



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO
“FEDERICO GÓMEZ”**

**ANTICUERPOS ANTI-HLA Y RECHAZO AGUDO DEL
INJERTO RENAL**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

NEFRÓLOGO PEDIATRA

P R E S E N T A:

RUBÉN ARTURO GALEAS RODRÍGUEZ

ASESORES DE TESIS:

**DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO
DRA. REBECA GOMEZCHICO VELASCO**



MÉXICO, D.F. MARZO 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ANTICUERPOS ANTI-HLA Y RECHAZO AGUDO DEL INJERTO RENAL

TUTOR:

DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO

CO-ASESOR:

DRA. REBECA GOMEZCHICO VELASCO

INDICE

CONTENIDOS	<i>Página</i>
I. ANTECEDENTES	4
II. MARCO TEÓRICO	8
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
IV. JUSTIFICACIÓN	14
V. OBJETIVOS	15
VI. MATERIAL Y METODO	16
VII. RESULTADOS	18
VIII. DISCUSION	27
IX. CONCLUSIONES	30
X. REFERENCIAS	31

ANTICUERPOS ANTI-HLA Y RECHAZO AGUDO DEL INJERTO RENAL

I. ANTECEDENTES

El trasplante renal es la mejor forma de tratamiento para todos los pacientes con enfermedad crónica terminal, en los pacientes pediátricos se ha visto que mejora el crecimiento, desarrollo cognitivo y calidad de vida en forma muy superior a los procedimientos dialíticos. A pesar del éxito del aloinjerto (órgano trasplantado entre dos individuos genéticamente diferentes de la misma especie) el rechazo agudo y la nefropatía crónica continúan siendo los problemas principales.¹

Los genes de histocompatibilidad son los responsables del reconocimiento del injerto como algo similar a nuestros propios tejidos o como algo extraño, este grupo de genes ha sido definido como complejo mayor de histocompatibilidad (CMH).²

La incompatibilidad de los antígenos del CMH entre un donante y un receptor de un aloinjerto provoca rechazo.

Los genes del CMH se encuentran localizados en el brazo corto de cromosoma 6 y codifican moléculas de superficie celular polimórficas, aloantígenos conocidos como antígenos leucocitarios humanos (HLA).

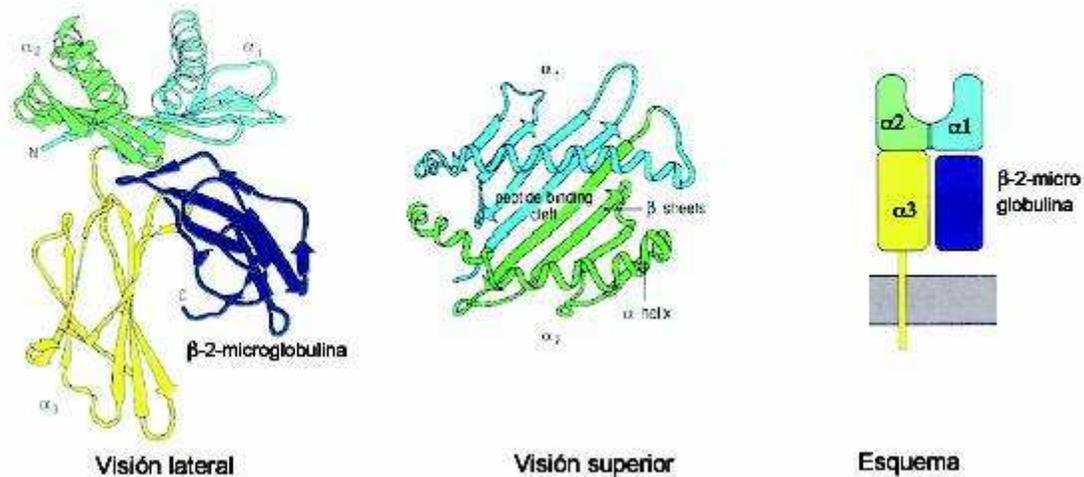
Los HLA se dividen en dos tipos generales, clase I y II según su distribución celular, estructura química y función inmunológica.

Los antígenos de clase I (HLA-A, B, C) se encuentran en casi todas las células, aunque la concentración de estas moléculas varía ampliamente. La molécula Clase I está compuesta por dos cadenas polipeptídicas con una unión no covalente en la superficie de las células. La cadena pesada es de 44 kD, está insertada en la membrana plasmática y contiene la porción antigénica. La cadena ligera de 12 kD es la β 2-microglobulina.²

Hay tres loci de cadenas pesadas clase I: A, B y C, el producto de cada locus en un individuo tiene un epitopo antigénico único denominado propio y epitopos comunes adicionales que se comparten de manera amplia con el resto de la población.

Figura 1. Tomado de www.wikilearning.com/imagescc/6021/image019.jpg

HLA Clase I: estructura

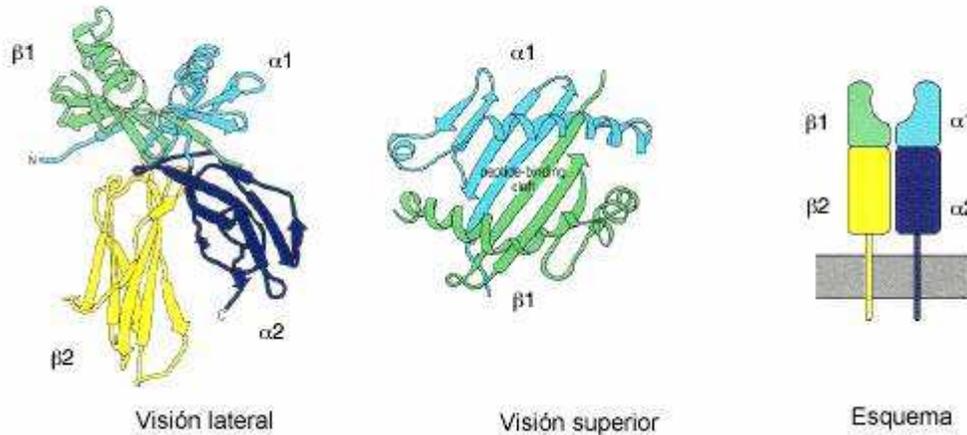


Las moléculas de HLA de clase II tienen una distribución más restringida debido a que generalmente se expresan en células presentadoras de antígeno como los linfocitos B, monocitos, macrófagos, células mesangiales renales y elementos del sistema inmune.

Se componen también por dos cadenas polimórficas asociadas de forma no covalente denominadas alfa y beta las cuales desempeñan un papel principal en el inicio de la respuesta inmune a los antígenos del trasplante. La región del HLA que forma los genes de clase II se denomina HLA-D, reconociéndose en la superficie celular tres moléculas: HLA-DP, HLA-DR, HLA-DQ.¹

Figura 2. Tomado de www.wikilearning.com/imagescc/6021/image020.jpg

HLA Clase II: estructura



Cada persona tiene dos conjuntos de antígenos de HLA, uno de cada progenitor, cada uno de los cuales se denomina haplotipo por lo que cualquier pareja de hermanos tiene un 25% de posibilidades de heredar los dos haplotipos parentales iguales, 50% de compartir uno de los dos y 25% de tener dos haplotipos completamente diferentes.²

En la molécula de HLA hay más de un sitio que actúa como blanco del rechazo. Las especificidades propias son por definición las más inmunogénicas en la alorrespuesta, pero una determinada especificidad suele estar compuesta por pequeñas diferencias en aminoácidos en más de una localización en la molécula HLA.³

El mayor impacto en la supervivencia del injerto lo tiene la compatibilidad en los antígenos B y los DR; el locus A posee un efecto adicional menos importante. Si se comparan los resultados de cuando no hay diferencias en A, B o DR, a la existencia de una sola diferencia en alguno, se multiplica por dos las posibilidades de pérdida del injerto para A, por tres para B y por cinco para DR.²

Incluso se han descrito diferencias a diferentes momentos del trasplante siendo el DR el más importante en los primeros seis meses del trasplante, el efecto del B comienza durante los primeros dos años y el A no mostró efecto antes de los tres años. Esto demuestra que el locus del HLA de clase II DR tiene un impacto mayor durante el primer año después del trasplante, sin embargo en etapas posteriores la influencia de los tres loci es equivalente y aditiva. La concordancia del HLA influye en la supervivencia a largo plazo del aloinjerto y se relaciona en parte con el menor impacto de rechazo agudo en los casos de buena concordancia.²

En los pacientes que experimentan un episodio de rechazo agudo, la supervivencia del injerto a largo plazo es mas corta. Los rechazos agudos son menos intensos cuando el donante y el receptor tienen concordancia HLA. El grado de diferencias no predice por sí mismo el rechazo precoz, pero sí el pronóstico una vez que se ha producido el episodio de rechazo.¹

La respuesta intrínseca de cada paciente puede determinar la tasa de rechazo, pero en las personas en las que esta se produce, las diferencias del HLA son importantes en cuanto a las tasas de supervivencia a corto plazo. Además el tiempo de rechazo podría ser intrínsecamente más rápido cuando hay diferencias en más antígenos.

