

Determinación de autoanticuerpos y aloanticuerpos linfocitotóxicos en pacientes candidatos a trasplante renal

Luz Marina Restrepo, Beatriz Guzmán, Sara Claudia París, Martín Correa, Betty Angel, Luis Fernando García

Las pruebas cruzadas para detectar la presencia de anticuerpos linfocitotóxicos en el suero de candidatos a trasplante renal, son decisivas en el estudio pretrasplante. En el presente estudio se reportan los hallazgos en 97 pacientes con insuficiencia renal crónica, candidatos a trasplantes y 127 posibles donantes vivos relacionados. Las pruebas incluyeron la detección de anticuerpos antilinfocitos T y B separadamente a 4, 20 y 37°C contra linfocitos del posible donante y contra las células autólogas. Se incluyó además el tratamiento con ditiotreitil (DTT) para diferenciar entre los isotipos IgM e IgG. Los resultados muestran que 40.2% de los pacientes y 16.5% ($p \leq 0.04$) de los donantes clínicamente sanos tienen autoanticuerpos que pueden además reaccionar con células alogénicas. Los aloanticuerpos se detectaron en 38% de los pacientes. La mayoría de los autoanticuerpos estaban dirigidos contra los linfocitos B (71.7%) y correspondieron al isotipo IgM (66.7%), aunque también se detectaron tanto auto como aloanticuerpos IgG. No se detectó un efecto significativo de las transfusiones o embarazos previos en el desarrollo de autoanticuerpos ni de aloanticuerpos. De otro lado se observó una frecuencia significativamente mayor ($p=0.0009$) de donantes

intrafamiliares con autoanticuerpos positivos, en pacientes también positivos para autoanticuerpos que de receptores negativos para autoanticuerpos con donantes intrafamiliares positivos para los mismos. Los 22 pacientes con autoanticuerpos positivos que fueron trasplantados con riñones provenientes de sus donantes intrafamiliares o de cadáver, tenían sus injertos funcionantes hasta un año después. Los pacientes sin autoanticuerpos presentaron una menor sobrevida de sus injertos especialmente en el caso de los injertos de cadáver, de los cuales sólo sobrevivió la tercera parte después de un año. Los resultados hacen énfasis en la necesidad de realizar las pruebas cruzadas previas al trasplante en condiciones que permitan obtener la mayor información posible sobre los anticuerpos linfocitotóxicos presentes en el suero de los pacientes candidatos a trasplante renal.

INTRODUCCION

El éxito de un trasplante renal depende fundamentalmente de una buena histocompatibilidad entre el donante y el receptor, de una prueba cruzada de linfocitotoxicidad negativa entre el suero del receptor y los linfocitos del donador y de un tratamiento inmunosupresor adecuado (1).

Tradicionalmente se ha aceptado que la detección en el suero del receptor de anticuerpos citotóxicos contra las células del donador es una contraindicación para la realización del trasplante (2). Sin embargo, se ha encontrado que muchos de

Drs. Luz Marina Restrepo, Beatriz Guzman, Sara Claudia París, Martín Correa, Betty Angel, Luis Fernando García: Laboratorio Central de Investigaciones, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Solicitud de separatas al Dr. García.

los sueros de pacientes con reacciones positivas contra células de otros individuos presentan también reacciones positivas contra células autólogas (3-5). Mas aún, según algunos informes la presencia de estos autoanticuerpos linfocitotóxicos no se asocia con una disminución de la supervivencia de los injertos (6). Diferentes estudios sobre la naturaleza de estos autoanticuerpos sugieren que en una proporción importante se trata de anticuerpos del isotipo IgM, que reaccionan preferencialmente a bajas temperaturas (4°C) y principalmente contra linfocitos B (3, 4). La realización de las pruebas cruzadas de citotoxicidad con poblaciones de linfocitos T y B separadamente, a diferentes temperaturas y en presencia del agente reductor ditiotreitól (DTT) para diferenciar entre anticuerpos IgM, sensibles, e IgG, resistentes a la acción del DTT, permite en una forma simple y rápida definir, en la gran mayoría de los casos, si se trata de auto o aloanticuerpos y tomar una mejor decisión con respecto a la posibilidad de realizar el trasplante (7-11).

