,576			
mes 1º	mujer	23	1,54	0,591	2,656	52	0,010
	hombre	31	1,13	0,540			
mes 3º	mujer	25	1,63	0,668	2,923	55	0,005
	hombre	32	1,15	0,570			
mes 6º	mujer	25	1,38	0,399	1,518	57,99	0,135
	hombre	35	1,19	0,556			
mes 12º	mujer	22	1,58	0,669	1,993	48	0,052
	hombre	28	1,23	0,555			

9.3. Serología del virus de la hepatitis C.

Se realizaron las comparaciones de todas y cada una de las variables en los diferentes instantes considerando a toda la muestra según la serología para el virus de la hepatitis C (AcVHC), positiva vs negativa. Este análisis se realizó también en los grupos Estudio y CyA, no así en el grupo AZA por contar con escasa muestra. A continuación se detallan los resultados que fueron significativos.

9.3.1. AcVHC versus edad del receptor.

La edad media de los trasplantados del grupo seronegativo resultó superior a la del grupo seropositivo en toda la muestra y en el grupo Estudio (tablas 94 y 95).

Tabla 94. Toda la muestra. AcVHC vs edad: Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	AcVHC	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
Edad	negativo	42	48,2	12,00	2,01	61	0,049
	positivo	21	41,9	11,07			

Tabla 95. Grupo Estudio. AcVHC vs edad: Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	AcVHC	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
Edad	negativo	20	50,4	9,95	3,148	29	0,004
	positivo	11	38,5	10,29			

9.3.2. AcVHC versus tiempo de evolución del trasplante renal.

El tiempo de evolución del trasplante, en años, fue superior en los trasplantados seropositivos, tanto al considerar a toda la muestra como por grupos (tablas 96 a 98).

Tabla 96. Toda la muestra. AcVHC vs tiempo de evolución del trasplante renal: Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	AcVHC	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
Tiempo TR	negativo	43	3,66	2,589	2,55	62	0,013
	positivo	21	5,43	2,639			

Tabla 97. Grupo Estudio. AcVHC versus tiempo de evolución del trasplante renal: Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

Años	AcVHC	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
Tiempo TR	negativo	20	3,04	1,845	2,67	29	0,012
	positivo	11	5,09	2,417			

Tabla 98. Grupo CyA. AcVHC vs tiempo de evolución del trasplante renal:
Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	AcVHC	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
Tiempo	negativo	10	3,81	2,278	2,29	16	0,036
TR	positivo	8	6,54	2,802			

9.3.3. AcVHC versus recuento de linfocitos CD16+CD3-.

El recuento medio de linfocitos CD16+CD3- tendió a ser superior en los pacientes seronegativos: en toda la muestra hubo significación en los instantes basal, meses 3°, 6° y 12°, mientras que en el grupo Estudio sólo se obtuvo dicha significación en los instantes basal y mes 6° (tablas 99 y 100).

Tabla 99. Toda la muestra. AcVHC vs recuento de linfocitos CD16+CD3-:
Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	AcVHC	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	negativo	42	434,6	363,25	2,177	56,22	0,034
	positivo	21	267,8	239,32			
mes 1°	negativo	37	379,2	334,69	1,441	52	0,155
	positivo	17	245,4	272,32			
mes 3°	negativo	38	403,3	365,32	1,988	54,98	0,052
	positivo	19	258,7	184,10			
mes 6°	negativo	39	390,7	334,50	2,564	57,93	0,013
	positivo	21	223,1	171,64			
mes 12°	negativo	34	361,9	342,20	2,298	46,92	0,026
	positivo	16	206,9	132,72			

Tabla 100. Grupo Estudio. AcVHC vs recuento de linfocitos CD16+CD3-:
Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	AcVHC	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	negativo	18	516,1	406,91	2,279	26,83	0,031
	positivo	11	231,8	264,50			
mes 1°	negativo	18	437,9	404,30	1,264	27	0,217
	positivo	11	255,4	327,09			
mes 3°	negativo	17	488,3	461,16	1,795	23,95	0,085
	positivo	9	246,1	226,49			
mes 6°	negativo	20	415,6	360,03	2,570	28,63	0,016
	positivo	11	169,9	170,87			
mes 12°	negativo	16	345,0	395,37	1,907	16,73	0,074
	positivo	10	151,0	75,98			

Para las demás poblaciones linfocitarias y el resto de las variables analizadas no encontramos diferencias entre ambos subgrupos.

9.4. Edad del donante y antecedente de rechazo.

9.4.1. Edad del donante versus creatinina sérica.

Considerando a toda la muestra observamos asociación lineal y positiva entre la edad del donante y la creatinina sérica, con significación en todos los instantes del estudio (tabla 101).

Tabla 101. Asociación entre edad del donante vs CrS.

	r	p	n
basal	0,458	0,002	42
mes 1°	0,510	0,002	34
mes 3°	0,408	0,007	42
mes 6°	0,501	0,001	42
mes 12°	0,495	0,002	37

Comparados dos grupos según la edad del donante, ≤ 30 vs > 30 años (tabla 102), observamos que los injertos procedentes de donantes de más de 30 años ofrecieron CrS superiores a los de menos años. Esto resultó significativo en todos los instantes.

Tabla 102. Comparación de la CrS según la edad del donante: ≤ 30 vs > 30 años. Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	años	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	≤ 30	20	1,41	0,281	3,068	31,37	0,004
	> 30	22	1,83	0,566			
mes 1°	≤ 30	16	1,33	0,298	3,527	26,15	0,002
	> 30	18	1,88	0,575			
mes 3°	≤ 30	20	1,38	0,406	2,842	37,78	0,007
	> 30	22	1,82	0,575			
mes 6°	≤ 30	20	1,39	0,294	3,362	34,43	0,002
	> 30	22	1,82	0,503			
mes 12°	≤ 30	17	1,42	0,263	2,614	28,98	0,014
	> 30	20	1,77	0,521			

9.4.2. Antecedente de rechazo del injerto versus creatinina sérica.

Al comparar en toda la muestra y en el grupo Estudio la creatinina sérica entre el grupo de trasplantados con antecedente de rechazo (ya fuese agudo o crónico) frente al resto, observamos que los primeros mostraron valores medios más elevados (tablas 103 y 104). En los grupos CyA y AZA no se realizó este análisis por escasa muestra en alguno de los subgrupos.

Tabla 103. Toda la muestra. Antecedente de rechazo vs CrS: Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	Rechazo	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	No	55	1,55	0,417	2,168	10,45	0,054
	Si	10	2,00	0,636			
mes 1°	No	46	1,53	0,452	3,194	8,10	0,013
	Si	8	2,33	0,682			
mes 3°	No	55	1,50	0,445	2,493	10,79	0,030
	Si	10	2,01	0,614			
mes 6°	No	55	1,52	0,418	2,503	63	0,015
	Si	10	1,91	0,612			
mes 12°	No	48	1,51	0,370	1,580	7,67	0,154
	Si	8	1,91	0,700			

Tabla 104. Grupo Estudio. Antecedente de rechazo vs CrS: Medidas descriptivas de resumen y cantidades experimentales.

	Rechazo	n	media	DT	t _{exp}	g.l.	p
basal	No	25	1,63	0,319	2,77	5,78	0,034
	Si	6	2,30	0,566			
mes 1°	No	25	1,54	0,287	2,71	5,33	0,040
	Si	6	2,42	0,781			
mes 3°	No	25	1,50	0,298	3,81	6,01	0,009
	Si	6	2,27	0,468			
mes 6°	No	25	1,55	0,319	2,31	5,65	0,063
	Si	6	2,15	0,619			
mes 12°	No	25	1,58	0,278	2,63	5,64	0,042
	Si	6	2,18	0,546			

9.5. Función renal del injerto y poblaciones linfocitarias en sangre periférica.

Tras el análisis de regresión se observó asociación entre CrS y recuento de linfocitos CD16+CD3- en sangre periférica (tabla 105). Esta correlación no se demostró con ninguna otra población linfocitaria. El modelo cuadrático se ajustó mejor a nuestros datos que el lineal. Este

último demostró asociación inversa y significativa en los instantes basal, meses 1° y 3°, mientras que el primero ofreció asociación adicional significativa en el mes 12°. Dicha asociación no se mantuvo en el análisis por grupos.

Tabla 105. Toda la muestra. Ajuste lineal y cuadrático de las variables recuento de linfocitos CD16+CD3- en sangre periférica* y CrS**.

	Modelo	r^2	r	g.l.	F_{exp}	p
basal	lineal	0,063	- 0,251	61	4,10	0,047
	cuadrático	0,096	0,310	60	3,17	0,049
mes 1°	lineal	0,111	- 0,333	47	5,87	0,019
	cuadrático	0,143	0,378	46	3,85	0,029
mes 3°	lineal	0,104	- 0,322	55	6,39	0,014
	cuadrático	0,171	0,414	54	5,55	0,006
mes 6°	lineal	0,034	- 0,184	58	2,02	0,161
	cuadrático	0,072	0,268	57	2,22	0,118
mes 12°	lineal	0,032	- 0,179	47	1,58	0,215
	cuadrático	0,194	0,440	46	5,53	0,007

* variable independiente

** variable dependiente

Del presente capítulo de resultados podemos sintetizar las siguientes ideas:

1. Las poblaciones linfocitarias en sangre periférica se han asociado a la edad y sexo del receptor de la manera siguiente:

a) Los trasplantados renales de mayor edad cursaron con recuentos de linfocitos CD19+ y CD3+CD4+ inferiores y recuentos de linfocitos CD16+CD3- superiores respecto a aquellos de menor edad.

b) El grupo femenino cursó con recuentos de linfocitos CD3+CD8+ inferiores respecto al grupo masculino, por lo que el cociente CD4/ CD8 resultó superior en mujeres.

2. La función renal del injerto ha estado condicionada por la edad del donante, el sexo del receptor y el antecedente de rechazo:

a) los injertos procedentes de donantes de mayor edad y aquellos con antecedente de rechazo evolucionaron con valores de CrS superiores (figuras 27 a 29).

b) el grupo femenino cursó con CrS y peso medios inferiores respecto al masculino (figuras 30 y 31).

3. Los trasplantados virus C positivos cursaron con recuentos de linfocitos CD16+CD3- en sangre periférica inferiores respecto a aquellos seronegativos (figura 32).

4. Ha resultado un hallazgo la asociación entre CrS y recuento de linfocitos CD16+CD3- en sangre periférica (figura 33).

Figura 27. Edad del donante y CrS: instante basal y mes 12°. Nube de puntos y ajuste lineal.

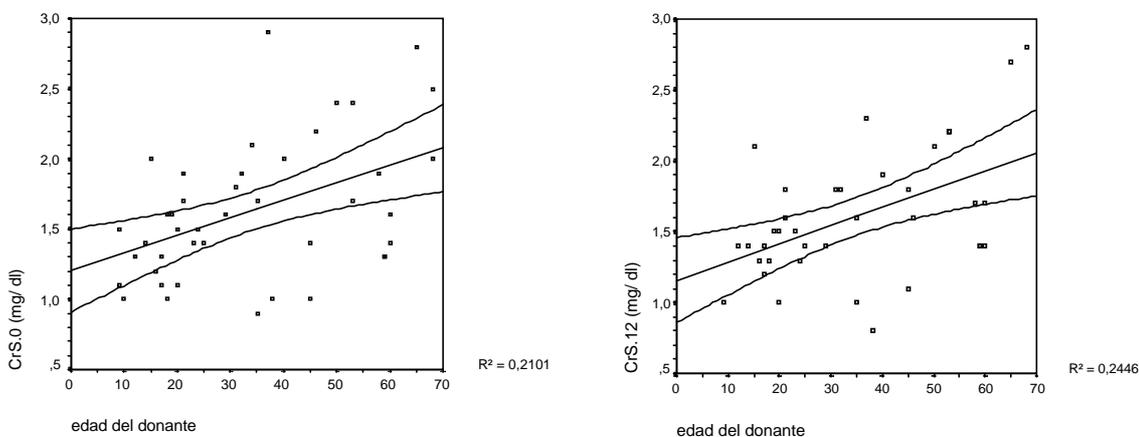


Figura 28. Evolución de la CrS según la edad del donante: \leq vs $>$ 30 años.

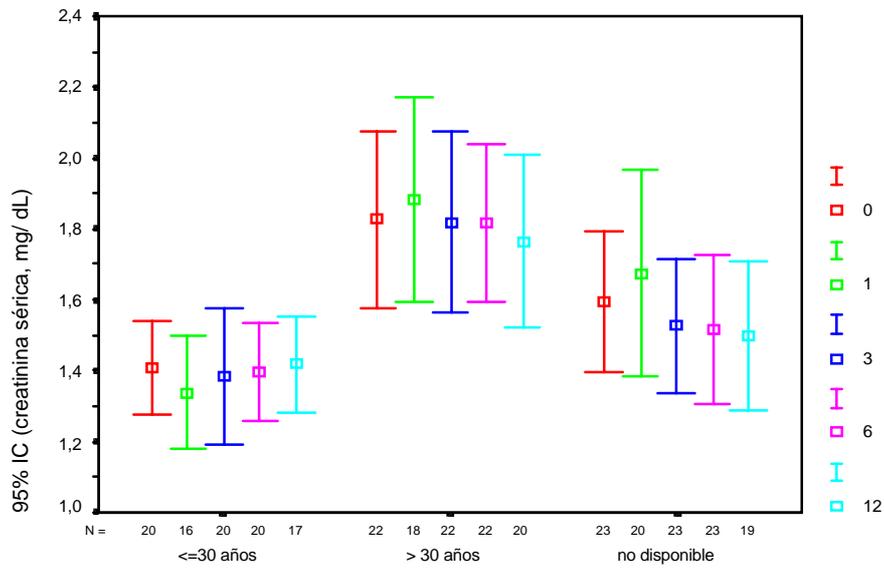


Figura 29. Evolución de la CrS según el antecedente de rechazo confirmado en biopsia.

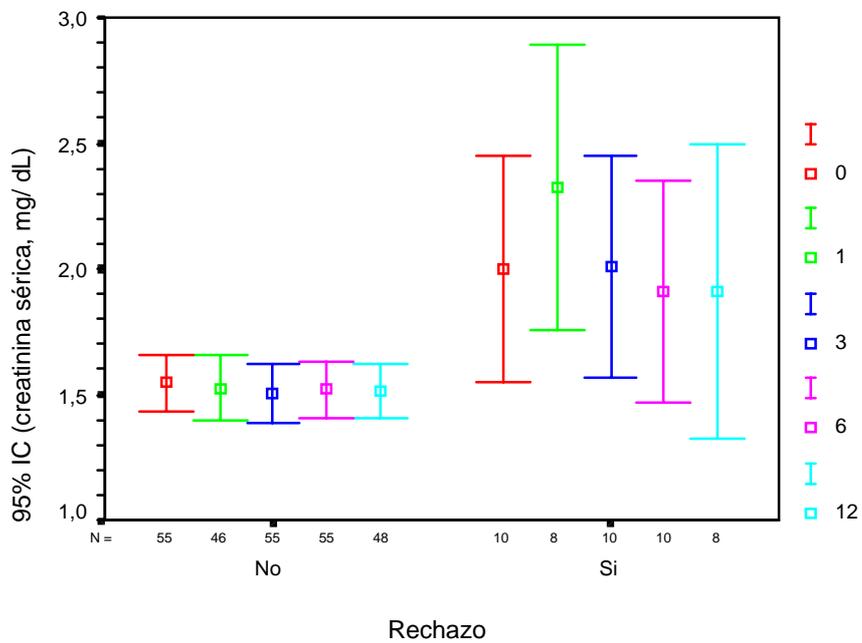


Figura 30. Evolución de la creatinina sérica según sexo.