El reconocimiento de los antígenos del trasplante por las células T se denomina reconocimiento alogénico, es uno de los acontecimientos que desencadena el rechazo y se realiza por dos vías diferentes.²

En la vía directa las células T (LT) del receptor realizan un reconocimiento alogénico directo de las moléculas de HLA intactas siendo ésta vía la responsable de la generación de una respuesta primaria por LT CD8+ citotóxicos.

En la vía indirecta del reconocimiento los receptores de los LT CD4+ colaboradores reconocen los alo péptidos del CMH del donante derivados del catabolismo y procesamiento por las células presentadoras de antígenos que internalizan las proteínas extrañas exógenas liberadas del injerto y procesan los péptidos para la presentación a las células T proporcionando de este modo la señal necesaria para la activación linfocitaria.

Primero los clones de las células colaboradoras se activan, proliferan y después inducen la proliferación de células T citotóxicos CD8+, estas se dirigen generalmente contra las incompatibilidades de clase I y dañan las células diana después de que se produce una interacción directa entre las células, a través del receptor de antígenos de células T.²

Los sitios antigénicos, o epitopos, reconocidos por las células T son en realidad diferentes de la misma molécula de clase I que reconocen los anticuerpos. Esto se explica por el hecho de que las inmunoglobulinas pueden reconocer epitopos pequeños en moléculas completas intactas con estructuras terciarias, mientras que las células T solo ven el complejo de superficie compuesto por un fragmento del péptido unido a la hendidura del complejo de unión del CMH.

Las células T CD4+ colaboradoras activadas por la vía indirecta inician los mecanismos efectores de rechazo entre los que se incluyen las respuestas de hipersensibilidad de tipo retardado, la toxicidad mediada por células y la producción de aloanticuerpos.

La inmunidad celular ha sido extensamente estudiada en los trasplantes de órganos por ser considerada el mecanismo efector de mayor importancia en el rechazo agudo, de hecho la mayor parte de los esquemas inmunosupresores de inducción y mantenimiento están dirigidos directamente a los linfocitos T.²

Las células CD4+ Th1 ejercen respuestas de hipersensibilidad de tipo retardado, estas aunque se inician por una respuesta inmunológica específica, producen lesión y reparación tisular inespecífica.⁴

Los linfocitos T CD8+ precitólíticos reconocen antígenos específicos de HLA clase I en la superficie de las células del donante y en presencia de citocinas producidas por LT colaboradores (IL-2, IL-4 e IL-5) se diferencian y se dividen, atacando a las células blanco por medio de la exocitosis de gránulos que contienen factores solubles así como moléculas de la degradación del complemento.⁴

Estas proteínas inducen la muerte celular mediante la degradación del ADN y la lisis osmótica secundaria a la formación de poros en la membrana de las células contra las que van dirigidas.

Los linfocitos B expresan de forma clonal receptores de superficie específicos para el antígeno, las inmunoglobulinas, que cuando se unen a un antígeno específico y se encuentran en un ambiente adecuado con factores colaboradores solubles como IL-4, IL-6 e IL-8, se activan, diferencian y dividen convirtiéndose en células plasmáticas, que secretan formas solubles de los anticuerpos específicos de antígenos que hay en la superficie celular.^{4,5}

Estos anticuerpos se pueden unir a antígenos alogénicos e inducir daño al injerto mediante la unión del complemento o directamente por citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo. Los aloanticuerpos IgM e IgG se pueden detectar en el suero y en los aloinjertos que se están rechazando. Los anticuerpos preformados contra HLA de clase I y endotelio desempeñan una función importante en el rechazo hiperagudo y el rechazo vascular acelerado, que se observa en receptores de trasplante ya sensibilizados.^{6,7}

Los anticuerpos también están relacionados con rechazo agudo y crónico existiendo ya evidencia del rol de estos anticuerpos en el daño al injerto, demostrándose en estudios prospectivos realizados por medio de citometría de flujo y ELISA en donde se encontraron anticuerpos contra antígenos HLA en 14-23% de los receptores con injerto funcionando, encontrándose mayor porcentaje de rechazo (8.6%) en éstos pacientes en comparación con aquellos que no presentan anticuerpos (3%).⁸

Los receptores con altos títulos de anticuerpos contra antígenos del grupo ABO tienen mayor riesgo de presentar falla temprana del injerto. En trasplantes ABO compatibles un panel reactivo de anticuerpos (PRA) menor al 10% tiene una vida media significativamente superior que aquellos con niveles más altos de sensibilización.⁸

El PRA representa un estimado semicuantitativo del grado de sensibilización siendo calculado como el porcentaje de un panel de HLA que presenta reacción con el suero. Los pacientes con porcentaje mayor al 50% se consideran altamente sensibilizados dificultando encontrar donadores compatibles.⁹

El término rechazo mediado por anticuerpos describe todos los tipos de rechazo en el que se ven involucrados anticuerpos específicos contra el donador, el diagnóstico de certeza puede ser realizado cuando existe disfunción del injerto con características histológica e inmunohistológicas y la presencia de anticuerpos específicos contra el donador.^{6,10}

El objetivo primario en el mecanismo de rechazo mediado por anticuerpos es el daño a la célula endotelial teniendo como efecto la interacción de antígeno-anticuerpo que finalmente causa daño al endotelio por cuatro diferentes mecanismos:

1. El daño al endotelio puede ser directamente mediado por la vía del complemento formando complejos de ataque contra la membrana.
2. Células inflamatorias reclutadas por fragmentos solubles del complemento.
3. Células fagocitadas que reconocen fragmentos del complemento depositados en las células endoteliales.
4. La citotoxicidad al endotelio mediada por anticuerpos puede ser provocada sin la implicación del complemento.^{6,8}

Los cambios patológicos secundarios después del daño al endotelio incluyen la activación de plaquetas y trombosis, proliferación celular endotelial y del músculo liso, infiltrado celular y/o humoral que provoca daño directo al órgano.^{11,8}

La producción de aloanticuerpos es el tercer mecanismo efector que contribuye a la falla del injerto después de producirse citotoxicidad por células T e hipersensibilidad tardía. La unión de estos anticuerpos a antígenos expresados en el complejo mayor de histocompatibilidad libera varios mecanismos de daño que incluyen la cascada de complemento, factores de coagulación y lesión mediada por células como macrófagos y células NK.¹¹

Los hallazgos histopatológicos en la biopsia del injerto renal se clasifican según la Clasificación de Banff en:¹²

Rechazo Mediado por Anticuerpos:

Puede coincidir con cambios limítrofes, rechazo mediado por células-T, fibrosis intersticial y atrofia tubular.

Presencia de anticuerpos anti-donador circulantes y C4d.

Depósito de C4d sin evidencia morfológica de rechazo activo.

C4d positivo, presencia de anticuerpos anti-donador circulantes, no signos de rechazo agudo o crónico mediado por células-T o rechazo mediado por anticuerpos. Casos con cambios limítrofes simultáneos o necrosis tubular aguda son considerados como indeterminados.

Rechazo agudo mediado por anticuerpos:

C4d positivo, presencia de anticuerpos anti-donador circulantes, evidencia morfológica de daño tisular agudo.

- I. NTA con inflamación mínima.
- II. Inflamación capilar y glomerular y/o trombosis
- III. Arterial

Rechazo crónico activo mediado por anticuerpos:

C4d positivo, presencia de anticuerpos anti-donador circulantes, evidencia morfológica de daño tisular crónico como doble contorno glomerular y/o fibrosis intersticial, atrofia tubular y/o adelgazamiento fibroso de la íntima arterial.¹²

Cambios Limítrofes:

Esta categoría es utilizada cuando no hay presencia de arteritis de la íntima, pero con signos de tubulitis > 10% de los capilares peritubulares corticales con capilaritis y > 10 células inflamatorias lumenales o infiltrado intersticial del 26-50% del parénquima inflamado con leve tubulitis (3 a 4 células inflamatorias lumenales).¹²

Rechazo Celular

GRADO I (AGUDO LEVE)

IA. Inflamación intersticial que afecta más del 25% del parénquima con cambios de tubulitis moderada (26-50% del parénquima inflamado).

IB.- Inflamación intersticial que afecta más de 25% del parénquima con cambios de tubulitis severa (> 50% del parénquima inflamado).¹²

GRADO II (AGUDO MODERADO)

IIA.- Inflamación intersticial con arteritis de la íntima leve a moderada.