En el presente trabajo se analizan los resultados obtenidos en el estudio de pruebas cruzadas en candidatos a trasplante renal y en donantes vivos en el Grupo de Trasplantes de la Universidad de Antioquia y el Hospital San Vicente de Paúl efectuadas entre octubre de 1989 y octubre de 1990 utilizando las condiciones señaladas. Los resultados hacen énfasis en la necesidad de precisar la naturaleza de los anticuerpos responsables de las reacciones positivas en las pruebas cruzadas previas al trasplante renal.

MATERIAL Y METODOS

Sujetos Estudiados. Entre octubre de 1989 y octubre de 1990 se estudiaron los sueros de 97 pacientes en insuficiencia renal terminal, candidatos a trasplante renal en el Programa de Trasplantes de la Universidad de Antioquia y el Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Medellín, Colombia y de 127 individuos sanos, relacionados con los pacientes (padres, madres o hermanos), que se estudiaron como posibles donantes. Sus edades oscilaron entre 10 y 51 años y las de los donadores entre 20 y 39. De los pacientes 32

(33%) eran mujeres y 65 (67%) hombres. En los donantes la distribución fue de 67 (52.7%) mujeres y 60 (47.2%) hombres. Sesenta y dos por ciento de los pacientes había recibido al menos una transfusión. En el caso de los pacientes de sexo femenino 13 (40.6%) eran multiparas, 5 (15.6%) habían tenido un embarazo y las 14 restantes (43.7%) no habían tenido embarazos previos.

Tratamiento de los sueros. Los sueros fueron colocados en cajas de Terasaki (Nunc, Inc. Naperville, Il) con pozos previamente recubiertos con aceite cristal para evitar la evaporación. Se depositó 1µl de suero/pozo junto con un volumen igual de ditiotreitól (DTT) 0.01M (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo. USA) diluido en solución tampón salina de fosfatos (PBS) 0.15M, pH 7.2. Las cajas de Terasaki se incubaron 30 min/37°C inmediatamente antes de estudiarse.

Obtención de células. Veinte mililitros de sangre venosa heparinizada fueron centrifugados y la capa de blancos obtenida se diluyó en un volumen igual de PBS. Las células mononucleares obtenidas por centrifugación sobre Ficoll-Hypaque se resuspendieron en 0.5ml de medio RPMI-1640 (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo) suplementado con 5% de suero bovino fetal (Flow Labs, Inc., Mclean, Va) inactivado a 56°C/30min, 0.25 mM Hepes (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo) y 0.24 mM bicarbonato de sodio (Merck. Darmstadt. Alemania). El medio había sido previamente precalentado a 37°C. Las células se colocaron en una columna con nylon (Leukopac, Fenwall Lab, Il.) por 30min/37°C (12). Los linfocitos T fueron recuperados por lavado de la columna con 12 ml de medio completo a 37°C. Los linfocitos B, presentes en las células adherentes al nylon, fueron recuperados con 4mL de medio a 4°C y con presión sostenida sobre la columna.

Prueba de microlinfocitotoxicidad. Los linfocitos T o B fueron colocados en las cajas de Terasaki previamente preparadas con los sueros autólogos o alogénicos, tratados o no con DTT, a una concentración de 3×10^3 células por pozo. Se

incubaron a 4, 20 y 37°C por 30 minutos para los linfocitos T ó 60 minutos para los B. Posteriormente se agregaron 5µl/pozo de complemento de conejo adicionado de L-cisteína (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo) 0.002M para protegerlo del efecto reductor del DTT (13, 14). Las cajas se incubaron nuevamente a temperatura ambiente por 60 o 120 minutos para linfocitos T y B respectivamente. Para revelar la reacción se utilizó azul de tripano a una concentración final del 0.5% en solución tampón de barbital durante 10 minutos a temperatura ambiente. El exceso de colorante fue removido y la citotoxicidad se determinó según la siguiente escala:

(%) células muertas	Resultado
0-10%	1
>1≤20	2
>20≤40	4
>40≤60	6
>60≤100	8

Reacciones con valores de cuatro o más se consideraron como positivas.

