

INSTITUTO DE HEMATOLOGIA E INMUNOLOGIA

Alteraciones en las poblaciones de linfocitos en pacientes con transplante renal

Por:

Dra. MARIA N. SANTOS*, Lic. REINALDO VILLAESCUSA**, Dra. CARIDAD M.
SANTOS***, YOLANDA TRUJILLO****, Tec. CRUZ R. YANSE***** y
Dr. JORGE ALFONSO*

Santos, M. N. y otros. *Alteraciones en las poblaciones de linfocitos en pacientes con transplante renal*. Rev Cub Med 23: 5, 1984.

Se evaluaron las poblaciones de linfocitos en 13 pacientes con transplante renal (un año o menos). Se demostró una disminución en la población de linfocitos T a través de la roseta espontánea, RE: $47,33\% \pm 7,74$ y roseta activa, RA: $32,6\% \pm 8,69$; en comparación con los valores normales de RE: $73,86\% \pm 13,66$ y RA: $40,83\% \pm 6,90$ respectivamente. Se obtuvieron valores incrementados de blastogénesis espontánea ($19,45\% \pm 11,20$), con respecto a los valores normales de $12,5\% \pm 5,5$, lo que no se correlacionó con la aparición de rechazo clínico como ha sido reportado por algunos investigadores. Los datos sugieren que la depresión de la inmunocompetencia celular no específica del paciente transplantado, puede ser un factor importante en el no rechazo del transplante. Por lo que el estudio de la receptividad inmunológica puede ser de gran utilidad en la individualización del manejo terapéutico en el postransplante.

INTRODUCCION

Durante los últimos años los esfuerzos en la clínica del transplante renal se han encaminado a la aceptación del transplante y se ha hecho menor el interés por los riesgos y complicaciones, tales como infecciones y neoplasias. Por otra parte, son poco conocidos los eventos que ocurren después del

*Médico especialista en inmunología. Instituto de Hematología e Inmunología.

**Licenciado en bioquímica. Instituto Hematología e Inmunología.

***Médico especialista en inmunología. Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología.

**** Lic. en bioquímica. Instituto de Nefrología.

*****Tec. en química analista. Instituto de Hematología e Inmunología.

*****Médico especialista en nefrología. Instituto de Nefrología.

aloinjerto en humanos. Algunos investigadores consideran que el estado de postransplante representa un estadio crítico durante el cual ocurre un balance homeostático entre células T auxiliaadoras y supresoras, lo que determina la aceptación del transplante. Se ha señalado que sobre este equilibrio actúan diferentes factores, como la transfusión sanguínea y la administración de inmunosupresores, los que pudieran favorecer el predominio de la supresión,¹ por lo que la evaluación inmunológica del sujeto transplantado brindaría una mejor información sobre los mecanismos inmunológicos en su relación con el rechazo, la terapéutica y las complicaciones.

Las pruebas que se utilizan en la evaluación inmunológica del paciente transplantado se clasifican en donante específica y donante no-específica, entre estas últimas se encuentra la cuantificación de linfocitos T y B por las técnicas de rosetas; los estudios funcionales con mitógenos y la blastogénesis espontánea, que mide la estimulación basal de los linfocitos. En fecha reciente ha surgido un gran interés por la evaluación de la inmunidad donante no-específica,² pues aunque mide una población heterogénea de células, lo simple del método y su utilidad lo hacen fácilmente accesible a la clínica. El objetivo de este trabajo consiste en la evaluación de la inmunidad no-específica en pacientes con transplante renal de cadáver y menos de un año de evolución, que presentaban diferentes grados de compatibilidad donante-receptor con ausencia de signos clínicos de rechazo.

MATERIALES Y METODO

Se realizó el estudio en 13 pacientes entre 9-40 años, que habían recibido un paciente presentaba signos clínicos de rechazo y todos los transplantados. Todos se encontraban recibiendo terapia inmunosupresora con azatioprina y prednisona desde el transplante, cuyas dosis en el momento del estudio variaron de 1-3 mg/kg/día y 7-25 mg/día respectivamente. Ningún paciente presentaba signos clínicos de rechazo y todos los transplantes fueron ABO compatible con pruebas cruzada negativa.

Ninguno de los pacientes presentaba cuadro clínico de hepatitis en el momento del estudio y las cifras de transaminasa glutámico pirúvica y bilirrubina fueron normales en todos los pacientes.