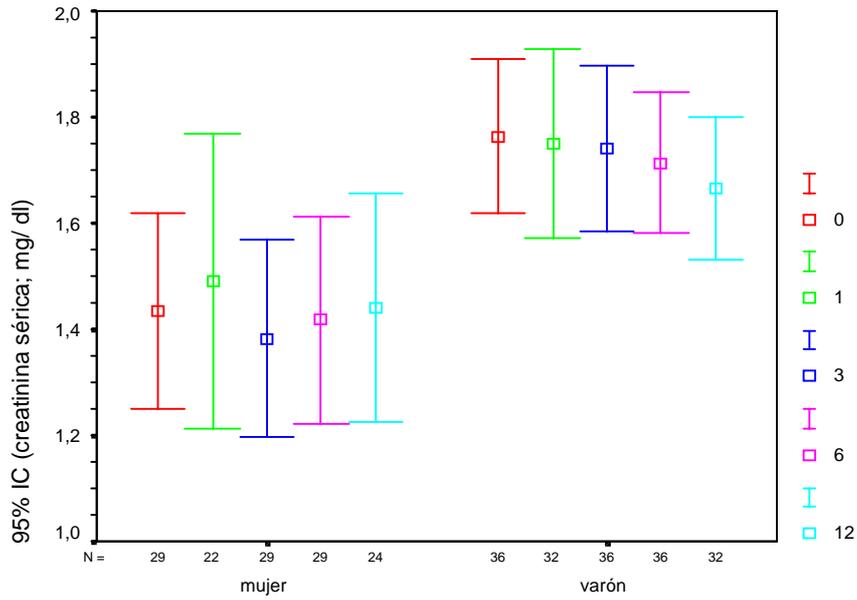


Figura 31. Evolución del peso corporal según sexo.

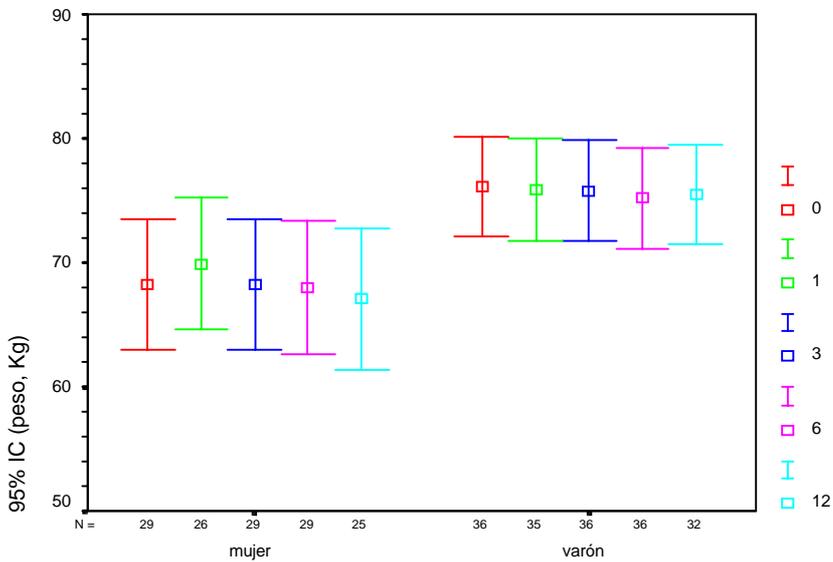


Figura 32. Evolución del recuento de linfocitos NK en sangre periférica según la serología del virus de la hepatitis C.

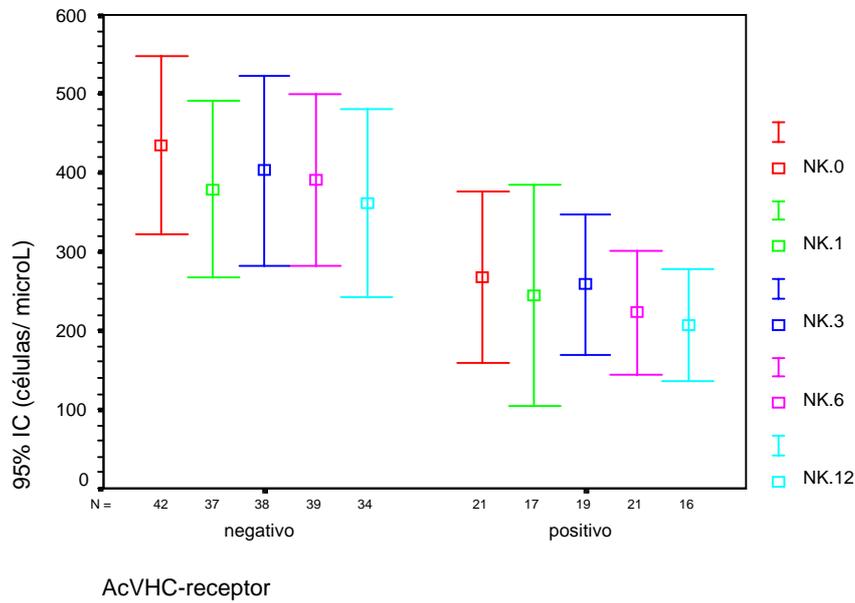
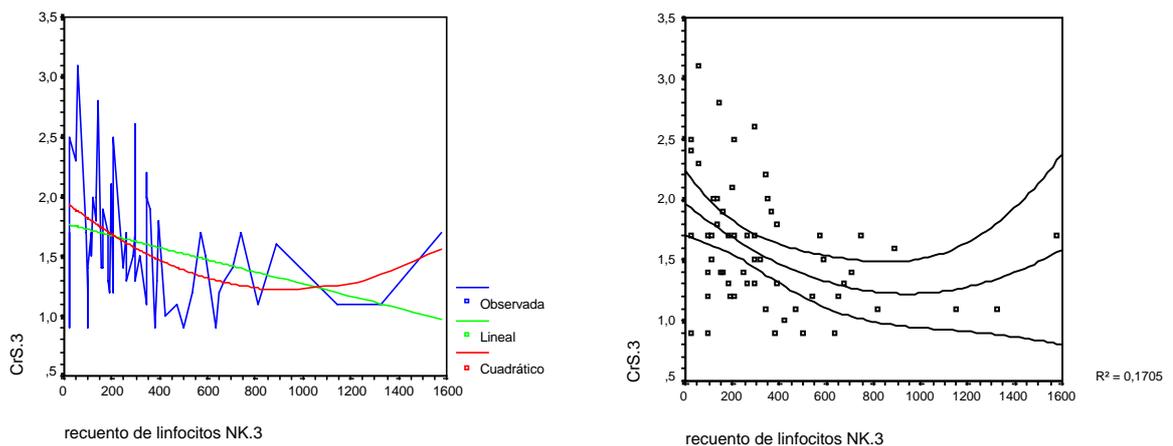


Figura 33. Modelo de regresión lineal y cuadrática de la CrS y recuento de linfocitos NK en sangre periférica en el mes 3º de seguimiento.



V. DISCUSIÓN

Durante la fase de análisis del presente trabajo surgieron aspectos colaterales que hubo que abordar, como fue el impacto de la edad, sexo y serología del virus de la hepatitis C del receptor sobre la evolución del recuento linfocitario y su distribución en sangre periférica, así como la asociación entre la función renal del injerto versus edad del donante, sexo del receptor y recuento de linfocitos NK en sangre periférica, sobre los que realizamos los correspondientes comentarios.

1. Seguridad clínica del micofenolato mofetil asociado a ciclosporina A y prednisona en el trasplante renal.

Los efectos beneficiosos de los medicamentos van unidos al riesgo inevitable de que produzcan efectos no deseados, y lo que en un paciente es un efecto secundario puede ser un efecto farmacológico deseado en otro (Wood et al, 1991). Importantes progresos en la investigación, desarrollo y regulación de los fármacos aseguran en la mayoría de los casos su uniformidad, eficacia e inocuidad relativa, así como la identificación de los peligros conocidos. Los estudios epidemiológicos sobre las reacciones adversas permiten valorar la magnitud del problema, calcular los índices de reacciones ante cada uno de los medicamentos, y caracterizar algunos de los determinantes de los efectos adversos de los agentes farmacológicos. Las actuales normas farmacológicas permiten al médico prescribir fármacos con

una considerable confianza en su pureza, biodisponibilidad y eficacia. Sin embargo, es responsabilidad médica contrapesar la potencial toxicidad con los posibles beneficios. Debido al número reducido de enfermos tratados en los estudio previos a la comercialización, con frecuencia no es posible identificar las reacciones adversas raras, por lo que la principal responsabilidad de identificar e informar de estos efectos recae en el propio médico mediante el uso de los distintos sistemas de información de reacciones adversas.

Por otra parte, el efecto de algunos medicamentos puede verse alterado de manera importante por la administración de otros (Oates et al, 1991). Estas interacciones pueden sabotear los intentos terapéuticos, al provocar una acción farmacológica excesiva (efecto adverso) o una disminución del efecto de un fármaco hasta el punto de hacerlo ineficaz.

Con el empleo de micofenolato mofetil en nuestro grupo Estudio de trasplantados renales, un inmunosupresor disponible en España desde 1996, nos preocuparon los posibles efectos adversos que pudiera condicionar, ya debidos a la propia sustancia ya a la interacción farmacológica con otras. Por ello los registramos con objeto de evaluar la seguridad clínica relativa del mismo en nuestra muestra, y poderlos contrastar con los observados por otros autores. A continuación se discuten algunos de los trabajos más significativos que recogen los efectos adversos asociados a MMF y evalúan su perfil de seguridad en el trasplante renal. Insistiremos principalmente en aquellos efectos diferidos respecto a la cirugía del trasplante para que guarden mayor similitud con nuestra experiencia.

En el *Estudio Europeo* con seguimiento de tres años (European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group, 1999) los efectos no deseados motivaron la retirada prematura de micofenolato mofetil en el 25,5

y 36,3 % de los trasplantados tratados con 2 y 3 gr/ día, respectivamente. La mayoría de estas retiradas ocurrieron en los primeros 6 meses del estudio (17,6 y 25,6 % para 2 y 3 gr/ día, respectivamente), momentos en que todavía era ciego, y computando una relativa baja frecuencia de retirada del fármaco desde el 6º mes hasta el tercer año (7,9 y 10,7 % en los grupos tratados con 2 y 3 gr/ día, respectivamente). Tras el primer año, los trasplantados que tomaban micofenolato mofetil continuaron con la misma dosificación. La frecuencia de efectos adversos resultó superior en aquellos tratados con 3 gr/ día (tabla de Introducción), lo que sugiere un mecanismo dosis-dependiente.

De la tabla 7 se desprende que la incidencia acumulada de efectos adversos no se incrementó sustancialmente al tercer año respecto al 1º de seguimiento, lo cual si acaso sugiere un perfil de seguridad clínica de la droga aceptable. Este hecho también se puede comprobar en el *Estudio Tricontinental* con seguimiento de tres años (Mathew for the Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group, 1998; tabla 8). Aunque no podemos dar una explicación cierta de este fenómeno, pudiera obedecer a una mejor tolerancia del fármaco.

Por otra parte, interesa resaltar cómo la incidencia global de efectos adversos en los Estudios Tricontinental y Americano ha sido superior a la observada en el Estudio Europeo. Posiblemente esta circunstancia se ha debido al empleo de menores dosis de inmunosupresión acompañante en este último (tabla 6).

El trabajo de Puig et al (1999) analiza específicamente los efectos adversos asociados a la terapia MMF + prednisona + CyA en el trasplante renal con el propósito de determinar factores de riesgo. Discrimina como tales la edad avanzada, el sexo femenino, el deterioro de la función renal del injerto y la introducción tardía de la droga respecto al momento del

trasplante. Respecto a este último, los autores han observado al menos un efecto adverso en el 35 % de este grupo de trasplantados, que condujo a la retirada del mismo en el 18 %. Por otra parte, la asociación observada entre deterioro de la función renal y efectos adversos sugiere la posibilidad de que exista algún metabolito del MMF de eliminación renal responsable de tales eventos (Wieland et al, 2000).

Efectos adversos semejantes durante el tratamiento con MMF + prednisona + CyA son los observados por Agraz et al (1999), que los estudiaron en un grupo de trasplantados renales con injertos procedentes de donantes añosos y disfunción crónica. Aunque la nueva droga se dosificó de forma progresiva, en el 61 % hubo alguna complicación, debiendo retirar el fármaco en el 33,3 %. Cabe reseñar que no se alteró el perfil hepático durante el seguimiento.

Nuestros trasplantados recibieron MMF al menos tras 12 meses del trasplante ($3,77 \pm 2,26$ años; rango 1,07-8,39 años). La frecuencia de retirada del fármaco, del 8,8 %, y de efectos adversos en esta etapa del trasplante ha sido comparable a la registrada en el estudio Europeo a tres años (European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group, 1999). Los estudios de Fritsche et al (1998), Puig et al (1999) y Agraz et al (1999) junto con el nuestro tienen en común la introducción tardía de MMF respecto a la cirugía del trasplante; por el contrario se diferencian del nuestro en la elevada frecuencia con la que al menos se presenta algún efecto adverso, que oscila entre el 32-61 %, así como la elevada frecuencia de retirada del fármaco, entre el 18-33 %. Una observación interesante es la señalada por Puig et al (1999) que informan una mayor incidencia e intensidad de efectos adversos en el grupo de trasplantados en quienes la droga se introdujo tardíamente

respecto a aquellos que la recibieron tras la cirugía. Los autores sugieren que las altas dosis de esteroides que se administran en las primeras semanas del trasplante renal pudieran proteger el epitelio intestinal del efecto irritativo-inflamatorio del fármaco, aunque no podemos descartar que el deterioro de la función renal del injerto haya participado en el incremento de la frecuencia de efectos adversos, y esta hipótesis quedaría apoyada por los tres trabajos reseñados donde los injertos se encuentran en distintos grados de disfunción crónica. Quizá la mejor función renal en nuestra serie, a pesar de haber empleado una dosificación de MMF semejante (tabla 36), condicionó menor incidencia de efectos adversos.

En nuestro estudio no hemos observado ningún caso de infección viral, en consonancia con el calendario de las complicaciones infecciosas del trasplante (Rubin et al, 1981). Durante el seguimiento no observamos cambios del hemograma, por lo que nuevamente nuestros resultados se encuentran en la línea de la baja incidencia de trastornos hematológicos ya descrita en el estudio Europeo tras el primer año del trasplante (tabla 7). No podemos definir si en nuestro caso de linfoma, que quedó excluido del estudio, influyó la nueva droga o bien se trató de un proceso ya establecido con diagnóstico tardío.

Debido a la transformación hepática del AMF en GAMF vigilamos el perfil evolutivo de las enzimas hepáticas: no se evidenció variación significativa de las enzimas AST, ALT, γ -GT y fosfatasa alcalina total, al igual que lo reflejado por Fritsche et al (1998) y Agraz et al (1999), ni tan siquiera en el grupo virus C positivo (tablas 73 a 76).

En resumen, los trabajos reseñados vienen a definir suficientemente el perfil de efectos no deseados asociados a MMF en

combinación con ciclosporina y prednisona en el trasplante renal a corto-medio plazo, acumulándose la incidencia en problemas digestivos, hematológicos e infecciosos. Si bien el perfil de infecciones virales, y principalmente aquella por citomegalovirus, está vinculado preferentemente al período del postrasplante temprano (entre el 6º-12º mes del trasplante), para el resto de los efectos no deseados no parece existir un calendario bien tipificado, y quizá la dosis de micofenolato mofetil, la inmunosupresión acompañante y la función renal del trasplante jueguen un papel decisivo. Nuestro estudio no discrepa sustancialmente con otros autores respecto a la seguridad clínica relativa observada con esta droga, cuyos efectos adversos se pueden minimizar reduciendo dosis, reduciendo inmunosupresión asociada (Moreso et al, 1998), y quizá teniendo en cuenta los factores-marcadores de riesgo relacionados con mayor susceptibilidad a la misma (Puig et al, 1999): edad y sexo del receptor, función renal y dosis de esteroides. La frecuencia de patología neoplásica habrá que establecerla con seguimientos más prolongados, y quizá en regímenes de mantenimiento donde se emplee micofenolato mofetil en monoterapia, ya que es la única manera de establecer con claridad el efecto carcinogénico de la droga sin confundirlo con el propiciado por otras.

