

Rev Cub Med (Supl 21: 118-130, 1982

INSTITUTO DE NEFROLOGIA

Diagnóstico precoz de la crisis de rechazo en el alotrasplante

Por los Dres.:

REYNALDO MAÑALICH C. HILARIO GOMEZ B. , ISIS NIETO A., NILO ROMERO CH.\* y EIDA

NIETO A.\* y los Téc.:

PILAR JIMENEZ y R. REGALADO

Mañalich C., R. y otros. Diagnóstico precoz de la crisis de rechazo en el alotrasplante renal Rev Cub Med (Supl.) 21: 2, 1982.

El test de linfocitos sensibilizados en la orina y el renograma isotópico, son de gran valor en el diagnóstico de la crisis de rechazo agudo. Se estudiaron dos series\* distintas, de 20 pacientes cada una, que habían recibido un trasplante renal de riñón de cadáver. Durante la crisis de rechazo se encontraron en la orina más del 50% de linfocitos sensibilizados, sin embargo, en ausencia de esta complicación inmunológica se observaron hasta el 20% de estas células en la orina. En el estudio seriado con renografía isotópica, se encontraron modificaciones en la tercera y segunda fases de la curva durante la crisis de rechazo, aún antes que se modificaran los niveles de azoados en sangre, experimentando cambios evolutivos como respuesta al tratamiento esteroideo. Se concluye que por los datos suministrados por estos dos procedimientos diagnósticos, se puede asegurar la instalación de una crisis inmunológica, sobre todo en aquellos pacientes en

que el cuadro clínico es confuso.

#### INTRODUCCION

En el manejo clínico del posoperatorio de un paciente con trasplante renal, el diagnóstico de la crisis de rechazo es de extrema importancia. Un tratamiento precoz y enérgico puede restituir la función del riñón trasplantado.<sup>1</sup>

Diferentes autores señalan que el pronóstico del rechazo agudo se puede mejorar notablemente por un diagnóstico precoz, mucho antes de que haga su aparición el cuadro clínico.

Son muchas las pruebas bioquímicas, radiológicas, radioisotópicas, sonográficas e inmunológicas utilizadas en detectar precozmente esta complicación;<sup>2-5</sup> sin embargo, no faltan autores que señalen que no hay estudio más útil que la medición diaria de la concentración de creatinina.

Las investigaciones realizadas durante la vigilancia inmunológica de los pacientes trasplantados, han dejado bien establecidos que la activación inicial de las células

inmunocompetentes precede en días a las manifestaciones clínicas de rechazo, y son esas mismas células las que infiltran el tejido renal y pasan a la orina.

Esos linfocitos tienen un incremento de la síntesis de RNA citoplasmático, y son pironinofílicos cuando se tiñen con verde de metilo y pironina.

Por otro lado, el renograma isotópico fue utilizado por primera vez en el diagnóstico de la crisis de rechazo por Awad en 1969.<sup>6</sup>

La curva renográfica obtenida con hippuran I<sup>131</sup> con sus fases vascular, secretora y excretora, realizado en forma periódica, ha sido de gran ayuda en el diagnóstico de las complicaciones del aloinjerto renal.<sup>7</sup>

El propósito de este trabajo es hacer un estudio en paralelo del diagnóstico de la crisis de rechazo, por los procedimientos clínicos y bioquímicos habituales, y los aportados por el examen del sedimento urinario buscando linfocitos sensibilizados, y de la renografía isotópica seriada, señalando los signos de valor en el diagnóstico de esta complicación.

#### MATERIAL Y METODO

Para el primer procedimiento diagnóstico, se estudiaron 20 pacientes con trasplante renal de cadáver, entre el 8/2/77 y el 3/10/78

El examen de los linfocitos urinarios se realizó siguiendo la técnica de Houshesky.<sup>8</sup>

Se tomó 10 ml de una muestra de orina fresca. Se centrifugó durante 5 minutos a 1 800 revoluciones por minuto. Se desechó el sobrenadante y se dejó 0,5 ml, los cuales fueron mezclados y, con una pipeta Pasteur, se puso 1 gota de ese sedimento sobre láminas portaobjetos, previamente lavados con alcohol. Se secó al aire y se fijó a la llama. Se coloreó, durante seis minutos, en una solución acuosa de verde de metilo al 2% (extraída con cloroformo).