Sobrevida del injerto. Se determinó el tiempo durante el cual el injerto estuvo funcionando. Se consideró la fecha de fallo cuando el paciente regresó a diálisis o la fecha de muerte en el caso de que el injerto estuviera todavía funcionando.

Análisis estadístico. El grado de significancia al comparar las frecuencias de positividad y negatividad para auto y aloanticuerpos en los diferentes grupos y variables, así como la supervivencia de injertos se analizó por medio del X² utilizando el programa Statgraphics (Stsc Inc. 1986). En algunos casos se calculó además el riesgo relativo (RR). La significancia para comparación de valores cuantitativos se hizo por el test t de Student.

RESULTADOS

Detección de autoanticuerpos antilinfocitos T y B. En los 97 candidatos a trasplante renal estudiados se detectaron autoanticuerpos (Tabla 1) en 39 (40.2%). En el caso de los 127 donantes, se lograron detectar en 21 (16.5%) (p<0.04). La mayoría de las reacciones positivas se encontraron contra los linfocitos B solamente, pues 25 de los 39 (64.1%) pacientes positivos y 18 de los 21 (85.7%) individuos sanos con autoanticuerpos exhibieron este tipo de reactividad. En los demás estudios positivos para autoanticuerpos se encontró reactividad contra las dos poblaciones celulares. Las reacciones debidas a IgM, DTT-sensible, se presentaron en 24 pacientes (61.5%) y en 16 (76.2%) de los donantes positivos. Sólo un donante presentó simultáneamente anticuerpos IgM contra los linfocitos T e IgG contra los B. Los autoanticuerpos DTT- resistentes, de la clase IgG, se presentaron en 15 (38.5%) candidatos a tras-

Tabla 1. Autoanticuerpos antilinfocíticos en pacientes candidatos a trasplante renal y donantes sanos.

T Autólogos			B Autólogos			Reacciones positivas				
No DTT	DTT	Ig	No DTT	DTT	Ig	Pacientes		Donantes		
Neg	Neg	-	Pos	Neg	M	13	33.3	14	66.7*	
Neg	Neg	-	Pos	Pos	G	12	30.8	4	19.0	
Pos	Neg	M	Pos	Neg	M	11	28.2	2	9.5	
Pos	Neg	M	Pos	Pos	G	0	0	1	4.8	
Pos	Pos	G	Pos	Pos	G	3	7.6	0	0	
						SUD-TOTAL	39	40.2**	21	16.5**
Neg	Neg		Neg	Neg		58	59.8**	106	83.5**	

* Porcentaje del total de reacciones positivas en pacientes o donantes.
 ** Porcentaje del total de pacientes o donantes estudiados.

plante con auto anticuerpos y cuatro (19.0%) donantes positivos. En los sujetos con reactividad para linfocitos T y linfocitos B conjuntamente, 11 pacientes y dos donantes tenían anticuerpos IgM y tres pacientes autoanticuerpos IgG.

Un hallazgo importante fue la presencia simultánea de autoanticuerpos positivos en los pacientes y sus respectivos donantes intrafamiliares (Tabla 2). Se observó un número significativamente mayor ($p=0.00009$) de pacientes con autoanticuerpos positivos y donantes intrafamiliares también positivos, que de pacientes negativos con donantes intrafamiliares positivos. En los pacientes, 11 (42.3%) de un total de 26 con autoanticuerpos positivos tenían a su vez donantes intrafamiliares con autoanticuerpos positivos, mientras que sólo tres (5.9%) pacientes de los 51 con autoanticuerpos negativos tenían donante intrafamiliar con autoanticuerpos positivos ($RR=11.7$).