2. Efecto del micofenolato mofetil sobre la evolución de la función renal en el trasplante renal.

Cuando se administran varias drogas en un régimen inmunosupresor en ocasiones resulta complejo diferenciar qué parte del efecto, ya terapéutico ya adverso, corresponde a cada una. En el trasplante renal, la introducción de MMF en la inmunosupresión de mantenimiento junto a otras drogas, principalmente prednisona y CyA, ha supuesto un beneficio sobre la función renal del injerto, si bien con frecuencia también han concurrido asociados otros factores positivos como son la reducción progresiva de la dosis de CyA, la mejoría del perfil lipídico y de la tensión arterial.

A continuación discutiremos algunos de los trabajos más significativos en trasplantados renales tratados con el régimen antedicho, abordando aquellos matices más singulares. Aunque todos ellos realizados sobre injertos con evidencias de nefropatía crónica, la mayoría excepto el de Mazuecos et al (1997), Campistol et al (1999) y el nuestro, han llevado implícito en sus objetivos la reducción de la dosis de ciclosporina con la finalidad de rebajar su efecto patogénico sobre esta condición.

En los estudios de Islam et al (1998), Agraz et al (1999) y Hueso et al (1998) la adición de MMF junto a prednisona y dosis reducidas de CyA condicionó descenso de la CrS. En este último la proteinuria permaneció estable.

Un régimen inmunosupresor semejante fue el establecido por Fritsche et al (1998), cosechando enlentecimiento de la tasa de deterioro del filtrado glomerular y proteinuria estable.

Campistol et al (1999) no objetivaron reducción significativa de la CrS. Sin embargo, sí constató un cambio significativo, de negativo a positivo, de la pendiente mensual media de la $1/\text{CrS}$ cuando se introdujo el nuevo fármaco. Concurrió una reducción significativa de la dosis de CyA y del nivel valle medios, sin que la proteinuria se modificara.

En el estudio de Weir et al (1997) se produjo la reducción más intensa de la dosis de CyA (hasta $1,6 \pm 0,9 \text{ mg/ Kg/ día}$): observaron mejoría de la función renal del injerto, expresada a través del cambio de negativa a positiva de la pendiente mensual de la $1/\text{CrS}$ ($-0,006 \pm 0,002$ vs $+0,007 \pm 0,003$; $p < 0,01$).

En nuestra cohorte de trasplantados renales tratados con MMF observamos un descenso del valor medio de la CrS durante el seguimiento, que se acompañó de cambio de la pendiente media mensual de la CrS, de negativa a positiva (12º mes preMMF: $-0,0101 \pm 0,0245$ versus 12º mes postMMF: $+0,0055 \pm 0,0225 \text{ mg/ dL/ mes}$; $p < 0,05$). Esto último expresa una evolución favorable de la función renal, de forma que si existía una tendencia media de deterioro de la función renal del injerto ésta se invirtió. Hubo una reducción de la dosis media de CyA (basal: $3,14 \pm 0,64$ vs mes 12º: $2,88 \pm 0,66 \text{ mg/ kg/ día}$), que si bien no fue intencionada, pudo contribuir al cambio de tendencia de la CrS. Hay que destacar que no fue tan intensa como la observada en los estudios de Weir et al (1997), Islam et al (1998) y Hueso et al (1998), y ello queda patente en que la reducción del nivel valle no fue significativa, aunque se puede observar que la ciclosporinemia valle media en el mes 12º ($167,7 \pm 35,56 \text{ ng/ mL}$) fue ligeramente inferior a las previas (tabla 32). Quizá si el seguimiento del estudio se hubiese prolongado no solamente se hubiera obtenido la significación “biológica” sino también la estadística (Casado et al, 1999).

De gran valor son los resultados procedentes del Estudio Multicéntrico Español sobre la nefropatía crónica del trasplante tratada con MMF (González et al, 2001): mejoró la función renal del injerto, en términos de la pendiente de la $1/\text{CrS}$, tras la introducción de MMF. Resulta interesante señalar que el enlentecimiento de la progresión de la insuficiencia renal en estos pacientes con nefropatía crónica se produjo tanto en aquellos en los que hubo reducción de la dosis y el nivel valle de CyA, como en aquel subgrupo donde el nivel valle medio no varió. Esto último sugiere que el beneficio de MMF sobre la función renal del injerto es independiente del nivel de CyA. La proteinuria no cambió.

Resultados semejantes ya fueron reportados por Mazuecos et al (1997) quienes también observaron mejora de la función renal del injerto tras la adición de MMF, y sin constatar reducción en la dosis de CyA administrada.

Por otra parte, algunos autores también han valorado la evolución del perfil lipídico y de la tensión arterial tras la adición de MMF en el trasplante renal, ya que además de reducir factores de riesgo cardiovascular estas variables pudieran jugar un papel sobre la función renal del injerto. El efecto beneficioso posiblemente esté asociado a la dosificación reducida ó retirada de ciclosporina A y esteroides.

Esto queda patente en los estudios de Keunecke et al (2000) y Schrama et al (2000), donde la conversión de CyA por MMF en sendos grupos de trasplantados renales libres de esteroides cursó con descenso de la CrS, reducción de los valores de colesterol total, triglicéridos y de la tensión arterial sistólica y diastólica.

Campistol et al (1999) no observaron reducción de la tensión arterial a pesar de la dosificación reducida de CyA, a diferencia de la reportado por

Hueso et al (1998). Por otro lado, el Estudio Multicéntrico Español sobre la nefropatía crónica del trasplante tratada con MMF (González et al, 2001) no detectó cambios de los valores evolutivos de colesterol total.

En nuestra cohorte tratada con MMF, a pesar de la tendente reducción de la dosis de CyA así como la de esteroides (esta última con reducción significativa en el mes 12º) el perfil lipídico evaluado, colesterol total y triglicéridos, resultó muy uniforme durante el seguimiento (tablas 66 y 67). En el 77,4 % de los casos no varió el régimen hipolipemiente establecido, el 16,5 % lo incrementó, mientras que el 6,5 % lo redujo. Señalamos que en ningún momento pretendimos investigar la calidad hipolipemiente de las diferentes estatinas empleadas (atorvastatina, lovastatina, fluvastatina, pravastatina y simvastatina), las cuales incluso se intercambiaron durante el estudio.

Tanto en nuestra cohorte como en los estudios de Campistol et al (1999) y González et al (2001) mejoró la función renal sin cambios en el perfil lipídico y tensión arterial evolutivos, por lo que sospechamos que el influjo de estas variables sobre la CrS ha sido escaso, recayendo el peso sobre la adición de MMF y reducción de la dosis de CyA. En esta situación es difícil separar la contribución de cada una de estas actuaciones.

En resumen, el empleo de MMF en combinación con dosis reducidas de CyA atenúa e incluso revierte la progresión de la insuficiencia renal del injerto. Posiblemente además pueda reducir el riesgo cardiovascular de esta población, si bien esto se tendrá que dirimir en futuros estudios. A pesar de ello, la valoración de la función renal del injerto en estas circunstancias debe ser cuidadosa ya que aunque esta estrategia comporta menor fibrogénesis, puede que lo único que manifieste sea una reducción del efecto presor ciclosporin-dependiente (Van Buren et al, 1994). Por ello son precisos

estudios de seguimiento a largo plazo que rebelen si la reducción de CyA, y principalmente la sustitución de ésta por MMF, es segura en términos de nefropatía crónica tardía.

Finalmente, a tenor de los superiores resultados cosechados por MMF en la prevención del rechazo agudo así como en los regímenes de mantenimiento de los injertos con nefropatía crónica, nos planteamos la pregunta: ¿es necesario incluir esta droga en todos los regímenes de mantenimiento del trasplante renal para mejorar la supervivencia del mismo? Hoy día es difícil dar una respuesta categórica. La inmunosupresión de mantenimiento se ha venido modificando en el transcurso de la historia del trasplante renal en la filosofía de procurar mayor supervivencia del injerto y del paciente. Aunque es razonable pensar que no todos los trasplantados precisan las mismas drogas ni las mismas dosis, la incorporación de CyA de forma generalizada, ya asociada a esteroides y/ o azatioprina y ocasionalmente en monoterapia, ha conseguido incrementar la supervivencia de los injertos en el primer año del 50 % al 85 %. Por otra parte, el empleo de MMF ha rebajado sustancialmente la incidencia de rechazo agudo. A pesar de ello, no podemos predecir qué pacientes perderán sus injertos sin CyA ni cuáles sufrirán rechazo agudo sin MMF. De ahí la relevancia de insistir en la construcción de protocolos inmunosupresores que ofrezcan la oportunidad de individualizar la terapia explotando el amplio arsenal medicamentoso hoy disponible, y los factores pronósticos inmunológicos y no inmunológicos.

En nuestro trabajo, los grupos Estudio, CyA y AZA partían de una función renal diferente (tablas 38 a 40): la CrS media del grupo CyA resultó inferior a las observadas en los grupos Estudio y AZA, que no se diferenciaron entre sí. No es de extrañar, ya que los trasplantados con mejor

función renal (grupo CyA) no precisaron suplemento inmunosupresor con una tercera droga; por el contrario, los trasplantados con deterioro de la función renal (antecedente de rechazo agudo o sospecha/ diagnóstico de rechazo crónico) o sospecha razonable de peor pronóstico vieron incrementada la inmunosupresión, ya con azatioprina o MMF.

Durante el seguimiento del grupo AZA, la CrS media se mantuvo estable, observando uniformidad del tratamiento inmunosupresor en cuanto a dosis empleadas y niveles valle de CyA.

En el grupo CyA hubo una reducción de la dosis media de prednisona únicamente significativa en el mes 12° (tabla 28), de significado clínico incierto. La evolución de la dosis diaria de CyA fue semejante a la observada en el grupo tratado con MMF, con reducción progresiva y más patente en el mes 12°, que no condicionó cambio significativo sobre el nivel valle. Sin embargo, y a diferencia con el grupo Estudio, no se objetivó descenso significativo de la CrS media. Esta diferencia pudiera deberse a:

1) una menor reducción de la dosis de ciclosporina A en el grupo CyA (basal: $3,47 \pm 0,619$ vs mes 12°: $3,20 \pm 0,689$ ng/ mL; tabla 30), aunque no se pudieran establecer diferencias significativas entre las medias del grupo CyA vs grupo MMF (tablas 30 y 31), y/ o

2) al propio efecto de micofenolato mofetil.

En definitiva, con nuestros resultados no podemos asegurar que un régimen inmunosupresor en este momento del trasplante renal sea superior a los otros, si bien el cambio de tendencia de la CrS observado en nuestro grupo Estudio, que no se debió a evolución natural, marca la relevancia de alguna modificación de la terapia inmunosupresora sobre la función renal del injerto: adición de MMF y/ o reducción de la dosis de CyA. Los tres

regímenes son eficaces para preservar la función del injerto, lo que hace difícil definir cual es “el mejor protocolo inmunosupresor de mantenimiento” para nuestros pacientes. En esta situación cabe sugerir una respuesta dinámica y cada vez más individualizada: el tratamiento inmunosupresor de mantenimiento estará guiado por los eventos que sucedan durante la historia natural del trasplante renal, aunque cada vez resuenan con mayor intensidad las recomendaciones sobre el empleo de inmunosupresores no nefrotóxicos (Abramowicz et al, 2000).

3. Recuento linfocitario y su distribución en sangre periférica en el trasplante renal estable. Efecto inmunomodulador del régimen inmunosupresor de mantenimiento. Diferencias según características basales del receptor. Función renal y recuento de linfocitos NK.

En pocos años se ha incrementado sustancialmente el número de inmunosupresores disponibles en el trasplante renal. Hoy día, se cuenta con drogas más potentes y selectivas, y adquiere gran relevancia la manera de combinarlas racionalmente para reducir efectos adversos dosis-dependiente y prolongar la supervivencia de los pacientes e injertos. Aunque en el trasplante renal la monitorización inmunológica aún no ha cosechado resultados definitivos para consolidarse como una herramienta de uso generalizado y eficaz en la predicción de situaciones de riesgo, y por ende, en la prescripción individualizada de la dosis y de las drogas inmunosupresoras (Burdick et al,1998), resulta una tentadora perspectiva con la que afrontar los retos que se avecinan derivados de la mayor potencia biológica del nuevo arsenal terapéutico.

En el intento por individualizar la terapia supresora del trasplante renal se han sugerido diversos criterios, inmunológicos y no inmunológicos, que posiblemente jueguen un papel a tal efecto (revisado por Danovitch, 1999; tabla 106). Aunque pueda parecer una utopía, sería deseable que tales factores, y en particular los inmunológicos, se pudieran delimitar y cuantificar con la finalidad de establecer una inmunosupresión de intensidad y calidad adecuada.

Tabla 106. Criterios para la individualización de la inmunosupresión del trasplante renal. Modificado de Danovitch, 1999.

1. Compatibilidad de los antígenos HLA entre donante versus receptor.
 2. Injerto renal de cadáver versus donación intervivos.
 3. Edad, sexo y raza del receptor.
 4. Edad del donante.
 5. Función renal retardada versus inmediata.
 6. Primero versus segundo trasplante.
 7. Reactividad frente al panel de anticuerpos alta versus baja.
-

Por nuestra parte, hemos explorado la situación inmunológica del trasplantado renal estable a través de la monitorización del recuento linfocitario y su distribución en sangre periférica con el objetivo de evaluar los cambios de esta estirpe celular según la terapia inmunosupresora de mantenimiento, y en particular los condicionados por MMF. Además se discuten otros factores que posiblemente incidan sobre tales poblaciones linfocitarias, como son la edad, sexo y serología del virus de la hepatitis C del receptor, y menos aparentemente la función renal del injerto.

3.1. Evolución del recuento linfocitario y su distribución en sangre periférica según el régimen inmunosupresor de mantenimiento en el trasplante renal estable.

Durante la terapia con anticuerpos antilinfocitarios la monitorización de las subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica ha contribuido a la reducción del riesgo de infección viral y rechazo agudo (Masri et al, 1997;

Flechner et al, 2000). Salvo los anticuerpos antilinfocitarios, ninguna de las drogas clásicas empleadas en el trasplante renal se ha caracterizada por un efecto linfopénico agudo y severo. Quizá por ello la citoimmunomonitorización no ha sido eficaz para valorar el efecto supresor de las drogas. El efecto antiproliferativo del ácido micofenólico sobre la población linfocitaria, a través de un mecanismo inhibitorio y selectivo de la biosíntesis de novo de las purinas, hace sospechar que el efecto biológico inducido pudiera detectarse en sangre periférica. Lo esperado sería constatar una reducción linfocitaria global, sin que de antemano podamos predecir ni la magnitud ni la población más deprimida.

El trabajo experimental de Gummert et al (1999) apoya nuestra hipótesis, y establece además la asociación entre la concentración de ácido micofenólico en plasma (parámetro farmacocinético) y la función inmunosupresora del mismo (farmacodinámico), observando no solamente el efecto antiproliferativo linfocitario en sangre tras estimulación antigénica sino además una menor expresión en superficie de marcadores de activación linfocitaria, como el CD25 y CD134.

A continuación se discuten los resultados de algunos estudios donde la cuantificación de las poblaciones linfocitarias en sangre periférica, ya en trasplantados ya en otros pacientes tratados con MMF, se ha empleado para intentar evaluar el estado inmunológico con la finalidad de predecir, diagnosticar y/ o tratar situaciones de riesgo.

Alamartine et al (1992) han comunicado en el trasplante renal un efecto negativo de la terapia azatioprina + prednisona sobre el recuento de las células NK así como la escasa influencia ejercida por CyA + prednisona. Los grupos control CyA y AZA de nuestro estudio, que

guardan cierta similitud con los de este original, no se diferenciaron de forma significativa respecto a esta población linfocitaria, aunque si observamos las medias se puede apreciar dicha tendencia (tablas 61 y 62).