El exceso fue removido de la lámina por dos pases rápidos en alcohol butílico al 100%. Posteriormente, se colocó en una solución saturada de pironina en acetona por 15 a 30 segundos. Se aclaró el portaobjetos con cedar wood en aceite por 2 ó 3 minutos y, después, se lavó 3 veces con xileno y se dejó secar al aire. Se aplicó el cubreobjetos y se examinó con un microscopio de luz, entre 400—1 000 de magnificación.

Los linfocitos sensibilizados pueden identificarse por la presencia de un gran núcleo verdoso que ocupa casi totalmente el volumen de la célula (8-10  $\mu$ m), rodeado de un halo rojo intenso (pironina).

La determinación del número de linfocitos pironinofílicos se hizo en forma semi-cuantitativa de + 1 a + 4.

+ 1 = 5 - 10% de los linfocitos son pironinofílicos

+ 2 = 10 - 30% de los linfocitos son pironinofílicos

+ 3 = 30 - 50% de los linfocitos son pironinofílicos

M = > 50% de los linfocitos son pironinofílicos

A los 20 pacientes se les realizó, por lo menos, 1 determinación y a 3 pacientes, 16 determinaciones, realizadas diariamente, haciendo un total de 80 muestras de orina.

**Para** el segundo procedimiento diagnóstico, se estudiaron otros 20 pacientes que, durante los años 1978- 79, habían recibido un trasplanta renal de cadáver.

A todos se les realizó un seguimiento renográfico que comenzó dentro de las primeras 48 horas de trasplantado, y que se repitió cada 48—72 horas, durante 2 semanas y después se continuó una o dos veces por semana hasta 3 meses.<sup>9</sup>

Todos los pacientes fueron estudiados en condiciones normales de hidratación.

Se utilizó un renógrafo "Tochiba", con un sistema de registro de dos canales conectados a dos colimadores de plomo de ángulo ancho con un cristal de centelleo de 2 x 2,5 pulgadas c/u.

Colocado el paciente en decúbito supino, se colocó un detector sobre la zona renal, y el otro colimador en la fosa ilíaca contralateral, al mismo nivel (para medir la radiación de fondo).

Se administró 10 microcuries de hippurán I<sup>131</sup>. La duración de la prueba fue de 15 a 20 minutos, y la velocidad del papel 1 cm/minuto.

En todos los casos, se colocó una plancha de plomo 20 x 25 x 0,3 cm en región suprapúbica, para que la radiación acumulada en la vejiga no se sumara a la tercera fase de la curva renográficas.

Los renogramas fueron valorados por inspección visual, y se tuvieron en cuenta las siguientes características:

- punto de máxima incorporación,
- tiempo de incorporación,
- <sup>122</sup> agudeza del pico,
- inclinación de la segunda fase de la curva,

- forma de descenso de la tercera fase de la curva,
- comparación con la radiación de fondo,
- evolución periódica.

Las manifestaciones clínicas de rechazo agudo fueron dadas por: malestar, fiebre, oliguria, hipertensión arterial, aumento de volumen y dolor del riñón trasplantado.

Se unió a este cuadro clínico, incremento de los niveles plasmáticos de creatinina y urea, así como proteinuria, hipnatruria y reducción del aclaramiento endógeno de creatinina.

A un grupo de pacientes se le realizó biopsia renal percutánea y a otros, el estudio hístico se realizó en el riñón destransplantado.

## RESULTADOS

De la serie de 20 pacientes trasplantados, seis fueron seguidos diariamente, por examen citológico del sedimento urinario, entre 5 y 17 días. Cinco de ellos no hicieron rechazo; sin embargo, se puso en evidencia el 20% (+ 2) de linfocitos sensibilizados (pironina-positivo) en el sedimento urinario.

El otro paciente presentó, ai 3er. día de ealizado el injerto, una crisis de rechazo agudo con expresión clínica e histológica, Y se acompañó de > del 50% de linfocitos sensibilizados en orina (+ 4), durante la complicación inmunológica, pero no, previa a las manifestaciones clínicas.

**RCMS -  
1982**

Otros cuatro pacientes presentaron un rechazo agudo clínico y en dos con comprobación anatómica. El estudio del sedimento urinario sólo se hizo durante la fase clínica, y en todos se observó > de 50% (+ 4) de linfocitos pironina positivo. Llamó la atención como estos linfocitos sensibilizados se disponían en varias agrupaciones dentro de la extensión citológica (cuadro).

En el rechazo crónico, los linfocitos sensibilizados en la orina no sobrepasan el 20% (+ 2).