IIB.- Inflamación intersticial con arteritis de la íntima severa que compromete > 25% del área luminal.¹²

GRADO III (GRAVE)

III.- Arteritis transmural con cambios fibrinoides y/o necrosis de la media del músculo liso con inflamación linfocitaria.¹²

Rechazo crónico activo mediado por células-T:

Arteriopatía crónica del injerto con fibrosis de la íntima con infiltrado celular mononuclear y formación de neo-íntima.¹²

Fibrosis Intersticial y Atrofia Tubular:

Sin evidencia de etiología específica, puede incluir esclerosis glomerular y vascular.

Grado I: fibrosis intersticial leve y atrofia tubular < 25% del área cortical.

Grado II: fibrosis intersticial moderada y atrofia tubular 26-50% del área cortical.

Grado III: fibrosis intersticial severa y atrofia tubular > 50% del área cortical.¹²

Rechazo Agudo Mediado por Anticuerpos:

El rechazo agudo mediado por anticuerpos continúa siendo un problema en el manejo de los pacientes con trasplante renal y es resistente al manejo convencional dirigido contra células T, debido a que presenta una base histológica diferente al rechazo celular agudo ya que involucra infiltración de los capilares peritubulares y glomérulos por neutrófilos y monocitos, trombos capilares de fibrina, necrosis fibrinoide y vasculitis, estos hallazgos son típicos pero no específicos de rechazo humoral ya que también se puede observar en el rechazo con anticuerpos negativos, pero en menor frecuencia.^{13,14}

El depósito a lo largo de los capilares peritubulares de uno de los factores del complemento como es el C4d ha sido asociado con rechazo agudo humoral así como la detección de anticuerpos reactivos contra el donador. El C4d es un producto de degradación del factor de complemento activado C4. Aloanticuerpos circulantes se han encontrado en la mayoría de los casos de C4d positivos (78-95%), comparado con el 0-50% de los casos negativos.¹⁵

La mayoría de los anticuerpos detectados en los casos positivos para C4d son dirigidos contra antígenos HLA de clase I y II del donador.

Los factores de riesgo para el desarrollo de rechazo incluyen diferentes tipos de consideraciones relacionadas con el receptor y el donador. Dentro de las consideraciones relacionadas con el receptor debe investigarse la historia de compatibilidad, la identificación de títulos de anticuerpos donador específicos pre y post- trasplante, anticuerpos contra HLA I y II, historia de sensibilizaciones previas como son transfusiones, embarazo y trasplantes previos.

Las consideraciones relacionadas con el donador incluye compatibilidad ABO, compatibilidad HLA, donador relacionado o no relacionado.

La sensibilización humoral contra antígenos HLA es una barrera importante para el éxito en el trasplante de órganos.

El desarrollo de anticuerpos anti-HLA está asociado y precede a los episodios de rechazo agudo y tiene un papel importantante en el desarrollo de rechazo crónico. Pueden aparecer después del trasplante en individuos no sensibilizados previamente y la eficiencia para detectar, caracterizar y remover estos anticuerpos tiene influencia en la sobrevida a largo plazo en el trasplante órganos sólidos.

Los antígenos HLA individualmente pueden evocar la formación de anticuerpos por sí mismos. Los antígenos HLA de clase I están extensamente expresados en muchos tejidos, siendo el riñón trasplantado también una fuente importante.

La disfunción del injerto mediada por anticuerpos también puede ocurrir en completa ausencia de evidencia morfológica de rechazo humoral, ya que los mecanismos de rechazo celular y humoral ocurren al mismo tiempo en cerca del 50-60% de los casos.

La presencia de anticuerpos anti-HLA donador específicos después del trasplante renal es un indicador confiable de riesgo de presentar disfunción rápida del injerto, reflejado por incrementos en los niveles de creatinina sérica en los primeros tres meses post-trasplante.

Los anticuerpos contra antígenos de HLA producen una alta proporción de los rechazos mediados por anticuerpos, si bien en muchos casos estos anticuerpos no pueden ser demostrados, por lo que el proceso de rechazo agudo o crónico puede involucrar otro tipo de anticuerpos que no reaccionan contra antígenos HLA.

El rechazo mediado por anticuerpos se puede presentar en hermanos HLA idénticos, indicando que además de los antígenos HLA, otro sistema de histocompatibilidad puede estar involucrado en la respuesta inmune anti-injerto.¹⁶

La Nefropatía Crónica del Trasplante:

Se caracteriza por arteriopatía crónica del injerto con fibrosis de la íntima e infiltrado celular mononuclear y la formación de neo-íntima.^{17,18}

Anticuerpos contra antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad clase I relacionados a la cadena del gen A (MICA) y que están cercanamente ligados al locus HLA-B son buenos candidatos ya que presentan múltiples polimorfismos. Algunos estudios indican que los anticuerpos anti-MICA detectados en el suero de pacientes pre-trasplante o producidos después del injerto renal pueden estar asociados a una menor sobrevida. Anti-MICA se han encontrado en pacientes con rechazo irreversible del trasplante renal así como en pacientes con rechazo agudo grave en trasplante cardíaco.¹⁹

Se ha demostrado que en el 50% de los receptores de trasplante hepático que eran negativos para el gen glutatión S-transferasa T1 (GSTT1) y que recibieron injerto de donador positivo, se produjo anticuerpos contra proteínas del GSST1, expresados en el injerto hepático, desarrollando la mayoría de ellos hepatitis de novo y disfunción del injerto. La hepatitis de novo puede ser el resultado de una respuesta inmune mediada por anticuerpos aloreactivos contra GSST1 sugiriendo que este representa un sistema menor de histocompatibilidad. GSST1 se expresa en riñón, hígado y eritrocitos.²⁰

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El trasplante renal es la forma óptima de tratamiento a los pacientes con enfermedad crónica terminal. La presencia de anticuerpos dirigidos contra antígenos leucocitarios humanos (HLA) los cuales pueden ser producidos antes o después del injerto se asocia con la menor sobrevida del trasplante.

La determinación de anticuerpos anti-HLA específicos a antígenos del donador es uno de los criterios que se consideran para el diagnóstico de rechazo humoral. El papel de los anticuerpos HLA no específicos para el donador no se ha esclarecido, pero varios estudios sugieren que tienen un efecto negativo en la sobrevida e indican que un paciente está sensibilizado.

No existen estudios en población pediátrica mexicana sobre la presencia de anticuerpos anti-HLA en el rechazo agudo y su relación con la evolución del injerto.

IV. JUSTIFICACION

La producción de anticuerpos contra antígenos HLA es uno de los mecanismos que contribuye a daño del injerto, por lo que es importante identificar este tipo de anticuerpos para especificar su potencial patogénico y determinar su rol en los diferentes tipos de rechazo. La caracterización de perfiles de anticuerpos anti-HLA en suero de pacientes es clínicamente útil para definir los criterios de compatibilidad HLA.

En los últimos años el rechazo al injerto renal asociado al desarrollo de anticuerpos específicos contra el donador ha emergido como una entidad clínico-patológica que conlleva a un peor pronóstico ya que puede resultar en la menor sobrevida del injerto.

El propósito de este estudio es analizar la relación entre la presencia de anticuerpos contra antígenos HLA clase I y/o clase II al momento del rechazo agudo y su relación con la evolución del injerto.

V. OBJETIVOS

Objetivo General

- Determinar la presencia de anticuerpos anti- HLA clase I y clase II generales y donador específicos en pacientes con rechazo agudo del injerto renal.

Objetivo Específico

- Determinar la prevalencia de anticuerpos contra antígenos anti- HLA clase I y clase II según el tipo de rechazo.

VI. MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio retrospectivo en el Hospital Infantil de México “Federico Gómez” en el que se incluyeron 21 pacientes con trasplante renal en el período comprendido del 08 de Julio del 2000 al 01 de marzo de 2010 y que presentaron rechazo agudo del injerto, a los cuales se tomó muestra en suero al momento de la biopsia renal, misma que fue utilizada para la detección de anticuerpos contra antígenos HLA de clase I y II.

Criterios de inclusión:

- Pacientes pediátricos de 2 a 18 años con rechazo agudo del injerto renal diagnosticado con biopsia.
- Muestra de suero tomada en el momento de la biopsia renal.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con sospecha de rechazo agudo que no tengan biopsia renal.
- Pacientes que no cuenten con muestras de suero al momento del trasplante.

El diagnóstico de rechazo agudo se realizó por biopsia renal según la Clasificación de Banff.¹²

En todos se hizo inmunohistoquímica para C4d.

Diecisiete pacientes fueron catalogados como rechazo celular y fueron tratados con bolos de metilprednisolona a 10 mg/kg/dosis por tres a cinco días consecutivos.