Daniel et al (1999) buscan predictores inmunológicos de rechazo agudo, infección y función renal estable en trasplantados renales tratados con esteroides + CyA + azatioprina o MMF. Evalúan de manera secuencial un panel de variables inmunológicas sobre 840 muestras procedentes de un grupo de trasplantados renales en diferentes situaciones clínicas. El incremento de linfocitos CD4+ (> 44%) y del cociente CD4/ CD8 (> 1,5) se asoció con situación de rechazo agudo inminente, mientras que el descenso de linfocitos CD3+ (< 702 / μ L), CD4+ (< 463 / μ L), CD8+ (< 38 %), CD16+ (< 82 / μ L) y CD19+ (< 9 %) pudiera segregar aquellos con riesgo de infección. Nuestro estudio no fue diseñado para responder a estas cuestiones, por lo que no disponemos de información como para apoyar o desmentir tales resultados, aunque sospechamos que no son suficientemente robustos como para establecer un algoritmo pronóstico en el trasplante. Únicamente apuntamos que en nuestro grupo AZA el cociente CD4/ CD8 medio fue siempre superior a 1,5 (tabla 59) y la función renal se mantuvo estable durante el seguimiento (tabla 38).

Malinowski et al (2000) han evaluado en el trasplante renal el efecto de los regímenes CyA + AZA y CyA + MMF sobre la expresión de marcadores linfocitarios de diferenciación y de activación en sangre periférica. Las determinaciones se realizaron a los cinco meses de media tras el trasplante, encontrándose los pacientes estables. Es difícil establecer comparaciones entre el presente trabajo y el nuestro, por tratarse de un

estudio de corte realizado en una fase más precoz del trasplante. Salvando esta dificultad, señalamos algunas homologías y diferencias:

1) en nuestro estudio la terapia con AZA no condicionó recuentos inferiores de linfocitos CD19+, ni superiores de linfocitos CD3+ y CD3+CD8+ respecto a la que asoció MMF, a diferencia de lo que ocurrió en el presente.

2) en ambos estudios la población de linfocitos CD3+CD4+ no se diferenció según la terapia supresora.

3) en este original se redujo la población de linfocitos NK durante la terapia CyA + AZA, no así durante el tratamiento CyA + MMF. En nuestra serie no hubo diferencias evolutivas entre grupo AZA vs Estudio respecto a esta población (tabla 61).

Mathieu et al (2000) estudió el efecto de la terapia MMF + CyA + prednisona sobre los linfocitos CD2+, CD4+ y CD8+ en sangre periférica en el trasplante cardíaco al 7º, 15º y 30º día tras la cirugía. Es relevante señalar que al mes de seguimiento, al igual que lo sucedido en nuestro estudio, no detectaron variaciones significativas de tales poblaciones. Quizá con una observación más prolongada se hubiesen observado.

Gaubitz et al (1999) trataron diez pacientes lúpicos con MMF durante once meses de media. A diferencia de nuestros trasplantados, el MMF no condicionó reducción significativa del recuento medio de linfocitos B ni al 3º ni al 6º mes de seguimiento respecto a la determinación basal; tampoco redujo los recuentos medios de linfocitos totales, CD3+, CD3+CD4+ y CD3+CD8+ al mes 6º. Únicamente el recuento medio de linfocitos NK se redujo al mes 6º respecto al basal ($107 \mu\text{L} \pm 76$ vs $63 \mu\text{L} \pm 27$; $p < 0,05$). Señalamos que el recuento linfocitario absoluto medio fue

muy inferior al de nuestra muestra (basal $576 \mu\text{L} \pm 605$; mes 3° 571 ± 335 ; mes 6° 537 ± 377), así como el resto de las subpoblaciones. Posiblemente ello fue debido al tratamiento previo con ciclofosfamida, antipalúdicos o esteroides, o bien a la propia enfermedad lúpica. En este estudio piloto se deja entrever el valor de MMF sobre esta enfermedad, que cursó con mejoría significativa de la puntuación de actividad lúpica, y ligero descenso de la CrS en los cuatro pacientes con nefropatía, aún sin provocar reducción linfocitaria relevante.

A tenor de nuestros resultados podemos asegurar que la terapia inmunosupresora de mantenimiento que asocia MMF en trasplantados renales modula el recuento linfocitario total y de las subpoblaciones en sangre periférica. En el grupo tratado con MMF hubo una reducción linfocitaria general, más precoz e intensa sobre el recuento de linfocitos CD19+, menos acusada sobre los linfocitos T CD4+, e incremento del cociente CD4/ CD8. Con el concurso de los grupos control (donde no hubo variación significativa de dichas subpoblaciones linfocitarias durante los doce meses de seguimiento) queda de manifiesto de forma razonable que el responsable de tales cambios ha sido el propio MMF, y no la posible evolución inmunológica natural del trasplante. A diferencia de la depleción aguda e intensa que producen los anticuerpos antilinfocitarios sobre los linfocitos en sangre periférica, con esta droga el descenso comenzó a detectarse a partir de los meses 3° y 6° (linfocitos CD19+ y resto de las poblaciones, respectivamente), por lo que se pudiera sugerir un efecto biológico acumulativo. No podemos precisar si con las dosis de MMF empleadas hemos alcanzado el “techo de reducción linfocitaria” sobre cada una de las poblaciones, ni si es posible establecer y/ o predecir, siempre y

cuando no concurren otras circunstancias, la modulación linfocitaria que provoca una determinada dosis en el transcurso de los años.

La terapia de mantenimiento prednisona + CyA evoluciona con recuentos de linfocitos totales y CD3+ superiores y cocientes CD4/ CD8 inferiores respecto a la terapia que asocia azatioprina (esto último ya descrito por Kerman et al, 1983); los recuentos de linfocitos CD8+ en el grupo CyA se disponen con una tendencia por encima de los observados en el grupo AZA. La asociación de MMF junto a prednisona y CyA, respecto a las poblaciones comentadas, condiciona una tendencia aproximativa desde valores semejantes al grupo CyA hasta valores cercanos al grupo AZA.

Los tres regímenes de mantenimiento no se han diferenciado a través del recuento de células CD3+CD4+, CD19+ y CD16+CD3- durante el seguimiento. Ello insinúa cierta similitud en la modulación de estas poblaciones por el efecto supresor de las drogas y dosis empleadas, si bien no podemos descartar que tal ausencia de contraste se haya debido a un periodo de observación o tamaño muestral insuficientes.

Finalmente, ante el empleo de combinaciones de inmunosupresores cada vez más potentes y selectivos, y la necesidad de reducir situaciones de riesgo para el paciente y el injerto renal quizá sea precisa una evaluación y *dosificación* de las drogas cada vez más *individualizada*, donde el estado inmunológico del receptor adquiera mayor protagonismo. En este sentido, el desarrollo de la *inmunomonitorización* del trasplante renal, que toma gran consistencia en algunos aspectos del trasplante, puede que en el futuro juegue un papel relevante. Ello evitará no sólo los problemas agudos derivados del defecto o exceso de supresión, sino también aquellos más tardíos, como la nefropatía crónica del injerto y la patología neoplásica.

Junto a estas medidas son precisos estudios de seguimiento prolongados capaces de definir la seguridad de cada uno de los protocolos inmunosupresores de mantenimiento a largo plazo. Todas estas medidas son el prelude que nos ayudará a comprender y adoptar actuaciones con los pacientes cada vez más preventivas.

3.2. Diferencias del recuento linfocitario y su distribución en sangre periférica según edad y sexo del receptor en el trasplante renal estable.

Son múltiples los trabajos donde se han investigado las diferencias inmunológicas asociadas a edad y sexo en sujetos sanos (Giglio et al, 1994; Karanfilov et al, 1999; Bruunsgaard et al, 1999). En este sentido las poblaciones linfocitarias en sangre periférica se han evaluado con el propósito de definir rangos de normalidad (Kotylo et al, 1991; Reichert et al, 1991; Hannet et al, 1992). Algunos de estos estudios se han planteado con el objetivo de conseguir un mejor abordaje de situaciones patológicas, como linfomas malignos y SIDA (Hoffkes et al, 1996; Kam et al, 1996).

Debido a que la edad y sexo, además del condicionante inmunológico existente en nuestra muestra asociado a la terapia inmunosupresora, pudieran tener algún efecto sobre las poblaciones linfocitarias en sangre periférica, tuvimos la precaución de examinar esta cuestión en sujetos sanos. Sin embargo, esta aproximación sigue siendo un escollo por cuanto que los trabajos analizados son contradictorios: unos

observan diferencias linfocitarias mientras que otros no las detectan (Loken et al, 1990; Parker et al, 1990). A continuación se discuten algunos de ellos.

Fietta et al (1994) investigaron la influencia de la edad sobre diversos parámetros del sistema inmunológico en 146 voluntarios sanos (60 varones, 86 mujeres) estratificados en tres grupos de edad semejantes respecto al sexo: 25-45 (n= 53), 46-65 (n= 41) y 66-100 años (n= 51). La edad no estableció diferencias respecto al recuento leucocitario, linfocitario ni de las subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica medidas por citometría de flujo. Los resultados de Roman et al (1995) tampoco marcaron diferencias de las poblaciones linfocitarias en sangre periférica al considerar cien donantes sanos (51 varones, 49 mujeres).

Por el contrario, en el estudio de Reichert et al (1991) sí hubo disparidades. Realizado con la finalidad de establecer rangos de normalidad de las subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica por citometría de flujo en adultos sanos (n= 271, edad entre 18-70 años), observaron que las proporciones de linfocitos CD3+, CD4+ y células NK fueron distintas atendiendo a edad y sexo. En el grupo de varones, la proporción de linfocitos CD3+ y CD4+ resultó inferior respecto al grupo de mujeres (diferencias medias del 2,6 % y 3,5 %, respectivamente; en ambos $p < 0,01$), mientras que la proporción de células NK fue superior en varones (diferencia media del 1,7 %; $p < 0,01$). Así mismo, el cociente CD4/ CD8 fue ligeramente inferior en varones respecto al grupo femenino (diferencia media de 0,17). Por otra parte, hubo un incremento de las proporciones de linfocitos NK y CD4+ con la edad (1,1 % por década). Finalmente, las diferencias según edad y sexo de las proporciones de linfocitos CD19+ y CD8+ no fueron significativas.

El estudio de Kam et al (1996) realizado sobre 208 adultos sanos (78 varones, 130 mujeres; edad media 32 años, rango de edad 18-71 años) observó diferencias significativas según sexo y edad respecto al recuento absoluto y proporción de linfocitos T CD4+: superior en mujeres, e incremento de los mismos con la edad (42 células / μ L [1,6 %] por década).

Bryant et al (1996) analizaron las poblaciones linfocitarias en 565 muestras de sangre procedentes de donantes, clasificadas según sexo y grupos de edad (18-30, 31-50, y > 51 años). En ambos sexos la proporción de linfocitos CD3+CD4+ se incrementó con la edad (0,14 % por año, IC 95 %= 0,99-1,99), mientras que la proporción y recuento absoluto de linfocitos CD3+CD8+ tendieron a descender. Ello condicionó un aumento del cociente CD4/ CD8 en función de la edad. Las diferencias por sexo únicamente se manifestaron en el recuento absoluto y proporción de linfocitos CD16+CD3-, que fueron superiores en el grupo masculino.

Del análisis de nuestra cohorte de trasplantados según edad y sexo del receptor pudimos establecer ciertas variaciones significativas de la distribución linfocitaria en sangre periférica. Los trasplantados de mayor edad tendieron a evolucionar con recuentos de linfocitos B y linfocitos T CD4+ inferiores respecto a aquellos de menor edad (tablas 79 y 83), mientras que el recuento de linfocitos NK tendió a comportarse de manera inversa (tabla 87). Por otra parte, en la comparación estratificada por sexo observamos que el grupo femenino cursó con recuentos medios de linfocitos T CD8+ inferiores al grupo masculino (tabla 92). Como consecuencia de este resultado el cociente CD4/ CD8 fue superior (tabla 93).

La asociación inversa observada entre edad del receptor y dosis diaria de CyA (tablas 77 y 78), y que no se estableció entre edad y nivel valle, pone de manifiesto que los trasplantados de mayor edad recibieron dosis de CyA inferiores respecto a los más jóvenes, sin que ello repercutiera sobre el nivel valle. No sospechamos que esta circunstancia influyera sobre las asociaciones previamente comentadas, edad del receptor vs poblaciones linfocitarias en sangre periférica, si bien tampoco lo podemos descartar. Este hallazgo pudiera deberse a variaciones en la biodisponibilidad y/ o depuración de la droga en sujetos según edad (Schroeder, 1995).

Con estos resultados nos resulta difícil delimitar con claridad la contribución de cada uno de los factores, edad, sexo e inmunosupresión, sobre tal variación de la distribución linfocitaria. El análisis de las poblaciones linfocitarias en sangre periférica en individuos sanos según edad y sexo, hubiera servido para discernir esta cuestión por cuanto que obvia el condicionante que inflige la inmunosupresión subyacente del trasplante, si no fuera por la controversia que sobreañade. A pesar de tal escollo, quizá sea relevante señalar la coincidente asociación positiva observada entre edad y recuento-proporción de linfocitos T CD4+ en sangre periférica de sujetos sanos (Bryant et al, 1996; Kam et al, 1996; Parker et al, 1990; Reichert et al, 1991; Schwab R et al, 1983). En nuestra cohorte esta asociación resultó inversa, por lo que sospechamos que la inmunosupresión debió de jugar un papel relevante. Por otra parte, observamos asociación positiva entre edad del trasplantado vs recuento de linfocitos NK, coincidiendo con los trabajos de Ligthart et al (1985) y Reichert et al (1991) en sujetos sanos. Esto último podría sugerir un predominio del efecto “edad” sobre el efecto “inmunosupresión” respecto a la evolución de este recuento en el trasplante renal.

Si tenemos en cuenta la fuerte impresión clínica, apoyada por datos de la observación clínica y modelos animales, sobre la tendencia de los trasplantados jóvenes a mostrar mayor alorreactividad que aquellos mayores de 60 años (Ettenber, 1996), apoyándose en nuestros resultados se podría plantear la hipótesis de si este patrón linfocitario edad-dependiente en el trasplante renal estable pudiera reflejar, además de una respuesta inmunológica diferente a la inmunosupresión, un perfil de diferente alorreactividad. A pesar de la mayor inmunosupresión recomendada en receptores pediátricos, que ha incluido inducción con anticuerpos antilinfocitarios, esta aproximación para individualizar la inmunosupresión según edad no ha sido probada de forma rigurosa.

En resumen, hemos descubierto asociación entre edad y sexo del receptor del trasplante renal vs poblaciones linfocitarias en sangre periférica, sugiriendo que la edad modula el recuento de linfocitos T CD4+, B y NK, y el sexo lo hace respecto al recuento de linfocitos T CD8+. No hemos encontrado estudios en el trasplante renal donde se describan tales asociaciones, por lo que estos resultados tendrán que validarse en futuros trabajos.

3.3. Evolución del recuento linfocitario y su distribución en sangre periférica según la serología del virus de la hepatitis C en el trasplante renal.

Morales et al (1996) han informado una menor incidencia de rechazo agudo en trasplantados renales virus C positivo (28 vs 40 %, $p= 0,025$), mientras que la incidencia de infecciones graves ha sido superior en estos pacientes comparados con seronegativos (17,4 vs 8,8 %, $p< 0,05$). Tratando de explicar estos hechos, sugieren la existencia de una inmunodeficiencia en los sujetos seropositivos que se caracteriza por una reducción significativa de linfocitos T CD4+ circulantes que produce una disminución de la respuesta proliferativa a lectinas in vitro (Corell et al, 1996).

El estudio transversal de Chan et al (1999) viene a dar cierta luz sobre aspectos patogénicos de la hepatitis por virus C asociados a un sistema inmunológico alterado. Evaluaron en cuatro grupos de sujetos ($n= 18$ en cada grupo) las poblaciones linfocitarias en sangre periférica: trasplantados renales virus C positivos (TrC+) y negativos (TrC-), pacientes virus C positivos postransfusionales (TfC+) y adultos sanos. La hepatopatía crónica fue definida por la elevación recurrente o persistente de las enzimas hepáticas durante más de seis meses, y confirmada en biopsia hepática. Han observado asociación entre recuentos reducidos de linfocitos CD16+CD3- en sangre periférica y escasa enfermedad hepática en individuos TrC+, así como con hepatopatía crónica en individuos TfC+. Estos resultados sugieren que en la hepatopatía por virus C la población de linfocitos NK debe jugar un papel relevante en la regulación que media la lesión hepática, y que posiblemente

los mecanismos patogénicos en sujetos inmunosuprimidos vs no inmunosuprimidos sean diferentes.