Se analizaron además, 204 renogramas, realizados a otros 20 pacientes con trasplante de riñón de cadáver, que se efectuaron durante los años 1978—1979.

Todos los renogramas fueron útiles para diagnósticos, y el procedimiento fue bien tolerado por todos los pacientes.

Siete trasplantados de esta serie, presentaron crisis de rechazo agudo. Estos fueron separados en 3 grupos, de acuerdo con la función renal inmediata al injerto, y a la apariencia inicial del renograma (figura 1).

1. Dos pacientes que tuvieron diuresis inmediata, presentaron un renograma normal.

| CUADRO<br>CORRELACION ENTRE LINFOCITOS SENSIBILIZADOS EN ORINA<br>Y CUADRO CLINICO DE RECHAZO |                         |                                       |
|---|-------------------------|---------------------------------------|
| Pacientes   | Rechazo                 | Linfocitos sensibilizados<br>en orina |
| 1   | Rechazo agudo (biopsia) | +4                                    |
| 2   | Rechazo agudo clínico   | +4                                    |
| 3   | Rechazo agudo (biopsia) | +4                                    |
| 4   | No                      | entre +1 y +2                         |
| 5   | No                      | +1                                    |
| 6   | Rechazo crónico         | +1                                    |
| 7   | Rechazo agudo clínico   | +4 (en grupos)                        |
| 8   | Rechazo agudo (clínico) | +4 (en grupos)                        |
| 9   | Rechazo clínico         | +4 (en grupos)                        |
| 10  | No                      | +1                                    |
| 11  | Rechazo crónico ?       | +2                                    |
| 12  | Rechazo crónico         | +2                                    |
| 13  | No                      | +1                                    |
| 14  | No                      | +1                                    |
| 15  | No                      | Ninguno                               |
| 16  | No                      | Ninguno                               |
| 17  | No                      | +1                                    |
| 18  | No                      | +1                                    |
| 19  | No                      | +1                                    |
| 20  | No                      | Ninguno                               |

2. En otros dos pacientes trasplantados se presentó una NTA ligera, y los renogra- mas mostraban una curva de acumulación actividad/tiempo.
3. Los otros tres pacientes iniciaron su período postrasplante con una NTA grave, con una curva renográfica que sólo sobrepasa algunos centímetros la actividad de fondo.

En los dos pacientes que tuvieron diuresis inmediata el trasplante renal, se observa en los exámenes radioisotópicos seriados, un aplanamiento de la 3ra. fase de la curva con anterioridad a las manifestaciones clínicas de rechazo agudo.

Como se puede observar en las figuras 2 y 3, las curvas renográficas se rectifican y mejoran con el tratamiento esteroideo, aún antes que las cifras de azoados o el volumen urinario presagien una recuperación de la función renal.

Cuando la crisis de rechazo ocurre dentro de la etapa de NTA ligera, éste se expresa en el renograma por un aplanamiento de la segunda fase de la curva, mostrando, además, un incremento creciente de la actividad de incorporación del radiofármaco (figura 4).

En tres pacientes, con una NTA grave, se le injertó una crisis de rechazo agudo que provocó un empeoramiento evolutivo de la ya reducida fase de incorporación (figura 5).

#### DISCUSION

La técnica de coloración citológica de verde de metilo y pironina de Trevan y Sharook, tiene dificultades en su estandarización, pues necejeta de un personal técnico especializado, y aún así, sus resultados son en ocasiones erráticos.

En nuestro trabajo, hemos encontrado cifras superiores de linfocitos sensibilizados (hasta el 20%) en pacientes trasplantados sin rechazo, que las informadas en las series de *Hrushesky*<sup>8</sup> y *Firlit*<sup>9</sup>.

De los 5 pacientes que presentaron crisis de rechazo agudo, sólo a uno se le pudo realizar una vigilancia diaria de su sedimento urinario. A diferencia de lo señalado por *Firlit* y colaboradores, no hubo un incremento de linfocitos sensibilizados en la orina, previo a las manifestaciones clínicas de rechazo.

Sin embargo, durante la crisis aguda de rechazo todos los pacientes tuvieron el 50% o más de linfocitos pironina positivos en la orina.

El examen del sedimento urinario en busca de más del 50% de linfocitos sensibilizados en la orina, tiene un gran valor para el diagnóstico positivo de rechazo, cuando el cuadro clínico no es claro y se confunde con una infección o una obstrucción vascular o urológica.