Cuatro pacientes tuvieron diagnóstico de rechazo agudo mediado por anticuerpos, de los cuales tres pacientes fueron tratados con sesiones de plasmaféresis cada tercer día con recambio de un volumen de plasma de 90-120 min y reposición con albúmina al 5%. Después de la sesión de plasmaféresis recibieron inmunoglobulina G intravenosa (IGIV) 500 mg/kg en infusión lenta y rituximab (anticuerpo monoclonal anti-CD20) a dosis de 375 mg/m²/ por semana en dos dosis. El tratamiento inmunosupresor de mantenimiento se continuó a las dosis habituales.

Una paciente fue catalogada como rechazo celular resistente a esteroides y recibió 5 bolos de metilprednisolona y posteriormente globulina antilinfocito por 10 dosis a 1.5 mg/Kg, al hacer en forma retrospectiva la detección de anticuerpos vs. donador se vio que tenía presencia de anticuerpos Clase I contra donador y C4d positivo en la biopsia renal, por lo que para fines del estudio se catalogó como rechazo humoral agudo.

La función renal fue evaluada mediante la determinación de creatinina sérica y estimación de la velocidad de filtración glomerular (eVFG) por la fórmula de Schwartz:
 $eVFG \text{ (ml/min/1.73 m}^2\text{)} = kL / S_{cr} \text{ (mg/dL)}$, donde:

L: talla en centímetros, S_{cr} : creatinina sérica, k: constante, con valor de 0.55 para niños y adolescentes femeninas y de 0.7 para varones adolescentes.^{21,22,23}

Esta fórmula si bien se diseñó para estimar la función renal de riñones nativos, también se utiliza en pacientes con trasplante renal.

La determinación de anticuerpos y sus especificidades se realizó mediante la detección de anticuerpos HLA Clase I LABScreen® Single Antigen HLA Class I-combi y LABScreen® Single Antigen HLA Class II (One Lambda Inc).

VII. RESULTADOS.

Se estudiaron un total de 21 pacientes con trasplante renal que al momento del rechazo se les realizó biopsia renal y aceptaron la toma de muestra en suero para detectar la presencia de anticuerpos anti- HLA para clase I y clase II asociado a la presencia de rechazo agudo del injerto.

La demografía de los pacientes se muestra en la Tabla 1.

En cuanto al esquema de inmunosupresión dieciocho pacientes recibieron inducción con Anti-CD25 (Basiliximab o Daclizumab). Diecisiete pacientes (81%) recibieron tacrolimus, micofenolato y prednisona. Dos pacientes (9.5%) recibieron ciclosporina, azatioprina y prednisona, dos pacientes (9.5%) recibieron inmunosupresión sin esteroide que incluye tratamiento con daclizumab (Zenapax) por seis meses para alcanzar una dosis acumulada de 10mg/kg, tacrolimus y micofenolato. Uno de ellos hizo rechazo celular IIA posterior al cual se introdujo esteroide a su esquema de tratamiento en forma permanente. (Paciente 11, Tabla2).

De los 21 pacientes, 14 fueron del sexo masculino, con una edad promedio de 15.7 años. Diecisiete (81%) de los receptores fueron de donador vivo relacionado y cuatro de donador fallecido. Diecisiete pacientes (81%), fueron diagnosticados con rechazo celular y cuatro (19%) con rechazo agudo mediado por anticuerpos, de acuerdo a la clasificación de la patología del injerto renal Banff 2007.

Dentro del grupo de pacientes con rechazo celular, 14 (82.3%) fueron de donador vivo relacionado (DVR) y tres (17.6%) de donador fallecido (DF). Del grupo de pacientes con diagnóstico de rechazo agudo mediado por anticuerpos dos (50%) fueron receptores de donador vivo relacionado. El tiempo post-trasplante promedio de presentación del rechazo humoral agudo fue de 18.7 meses y para el rechazo celular de 36.7 meses. El tiempo de seguimiento promedio posterior al trasplante renal fue de 54.1 meses en el grupo de pacientes con rechazo celular y de 37.7 meses en los pacientes con rechazo humoral agudo. Dentro de este estudio un total de 52.3% (11/21) pacientes presentaron anticuerpos específicos contra el donador, de los cuales 19% (4/21) fue contra antígenos HLA clase I, 23.8% (5/21) contra antígenos HLA clase II y 9.5% (2/21) de los pacientes presentaron anticuerpos contra ambos tipos de antígenos (Tabla 2).

Una paciente fue receptora de un segundo injerto renal. Una paciente presentó pérdida del injerto por falta de adherencia terapéutica, no asociado a la formación de anticuerpos específicos contra el donador (paciente 10, tabla 2). Un paciente no desarrollo ningún tipo de anticuerpos a pesar de tener rechazo celular IIA (Paciente 11, Tabla 2).

Tabla 1. Demografía de pacientes.

Características de los pacientes	Rechazo Celular n=17	Rechazo Humoral n= 4	Total n= 21
Edad promedio meses \pm DE	187.5 \pm 48.27	192.3 \pm 65.72	188.4 \pm 50.1
Género			
Femenino n (%)	4 (57.1)	3 (42.9)	7 (33.3)
Masculino n (%)	13 (92.8)	1 (6.2)	14 (66.6)
Fuente del Injerto			
Donador vivo relacionado n (%)	14 (82.3)	2 (50)	16 (76)
Donador Fallecido n (%)	3 (75)	2 (50)	5 (24)
Inmunosupresión			
Inducción con AntiCD25 n (%)	14 (82.3)	4 (100)	18 (85.7)
MMF, FK, PDN	13 (76.4)	4 (100)	17 (81)
MMF,CsA, PDN	1 (5.9)	0	1 (4.76)
AZA,CsA, PDN	2 (11.7)	0	2 (9.5)
FK, MMF	1 (5.9)	0	1 (4.76)
Tiempo de presentación del Rechazo meses \pm DE	36.7 \pm 24.9	18.7 \pm 13.5	33.3 \pm 24
Tiempo de seguimiento post-trasplante meses \pm DE	54.1 \pm 23.77	37.7 \pm 17.26	45.9 \pm 11.6

MMF: mofetil micofenolato. FK: tacrolimus. PDN: prednisona, AZA: Azatioprina, CsA: Ciclosporina.

Tabla 2. Tipo de rechazo, especificidades de los anticuerpos anti-HLA, fuente de injerto y VFG en el último seguimiento.

Paciente	Incompatibilidades	Especificidad	Tipo rechazo	Función renal	Fuente del injerto	Seguimiento (meses)	VFG (ml/min/1.73m ²)	C4d en biopsia
1	A24,A31,Bw6,B60	A31 ,A1,A30, A11,A36,A80B7,B27,B42,DQ2	Celular IB	1.5	DVR	61	74.4	Negativo
2	A2,B51,Bw4,DR4, DQ8	DR4 ,A80,B37 DR17,DR52,DR53.	Celular IA	1.1	DVR	52	107	Negativo
3	Cw7,DR13	DP1	Celular IA	1	DVR	40	82.2	Negativo
4	B39(16),Cw4	A30	Celular IA	1.2	DVR	49	107.8	Negativo
5	A25(10),B50(21), Cw6,DR13,DQ6	DR13 ,A80, B44,B45,B76,DR4,DR12, DR15,DR16,DR18,DP4.	Celular Limitrofe	0.7	DVR	56	85.6	Negativo