En nuestra cohorte de trasplantados seropositivos para el virus C no hemos podido precisar el tiempo de evolución de la infección, que probablemente fue adquirida en el periodo dialítico. Interesa reseñar que durante el seguimiento no detectamos oscilaciones significativas de transaminasas (tabla 68), las cuales no se diferenciaron de aquellas del grupo seronegativo (tablas 73 a 76). Posiblemente nuestra muestra se encuadre en el patrón sugerido por Morales (1995) con biología hepática normal y pocas implicaciones clínicas. Por otra parte, la serología del virus C estableció diferencias respecto al recuento medio de linfocitos NK que fue inferior en el grupo seropositivo (tabla 99). Tal diferencia no estuvo condicionada por diferentes niveles valle de CyA, dosis de inmunosupresores o función renal. Este hallazgo se encuentra en consonancia con los resultados de Chan et al (1999): bajos recuentos de linfocitos NK circulantes asociados a escasa enfermedad hepática en trasplantados renales virus C positivos.

No nos encontramos en posición firme para justificar esta observación, si bien pudiera obedecer a un mecanismo de persistencia viral con escaso efecto citopático (a tenor de la evolución clínica y de las transaminasas). Tampoco podemos descartar que la *edad del receptor*, que fue superior en los trasplantados seronegativos (tablas 94 y 95; toda la muestra: $48,2 \pm 12,00$ vs $41,9 \pm 11,07$ años; $p= 0,049$), y que se asoció de forma positiva con el recuento de linfocitos NK (tabla 87), jugase algún papel en este resultado.

3.4. Función renal del injerto y recuento de linfocitos CD3-CD16+ en sangre periférica: ¿una asociación espuria?

En la práctica asistencial, la monitorización de la CrS y su aclaramiento, expresión de filtrado glomerular, se emplean como indicadores de la función del injerto, sin perder de vista que la información que brindan no es más que un aspecto de las múltiples funciones que desempeña ante la dificultad de explorar todas ellas. La injuria del injerto renal expresada a través de la elevación de la CrS, con frecuencia no es más que una situación tardía, más o menos reversible, que refleja únicamente la lesión del órgano diana tras la actuación de múltiples factores inmunológicos y no inmunológicos, y cuya contribución en ocasiones es difícil de ponderar (Matas et al, 2000). Durante la historia natural del trasplante renal el sistema inmunológico sufre una activación antigénica contra el injerto modulada “a la baja” por la inmunosupresión farmacológica. De este balance surgirá una respuesta inmunológica lesiva de alta o baja intensidad sobre el injerto, o bien una respuesta de tolerancia. Queda patente que sería de gran valor contar con parámetros de origen inmunológico que pudieran diferenciar precozmente el estado de inmunotolerancia del injerto de aquel que cursa con alorreactividad, ya sea alta o baja.

De la misma forma que está bien definida la asociación entre la depleción linfocitaria aguda en sangre periférica con el descenso de CrS durante la terapia con anticuerpos antilinfocitarios (Grandtnerová et al, 1997; Masri et al, 1997), pudiera existir algún marcador inmunológico cuantificable en sangre periférica asociado a peor y mejor función renal en trasplantados renales considerados estables. Hoy por hoy, resulta imposible realizar una

estimación precisa del comportamiento futuro del sistema inmunológico respecto a la evolución de cada trasplante renal, si bien son sugerentes los estudios en curso de Ishida et al, en los que evalúa al antígeno CD15S, marcador de activación linfocitaria en sangre periférica, como indicador en el diagnóstico de rechazo agudo, el cual pudiera ser más sensible que la elevación de la CrS.

En nuestra cohorte de trasplantados renales ha sido un hallazgo la asociación observada entre CrS y recuento de linfocitos CD16+CD3- en sangre periférica, con mejor ajuste del modelo cuadrático que el lineal (tabla 105). Tales resultados pudieran sugerir la existencia de un rango central de linfocitos NK en sangre periférica asociado a valores de CrS inferiores: en definitiva, la función renal del injerto condicionada por el recuento de células NK. La desconfianza para dar crédito a esta hipótesis nace de la complejidad con la que los distintos factores etiopatogénicos que median la lesión del injerto renal, inmunológicos y no inmunológicos, agudos y crónicos, condicionan finalmente la función renal del mismo, es decir, el valor de la CrS. Nos resulta excesivo conferir a un elemento inmunológico aislado, como el recuento de linfocitos NK en sangre periférica, la capacidad de pronosticar el comportamiento de la función renal del injerto, cuando además esta variable puede estar influenciada por otras circunstancias, como rechazo agudo, infección citomegálica o virus C.

Por otra parte, no podemos olvidar que la intensidad de la terapia supresora administrada a cada grupo de trasplantados se instauró según la función renal previa, el antecedente de rechazo agudo y/ o la sospecha de disfunción crónica del injerto. Por ello, cabría esperar que aquellos sujetos con función renal deteriorada, y que por tanto recibieron una tercera droga

supresora (azatioprina o micofenolato mofetil), cursaran con recuentos reducidos de linfocitos NK en sangre periférica respecto al grupo CyA. Esta hipótesis, aunque plausible, no la hemos podido verificar en nuestra serie, donde las diferencias del recuento de linfocitos NK entre grupos no fueron significativas (tablas 61 y 62).

Hoy día, está suficientemente probado que además de la función citotóxica clásica, las células NK participan en otras funciones reguladores y de reconocimiento celular a través de moléculas HLA de clase I (Willians et al, 1998). La actividad citotóxica NK-dependiente estaría desencadenada vía receptores estimuladores frente a células con baja o nula expresión de moléculas HLA de clase I “propias”, mientras que el reconocimiento de tales moléculas por receptores específicos NK de tipo inhibitorio (KIRs: p58, p70, p140,...) conduciría una señal negativa, con bloqueo de la lisis celular (Ljunggren et al, 1990; “missing self hypothesis”). Por otra parte, numerosos autores se han preocupado de “redimir” a las células NK de esta función “asesina”, demostrando que se trata de linfocitos capaces de modular la respuesta inmunológica (prevención de fenómenos de autoinmunidad, supresión o activación de la respuesta celular y humoral), ya sea a través de receptores de superficie, ya a través del perfil de citoquinas sintetizado (Horwitz et al, 1997; Peritt et al, 1998). Una función adicional mediada por células NK pudiera ser la de inhibir la interacción de antígenos celulares con linfocitos T o células presentadoras de antígenos. Esta función iría en consonancia con la observación de abundantes células NK en el trofoblasto placentario (King et al, 1997): de alguna manera la célula NK impediría la lesión del tejido fetal, que es deficiente en moléculas HLA habituales de clase I, quizá a través de la interacción entre

receptores inhibidores NK con moléculas HLA-G expresadas en el tejido fetal (Reyburn et al, 1997).

Respecto a la alorreactividad NK-dependiente no está suficientemente claro el papel que juegan los receptores específicos de moléculas de clase I, estimuladores e inhibitorios, y su co-expresión. Quizá la proliferación de células NK alorreactivas sea promovida por receptores estimuladores específicos para moléculas no-HLA o moléculas alogénicas HLA de clase I, sin el concurso de receptores inhibidores (Colonna, 1997). Por otra parte, las células NK han sido implicadas clásicamente con la respuesta linfocitaria Th1, resultado de la expresión de IFN- γ (Handa et al, 1983), si bien existen datos que sugieren la capacidad para polarizar el sistema inmunológico hacia una respuesta Th2, con producción IL-10 y TGF- β (Mehrotra et al, 1998).

A tenor de lo expuesto, queda de manifiesto la complejidad y desconocimiento sobre la función y regulación que las células NK ejercen sobre el sistema inmunológico. Resulta excesivo conferir a esta subpoblación linfocitaria tanto propiedades protectoras como lesivas per sé sobre el aloinjerto renal. Las primeras estarían en consonancia con datos experimentales in vivo sobre la modulación del rechazo alogénico de médula ósea tras la actuación sobre receptores inhibitorios de células NK (Guthmann, 1995).

No cabe duda que el recuento en sangre periférica es una aproximación grosera e incapaz de establecer el balance funcional de la respuesta inmunológica predominante NK-dependiente, inhibitoria versus estimulada de citotoxicidad sobre el injerto renal, por lo que consideramos demasiado atrevida la hipótesis sobre la existencia de un rango central donde predomine una respuesta inmunotolerante del aloinjerto. Por otra parte, no hemos observado diferentes recuentos de linfocitos NK en sangre

periférica atendiendo a la intensidad de la terapia supresora. Debido a que no disponemos de argumentos verosímiles que justifiquen la asociación observada entre el recuento de linfocitos NK y CrS, nos planteamos que ésta haya sido espuria. A pesar de ello, esta asociación, hoy incierta entre función renal y estado inmunológico del trasplantado renal, es senda de estudios en curso, y quizá en el futuro se puedan establecer algoritmos pronósticos y de diagnóstico precoz de la disfunción del trasplante renal.

4. Función renal del injerto según edad del donante, sexo y peso del receptor.

Los resultados a largo plazo del trasplante renal vienen determinados por múltiples factores. Cada vez toman mayor protagonismo los llamados “factores no inmunológicos”, donde se incluyen aspectos del donante y del receptor (sexo, edad, peso, talla, causa de éxitus) así como circunstancias peri-implante, como los tiempos de isquemia fría y templada.

Brenner et al (1992) han demostrado que los injertos procedentes de donantes muy jóvenes, muy mayores y aquellos de mujeres sobreviven menos respecto a aquellos que proceden de donantes entre 15-55 años y varones, con una diferencia de supervivencia a tres años entre el 5-20 %. La menor supervivencia de los injertos procedentes de donantes añosos puede reflejar una reducción edad-dependiente de la masa nefronal (Rao et al, 1990).

También, la supervivencia a largo plazo se ha visto reducida en receptores con sobrepeso (Terasaki et al, 1994). En este caso, la peor función renal del injerto, y por ende la menor supervivencia, se debe en parte al desajuste entre el tamaño del injerto y las demandas metabólicas del receptor (Mackenzie et al, 1996). Los riñones de individuos normales exhiben una considerable variación en cuanto a peso, volumen cortical y número de nefronas dependiendo del sexo, peso corporal y edad. Los varones suelen tener riñones más grandes que las mujeres del mismo peso y aproximadamente un 20% más de nefronas. Es una evidencia que injertos renales procedentes de mujer trasplantados a receptores varones evolucionan con función renal peor que la observada entre donantes varones y receptores femeninas (Terasaki et al, 1994; Chertow et al, 1995; Vereerstraeten et al, 1999). Aunque el peso del injerto renal quizá sea la

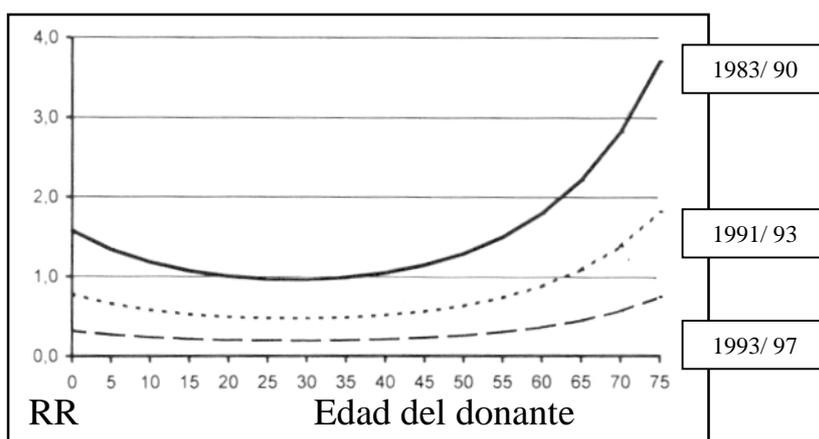
mejor aproximación para estimar la masa nefronal, hoy por hoy todavía no se ha convertido en una práctica rutinaria antes del trasplante. En algunos centros se emplea el índice “peso del injerto renal / peso corporal del receptor”: datos recogidos durante más de diez años sugieren que la supervivencia de injertos a 3 años con un índice superior a 3,5 g/ Kg fue superior al 70%, mientras que aquellos injertos con un índice menor de 2 gr/ Kg sobrevivieron menos del 50 % (Roth et al, 1994). Resultados predictivos de supervivencia del injerto semejantes se han observado al considerar el índice “peso del injerto / superficie corporal del receptor” (Kupin et al, 1993). Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que el índice “peso del injerto renal / peso corporal del receptor”, en definitiva número de nefronas disponibles por unidad de masa corporal del receptor, puede ser un factor independiente que influye sobre la supervivencia del trasplante renal a largo plazo, e incita a tener presente tal concepto al considerar en el emparejamiento injerto-receptor.

Del análisis de la base de datos europea (Persijn et al, 1999), que evaluó factores no inmunológicos del donante y receptor en 15.828 trasplantes renales de cadáver realizados entre 1990/95, se desprende que la influencia que pudiera jugar el ajuste por sexo sobre la supervivencia del injerto quedó amortiguada ($p= 0,08$), si bien se detectaron indicios de peores resultados cuando el trasplante se realizaba entre donante femenino y receptor masculino. El ajuste por peso donante/ receptor no condicionó supervivencias del injerto diferentes. El tiempo de isquemia fría inferior a 18 horas se asoció a mayor supervivencia del injerto a 5 años. El emparejamiento por edad no fue un requisito para lograr óptimos resultados, si bien los rangos de edad del donante comprendidos entre 16 y 54 años consiguieron las mejores supervivencias del injerto (del 86 y 71 % en el primer y quinto año, respectivamente) en todos los rangos de edad del

receptor, seguidos por los donantes entre 0 y 15 años (supervivencias del 82 y 71 % al 1º y 5º año, respectivamente). Por el contrario, la supervivencia del injerto más baja se observó en donantes mayores de 65 años (72 y 41 % al 1º y 5º año, respectivamente). La baja supervivencia a un año de los trasplantes entre donante y receptor pediátrico (menor de 6 años) fue atribuida a complicaciones técnicas.

El estudio de Roodnat et al (1999), que analizó 509 trasplantes renales realizados entre 1983/97, marca nuevamente el efecto de la edad del donante como predictor de supervivencia del injerto, y observan que la influencia de la edad del donante sobre el riesgo relativo para la pérdida del injerto no es lineal sino que se ajusta mejor a una curva cuadrática, con mínimo a los 30 años de edad (figura 34).

Figura 34. Influencia de la edad del donante y periodo de trasplante sobre el riesgo relativo de fracaso del injerto renal. Roodnat et al (1999).



En nuestra serie hemos evaluado la asociación entre la edad del donante, sexo y peso del receptor (factores no inmunológicos) vs CrS. Aunque los trabajos comentados no son comparables al nuestro, sí dejan

entrever, en consonancia con nuestros resultados, la peor evolución de los injertos procedentes de donantes de mayor edad (tabla 101), estableciendo punto de corte en 30 años (tabla 102). A diferencia de Roodnat et al (1999), en nuestro trabajo el ajuste lineal resultó semejante al cuadrático posiblemente debido a la ausencia de injertos procedentes de donantes menores de 6 años. Nuestro grupo de mujeres cursó con un peso medio inferior al de los hombres (tabla 91), lo que en parte pudo condicionar valores de CrS media inferiores respecto al grupo masculino (tabla 90). Decimos en parte porque al considerar a toda la muestra no hemos observado asociación entre las variables peso del receptor vs CrS, y no descartamos que pudieran participar otras variables no analizadas, como el efecto asociado al “peso del injerto-sexo del donante”, que expresa masa nefronal del injerto, y en definitiva función renal del mismo.