Por otro lado, los estudios renográficos realizados en serie, cada 48-72 horas son de gran ayuda para el diagnóstico precoz de la crisis de rechazo. Si bien esta complicación inmunológica no tiene una configuración renográfica patognomónica, el aplanamiento de la fase de excreción (3ra. fase), cuando el renograma previo es normal o el empeoramiento de la fase secretora o de incorporación (2da. fase) cuando el paciente tiene una NTA, constituyen los signos renográficos más importantes.

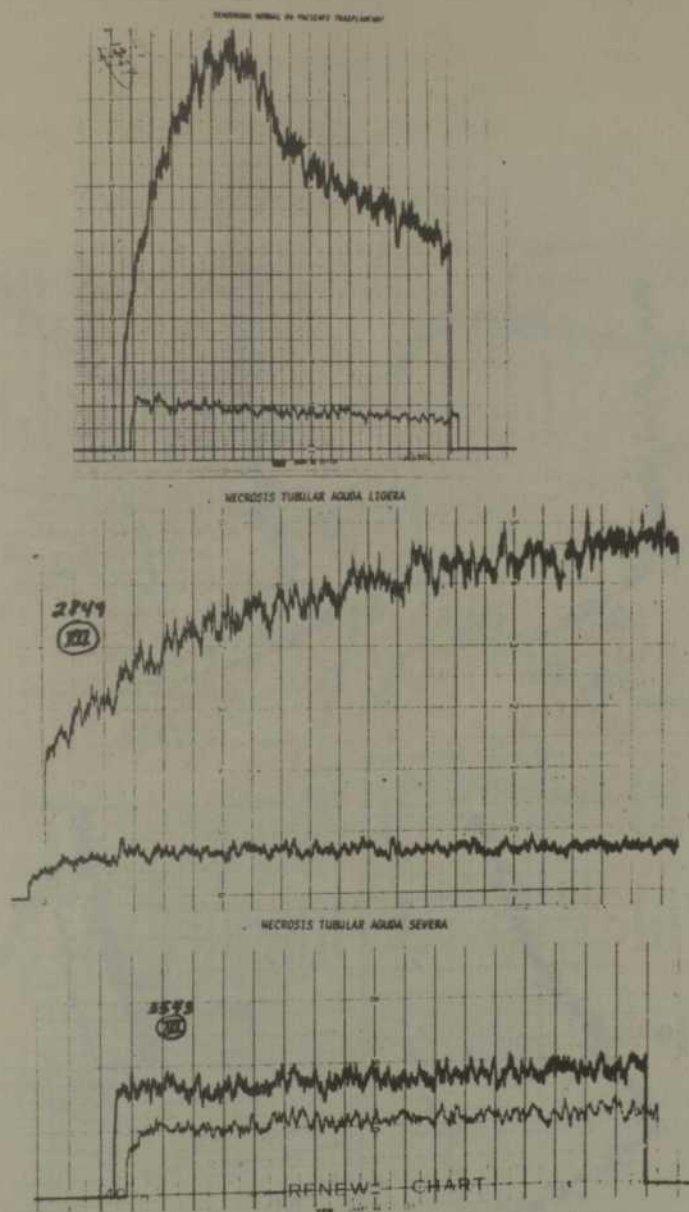


Figura 1.

- A. Curva renográfica normal, se observa la fase vascular, de secreción tubular y de excreción.
- B. Curva renográfica en una necrosis tubular aguda ligera. Se observa una curva de acumulación actividad/tiempo.
- C. Curva renográfica en una necrosis tubular aguda grave. Se observa que los pulsos eléctricos sólo sobrepasan algunos centímetros la altura de la curva de la actividad de fondo.