6	A1,B8,Cw2,DR17,DQ2	A1,B8,DQ2 , A30,A36,A80D P4,DP14, DP19,DQ6, DQ7.	Humoral	2.2	DVR	45	52.6	Positivo
7	A30(19),B45(12), Cw3	B75.	Celular IA	0.9	DVR	37	113.1	Negativo
8	A30(19),B65(14),DR 14(6),DQ5(1), DQ6(1)	DQ6(1) ,A32,A3 3,B7,B58,B61,C w6Cw7DP13, DR4,DR51	Celular IB	1.5	DVR	26	75.6	Negativo
9	A11,B35,Cw4	Cw2,Cw17, B8201,DP4, DP19,DR4, DR53,DQ2, DQ6.	Celular IA	1.7	DVR	28	77.6	Negativo
10	A33(19),B44(12),Bw 4,Cw2,DR1, DQ5(1)	A30,A31,A34A 68,A69, DP3,DP14, DP17,DP19.	Celular IB	17	DVR	32	5	Negativo
11	A2,B39(16),B51(5),C w7	Negativo.	Celular IIA	1.7	DVR	32	66.2	Negativo
12	DR14	A1,A36,A80,B3 7,B63,DP1,DR1 ,DR7, DR9,DR13, DR18.	Celular IA+NTI Por VBK	1.2	DVR	50	93	Negativo
13	A1,B13,Bw4,Cw6,D R7,DQ2	DR7,DQ2 , A23,A25,A30A 32,B44,B45,B4 9,B57,B58,Cw2 ,Cw17	Humoral	3.3	DVR	45	24.5	Positivo
14	A31(19),B39(16), DQ8,DR8,DQ4	DQ8 ,DP1, DR51, DQ6,DQ7.	Celular IA	0.9	DVR	57	91.3	Negativo
15	A23,B44(12),Bw4,D R11(5)	A11,A30,A34B 8,B48,B81,Cw5 ,Cw6, Cw17.	Celular IA	1.9	DVR	30	62.2	Negativo
16	No se cuenta con HLA del receptor. El donador no presenta los antígenos de las especificidades encontradas en los Ac-Anti HLA del receptor	B44,B45,B59,B 65,B71,B72,B8 1,Cw5, DR1,DP13, DQ6,DQ8.	Celular Limítrofe	1.8	DF	115	46.4	Negativo
17	No se cuenta con HLA del receptor. El donador tiene A2	A2 ,B27,Cw17	Humoral	0.9	DF	49	94.7	Positivo
18	No se cuenta con HLA del receptor. El donador no presenta los antígenos de las especificidades encontradas en los Ac-Anti HLA del receptor	A30,B35,B57, B75,DP1,DR4D R52,DQ2, DQ5.	Celular IB	1.3	DF	53	87.7	Negativo

19	B52(5),Cw3,DR8	B52 ,A25,A30,A32,B49,B58,Cw6,DR51,DQ2,DQ4,DQ7.	Celular Limitrofe	2.5	DVR	97	46.7	Negativo
20	A28,B39(16),Bw6,Cw3,DR4,DQ8	DR4,DQ8 ,A30,Cw9,DP19,DP31,DR1DR12,DR53,DQ7.	Celular IA	5.8	DF	70	19.2	Negativo
21	A11,B55(22),DR12(5)	A11,B55 ,A3,A31,A74,B13,B59,B76,Cw6Cw15,Cw17,DR1,DR51,DQ2,DQ5.	Humoral	0.6	DVR	12	132	Positivo

Los niveles de creatinina sérica y la velocidad de filtración glomerular fueron analizados al momento del egreso posterior al trasplante (creatinina basal), en el momento del rechazo agudo y durante el último seguimiento en la consulta externa con un tiempo de seguimiento promedio post-trasplante de 45.9 ± 11.6 meses, en forma global hubo un aumento significativo de la creatinina durante el episodio de rechazo y en el último seguimiento con un valor basal de 0.9 mg/dL y aumento a 1.5 mg/dL en el último seguimiento. (Tabla 3).

La VFG se encuentra disminuida al momento del rechazo en ambos grupos, y si bien mejora después del tratamiento anti-rechazo, no se recupera el valor basal. La diferencia basal vs. seguimiento es más pronunciada en los pacientes con rechazo celular, probablemente porque una paciente de ese grupo perdió el injerto. (Ver Tabla 2, Gráficos 1 y 2)

Gráfico 1. VFG en todos los pacientes al momento del rechazo vs. actual.

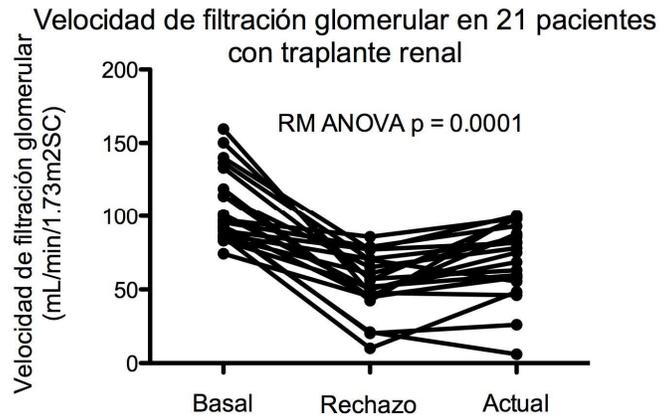


Gráfico 2. Comparación de la VFG vs. tipo de rechazo.

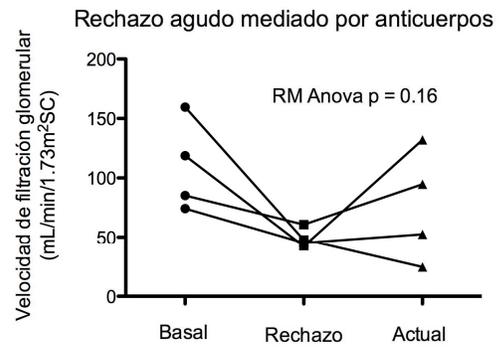
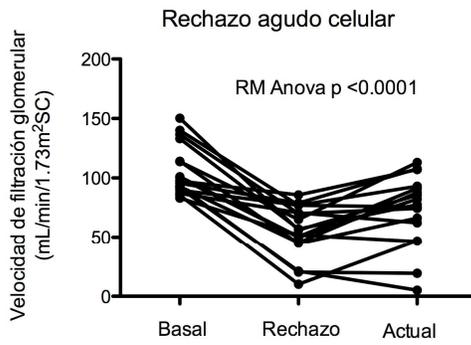


Tabla 3. Función Renal en 21 pacientes con rechazo. Valores como mediana (percentil 25, percentil 75) o como promedio \pm desviación estándar.

Características	RECHAZO CELULAR (n=17)	RECHAZO HUMORAL (n=4)	TOTAL (n=21)
Creatinina Sérica (mg/dl)			
Basal	0.9 (0.8,1.2)	0.75 (0.5,1.3)	0.9 (0.8,1.2)
Rechazo	1.6 (1.3,1.9)	1.4 (1.4,2.3)	1.6 (1.4,1.9)
Ultimo Seguimiento	1.5 (0.95,1.8)* [⊕]	1.9 (0.77, 4.9)	1.5 (0.9,2.0)* [⊕]
Valor de p	p = 0.0004	p = 0.27	p = 0.0001
VELOCIDAD DE FILTRACION GLOMERULAR POR SCHWARTZ(ml/min/1.73m2) \pm DE			
Basal	106 \pm 21	109 \pm 38	106.8 \pm 24
Rechazo	54 \pm 21	49 \pm 8.1	53 \pm 19.9
Ultimo Seguimiento	73.0 \pm 29*	75.9 \pm 46	73.5 \pm 32*
Valor de p	p < 0.0001	p = 0.16 ^{NS}	p < 0.0001

*Wilcoxon pareada p<0.05 basal vs. último seguimiento.

[⊕]Anova de muestras repetidas p<0.0001. Post-test Friedman p<0.0001 basal vs. rechazo, basal vs. actual. No diferencia rechazo vs actual.

NS: no significativo

Anticuerpos Anti-HLA Donador Específicos

Once pacientes hicieron anticuerpos anti HLA donador específicos (52.3%).

Los anticuerpos contra antígenos HLA clase I donador específicos se encontraron en seis pacientes siendo más frecuente en el rechazo agudo mediado por anticuerpos (humoral), donde todos los pacientes tuvieron anti HLA clase I con Chi cuadrada p=0.004. (Gráfico 3) Dos de estos pacientes que presentaron rechazo humoral también formaron anticuerpos contra antígenos HLA de clase II donador específicos. Dos pacientes con rechazo celular presentaron anticuerpos donador específicos contra antígenos HLA clase I (9.5%). Ninguno de estos pacientes formó anticuerpos anti-HLA clase II. (Gráfico 3).

Tabla 3. Anticuerpos anti-HLA clase I y clase II donador específicos y tipo de rechazo agudo.

Anticuerpos y Tipo	Rechazo celular	Rechazo humoral agudo
Anticuerpos clase I donador específico positivos	2	4
Anticuerpos clase I donador específico negativos	15	0
Chi cuadrada p= 0.004		
Anticuerpos clase II donador específicos positivos	5	2
Anticuerpos clase II donador específico negativos	12	2
Chi cuadrada p=0.29		

De los cinco pacientes con rechazo celular que formaron anticuerpos específicos contra antígenos HLA de clase II ninguno presentó anticuerpos contra antígenos de clase I (Tabla 2, Tabla 3).

Gráfico 3. Porcentaje de pacientes con anticuerpos donador específicos de clase I vs. tipo de rechazo.