VI. CONCLUSIONES

La reflexión detenida sobre los resultados que hemos obtenido en nuestro estudio, realizado durante doce meses en sesenta y cinco trasplantados renales clasificados en tres grupos según el régimen inmunosupresor de mantenimiento, así como sobre la discusión efectuada, permiten a nuestro juicio formular las siguientes conclusiones:

1. El tratamiento con MMF no condiciona a corto-medio plazo una elevada frecuencia de efectos adversos graves, por lo que se puede considerar una droga relativamente segura en el trasplante renal.
2. La función renal del trasplante experimenta una evolución favorable tras la introducción de MMF junto a CyA y prednisona.
3. La incorporación de MMF a la terapia clásica de mantenimiento prednisona + CyA ejerce un efecto modulador sobre el recuento linfocitario absoluto y las subpoblaciones en sangre periférica que se traduce en reducción progresiva de todas las poblaciones, con efecto más precoz e intenso sobre la población de linfocitos CD19+, y menos acusado sobre la de linfocitos CD3+CD4+.
4. La terapia de mantenimiento prednisona + CyA cursa con recuentos linfocitarios absolutos y CD3+ superiores, y cocientes

CD4/ CD8 inferiores respecto a la que además asocia azatioprina. La adición de MMF a prednisona + CyA, respecto a las poblaciones comentadas, comporta un cambio desde valores semejantes a los observados en el grupo tratado con prednisona + CyA hasta otros cercanos al que además asocia azatioprina. Por otra parte, los tres regímenes modulan de forma parecida los recuentos de linfocitos CD3+CD4+, CD19+ y CD16+CD3-.

5. No hemos podido definir una utilidad clínica de la monitorización de las poblaciones linfocitarias en sangre periférica en el trasplantado renal tratado con MMF.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Aakhus S, Dahl K y Widerøe TE. Cardiovascular morbidity and risk factors in renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 648-654

Abe M, Kawai T, Futatsuyama K, et al. Postoperative production of anti-donor antibody and chronic rejection in renal transplantation. *Transplantation* 1997; 63 (11): 1616

Abramowicz D, Wissing KM y Broeders N. Nephrotoxicity of calcineurin inhibitors: new therapeutic approaches. *Transplant Proc* 2000; 32 (Supl 1A); S3-S5

Agraz I, Guirado L, Andrade M, et al. Treatment with mycophenolate mofetil in kidney transplant patients from donors aged over 60 years. *Transplant Proc* 1999; 31: 2272-2274

Alamartine E y Berthoux F. Les lymphocytes natural killer en transplantation rénale. *Presse Méd* 1992; 21: 1957-1960

Alfieri C, Allison AC y Kieffe E. Effect of mycophenolic acid on Epstein-Barr virus infection of human B-lymphocytes. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 1993

Allison AC, Hovi T, Watts RWE, et al. Immunological observations on patients with the Lesch-Nyhan syndrome, and on the role of the novo purine synthesis in lymphocyte transformation. *Lancet* 1975; II: 1179

Allison AC, Almquist SJ, Muller CD, et al. In vitro immunosuppressive effects of mycophenolic acid and an ester prodrug, RS61443. *Transplant Proc* 1991; 23 (supl): S10

Allison AC y Eugui EM. Mycophenolate mofetil, a rationally designed immunosuppressive drug. *Clin Transplantation* 1993a; 7; 96-112

Allison AC y Eugui EM. Immunosuppressive and other effects of mycophenolic acid and an ester prodrug, mycophenolate mofetil. *Immunological Rev* 1993b; 136: 5-28

Allison AC y Eugui EM. Purine metabolism and immunosuppressive effects of mycophenolate mofetil. *Clin Transplantation* 1996; 10: 77

Alsina J. El rechazo. Clínica, diagnóstico, histología y tratamiento. En: Llach F y Valderrabano F, eds. *Insuficiencia renal crónica, diálisis y trasplante renal*, 2ª Edición. Ediciones Norma. Madrid, 1997: 1569-1607

Azuma H y Tilney NL. Chronic graft rejection. *Curr Opin Immunol* 1994; 6: 770

Bach FH, Segall M, Zier KS, et al. Cell mediated immunity: separation of cells involved in recognitive and destructive phases. *Science* 1973; 180: 403-406

Baker GL, Kahl LE y Zee BC. Malignancy following treatment of rheumatoid arthritis with cyclophosphamide: a long-term case-control follow-up study. *Am J Med* 1987; 83: 1

Bakris GL, Sauter ER, Hussey JL, et al. Effects of theophylline on erythropoietin production in normal subject and in patients with erythrocytosis after renal transplantation. *N Engl J Med* 1990; 323: 86-90

Batiuk TD, Yatscoff RW y Halloran PF. The dose response curve for the effects of cyclosporin on calcineurina and cytokine induction in vivo. *Transplant Proc* 1994; 26: 2835-2836

Beik AI, Morris AG, Higgins RM, et al. Serial flow cytometric analysis of T-cell surface markers can be useful in differential diagnosis of renal allograft dysfunction. *Clin Transplantation* 1998; 12: 24-29

Belitsky P, Levy GA y Johnston A. Neoral absorption profiling: an evolution in effectiveness. *Transplant Proc* 2000; 32 (S 3A): 45S-52S

Bennett WM. Immunosuppressive drug nephrotoxicity. En: Tilney NL, Strom TB and Paul LC, eds. *Transplantation Biology: Celular an molecular aspects*. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia, 1996: 587-600

Berge IJM, Weber PC, Rentanaar RJ, et al. Selective expansion of a peripheral blood CD8+ memory T cell subset expressing both granzyme B and L-selectin during primary viral infection in renal allograft recipients. *Transplant Proc* 1998; 30: 3975-3977

Besancon-Watelet C, De March AK, Renoult E, et al. Early increase of peripheral B cell levels in kidney transplant recipients with CMV infection or reactivation. *Transplantation* 2000; 69: 366-371

Blaheta RA, Nelson K, Oppermann E, et al. Mycophenolate mofetil decreases endothelial prostaglandin E2 in response to allogenic T cells or cytokines. *Transplantation* 2000; 69: 1977-1981

Brenner BM, Cohen RA y Milford EL. In renal transplantation, one size may not fit all. *J Am Soc Nephrol* 1992; 3: 162

Briggs WA, Choi MJ y Scheel PJ Jr. Follow-up on Mycophenolate treatment of glomerular disease. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 898-899

Brun P, Sterkers G, Maisin A, et al. Flow-cytometry monitoring of antilymphocyte globulin therapy in pediatric renal transplantation. *Transplant Proc.* 1995 Apr; 27(2): 1744-1745

Brunet M, Oppenheimer F, Martorell J, et al. Mycophenolic acid monitoring: evaluation of the EMIT MPA immunoassay in kidney and lung transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31: 2275-2276

Bruunsgaard H, Pedersen AN, Schroll M, et al. Impaired production of proinflammatory cytokines in response to lipopolysaccharide (LPS) stimulation in elderly humans. *Clin Exp Immunol* 1999; 118: 235-41

Bryant JA, Wylie BR, Yuan FF, et al. Effect of blood donation on the establishment of normal ranges of lymphocyte subsets. *Transfusion* 1996; 36(6): 559-66

Burdick JF and Shinozuka N. Immuno monitoring for transplant recipients. En: Racusen LC, Solez K and Burdick JF, eds. *Kidney transplant rejection: Diagnosis and treatment*, 3ª Ed. Marcel Dekker Inc. Nueva York, 1998: 563-575

Burke JF, Pirsch JD, Ramos EL, et al. Long-term efficacy and safety of cyclosporine in renal transplant patients. *N Engl J Med* 1994; 331; 358-363

Calne RY, Alexander GP y Murray JE. A study of the effects of drugs in prolonged survival of analogous renal transplants in dog. *Ann NY Acad Sci* 1962; 99: 743

Calne RY, Thiru S, McMaster P, et al. Cyclosporine A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. *Lancet* 1978; 2: 1323-1327

Campistol JM, Mazuecos A, Segura J, et al. Mycophenolate mofetil slows the decline of renal function in patients with biopsy-proven chronic rejection: a collaborative pilot study. *Transplant Proc* 1999; 31: 2267-2269

Canadian Multicenter Transplant Study Group. A randomized clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. Analisis at three years. *N Engl J Med* 1986; 314; 1219-1225

Casado A, Prieto L y Alonso J. El tamaño del efecto de la diferencia entre dos medias: ¿estadísticamente significativo o clínicamente relevante? *Medicina Clínica* 1999; 112, 15: 584-588

Chan TM, Ho SKN, Lai CL, et al. Lymphocyte subsets in renal allograft recipients with chronic hepatitis C virus infection. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 717-722

Chang C-C, Aversa G, Punnoen J, et al. Brequinar sodium, mycophenolic acid and cyclosporin A inhibit different stages of IL-4 or IL-13-induced IgG4 and IgE production in vitro. *Ann N Y Acad Sci* 1993;

Chertow G, Brenner BM, Mackenzie HS, et al. Non-immunologic predictors of late renal allograft failure: data from the united network of organ sharing. *Kidney Int* 1995; 48 (Supl 52): 548-551

Christiaans MH, Overhof-de Roos R, Nieman F, et al. Donor-specific antibodies after transplantation by flow cytometry: relative change in fluorescence ratio most sensitive risk factor for graft survival. *Transplantation* 1998; 65 (3): 427

Coelho-Little E, Jeffers LJ, Bartholomew M, et al. Correlation of HCV RNA levels in serum and liver of patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1995; 22: 248-249

Cohn RG, Mirkovich A, Dunlap B, et al. Mycophenolic acid increases apoptosis, lysosomes and lipid droplets in human lymphoid and monocytic cell lines. *Transplantation* 1999; 68 (3): 411-418

Colonna M. Specificity and function of immunoglobulin superfamily NK cell inhibitory and stimulatory receptors. *Immunological Rev* 1997; 155: 127-133

Colvin RB, Cohen AH, Saiontz C, et al. Evaluation of pathologic criteria for acute renal allograft rejection: reproducibility, sensitivity and clinical correlation. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1930-1941

Corell A, Morales JM, Mandroño A, et al. Immunosuppression induced by hepatitis C virus infection reduces acute renal transplant rejection. *Lancet* 1995; 346: 1497-1498

Cosimi A. Current and future application of monoclonal antibodies in clinical immunosuppressive protocols. *Clin Transplantation* 1995; 9: 219-226

Daniel V, Pasker S, Wiesel M, et al. Cytokine monitoring of infection and rejection in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 1995; 27: 884-886

Daniel V, Arzberger J, Melk A, et al. Predictive indicators of rejection or infection in renal transplant patients. *Transplant Proc* 1999; 31: 1364-1365

Danovitch GM, Jamgotchian NJ, Eggena PH, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition in the treatment of renal transplant erythrocytosis. Clinical experience and observation of mechanism. *Transplantation* 1995; 60; 132-137

Danovitch GM. Choice of immunosuppressive drugs and individualization of immunosuppressive therapy for kidney transplant patients. *Transplant Proc* 1999; 31 (Supl 8A): 2S-6S

Davis C, Gretch DR y Carithers RL. Hepatitis C virus in renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1994; 3: 164-173

Dayton JS, Turka LA, Thompson CB, et al. Comparison of the effects of mizoribine with dose of azathioprine, 6-mercaptopurine and mycophenolic acid on T-lymphocyte proliferation and purine ribonucleotide metabolism. *Mol Pharmacol* 1992; 41: 671

De Neve W, Valeriote F, Edelstein M. In vitro DNA cross-linking by cyclophosphamide: comparison of human chronic lymphocytic leukemia cells with mouse L1210 leukemia and normal bone marrow cells. *Cancer Res* 1989; 49: 3452

Dechanet J, Merville P, Berge F, et al. Major expansion of gammadelta T lymphocytes following cytomegalovirus infection in kidney allograft recipients. *J Infect Dis* 1999 Jan; 179(1): 1-8

Delmonico FL. Analyzing risk factors of renal transplant outcome. *Transplantation* 2000; 69: 1-2

Dimény E, Wahlberg J, Larsson E y Fellström B. Can histopathological finding in early renal allograft biopsies identify patients at risk for chronic vascular rejection? *Clin Transplantation* 1995; 9: 79-84

Druwe PM, Michielsen PP, Ramon AM, et al. Hepatitis C and nephrology. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 230-237

Dumont FJ, Staruch MJ, Koprak SL, et al. The immunosuppressive and toxic effects of FK-506 are mechanistically related: pharmacology of a novel antagonist of FK-506 and rapamycin. *J Exp Med* 1992; 176: 751-760

Dureau G, Obadia JF, Chuzel M, et al. Introduction of Mycophenolate mofetil and cyclosporine withdrawal in heart transplant patients with progressive deteriorating renal function. *Transplant Proc* 2000; 32: 461-462

Epinette WW, Parker CM, Jones EL, et al. Mycophenolic acid for psoriasis: a review of pharmacology, long-term efficacy and safety. *J Am Acad Dermatol* 1987; 17: 962-971

Essa S, Raghupathy R, Pacsa AS, et al. Th1-type cytokines production is decreased in kidney transplant recipients with active cytomegalovirus infection. *J Med Virol* 2000; 60(2): 223-229

Ettenber RB. En Danovitch GM (ed). *Handbook of Kidney Transplantation*, 2ª edición. Boston. Little, Brown; 1996: 271

Eugui EM, Mirkovich A y Allison AC. Lymphocyte-selective antiproliferative and immunosuppressive effects of mycophenolic acid in mice. *Scand J Immunol* 1991; 33; 175

European Multicenter Trial Group. Cyclosporin in cadaveric renal transplantation: one-year follow-up of a multicentre trial. *Lancet* 1983; 2: 986-989

European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. Placebo-controlled study of mycophenolate mofetil with cyclosporin and corticosteroids for prevention of acute rejection. *Lancet* 1995, 345: 1321-1326

European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. Mycophenolate mofetil in renal transplantation: 3-year results from the placebo-controlled trial. *Transplantation* 1999, 68: 391-396

Ferguson RM. Aspects of allograft rejection: Risks factors in renal allograft rejection. *Transplant Rev* 1995; 9: 121-126

Fietta A, Merlini C, Dos Santos C, et al. Influence of aging on some specific and nonspecific mechanisms of the host defense system in 146 healthy subjects. *Gerontology* 1994; 40(5): 237-45

Filler G, Zimmering M y Mai I. Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil are influenced by concomitant immunosuppression. *Pediatr Nephrol* 2000; 14: 100-104

Flechner SM, Goldfarb DA, Fairchild R, et al. A randomized prospective trial of low-dose OKT3 induction therapy to prevent rejection and minimize side effects in recipients of kidney transplants. *Transplantation* 2000; 69: 2374-2381

Foegh ML. Chronic rejection-graft arteriosclerosis. *Transplant Proc* 1990; 22: 119

Fong TL, Valinluck B, Govindarajan S, et al. Short-term prednisone therapy affects amino-transferase and hepatitis C virus RNA levels in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1994; 107: 196-199

Fritsche L, Sperschneider H, Budde K, et al. Conversion to mycophenolate mofetil for chronic progressive deterioration of renal allograft function: first clinical experience in 44 patients. *Transplant Proc* 1998; 30: 1190-1191

Frumen DA, Klee CB, Bierer B, et al. Calcineurin phosphatase activity in T-lymphocytes is inhibited by FK506 and cyclosporin A. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 3686-3690

García RC, Leoni P y Allison AC. Control of phosphoribosyl pyrophosphate synthesis in human lymphocytes. *Biochem Biophys Res Comm* 1977; 77: 1067

Gaubitz M, Schorat A, Schotte H, et al. Mycophenolate mofetil for the treatment of systemic lupus erythematosus: an open pilot trial. *Lupus* 1999; 8; 731-736

Giblett ER, Anderson JE, Cohen F, et al. Adenosine desaminase deficiency two patients with severely impaired cellular immunity. *Lancet* 1972; II: 1067

Giglio T, Imro MA, Filaci G, et al. Immune cell circulating subsets are affected by gonadal function. *Life Sci* 1994; 54(18): 1305-12

Gjertson DW. A multi-factor analysis of kidney graft outcomes at one and five years posttransplantation: 1996 UNOS update. En: Clinical Transplants. Cecka JM, Terasaki PI, eds. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory, 1997: 343-360

Goffin E, Pirson Y, Cornu C, et al. Outcome of HCV infection after renal transplantation. *Kidney Int* 1994; 45: 551-555

Goffin E, Pirson Y and Van Ypersele de Strihou C. Implications of chronic hepatitis B or C infection for renal transplant candidates. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 (Suppl 6): 88-92