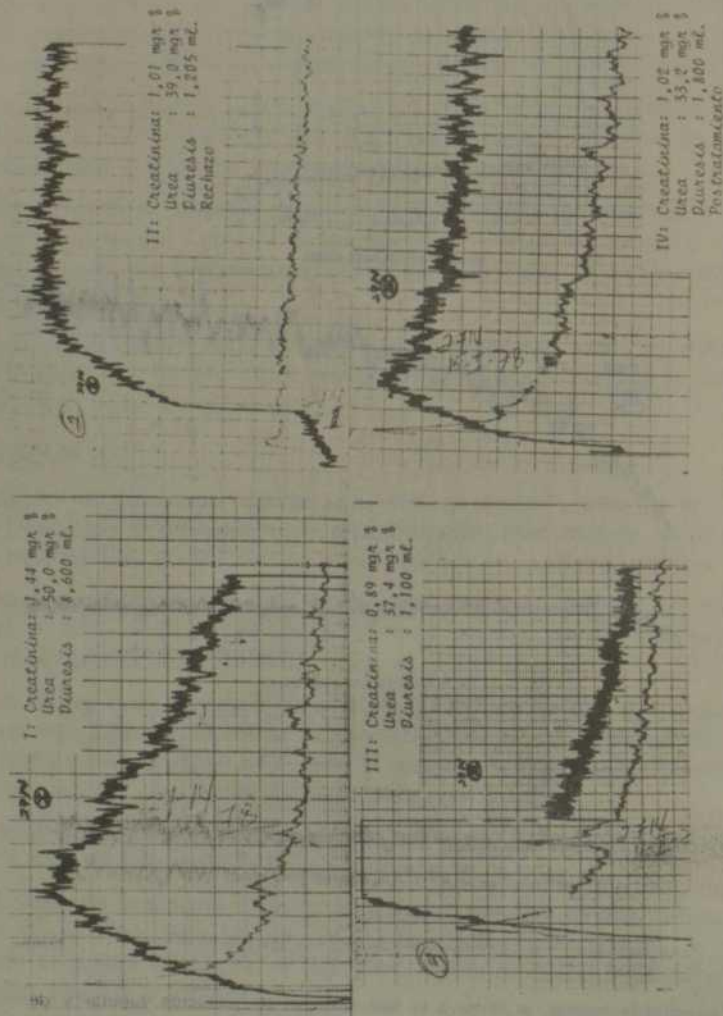


Figura 2.  
 Renogramas seriados.  
 Se observa cómo desaparece la fase de excreción en el segundo renograma, coincidiendo con la crisis de rechazo. No hubo modificaciones de las cifras de azoados en sangre. Después de tratado se normaliza la curva renográfica.



CASO # 3 - Función Renal Inmediata Crisis de Rechazo

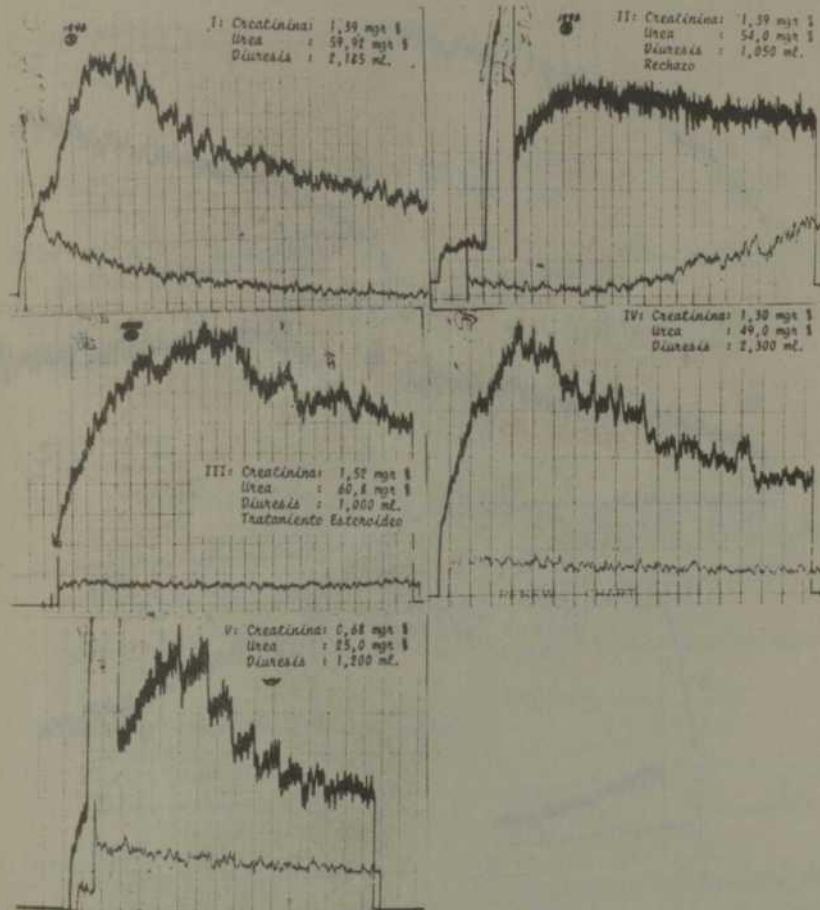


Figura 3.

Renogramas seriados.