El estudio de la compatibilidad para los loci HLA-A y B se hizo mediante la técnica de tipaje de microlinfocitotoxicidad de Terasaki modificada en NIH.³

La demostración del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (Ag_s HB), se hizo mediante la técnica de contraelectroforesis (CIE).⁴⁻⁵

La inmunocompetencia se evaluó siguiendo el porcentaje total de células T por roseta espontánea (RE),⁶ porcentaje de células que forman roseta activa (RA),⁷ blastogénesis espontánea (BE) y la

estimulación con fitohe- maglutinina (PHA), mediante una modificación con naranja de acridina de la técnica descrita por Dionigi.⁸

La población de linfocitos B se evaluó por la técnica de roseta dependiente de complemento (EAC)⁹ y los linfocitos con receptores Fe por la técnica de roseta EA,¹⁰ utilizando hematíes de carnero cubiertos con IgG de conejos antihematíes de carnero.

Los valores normales de las pruebas inmunológicas evaluadas se obtuvieron de donantes sanos con una edad comprendida entre 15-56 años. Teniendo en cuenta que de acuerdo con nuestras evaluaciones, no hemos encontrado diferencias significativas entre los valores normales para estos parámetros entre niños y adultos, se tomaron como valores normales los obtenidos en adultos, debido a que solamente se estudiaron dos niños de 9 y 14 años de edad respectivamente.

El análisis estadístico se realizó mediante la t de Student. El nivel de significación estadística utilizado fue de $\alpha = 0,05$ y $\beta = 0,01$.

RESULTADOS

En el cuadro I se muestran los niveles de creatinina y urea y las dosis de inmunosupresores administradas en el momento del estudio en los 13 pacientes investigados, los que habían recibido un trasplante renal de cadáver con menos de un año de evolución y no habían presentado signos de rechazo de acuerdo con los criterios utilizados en el Instituto de Nefrología de La Habana. El 38,46% de los pacientes tenían Ags HB.

La transformación de los linfocitos en respuesta a mitógeno no mostró diferencia significativa con los controles normales, encontrándose la blastogénesis espontánea incrementada con respecto a los controles ($p < 0,05$), el resto de los parámetros evaluados se encontraron deprimidos lo que fue estadísticamente significativo para una $p < 0,01$, excepto para la EAC, que presentó una significación de $p < 0,05$ (cuadro II).

DISCUSION

Se ha señalado que es necesario mantener los niveles de linfocitos T alrededor de un 20% por debajo de los niveles normales o de los valores comprobados en la etapa pretransplante, con el fin de lograr una mejor aceptación del injerto; con este fin se han utilizado diferentes inmunosupresores. Sin embargo, existe una gran variabilidad en la susceptibilidad a estos agentes, lo que ofrece un interés mayor en el seguimiento individual de los niveles de linfocitos T y su actividad funcional.¹¹ Se ha reportado que el incremento en la blastogénesis espontánea se correlaciona con el rechazo clínico.¹²

Nuestros resultados no se corresponden con estos reportes, ya que ninguno de los pacientes con incremento en la B E presentó rechazo, lo que sugiere que este hecho no ocurre uniformemente. Resultados similares a los nuestros han sido comunicados por S. S. Ojeda.³

CUADRO I

DATOS GENERALES DE LOS PACIENTES EVALUADOS

Paciente	(años)	Sexo	Compatibilidad HLA	Creatinina VN 1-2 (mg/dl)	Urea VN 10-50 (mg/dl)	Azatioprina (mg/dl)	Prednisona (mg/día)	Ags HB	Tiempo de transplantado (meses)
1	25	M	2	1,00	27,0	125	22,5	+	4
2	9	M	2	0,72	41,8	100	10,0	-	10
3	34	M	1	1,70	28,6	150	25,0	-	7
4	51	M	0	1,32	35,0	150	10,0	+	8
5	14	M	1	0,47	36,8	100	25,0	-	3
6	16	M	0	0,96	37,2	150	15,0	+	7
7	19	F	1	0,80	28,0	150	25,0	-	2
8	21	F	2	0,56	37,0	100	17,5	+	7
9	34	F	0	0,42	48,3	150	25,0	-	4
10	35	F	2	1,04	60,5	150	10,0	-	4
11	46	F	4	1,36	65,0	150	10,0	-	12
12	20	F	1	1,39	29,0	75	7,5	+	1
13	33	F	2	0,50	28,0	150	10,0	-	8

Ags HB: Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B detectado por contraelectroforesis.

VN : Valores normales.