Goldblum R. Therapy of rheumatoid arthritis with Mycophenolate mofetil. *Clin Exp Rheumatol* 1993; 11: 117-119

Goldstein DJ, Zueche N, Sehgal V, et al. Cyclosporine-associated end-stage nephropathy after cardiac transplantation: incidence and progression. *Transplantation* 1997; 63: 664-668

González M, Serón D, García del Moral R, et al. Micofenolato mofetil en el tratamiento de la nefropatía crónica del trasplante. Estudio multicéntrico español. 6º Congreso de la Societat Catalana de Transplantament. Barcelona, 21-24 de Enero de 2001: 36

González N, Parra G, Álvarez V, et al. El micofenolato mofetil agrava la insuficiencia renal aguda post-isquémica en ratas. 6º Congreso de la Societat Catalana de Transplantament. Barcelona, 21-24 de Enero de 2001: 37

Grandtnerová B, Mociková H y Kohutová M. CD2+, CD3+ and CD19+ depletion after a course of antithymocyte globulin for a steroid-resistant rejection. *Transplant Proc* 1997; 29: 2958-2959

Grinyó JM, Caralps A, Sabater R, et al. Monitorización de las subpoblaciones linfocitarias T mediante anticuerpos monoclonales en el post-trasplante precoz. *Nefrología* 1984; 4 (2): 125-130

Grinyó JM y Cruzado JM. Tratamiento inmunosupresor en el trasplante renal. En: *Insuficiencia renal crónica, diálisis y trasplante renal*. 2ª Edición. Llach F y Valderrabano F (Eds). Ediciones Norma. Madrid, 1997: 1521-1543

Grinyó JM. Inmunosupresión: hacia el año 2000. *Nefrología* 1998; 1: 1-9

Grinyó JM. Progress with Cyclosporine-sparing regimens. *Transplant Proc* 1999; 31 (Supl 8A): 11S-16S

Gruber SA, Chan GLC, Canafax DM, et al. Immunosuppression in renal transplantation. Cyclosporine and azathioprine. *Clin Transplantation* 1991; 5: 65-68

Grundmann-Kollmann M, Korting HC, Behrens S, et al. Mycophenolate mofetil: a new therapeutic option in the treatment of blistering autoimmune diseases. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40: 957-960

Gummert JF, Barten MJ, Sherwood SW, et al. Pharmacodynamics of immunosuppression by mycophenolic acid: inhibition of both lymphocyte

proliferation and activation correlates with pharmacokinetics. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 291(3): 1100-1112

Guthmann MD, Tal M and Pecht I. A secretion inhibitory signal transduction molecule on mast cells is another C-type lectin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 9397-9401

Halloran P, Mathew T, Tomlanovich S, et al for the International Mycophenolate Mofetil Renal Transplant Study Groups. Mycophenolate mofetil in renal allograft recipients. *Transplantation* 1997, 63: 39-47

Handa K, Suzuki R, Matsui H, et al. Natural killer cells as a responder to interleukin 2. IL 2-induced interferon γ production. *J Immunol* 1983; 130: 988

Hannet I, Erkeller-Yuksel F, Lydyard P, et al. Developmental and maturational changes in human blood lymphocyte subpopulations. *Immunology Today* 1992; 13: 215-218

Helling TS y Cross DE. Identification of renal allograft rejection using selected monoclonal antibodies to human lymphocyte subsets. *Transplant Proc* 1984; 16: 1548-1549

Herlia P, Murelli L, Scotti M, et al. Organ specific activation of azathioprine in mice: role of liver metabolism in mutation induction. *Carcinogenesis* 1988; 9: 1011

Hirata S, Matsuhara T, Saura R, et al. Inhibition of in vitro vascular endothelial cell proliferation and in vivo vascularization by low-dose methotrexate. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 1065

Hoffkes HG, Schmidtke G, Uppenkamp M, et al. Multiparametric immunophenotyping of B cells in peripheral blood of healthy adults by flow cytometry. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996; 3: 30-6

Horwitz DA, Gray JD, Ohtsuka K, et al. The immunoregulatory effects of NK cells: the role of TGF- β and implications for autoimmunity. *Immunol Today* 1997; 18: 538

Hueso M, Bover J, Serón D, et al. Low-dose cyclosporine and mycophenolate mofetil in renal allograft recipients with suboptimal renal function. *Transplantation* 1998; 66: 1727-1731

Hutchinson IV. An endothelin-transforming growth factor beta pathway in the nephrotoxicity of immunosuppressive drugs. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998; 7: 665-671

Ishida H, Koyama I, Sawada T, et al. Clinical utility of monitoring sialyl Lewis(X) (CD15S) antigen on peripheral lymphocytes for the diagnosis and treatment of rejection after renal transplantation. *Transplantation* 2000a; 69: 59-63

Ishida H, Koyama I, Sawada T, et al. Sialyl Lewis(X) (CD15S) monitoring as a means to select antirejection therapy in patients with rejection after renal transplantation: CD15S monitoring for treatment and diagnosis in

patients with acute rejection after renal transplantation. *Transplantation* 2000b; 69: 2208-2211

Islam MS, Francos GC, Dunn SR, et al. Mycophenolate mofetil and reduction in cyclosporine dosage for chronic renal allograft dysfunction. *Transplant Proc* 1998; 30: 2230-2231

Isoniemi HM, Krogerus L, Von Willebrand E, et al. Histopathological finding in well-functioning, long term renal allograft. *Kidney Int* 1992; 41: 155-160

Isoniemi HM, Taskinen E y Hayry P. Histopathologic chronic allograft damage index accurately predicts chronic renal allograft rejection. *Transplantation* 1994; 58: 1195-1198

Jolivet J, Cowan KH, Curt GA, et al. The pharmacology and clinical use of methotrexate. *N Engl J Med* 1983; 309: 1094

Kahan BD. Cyclosporine. *N Engl J Med* 1989; 321: 1725-1738

Kahan BD. Toward a rational design of clinical trials of immunosuppressive agents in transplantation. *Immunological Rev* 1993; 136: 29-49

Kahan BD, Welsh M, Rutzky LP. Challenges in cyclosporine therapy: the role of therapeutic monitoring by area under the curve monitoring. *Ther Drug Monit* 1995; 17: 621

Kam KM, Leung WL, Kwok MY, et al. Lymphocyte subpopulation reference ranges for monitoring human immunodeficiency virus-infected Chinese adults. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996; 3(3): 326-30

Karanfilov CI, Liu B, Fox CC, et al. Age-related defects in Th1 and Th2 cytokine production by human T cells can be dissociated from altered frequencies of CD45RA⁺ and CD45RO⁺ T cell subsets. *Mech Ageing Dev* 1999; 109(2): 97-112

Kasiske BL. Cyclosporine: clinical use in kidney transplantation. En: Racusen LC, Solez K and Burdick JF, eds. *Kidney transplant rejection: Diagnosis and treatment*, 3^a Ed. Marcel Dekker Inc. Nueva York, 1998: 499-518

Kehrl JH, Wakefield LM, Roberts AB, et al. Production of transforming growth factor beta by human lymphocytes and its possible role in the regulation of T cell growth. *J Exp Med* 1986; 163: 1037-1050

Kerman RH, Van Buren CT, Payne W, et al. Monitoring of T-cell subsets and immune events in renal allograft recipients. *Transplant Proc* 1983; 1170-1172

Keunecke C, Rothenpieler U, Zanker B, et al. Mycophenolate mofetil monotherapy: an exemple of a safe nephrotoxicity/ atherogenicity-free immunosuppressive maintenance regimen in a selected group of kidney-transplanted patients. *Transplant Proc* 2000; 32 (Supl 1A): 6S-8S

King A, Loke YW, Chaouat G. NK cells and reproduction. *Immunol Today* 1997; 18: 64

Klanke D, Hammer C, Schubel C, et al. Reproducibility and reliability of cytoimmunological monitoring of heart transplanted patients. *Transplant Proc* 1989; 21: 2512-2513

Klein G y Klein E. How one thing has led to another. *Annu Rev Immunol* 1989; 7: 1

Kliem V, van den Hoff U, Brunkhorst R, et al. The long-term course of hepatitis C after kidney transplantation. *Transplantation* 1996; 62: 1417-1421

Knigth RJ, Kerman RH, Welsh M, et al. Chronic rejection in primary renal allograft recipients under cyclosporine-prednisone immunosuppressive therapy. *Transplantation* 1991; 51: 355

Kotylo PK, Sample B, Redmond RL, et al. Reference ranges for lymphocytes subsets: a comparison of standard versus rapid whole blood lysis techniques. *Arch Pathol Lab Med* 1991; 115: 181-184

Kreis H y Shield C. Monoclonal antibodies for immunological monitoring of allograft recipients. *Transplant Proc* 1984; 16: 1654

Kupin WL, Venkat KK, Mozes M. Predictive value of the donors surface area ratio (DSA/RSA) on the outcome of primary cadaveric renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 1993; 4: 945

Laine J, Etelämäki P, Holmberg C y Dunkel L. Apoptotic cell death in human chronic renal allograft rejection. *Transplantation* 1997; 63: 101-105

Land W. Mycophenolate mofetil-based immunosuppressive therapy: induction, maintenance and conversion protocols in renal transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31 (Supl 8A): 27S-32S

Langman LJ, LeGatt DF y Atscoff RW. Pharmacodynamic assessment of mycophenolic acid-induced immunosuppression by measuring IMP dehydrogenase activity. *Clin Chem* 1995; 41/2: 295-299

Levine LA y Jarrard DF. Treatment of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis with intravesical carboprost tromethamine. *J Urology* 1993; 149: 719

Ligthart GJ, Schuit H y Hijmans W. Subpopulations of mononuclear cells in aging: expansion of the null cell compartment and decrease in the number of T and B cells in human blood. *Immunology* 1985; 55: 15-21

Lindholm A. Cyclosporine A: clinical experience and therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit* 1995; 17: 631-637

Lipman M, Shen Y, Jeffery J, et al. Cytokine gene transcripts are prevalent in protocol biopsies from stable renal allograft. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 1888

Liu J, Farmer JD, Lane WS, et al. Calcineurin is a common target of cyclophilin-cyclosporin A and FKBP-FK506 complexes. *Cell* 1991; 66: 807-815

Liu Z, Sun Y-K, Xi Y-P, et al. Contribution of direct and indirect recognition pathways to T cell alloreactivity. *J Exp Med* 1993; 177: 1643-1650

Ljunggren HG y Kärre K. In search of the “missing self”: MHC molecules and NK cell recognition. *Immunol Today* 1990; 11: 237-244

Loken MR, Brosnan JM, Bach BA, et al. Establishing optimal lymphocyte gates for immunophenotyping by flow cytometry. *Cytometry* 1990; 11: 453-459

Louis-Touizer C, Nuijten MJC, Bayle F, et al. Apport économique du mycophenolate mofetil comme traitement immunosuppresseur prophylactique après transplantation rénale de cadavre. *Presse Med* 1996; 25: 1577-1582

Lynch WS, Roenighk HH Jr. Mycophenolic acid for psoriasis. *Arch Dermatol* 1977; 113: 1203-1208

Mackenzie HS y Brenner BM. Renal mass: a determinant of late allograft outcome. En: *Transplantation biology: cellular and molecular aspects*. Tilney NL, Strom TB y Paul LC (eds); Lippincott-Raven Publishers, 1ª ed; Philadelphia, 1996: 639-656

Malinowski K, Ye H y Waltzer WC. Effect of anti-rejection regimens on the expression of differentiation and activation markers on the surface of host lymphocytes. *Transplant Proc* 2000; 32: 773-775

Mannon RB y Coffman TM. Gene targeting: applications in transplantation research. *Kidney Int* 1999; 56: 18-27

Masri MA, Kamel G, Barbari A, et al. Immunosuppressive therapy in renal transplant patients according to patients immunological status. *Transplant Proc* 1997; 29: 2951-2952

Masri MA, Stephan A, Barbari A, et al. Future trends in immunological monitoring of transplant patients. *Transplant Proc* 1998; 30: 2979-2981

Masri MA, Stephan A, Barbari A, et al. Logical approach to transplant patients monitoring. *Transplant Proc* 1999; 31: 3353-3355

Massy ZA, Guijarro C y Kasiske BL. Clinical predictors of chronic renal allograft rejection. *Kidney Int* 1995; 48 (suppl 52): S85-88

Massy ZA, Guijarro C, Wiederkehr MR, et al. Chronic renal allograft rejection: immunologic and nonimmunologic risk factors. *Kidney Int* 1996; 49: 518-524

Matas AJ, Gillingham KJ, Payne WD, et al. The impact of an acute rejection episode on long-term renal allograft survival (t 1/2). *Transplantation* 1994; 57: 857-859

Matas AJ, Gillingham KJ, Humar A, et al. Immunologic and nonimmunologic factors: Different risks for cadaver and living donor transplantation. *Transplantation* 2000; 69; 54-58

Mathew TH for the Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. A blinded, long-term, randomized multicenter study of mycophenolate mofetil in cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 1998; 65: 1450-1454

Mathieu P, Carrier M, White M, et al. Effect of mycophenolate mofetil in heart transplantation. *Can J Surg* 2000; 43: 202-206

Mazuecos A, García T, Cevallos M, et al. Tratamiento con micofenolato mofetil en la disfunción crónica del trasplante renal. XXVII Reunión de la Sociedad Española de Nefrología. *Nefrología* 1997; 17 (Supl 2): 78

Mc Kenna RM, Takemoto SK y Terasaki PI. Anti-HLA antibodies after solid organ transplantation. *Transplantation* 2000; 69 (3): 319-326

Mc Millan MA. Clinical pharmacokinetics of cyclosporin. *Pharmac Ther* 1989; 42: 135-156

Mehrotra PT, Donnelly RP, Wong S, et al. Production of IL-10 by human natural killer cells stimulated with IL-2 and/or IL-12. *J Immunol* 1998; 160; 2637

Mestre M, Bas J, Romeu A, et al. T cells subsets monitoring in kidney transplantation. *Transplant Proc* 1988; 20 (5) (supl 6): S52-S56

Morales JM. Hepatitis C and renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 (Suppl): 125-128

Morales JM, Corell A, Muñoz MA, et al. Immunodeficiency secondary to hepatitis C virus reduces acute rejection incidence and increases severe infections in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 1936

Moreso F, Serón D, Morales JM, et al. Incidence of leukopenia and cytomegalovirus disease in kidney transplant treated with mycophenolate mofetil combined with low cyclosporine and steroid doses. *Clin Transplantation* 1998; 12: 198-205

Morozumi K, Oikawa T, Fukuda M, et al. Electron-microscopic peritubular capillary lesion is a specific and useful diagnostic indicator for chronic rejection of renal allografts showing less specific morphologic lesions in the cyclosporine era. *Transplant Proc* 1997; 29; 89-92

Myers BD, Ross J, Newton L, et al. Cyclosporine-associated chronic nephropathy. *N Engl J Med* 1984; 311: 699-705

Nadeau KC, Azuma H y Tilney NL. Sequential cytokine expression in renal allografts in rats immunosuppressed with maintenance cyclosporine or mycophenolate mofetil. *Transplantation* 1996; 62: 1363

Neurath MF, Wanitschke R, Peters M, et al. Randomized trial of mycophenolate mofetil versus azathioprine for treatment of chronic active Crohn's disease. *Gut* 1999; 44: 625-628

Nickerson P, Jeffery J, Gough J, et al. Identification of clinical and histopathologic risk factors for diminished renal function 2 years post-transplant. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 482-487

Nickerson P, Jeffery J, Gough J, et al. Effect of increasing baseline immunosuppression on the prevalence of clinical and subclinical rejection: a pilot study. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1801-1805

Noble S y Markham A. Cyclosporin – a review of the pharmacokinetics properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsión-based formulation (Neoral). *Drugs* 1995; 50: 924-941

Nordoy I, Muller F, Nordal KP, et al. Immunologic parameters as predictive factors of cytomegalovirus disease in renal allograft recipients. *J Infect Dis* 1999 Jul; 180(1): 195-8

Nowack R, Göbel U, Klooker P, et al. Mycophenolate mofetil for maintenance therapy of Wegener's granulomatosis and microscopic polyangiitis: a pilot study in 11 patients with renal involvement. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1965-1971

Oates JA y Wilkinson GR. Fundamentos del tratamiento farmacológico. En: Harrison, Principios de Medicina Interna. Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, et al Eds. Interamericana–McGraw Hill, 12º edición. Madrid 1991; 431- 443

Okamura N, Hirai M, Tanigawara Y, et al. Digoxin-cyclosporine A interaction: modulation of the multidrug transporter P-glycoprotein in the kidney. *J Pharm Exp Ther* 1993; 266: 1614-1619

Oliveira JG, Ramos JP, Xavier P, et al. Analisis of fine-needle aspiration biopsies by flow cytometry in kidney transplant patients. *Kidney Int* 1997; 64: 411-422

Oliveira JG, Xavier P, Murphy B, et al. Cytocine analysis of human renal allograft aspiration biopsy cultures supernatants predicts acute rejection. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 417

Opelz G for the Collaborative Transplant Study. Collaborative Transplant Study – 10 year report. *Transplant Proc* 1992; 24: 2342-2355

Pardo-Mindán FJ, Errasti P, Panizo A, et al. Decrease of apoptosis rate in patients with renal transplantation treated with mycophenolate mofetil. *Nephron* 1999; 82: 232-237

Parker J, Adelsberg B, Azen SP, et al. Leukocyte immunophenotyping by flow cytometry in a multisite study: standardization, quality control and normal values in the Transfusion Safety Study. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 55: 187-220

Paul LC y Benediktsson H. Chronic transplant rejection: Magnitude of the problem and pathogenic mechanisms. *Transplant Rev* 1993; 7: 96

Paul LC, Ferguson N, Al-Fakeeh K, et al. Mechanism of Chronic Rejection. En: *Kidney Transplant rejection: Diagnosis and treatment*. Racusen LC, Solez K y Burdick (Eds). 3ª Edición. Marcel Dekker, Inc. Nueva York, 1998a: 177-200

Paul LC, Muzaffar S y Valentin J-F. Donor treatment with mycophenolate mofetil protects against ischemia-reperfusion injury. The Transplantation Society. XVII World Congress, Montreal, 1998b.