En el segundo renograma, coincidiendo con la crisis de rechazo, se observa un aplana-  
 miento de la 3ra. fase de la curva. Después de tratado el renograma se normaliza antes  
 que la reducción de azoados en sangre.

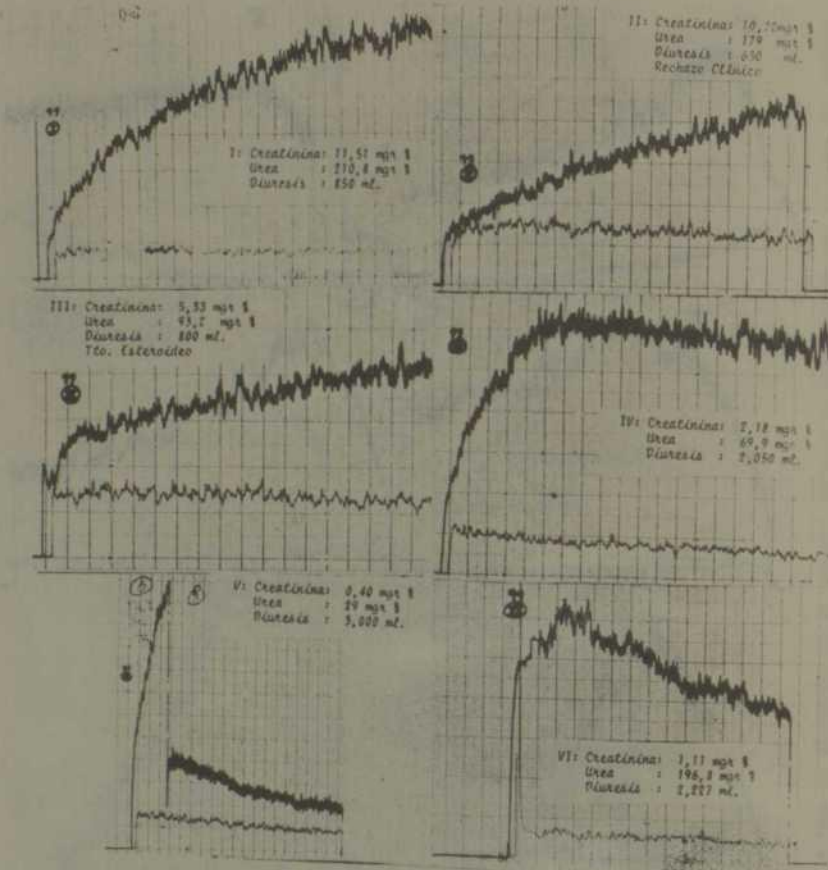


Figura 4.

Renogramas seriados.

En el segundo renograma se observa un deterioro de la fase de incorporación durante la crisis de rechazo en un paciente durante la fase de N.T.A. Después del tratamiento esteroideo logra alcanzar un renograma normal.