CUADRO II

RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS INDIVIDUOS NORMALES
Y PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL DE CADAVER

Paciente	RE (%)	RA (%)	EAC (%)	EA (%)	TB (PHA) (%)	BE (%)
1	38	29	6	3	N R	N R
2	46	34	19	4	70	13
3	47	29	17	4	70	8
4	44	28	19	18	35	20
5	49	12	25	10	59	9
6	40	37	N R	N R	67	10
7	48	43	19	12	50	22
8	40	37	N R	N R	67	10
9	45	41	4	6	N R	N R
10	39	27	19	0	50	31
11	60	51	15	15	45	N R
12	59	33	N R	N R	60	5
13	60	51	15	15	45	N R
Pacientes						
Media \pm DS	47,33 \pm 7,74	32,6 \pm 8,69	15,15 \pm 5,62	7,37 \pm 5,43	48,92 \pm 17,86	19,45 \pm 11,70
Controles Normales						
Media \pm DS	73,86 \pm 13,66	40,83 \pm 6,95	19,63 \pm 6,95	24 \pm 6,0	56 \pm 16,0	12,5 \pm 5,5
NR	: no realizada					
RE	: roseta espontánea					
RA	: roseta activa					
EAC	: roseta dependiente de complemento					
EA	: rosetas para células con receptores Fc para IgG conejo					
TB (PHA)	: transformación blástica con fitohemaglutinina					
BE	: blastogénesis espontánea					

Los datos obtenidos en cuanto a la inmunodepresión (RE, RA), se corresponden con lo comunicado por otros autores,¹² lo que explica la susceptibilidad de estos pacientes a los procesos infecciosos; un dato interesante resulta el que 38% de los casos evaluados presentaron Ags HB, lo que

podiera explicarse por la inmunodepresión, alta frecuencia de transfusiones sanguíneas o a resultados falsos positivos ya que los sueros con gran contenido de lípidos, pueden dar resultados falsos positivos con la técnica de contrainmunolectroforesis.¹⁴ En la literatura se ha señalado que en muchos de estos pacientes ocurre un incremento de los lípidos sanguíneos,^{15,10} por lo que creemos que debe profundizarse en la investigación de la antigenemia con técnicas de tercera generación y también en la detección de otros antígenos del virus de la hepatitis B como el C, el nuclear (core) y otros.

Aunque las pruebas utilizadas en el estudio permiten una guía en la terapia inmunosupresora y a su vez constituyen las pruebas más simples de uso clínico, la evaluación de las subpoblaciones de linfocitos T con anticuerpos monoclonales, puede ampliar los datos de la inmunocompetencia antitransplante, como es: la evaluación de la relación T auxiliadora/T supresora.¹⁷ El mayor refinamiento en las técnicas inmunológicas brindará explicación, entre otros aspectos, a la adaptación en algunos pacientes transplantados, en los que se logra un buen funcionamiento renal con dosis bajas de inmunosupresores en casos con infecciones virales: hepatitis no A - no B y otros.¹⁸

Otro resultado interesante es la obtención de un 69,23% de valores normales de transformación blástica con PHA, lo que no se correlacionó con los valores disminuidos de roseta espontánea, por lo que pudiera pensarse que a pesar de un número disminuido de células T, la actividad funcional de las mismas resultó adecuada en respuesta a la PHA. La depresión tan marcada apreciada en las células con receptores Fe, pudiera significar que en transplantado el desbalance en las subpoblaciones de linfocitos no solo ocurre en las T.

Consideramos que es necesario la ampliación de este estudio a la etapa pretransplante, lo que permitirá evaluar más ampliamente las alteraciones que se producen en el transplante renal.

SUMMARY

Santos, M. N. et al. *Alterations in lymphocyte populations in patients with renal transplantation*. Rev Cub Med 23 : 5, 1984.

Lymphocyte populations were evaluated in 13 patients with renal transplantation (during one year or less). A decrement of T-lymphocyte population was demonstrated through spontaneous rosette, SR: $47,33\% \pm 7,74$, and active rosette, AR: $32,6 \pm 8,69$, in comparison with normal values of SR: $73,86 \pm 13,66$ and AR: $40,83\% \pm 6,90$, respectively. Increased values of spontaneous blastogenesis ($19,45\% \pm 11,20$) were obtained with regard to normal values ($12,5\% \pm 5,5$), which was not correlated with the onset of clinical rejection as has been reported by some investigators. Two data suggest that depression of non-specific immunocompetence of the transplanted patient, can be an important factor in non-rejection of the transplant. For this reason, the study of immunologic receptiveness can be of great usefulness for the individualization of therapeutical management in post-transplantation.

RÉSUMÉ

Santos, M. N. et al. *Altérations des populations des lymphocytes chez des patients avec transplantations rénale*. Rev Cub Med 23: 5, 1984.