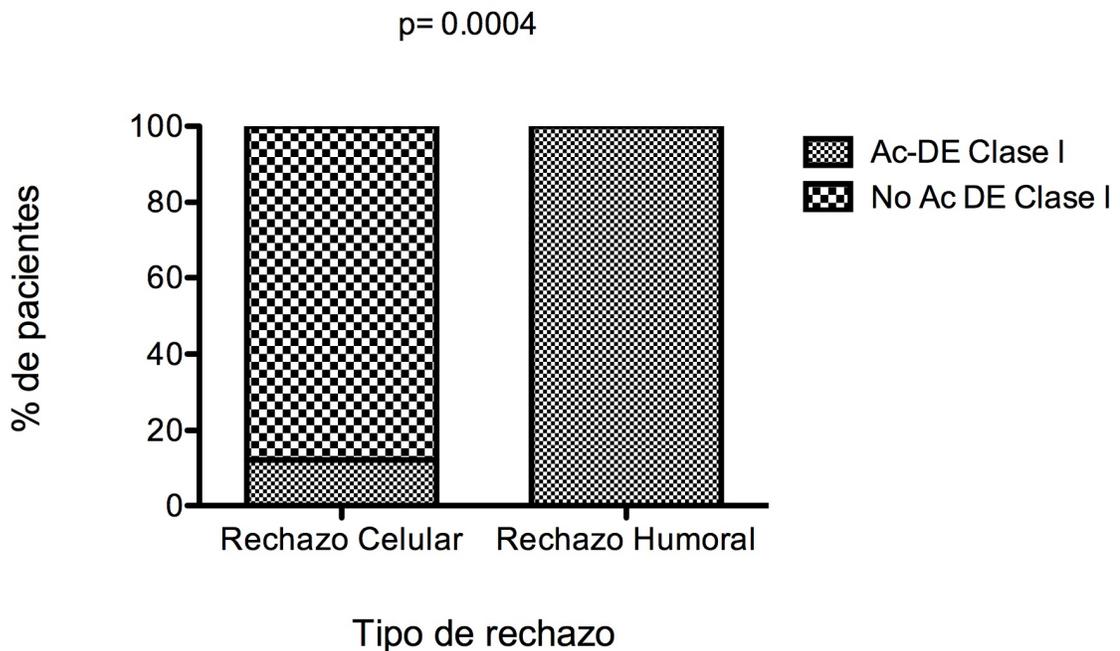
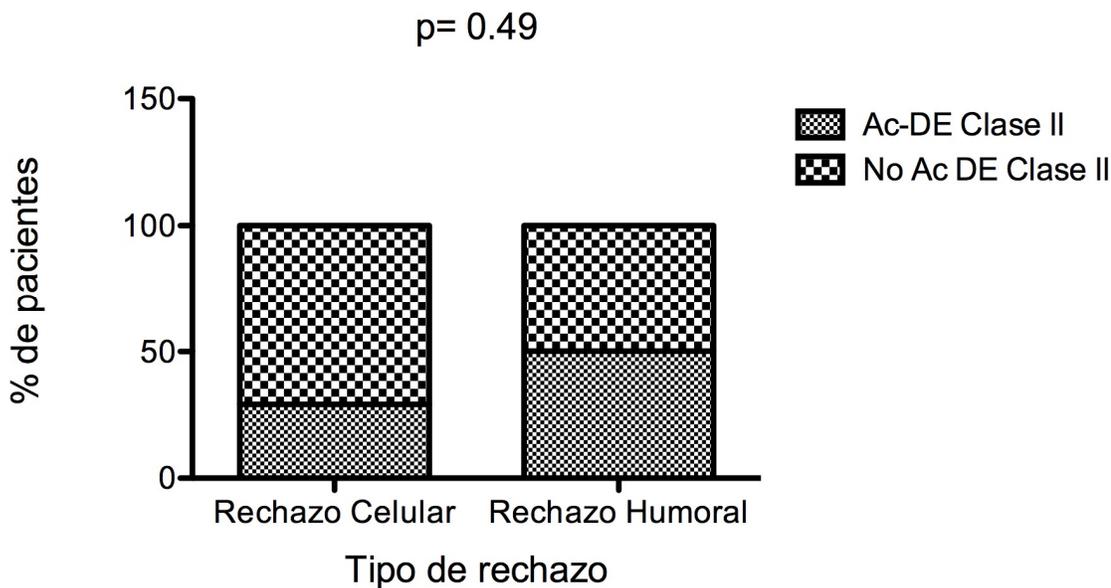


Gráfico 4. Porcentaje de pacientes con anticuerpos donador específicos de clase II vs. tipo de rechazo.



Anticuerpos Anti-HLA Inespecíficos

En cuanto a los anticuerpos inespecíficos el 95.2% (20/21) de los pacientes desarrollaron este tipo de anticuerpos.

En el grupo de pacientes con rechazo celular el 76.4% (13/17) de ellos fueron contra ambas clases de HLA, dos pacientes (11.7%) presentaron anticuerpos para antígenos HLA de clase I y un paciente (5.8%) para antígenos HLA de clase II. (Gráfico 5, Gráfico 6).

Todos los pacientes con rechazo agudo mediado por anticuerpos presentaron anticuerpos no específicos contra antígenos de clase I, de estos dos presentaron también anticuerpos para antígenos HLA clase II (50%).

Un paciente del grupo de rechazo celular no presentó anticuerpos inespecíficos al momento del rechazo (Paciente 11, Tabla 2).

Gráfico 5. Porcentaje de pacientes con anticuerpos inespecíficos vs. HLA Clase I

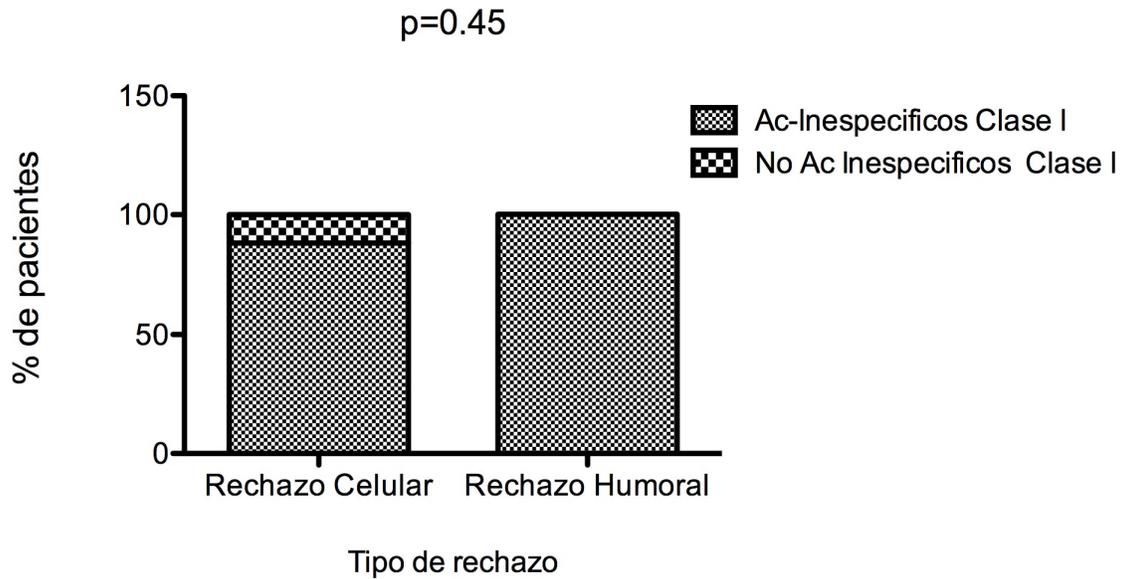
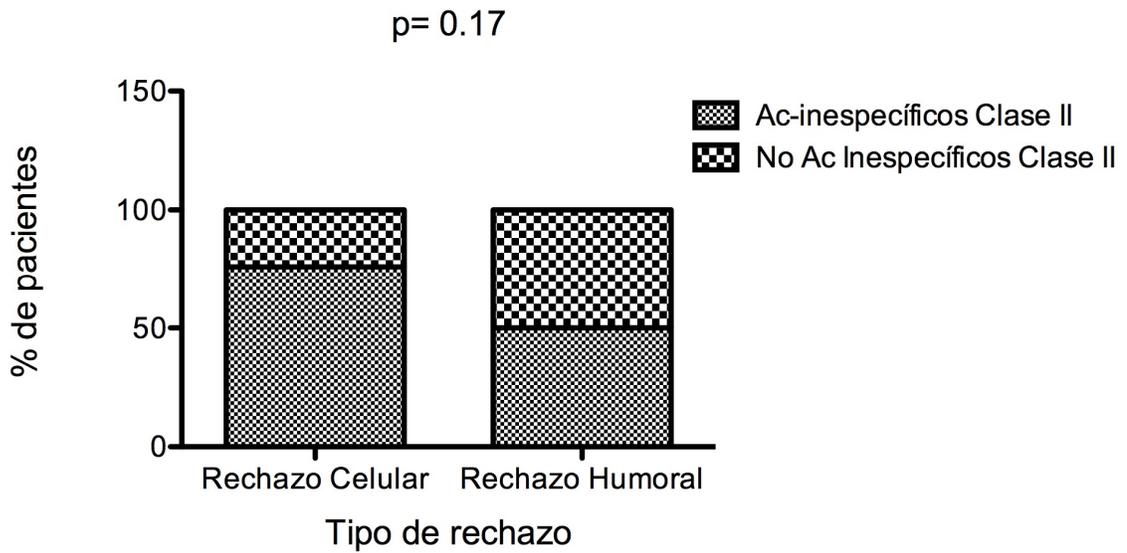


Gráfico 6. Porcentaje de pacientes con anticuerpos inespecíficos vs. HLA clase II



VIII. DISCUSION

La disfunción del injerto evaluada ya sea por la elevación de la creatinina sérica o por disminución de VFG en un paciente con trasplante renal es el primer elemento para la sospecha de rechazo agudo del injerto renal, el estándar de oro para el diagnóstico definitivo es la biopsia renal.