Pei Y, Scholey JW, Katz A, et al. Chronic nephrotoxicity in psoriatic patients treated with low-dose cyclosporine. *Am J Kidney Dis* 1994; 23: 528-536

Penn I. Tumors of the immunocompromised patients. *Annu Rev Med* 1988; 39: 63

Perazella M, McPhedran P, Kliger A, et al. Enalapril treatment of post-transplant erythrocytosis: efficacy independent of circulating erythropoietin levels. *Am J Kidney Dis* 1995; 26: 495-500

Pereira BJG. Hepatitis C in organ transplantation: its significance and influence on transplantation policies. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1993; 2: 912-922

Peritt D, Robertson S, Gri G, et al. Differentiation of human NK cells into NK1 and NK2 subsets. *J Immunol* 1998; 161: 5821

Persijn GG, Smits J y De Meester J. Nonimmunologic matching in renal transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31: 1772-1774

Phillips JH, Gumperz JE, Parham P and Lanier LL. Superantigen – dependent, cell-mediated cytotoxicity inhibited by MHC class I receptors on T lymphocytes. *Science* 1995; 268; 403-405

Platz KP, Mueller AR, Willinski C, et al. Indications for Mycophenolate mofetil therapy in hepatitis C-patients undergoing liver transplantation. *Transplant Proc* 1998; 30; 1468-1469

Puig JM, Fernández-Crespo P, Lloveras J, et al. Risk factors that influence the incidence and severity of MMF adverse events in renal transplant patients: relationship with corticosteroid dosage, renal function, sex and patient age. *Transplantation Proc* 1999; 31: 2270-2271

Qiu Y, Fairbanks LD, Ruckermann K, et al. Mycophenolic acid-induced GTP depletion also affects ATP and pyrimidine synthesis in mitogen-stimulated primary human T-lymphocytes. *Transplantation* 2000; 69(5): 890-897

Quaschnig T, Mainka T, Nauck M, et al. Immunosuppression enhances atherogenicity of lipid profile after transplantation. *Kidney Int* 1999; S71: S235-S237

Racusen LC, Solez K, Colvin RB, et al. The Banff working classification of the renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999; 55: 713-723

Rao KW, Kasiske BL, Odlung MD, et al. Influence of cadaver donor age on post-transplant renal function and graft outcome. *Transplantation* 1990; 49: 91

Reddy KD, Stratta RJ, Shokouh-Amiri H, et al. Simultaneous kidney-pancreas transplantation without antilymphocyte induction. *Transplantation* 2000; 69: 49-54

Reichert T, DeBruyere M, Deneys V, et al. Lymphocyte subset reference ranges in adult Caucasians. *Clin Immunol immunopathol* 1991; 60: 190-208

Reyburn H, Mandel O, Valés-Gómez M, et al. Human NK cells: Their ligands, receptors and functions. *Immunological Rev* 1997; 155: 119-125

Rickinson AB, Rowe M, Hart U, et al. T-cell-mediated regression of "spontaneous" and Epstein-Barr virus-induced B-cell transformation in vitro: studies with cyclosporin A. *Cell Immunol* 1984; 87: 646

Rolley RT, Sterioff S, Willian GM, et al. Assessment of immunocompetency of DNCB sensitization prior to renal allotransplantation. *Surg Forum* 1974; 15: 268

Roman S, Moldovan I, Calugaru A, et al. Lymphocyte subset reference ranges in Romanian adult Caucasians. *Rom J Intern Med* 1995; 33: 27-36

Roodnat JJ, Zietse R, Mulder PG, et al. The vanishing importance of age in renal transplantation. *Transplantation*. 1999 Feb 27; 67: 576-80

Roth D, Burke G, Nery J, et al. Nephron dosing in renal transplantation: how much kidney is sufficient? 13th Annual Meeting, American Society of Transplant Physicians. Chicago, IL, 1994: 50 (Abstract).

Rubin RH, Wolfson JS, Cosimi AB, et al. Infection in the renal transplant patient. *Am J Med* 1981; 70: 405-411

Rush DN, Jeffery JR y Gough J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. *Transplantation* 1995; 59: 511-514

Rush DN, Nickerson P, Jeffery JR, et al. Protocol biopsies in renal transplantation: research tool or clinically useful? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998; 7: 691-694

Sanquer S, Breil M, Baron C, et al. Monitoring of renal transplant patients treated with MMF by determination of its biological activity. The Transplantation Society. XVII World Congress. Montreal, 1998.

Sawyer GJ, Dalchau R y Fabre JW. Indirect T cell allorecognition: a cyclosporin A resistant pathway for T cell help for antibody production to donors MHC antigens. *Transplant Immunol* 1993; 1: 77

Schrama YC, Joles JA, Van Tol A, et al. Conversion to mycophenolate mofetil in conjunction with stepwise withdrawal of cyclosporine in stable renal transplant recipients. *Transplantation* 2000; 69: 376-383

Schran HF. Determination of cyclosporine concentrations with monoclonal antibodies. *Clin Chem* 1987; 33: 2225-2229

Schroeder TJ, Hariharan S y First MR. Variations in bioavailability of cyclosporine and relationship to clinical outcome in renal transplant subpopulations. *Transplant Proc* 1995; 27 (1): 837-839

Schübel C, Caca K, Dirschedl P, Hamer C y Kempkes BM. Reliability of cytoimmunological monitoring after heart transplantation by consensus measurement: a multicenter study. *Transplant Proc* 1990; 22: 2317-2318

Schwab R, Staiano-Coico L y Weksler ME. Immunological studies of aging. Quantitative differences in T lymphocyte subsets in young and old individual. *Diagn Immunol* 1983; 1: 195-198

Schwartz RS y Dameshek W. Drug-induced immunological tolerance. *Nature* 1959; 183; 1682

Schweitzer EJ, Matas AJ, Gillingham KJ, et al. Causes of renal allograft loss. Progress in the 1980s, challenges for the 1990s. *Ann Surg* 1991; 214: 679-688

Seebacher G, Weigel G, Griesmacher A, et al. One and a half years with Mycophenolate mofetil (Cellcept) in cardiac transplantation: a prospective, randomized study. *Transplant Proc* 1999; 31: 3291-3293

Serino F, Grevel J, Napoli KL, et al. Generation of oxygen free radicals during the metabolism of cyclosporine A: a cause-effect relationship with metabolism inhibition. *Molecular Cell Biochem* 1993; 122: 101-112

Serón D, Moreso F, Bover J, et al. Early protocol renal allograft biopsies and graft outcome. *Kidney Int* 1997; 51: 310-316

Serón D, Moreno F. Transplantation (en impresión).

Shankland SJ, Ly H, Thai K, et al. Increased glomerular capillary pressure alters glomerular cytokine expression. *Circ Res* 1994; 75: 844-853

Shaw LM. Mycophenolate mofetil: pharmacokinetic strategies for optimizing immunosuppression. *Drug Metabol Drug Interactions* 1997; 14, 1: 33-40

Shehata M, Cope GH, Johnson TH, et al. Cyclosporine enhances the expression of TGF-beta in the juxtaglomerular cells of the rat kidney. *Kidney Int* 1995; 48: 1486-1487

Shirvan H. Chronic allograft rejection: Do the cells preferentially induced by indirect alloantigen recognition play a dominant role? *Transplantation* 1999; 68: 715-726

Sigal NH, Dumont FJ, Durette P, et al. Is cyclophilin involved in the immunosuppressive and nephrotoxic mechanism of action of cyclosporine A? *J Exp Med* 1991; 172: 619-628

Sindhi R, LaVia MF, Paulling E, et al. Stimulated response of peripheral lymphocytes may distinguish cyclosporine effect in renal transplant recipients receiving a cyclosporine + rapamycin regimen. *Transplantation* 2000; 69: 432-436

Smith WJ. Monitoring the component of the immune system. En: Burdick JF, Racusen LC, Solez K, Williams GM eds. *Kidney Transplant Rejection* 2^a ed; Marcel Dekker. Nueva York, 1992: 437

Solez K, Afrouzian M, Pakasa, et al. Renal transplant biopsy: what does it tell? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1997; 6: 538-543

Sollinger HW, Deierhoi MH, Belzer FO, et al. RS-61443 – a phase I clinical trial and pilot rescue study. *Transplantation* 1992; 53: 428-432

Sollinger HW, Belzer FO, Deierhoi MH, et al. RS-61443: Rescue therapy in refractory kidney transplant rejection. *Transplant Proc* 1993; 25: 698-699

Sollinger HW for the U.S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. *Transplantation* 1995, 60: 225-232

Stempel CA, Lake J, Kuo G and Vincenti F. Hepatitis C – its prevalence in end-stage renal failure patients and clinical course after kidney transplantation. *Transplantation* 1993; 55: 273-276

Steroid withdrawal Study Group. Prednisone withdrawal in kidney transplant recipients on cyclosporine and Mycophenolate mofetil: a prospective randomized study. *Transplantation* 1999; 68: 1865-1874

Storck M, Abendroth D, Albrecht W, et al. IMPDH-activity in whole blood and isolated blood cell fractions for monitoring of Cell-Cept[®] mediated immunosuppression. The Transplantation Society. XVII World Congress, Montreal, 1998.

Stratta RJ et al for the FK/ MMF Multi-Center Study Group. Simultaneous use of tacrolimus and mycophenolate mofetil in combined pancreas-kidney transplant recipients: a multi-center report. *Transplant Proc* 1997; 29: 654-655

Strehlau J, Pavlakis M, Lipman M, et al. Quantitative detection of immune activation transcripts as a diagnostic tool in kidney transplantation. *Proc Natl Acad USA* 1997; 94: 695-700

Sugioka N, Odani H, Ohta T, et al. Determination of a new immunosuppressant, mycophenolate mofetil, and its active metabolite, mycophenolic acid, in rat and human body fluids by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1994; 654: 249-256

Terasaki PI, Koyama H, Cecka JM, et al. The hyperfiltration hypothesis in human renal transplantation. *Transplantation* 1994; 57: 1450-1454

Theodorakis J, Schneeberger H, Illner WD, et al. Nephrotoxicity-free, Mycophenolate mofetil-based induction/maintenance immunosuppression in elderly recipients of renal allografts from elderly cadaveric donors. *Transplant Proc* 2000; 32 (supl 1A): 9S-11S

Thomas F, Lee H, Lower R, et al. Immunological monitoring as a guide to management of transplant recipients. *Surg Clin North Am* 1979; 59: 253-281

Thorogood J, Van Houwelingen HC, Van Rood JJ, et al. Long-term results of kidney transplantation in Eurotransplant. Paul LC, Solez K (eds). *Organ transplantation: long term results*. Marcel Dekker; Nueva York, 1992: 33-56

Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. A blinded, randomized clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 1996; 61: 1029

Tsamandas AC, Shapiri R, Jordan M, et al. Significance of tubulitis in chronic allograft nephropathy: a clinicopathologic study. Further confirmation of clinical significance of tubulitis. *Clin Transplantation* 1997, 2: 139-141

Tsina I, Kalostian M, Lee R, et al. High-performance liquid chromatographic method for the determination of mycophenolate mofetil in human plasma. *J Chromatogr* 1996, 681: 347-353

Van Buren DH, Burke JF y Lewis RM. Renal function in patients receiving long-term cyclosporine therapy. *J Am Soc Nephrol* 1994; 4: S17

Van Saase JLCM, Van der Woude FJ, Throrogood J, et al. The relation between acute vascular and interstitial renal allograft rejection and subsequent chronic rejection. *Transplantation* 1995; 59: 1280-1285

Varani RR, Flechner SM, Van Buren CT, et al. Acute cellular rejection or cyclosporine A nephrotoxicity? A review of transplant renal biopsies. *Am J Kidney Dis* 1984; 9: 185-191

Vereerstraeten P, Wissing M, DePauw L, et al. Male recipients of kidneys from female donors are at increased risk of graft loss from both rejection and technical failure. *Clin Transplantation* 1999 Apr; 13(2): 181-186

Vicente E. Últimos avances en la cirugía de los trasplantes. XX Congreso Nacional de Cirugía. Madrid, 1994: 9-11

Walker PD, Lázaro VA, Duggin GG, et al. Evidence that alteration in renal metabolism and lipid peroxidation may contribute to nephrotoxicity. *Transplantation* 1990; 50: 487-492

Weir MR, Anderson L, Fink JC, et al. A novel approach to the treatment of chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 1997; 64: 1706-1710

Wieland E, Shipkova M, Schellhaas U, et al. Induction of cytokine release by the acyl glucuronide of mycophenolic acid: a link to side effects? *Clin Biochem* 2000; 33(2): 107-113

Willians NS, Klem J, Puzanov IJ, et al. Natural killer differentiation: insights from knockout and transgenic mouse models and in vitro systems. *Immunological Rev* 1998, 165: 47-61

Wollenberg K, Krumme B, Schollmeyer P, et al. Pharmacokinetics of mycophenolic acid after renal transplantation. *Transplant Proc* 1998; 30: 2237-2239

Wood AJJ y Oates JA. Reacciones adversas a los fármacos. En: Harrison, Principios de Medicina Interna. Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, et al Eds. Interamericana–McGraw Hill, 12º edición. Madrid, 1991; 443- 450

Young EW, Ellis CN, Messana JM, et al. A prospective study of renal structure and function in psoriasis patients treated with cyclosporin. *Kidney Int* 1994; 46: 1216-1222

Yu C, Seidel K, Nash RA, et al. Synergism between mycophenolate mofetil and cyclosporine in preventing graft-versus-host disease among lethally irradiated dogs given DLA-nonidentical unrelated marrow grafts. *Blood* 1998; 91: 2581-2587

Zanker B, Rothenpieler U y Land W. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 704A

Zhou YC y Cecka JM. Effect of HLA matching on renal transplant survival. En: Terasaki PI, Cecka JM, eds. *Clinical Transplants 1993*. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory, 1994: 499-510

Zuckermann A, Birsan T, Thaghavi S, et al. Mycophenolate mofetil in lung transplantation. *Transplant Proc* 1998; 30: 1514-1516