Les auteurs ont fait l'évaluation des populations des lymphocytes chez 13 patients avec transplantation rénale (un an ou moins). Il a été démontrée une diminution dans la population des lymphocytes T à travers de la rosette spontanée, RS: $47,33\% \pm 33\% \pm 7,74$ et de la rosette active, RA: $32,6\% \pm 8,69$; en comparaison avec les valeurs normales de RE: $73,86\% \pm 13,66$ et RA: $40,33 \pm 6,90$ respectivement. Des valeurs incrémentées de blastogenèse spontanée ($19,45\% \pm 11,20$), par rapport aux valeurs normales de $12,5\% \pm 5,5$, ce qui n'a pas eu de corrélation avec la parution de rejet clinique rapporté par certains chercheurs. Deux données suggèrent que la dépression de l'immuno-compétence cellulaire non spécifique du patient qui a subi la transplantation peut être un facteur important dans le rejet de la transplantation. Pourtant, l'étude de la réceptivité immunologique peut être d'une grande utilité dans l'individualisation du manege thérapeutique pendant la période postérieure à la transplantation.

BIBLIOGRAFIA

1. Ellis, T. M.; H. M. Lee.; Mohanakumar: Altérations in human regulatory T. lymphocyte subpopulations after renal allografting. J Immunol 127: 2199, 1981.
2. Cosimi, A. B.; F. L. Delmonico; J. F. Burdick; P. S. Russell: Individualized management of immunosuppression according to serial monitoring of immunocompetence. Transplant Proc 10: 647, 1978.
3. Terasaki, P. I.; J. D. McClelland: Microdroplet assay of human serum cytotoxins. Nature 204: 998, 1964.
4. Bussard, A.: Description d'une technique combinant simultanément l'électrophorèse et la précipitation immunologique dans un gel: l'électrosynérèse. Biochim Biophys Acta 31: 258, 1959.
5. Kohrt, J.: Method for the detection and identification of alpha fetoprotein in serum. J Clin Pathol 23: 733, 1964.
6. Bach, J. F.: Evaluation of T cells and thymic serum factors in man using the rosette technique. Transplant Rev 15: 196, 1973.
7. Felsburg, P. J.; R. Edelman: The active E-Rosette test. A sensitive "in vitro" correlate for human delayed type hypersensitivity. J Immunol 118: 62, 1977.
8. Dionigi, G.; A. Zonta; F. Albertario; R. Galeazzi; G. Ballinzona: Cyclic variation in the response of lymphocytes to phytohemagglutinin in healthy individuals. Transplantation 16: 550, 1973.
9. Sternsward, J.; F. Wanky; M. Jondall; M. Wigzell; R. Sealy: Lymphopenia and change in distribution of human B and T lymphocytes for mammary carcinoma. Lancet 1: 1352, 1972.
10. Gutiérrez, F.; F. Garrido; C. Osorio: Citotoxicidad Celular dependiente de anticuerpos en seres humanos. Relación entre células linfoides con receptores Fe y ADCC Sangre 4: 135, 1979.
11. Thomas, F. J. Thomas. G. Méndez: Individualization of recipient immunosuppression by use of in vitro monitoring parameters. Transplant Proc 10: 611, 1978.
12. Kerman, R. H.; M. Floyd; C. T. Van Burén; B. D. Kahan: Prediction of cadaveric allograft survival based on pre-transplant nonspecific immunocompetence Transplant Proc 8: 1533, 1981.

13. *Ojeda, S. A.:* (Comunicación personal) 1982.
14. *Thompson, R. A.:* Techniques in clinical immunology. Blackwell Scientific Publications. p. 19, 1976.
15. *Vargas, R. E.:* Lipoproteínas en glomérulos de pacientes con glomerulonefritis. Resúmenes del V Congreso Latinoamericano de Nefrología. La Habana p. 65; 1982.
16. *Ucea, M.; M. N. Díaz:* Alteraciones del Metabolismo lipídico en el diabético portador de insuficiencia renal crónica. Resúmenes V Congreso Latinoamericano de Nefrología. P. 103, 1982.
17. *Cosimi, A. B.; R. C. Burton; R. Kung; G. Colvin; G. Coldstein; J. Uffer; W. Rhodes; P. S. Russell:* Evaluation in primate renal allograft recipients of monoclonal antibody to human T-cell subclasses. Transplant Proc 13: 499, 1981.
18. *Severyn, W.; G. Kyriakides; L Fuller; U. Esquenazi; C. Flaa; L. Olson; C. Goldsmith; J. Miller:* Kidney transplantation by use of splenectomy and transfusions cadaver ha- plotype matching suppressor cell assays', and T-cell monitoring. Surgery 90: 364,1981.

Recibido: 20 de enero de 1983

Aprobado: 4 de julio de 1983

Dra. *María N. Santos*
Doble Vía de San Francisco y Perla
Alta Habana. Ciudad de La Habana.