La formación de anticuerpos donador específicos contra antígenos HLA de clase I y clase II posterior al trasplante se ha relacionado con el rechazo mediado por anticuerpos y la menor sobrevida del injerto. Diversos autores han sugerido la vigilancia post-trasplante de anticuerpos anti-HLA donador específicos, los cuales son útiles para la detección de pacientes en riesgo de rechazo agudo y crónico de corazón, pulmón y riñón.^{24,25,26} Los anticuerpos dirigidos contra otras especificidades también pueden participar en el daño inmunológico contra el injerto.^{27,28}

En nuestro estudio encontramos que el 95.2% (20/21) de los pacientes tienen anticuerpos anti-HLA en el episodio de rechazo agudo contra antígenos HLA de clase I y II donador específicos y no específicos que incluyen una amplia variedad de especificidades como son HLA –A, B, Cw para los clase I y DR, DQ y DP para los clase II. Los títulos altos de anticuerpos donador específicos se han reportado hasta en el 95% de los casos con C4d positivo valor que disminuye en un 50% en los casos de C4d negativo.²⁴ Desafortunadamente no sabemos cuántos de ellos tenían anticuerpos inespecíficos previo al trasplante renal.

De los 21 pacientes diagnosticados con rechazo agudo del injerto, 17 (81%) presentó rechazo agudo mediado por células T y cuatro presentaron rechazo agudo mediado por anticuerpos (19%). El rechazo celular agudo continua siendo el tipo más frecuentemente encontrado, el porcentaje de pacientes con rechazo humoral agudo no varía con respecto a otras series en donde se encuentra en el 20-30% de los episodios de rechazo agudo del injerto.^{24,29}

Utilizando anticuerpos HLA Single Antigen clase I y clase II encontramos que 95% de los pacientes con rechazo agudo tienen anticuerpos dirigidos contra antígenos HLA de clase I y clase II, de éstos once pacientes tuvieron desarrollo de anticuerpos Anti-HLA donador específicos (52.3%).

En estudios realizados en adultos, con seguimiento prospectivo de el desarrollo de Ac-Anti HLA donador específicos, Zhang y col. reportaron que 22.4% de los pacientes que reciben un injerto renal los desarrolla y tienen fuerte correlación con el desarrollo de rechazo medido por anticuerpos.²⁴

Morales –Buenrostro y col. reportaron un grupo de 196 pacientes mexicanos con TR con injerto funcional de los cuales 22% presentó anticuerpos antiHLA. La presencia de anticuerpos, aunque no se sabe si eran donador específico o no, tuvieron un impacto negativo en la sobrevida del injerto.³⁰

Crespo y col. reportaron un grupo de 81 pacientes con trasplante renal adultos que presentaron rechazo, de los cuales aquellos que respondieron a esteroides no tuvieron anticuerpos donador específicos, mientras que los que no respondieron al tratamiento 37% tuvieron este tipo de anticuerpos.¹⁴

Los anticuerpos donador específicos contra antígenos HLA de clase II fueron encontrados en el 33.3% (7/21) de los pacientes. Burns y col. reportan la presencia de estos anticuerpos en el 16% de los casos al momento del rechazo.³¹

Al realizar el análisis entre la presencia de anticuerpos donador específicos con el tipo de rechazo presentado encontramos una fuerte asociación con el rechazo agudo mediado por anticuerpos ya que todos los pacientes presentaron anticuerpos contra antígenos HLA de clase I y 50% presentó anti-HLA clase II, estos resultados son consistentes a los reportados por otros autores en donde encontraron títulos elevados de estos anticuerpos al momento del rechazo mediado por anticuerpos.³²

En cuanto a la tinción C4d ésta únicamente fue positiva en los pacientes con rechazo humoral, todos ellos con anticuerpos donador específicos, similar a lo reportado por autores en donde esta tinción se encuentra positiva hasta en el 95% de los casos con rechazo humoral.^{33,34} Crespo y col. reportaron que 6% de los pacientes al momento del rechazo agudo sin presencia de anticuerpos donador específicos presentaron C4d en capilares peritubulares.¹⁴ En nuestra serie, ningún paciente del grupo de rechazo celular tuvo C4d positivo en la biopsia.

Un importante hallazgo en este estudio es que 75% (3/4) de los pacientes que presentaron rechazo mediado por anticuerpos fueron resistentes al tratamiento con esteroides pero respondieron al tratamiento con Rituximab, plasmaféresis e inmunoglobulina mientras que la paciente que fue tratada sólo con bolos de metilprednisolona presentó una notable disminución en la VFG con respecto a su basal. La remoción de anticuerpos a través de plasmaféresis se ha utilizado tanto en tratamiento previo al trasplante en pacientes sensibilizados o bien en aquellos con rechazo humoral, asociado o no a otras terapias.^{6,14,35}

El Rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico dirigido contra el antígeno CD20 que se encuentra en los linfocitos pre-B y B maduros, pero no en las células plasmáticas. Es una inmunoglobulina IgG1 κ que tiene secuencias murinas en las regiones variables pesadas y ligeras y secuencias humanas en las regiones constantes. Al unirse al CD20 en los linfocitos B, desencadena reacciones inmunológicas que provocan la lisis de las células B. Los mecanismos posibles de la lisis celular son la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y la toxicidad dependiente de anticuerpos (ADCC).^{6,36,37}

El uso de globulina intravenosa para el tratamiento del rechazo agudo humoral fue propuesto por Jordan y col en 1998. Como las inmunoglobulinas naturales, la IgIV se puede fijar a factores de complemento y así prevenir el daño a tejidos mediado por la cascada de complemento, como sucede en casos de dermatomiositis^{38,39}

También la IgIV puede modular la actividad de linfocitos CD4 y CD8 y se ha atribuido a la presencia de anticuerpos contra diferentes moléculas de superficie de las células T incluyendo el receptor de células T, CD4 y moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad y a la presencia de anticuerpo anti-idiotipo que pueden inhibir la actividad de los linfocitos B.^{40,41} Algunos de los efectos son dependientes de la dosis. Con dosis altas de IgIV la porción Fc de los anticuerpos puede competir por el receptor Fc presente en las células fagocíticas y así disminuir el daño causado por células inflamatorias. También las dosis altas pueden acelerar el catabolismo y la eliminación de los autoanticuerpos, reduciendo el riesgo de desarrollar trastornos autoinmunes.^{42,43} En nuestra serie la combinación plasmaféresis+IVIG+Rituximab dio buen resultado en los tres pacientes tratados.

En cuanto al tratamiento del rechazo celular, todos los pacientes recibieron de 3 a 5 bolos de metilprednisolona, y si bien la creatina sérica disminuyó de los valores alcanzados en el episodio de rechazo, es evidente que no logra regresar la función renal a los valores basales en el seguimiento. La presentación de un rechazo agudo es un factor conocido de deterioro en la supervivencia del injerto, se recomienda utilizar OKT3 o globulina antilinfocito en aquellos casos que no responden a los esteroides y dejar al paciente en forma permanente con esteroides si el tratamiento inicial no incluía este tipo de medicamentos.⁴⁴ Llama la atención que 88% (15/17) de los niños con rechazo agudo de tipo celular tuvieron anticuerpos no específicos contra antígenos HLA.

IX. CONCLUSIONES

- 95% de los pacientes con rechazo agudo presentan anticuerpos anti-HLA en el episodio de rechazo.
- Todos los pacientes con rechazo humoral tuvieron anticuerpos específicos contra el donador Clase I.
- 88% de los niños con rechazo celular tienen anticuerpos anti HLA.
- El tratamiento con plasmaféresis+Inmunoglobulina+Rituximab ha dado buenos resultados en niños con rechazo mediado por anticuerpos.
- Es necesario continuar el seguimiento para determinar si la sobrevida es menor en aquellos pacientes que tienen anticuerpos dirigidos contra un mayor número de especificidades.