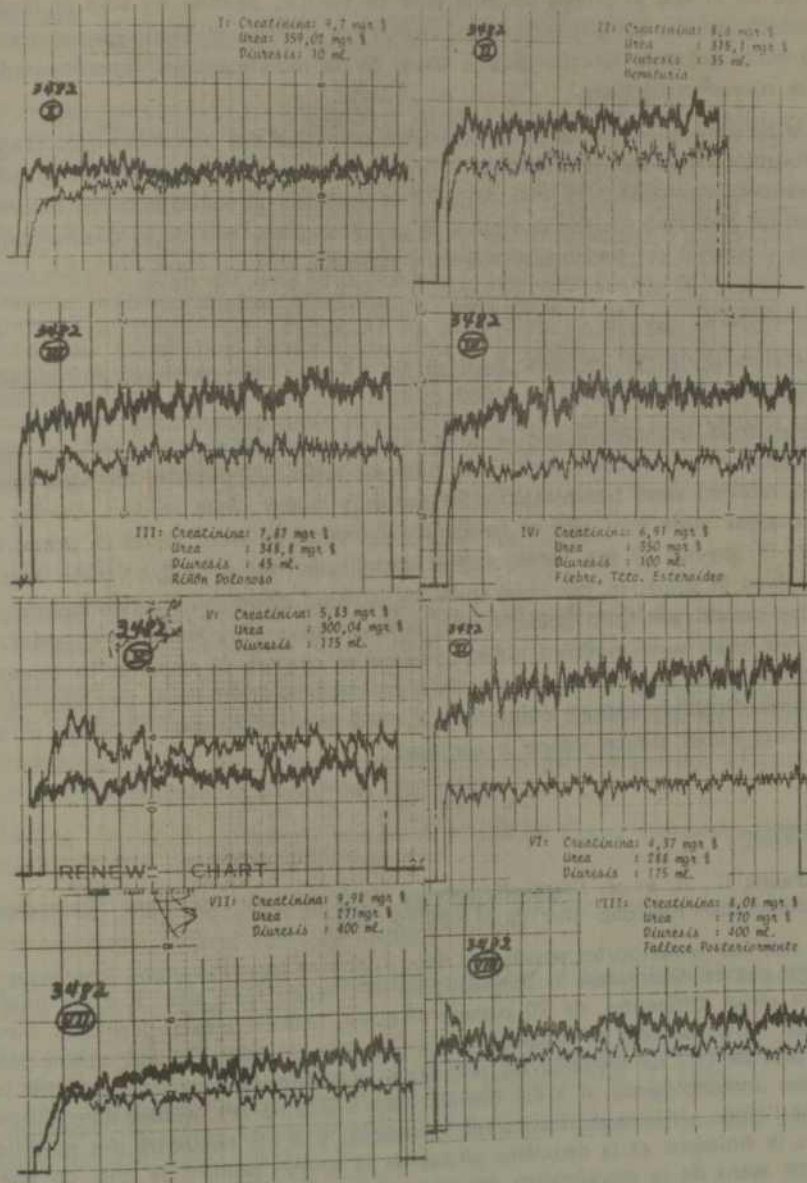


Figura 5.

Renogramas seriadados.

Con una necrosis tubular aguda grave desde el inicio, se observa un moderado incremento de la captación del radiofármaco por el riñón, hasta que una crisis de rechazo deterioró notablemente la incorporación del hippurato al tejido renal, perdiéndose el riñón por esta completa inmunológica.

Al igual que ocurre con el electrocardiograma, la realización de renogramas evolutivos, en el que el propio paciente sirve de control, permite no sólo el diagnóstico precoz de una complicación, sino analizar los cambios globales, que el tratamiento produce sobre la función renal a través de las modificaciones experimentadas por las curvas renográficas.

De la conjunción de los datos aportados por estos dos procedimientos diagnósticos, podemos decir que la disfunción renal detectada precozmente por los estudios renográficos, acompañada de más del 50% de linfocitos pironinofílicos en la orina, sustentan el diagnóstico de una crisis de rechazo agudo, cuando el cuadro clínico local y general del paciente se mantiene confuso.

#### SUMMARY

Mañalich C., R. et al. Early diagnosis for rejection crisis in renal allotransplantation. Rev Cub Med (Supl.) 21: 2, 1982.

Sensitized lymphocyte test in urine, and isotopic renogram are of great value to diagnose acute rejection crisis. Two different series, 20 patients for each one, who had received renal transplantation of cadaver's kidney, were studied. During rejection crisis more than 50% of sensitized lymphocytes were found in urine; however in absence of this immunological complication up to 20% of these cells were observed in urine. In the serial study by isotopic renography, modifications at the first, second and third phases during rejection crisis were found, even prior blood azoted levels were modified, suffering evolutive changes as response to treatment with steroids. It is concluded that by data obtained from these two diagnostic procedures, establishment of immunological crisis may be secured, moreover in those patients whose clinical course is confused.

#### RÉSUMÉ

Mañalich C., R. et al. Diagnostic précoce de la crise de rejet dans l'homotransplantation rénale. Rev Cub Med (Supl.) 21: 2, 1982.

Le test des lymphocytes sensibilisés dans l'urine et le rénogramme isotopique sont d'une grande valeur dans le diagnostic de la crise de rejet aigu. Il a été étudié deux séries différentes, de 20 patients chacune, lesquels avaient reçu une transplantation rénale de rein de cadavre. Pendant la crise de rejet il a été trouvé dans l'urine plus de 50% de lymphocytes sensibilisés; toutefois, en l'absence de cette complication immunologique, il a été observé jusqu'à 20% de ces cellules dans l'urine.

Dans l'étude sériée avec rénographie isotopique, il a été rencontré des modifications dans la troisième et la deuxième phases de la courbe pendant la crise de rejet, même avant de la modification des taux sanguins des éléments azotés, et il s'est produit des changements évolutifs comme réponse au traitement par stéroïdes. Il est conclu que d'après les données apportées par ces deux procédés diagnostiques, il est possible de prévoir l'installation d'une crise immunologique, notamment chez ces patients où le tableau clinique est douteux.

## PEBEME

\*\*a5anTftunafI flaarH03 Kpa3ica OTKasa nv no^tx -  
HBfl aJtlWpacnJWHTaiOUL. Rev Cub Med (SupU 21: 2, 1962.

Tgct pa33paxéHHKx JiBMrocaTOB b mc^o b aacToaH^eckKaa penorpa\*- ua HMoDT oojTBBoe  
3Ha^eH76 b MarHocTaxe Knasaca ootporo OTTB- aa. Ehih iccjteoBaHH ase paaarfflHe  
rpyrna'nauaeHtoB, cocroa - lías H3 20 qejioBeK Ka-Tjjajj, kotophm Casa ocyaeoTBJieHa peHajtisaa  
TpaHcmiaHTaíM uotob, B3H?of y Tgyna. 3 Te^enaa Kpa3^ca oTKa- 3a 5uxh otíHapuxeHH b Mo\*!©  
óojíée oO\* TyBCTBars.iiHicc juimpooitob; OOTaKO, npa oTcyTCTBaz stoto HMMYHOJiorHHackCro  
ocjioiHaHaa Hai JDcmajroct b MO'ie ao 20% arax KJieroK. Il pa oómeM aocueiaoBaHza o doomutm)  
23CTonH-qeoKoa psHopaMMH 5üeh oOHapuxeHH aaMQHaHaH b TpertaS a BTopoñ \$a3aí kpbboé  
bo bpsmh Kpa3aca OTKa3a, amé so Toro KaK I3M0HBJlICi> a30aa0BH3 ypeBHH B EDO BE, BH3UBciH  
3BCJDD - UHOHHie B3M0HOHHH KaK OTB8T8 Ha JloHoHKO nOCDofCTBOM CTepOBJIOB  
3aKJnmoTca. tto Ha ochobo .aamccc, noJiyqeHHx nna npajieHeHJU- 3TKT SPX OTarHocTa-qecKax  
nDoaejtyp, mozho oCecna-'iaTi BH3OB 2114 MyHOJioranackoro xpa3aca a occtfaHKO v T8X  
nauaaHtoB, y kotopKx KjniHE^ackafi KapnHa comhtajn>Ha.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Eduardo, A.; S. Delfin.* Principios de inmunosupresión clínica. Inmunología para Cirujanos. Surg Clin North Am 2: 1979.
2. *Anderson, E. et al.* Radioisotope renography and radiosциntillations scanning in the diagnosis of homograft rejection. Surg Gynecol Obstet 122: 1277, 1966.
3. *Branch, R.A.* The use of radioactive hippuran in the management of cadaveric renal transplants. Br J Radiol 44: 697, 1971.
4. *Collins, J.J. et al.* Functional evaluation of human kidney transplants with renograms. Ann Surg 161: 428, 1963.
5. *Awad, W. et al.* Detection of renal homograft rejection with a single dose of radiohippuran. J Urol 100: 233, 1969.
6. *Beackley, M.C. et al.* The angiographic evaluation of human renal allotransplants. Arch Surg 111: 134, 1976.
7. *Dubousky, Eva V. et al.* Dynamic renal studies in the early post-transplant period. Dynamic studies with radioisotopes in medicine. Vol. 1, 1974.
8. *Hrushesky, W. et al.* Lymphocyturia in human renal allograft rejection. Arch Surg 105:424, Sept., 1972.
9. *Nieto, I.; R. Mañalich.* Valor de la renografía iterada en el post-trasplante inmediato. Trabajo para optar por el título de Especialista de Primer Grado en Nefrología. Abril, 1979.
10. *Firlit, Casimir F. et al.* Early prediction of acute homograft rejection: urinary assay for polyribosomal-rich lymphocytes. J Urol 115:2, February 1976.

11. Laasonen, L. et al. Angiography and isotope renography in acute rejection of renal transplants. Scand J Urol Nephrol 12:1, 1978.
12. C.C. Doberty et al Isotope renography and long-term follow-up of renal transplant patients.
13. Magnusson et al Radiorenography in clinical transplantation. Scand J Urol Nephrol 1:132, 1967.

Recibido: 13 de octubre de 1980. Aprobado:  
18 de enero de 1981.

Dr. Reymdo Mañalich  
Instituto de Nefrología  
Hospital "Joaquín Albarrán"  
Calle 26 y Boyeros  
Cerro.