X. BIBLIOGRAFIA

1. Danovitch G. *Handbook of kidney transplantation*. 5° ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
2. Brenner B. *Brenner & Rector's the kidney*. 8° ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008.
3. Hall BM. Cells mediating allograft rejection. *Transplantation*. 1991;51(6):1141-1151.
4. Obata F, Yoshida K, Ohkubo M, et al. Contribution of CD4 and CD8 T cells and interferon-gamma to the progress of chronic rejection of kidney allografts: the Th1 response mediates both acute and chronic rejection. *Transplant Immunology*. 2005;14(1):21-25.
5. Waaga AM, Gasser M, Laskowski I, Tilney NL. Mechanisms of chronic rejection. *Curr. Opin. Immunol*. 2000;12(5):517-521.
6. Gloor J, Cosio F, Lager DJ, Stegall MD. The Spectrum of Antibody-Mediated Renal Allograft Injury: Implications for Treatment. *American Journal of Transplantation*. 2008;8(7):1367-1373.
7. Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, et al. Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. *J. Am. Soc. Nephrol*. 1999;10(10):2208-2214.
8. Cai J, Terasaki P. Humoral Theory of Transplantation: Mechanism, Prevention, and Treatment. *Human Immunology*. 2005;66(4):334-342.
9. Zeevi A, Girit A, Duquesnoy R. HLA antibody analysis: sensitivity, specificity, and clinical significance in solid organ transplantation. *Immunol. Res*. 2006;36(1-3):255-264.
10. Racusen LC, Colvin RB, Solez K, et al. Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am. J. Transplant*. 2003;3(6):708-714.
11. Snanoudj R, Beaudreuil S, Arzouk N, et al. Immunological Strategies Targeting B Cells in Organ Grafting. *Transplantation*. 2005;79(Supplement):S33-S36.
12. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff 07 Classification of Renal Allograft Pathology: Updates and Future Directions. *Am J Transplant*. 2008;8(4):753-760.

13. Mauiyyedi S, Crespo M, Collins AB, et al. Acute humoral rejection in kidney transplantation: II. Morphology, immunopathology, and pathologic classification. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002;13(3):779-787.
14. Crespo M, Pascual M, Tolkoff-Rubin N, et al. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: I. Incidence, serology and clinical characteristics. *Transplantation.* 2001;71(5):652-658.
15. Moll S, Pascual M. Humoral Rejection of Organ Allografts. *Am J Transplant.* 2005;5(11):2611-2618.
16. Billing H, Rieger S, Ovens J, et al. Successful Treatment of Chronic Antibody-Mediated Rejection With IVIG and Rituximab in Pediatric Renal Transplant Recipients. *Transplantation.* 2008;86(9):1214-1221.
17. Campos EF, Tedesco-Silva H, Machado PG, et al. Post-Transplant Anti-HLA Class II Antibodies as Risk Factor for Late Kidney Allograft Failure. *Am J Transplant.* 2006;6(10):2316-2320.
18. Cailhier J, Laplante P, Hébert M. Endothelial apoptosis and chronic transplant vasculopathy: recent results, novel mechanisms. *Am. J. Transplant.* 2006;6(2):247-253.
19. Dragun D. Humoral Responses Directed Against Non-Human Leukocyte Antigens in Solid-Organ Transplantation. *Transplantation.* 2008;86(8):1019-1025.
20. Álvarez-Márquez A, Aguilera I, Gentil MA, et al. Donor-Specific Antibodies Against HLA, MICA, and GSTT1 in Patients with Allograft Rejection and C4d Deposition in Renal Biopsies. *Transplantation.* 2009;87(1):94-99.
21. Schwartz GJ, Furth SL. Glomerular filtration rate measurement and estimation in chronic kidney disease. *Pediatr. Nephrol.* 2007;22(11):1839-1848.
22. Schwartz GJ, Haycock GB, Spitzer A. Plasma creatinine and urea concentration in children: normal values for age and sex. *J. Pediatr.* 1976;88(5):828-830.
23. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children, and adolescents. *Pediatr. Clin. North Am.* 1987;34(3):571-590.
24. Zhang Q, Liang LW, Gjertson DW, et al. Development of Posttransplant Antidonor HLA Antibodies Is Associated with Acute Humoral Rejection and Early Graft Dysfunction. *Transplantation.* 2005;79(5):591-598.
25. Stastny P, Lavingia B, Fixler DE, Yancy CW, Ring WS. Antibodies Against Donor Human Leukocyte Antigens and the Outcome of Cardiac Allografts in Adults and Children. *Transplantation.* 2007;84(6):738-745.

26. Billen EV, Christiaans MH, Lee J, van den Berg-Loonen EM. Donor-Directed HLA Antibodies Before and After Transplantectomy Detected by the Luminex Single Antigen Assay. *Transplantation*. 2009;87(4):563-569.
27. Hourmant M. Frequency and Clinical Implications of Development of Donor-Specific and Non-Donor-Specific HLA Antibodies after Kidney Transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2005;16(9):2804-2812.
28. Morales-Buenrostro L, Rodríguez-Romo R, de Leo C, et al. HLA and MICA antibodies: further evidence of their impact on graft loss two years after their detection. *Clin Transpl*. 2006:207-218.
29. Michaels PJ, Fishbein MC, Colvin RB. Humoral rejection of human organ transplants. *Springer Semin. Immunopathol*. 2003;25(2):119-140.
30. Morales-Buenrostro LE, Rodríguez-Romo R, de Leo-Cervantes C, et al. [Evidence on the role of HLA and MICA antibodies in renal graft loss]. *Gac Med Mex*. 2008;144(4):315-322.
31. Burns JM, Cornell LD, Perry DK, et al. Alloantibody Levels and Acute Humoral Rejection Early After Positive Crossmatch Kidney Transplantation. *American Journal of Transplantation*. 2008;8(12):2684-2694.
32. Halloran PF, Wadgymar A, Ritchie S, et al. The significance of the anti-class I antibody response. I. Clinical and pathologic features of anti-class I-mediated rejection. *Transplantation*. 1990;49(1):85-91.
33. Magil AB, Tinckam KJ. Focal peritubular capillary C4d deposition in acute rejection. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2006;21(5):1382-1388.
34. Poduval RD, Kadambi PV, Josephson MA, et al. Implications of immunohistochemical detection of C4d along peritubular capillaries in late acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2005;79(2):228-235.
35. Lehrich RW, Rocha PN, Reinsmoen N, et al. Intravenous immunoglobulin and plasmapheresis in acute humoral rejection: experience in renal allograft transplantation. *Hum. Immunol*. 2005;66(4):350-358.
36. Becker YT, Becker BN, Pirsch JD, Sollinger HW. Rituximab as treatment for refractory kidney transplant rejection. *Am. J. Transplant*. 2004;4(6):996-1001.
37. Pescovitz MD. The use of rituximab, anti-CD20 monoclonal antibody, in pediatric transplantation. *Pediatr Transplant*. 2004;8(1):9-21.

38. Basta M, Dalakas MC. High-dose intravenous immunoglobulin exerts its beneficial effect in patients with dermatomyositis by blocking endomysial deposition of activated complement fragments. *J. Clin. Invest.* 1994;94(5):1729-1735.
39. Lutz HU, Stammler P, Jelezarova E, Nater M, Späth PJ. High doses of immunoglobulin G attenuate immune aggregate-mediated complement activation by enhancing physiologic cleavage of C3b in C3bn-IgG complexes. *Blood.* 1996;88(1):184-193.
40. Kaveri S, Vassilev T, Hurez V, et al. Antibodies to a conserved region of HLA class I molecules, capable of modulating CD8 T cell-mediated function, are present in pooled normal immunoglobulin for therapeutic use. *J. Clin. Invest.* 1996;97(3):865-869.
41. Kazatchkine MD, Kaveri SV. Immunomodulation of autoimmune and inflammatory diseases with intravenous immune globulin. *N. Engl. J. Med.* 2001;345(10):747-755.
42. Miyagi F, Horiuchi H, Nagata I, et al. Fc portion of intravenous immunoglobulin suppresses the induction of experimental allergic neuritis. *J. Neuroimmunol.* 1997;78(1-2):127-131.
43. Jordan SC, Vo AA, Toyoda M, Tyan D, Nast CC. Post-transplant therapy with high-dose intravenous gammaglobulin: Applications to treatment of antibody-mediated rejection. *Pediatr Transplant.* 2005;9(2):155-161.
44. Special Issue: KDIGO Clinical Practice Guideline for the Care of Kidney Transplant Recipients. *American Journal of Transplantation.* 2009;9:S1-S155.