Detección de anticuerpos antilinfocitos T y B alogénicos. La presencia de anticuerpos que reaccionan con linfocitos alogénicos se estudió en 84 de los 97 candidatos a trasplante renal (Tabla 3). En este grupo se encontraron reacciones positivas en 32. (38%). Los anticueipos contra células B solamente fueron los más frecuentes. De estos 37.5% correspondió a IgM y 18.8% a IgG. Las reacciones positivas contra linfocitos T alogénicos se observaron siempre acompañadas de reacciones contra los linfocitos B y correspondieron en nue-

Tabla 2. Relación entre la presencia de autoanticuerpos linfocitotóxicos en candidatos a trasplante renal y sus donantes vivos relacionados.

Receptores	Autoanticuerpos donantes		
	+	-	Total
+	11	15	26
-	3	48	51
Total	14	63	77
$X^2=15.35$; $p=0.00009$; $RR=11.7$.			

ve pacientes a anticuerpos IgM, DTT-sensibles y en cinco a IgG, DTT-resistentes.

Patrones de reactividad en sueros de candidatos a trasplante renal. En los sueros de pacientes con insuficiencia renal analizados en el presente estudio se discriminaron 14 patrones diferentes de reactividad contra los linfocitos T y B propios o de sus donantes (Tabla 4). En 58.3% de los casos no se detectaron anticuerpos contra linfocitos autólogos ni alogénicos. Los otros 35 (41.6%) sueros presentaron una amplia gama de reacciones positivas. En ocho (9.5%) pacientes se encontraron tanto autoanticuerpos como aloanticuerpos positivos, tipo IgM, contra linfocitos B. Un número igual de pacientes mostró adicionalmente auto y alorreactividad del mismo tipo contra los linfocitos T. Se detectó auto y aloanticuerpos contra linfocitos B tipo IgG en cinco pacientes. Igualmente, IgG DTT-resistente contra linfocitos B autólogos y aloanticuerpos tipo IgM

Tabla 3. Aloanticuerpos en pacientes candidatos a trasplante renal y donantes sanos.

T alogénicos			B alogénicos			Reacciones positivas	
No DTT	DTT	Ig	No DTT	DTT	Ig	Pacientes	(%)
Neg	Neg	-	Pos	Neg	M	12	37.5*
Pos	Neg	M	Pos	Neg	M	9	28.1
Neg	Neg	-	Pos	Pos	G	6	18.8
Pos	Pos	G	Pos	Pos	G	5	15.6
Neg	Neg		Neg	Neg		52	53.6**
No determinados: 13							
* Porcentaje del total de reacciones positivas.							
** Porcentaje del total de pacientes estudiados.							

Tabla 4. Patrones de auto y aloinfocitotoxicidad en pacientes candidatos a trasplante renal.

Auto T		Auto B		Alo T		Alo B		Ig	Total	(%)
DTT		DTT		DTT		DTT				
Si	No	Si	No	Si	No	Si	No			
-	-	-	-	-	-	-	-	-	49	58.3
-	-	+	-	-	-	+	-	M	8	9.5
+	-	+	-	+	-	+	-	M	8	9.5
-	-	+	+	-	-	+	+	G	5	6.0
-	-	+	+	-	-	+	-	G-M	3	3.6
-	-	+	-	-	-	-	-	M	2	2.3
+	+	+	+	+	+	+	+	G	2	2.3
-	-	+	-	-	-	+	+	M-G	1	1.2
-	-	+	+	-	-	-	-	G	1	1.2
-	-	-	-	+	+	+	+	G	1	1.2
-	-	+	+	+	-	+	-	G-M	1	1.2
+	-	+	-	+	+	+	+	M-G	1	1.2
+	-	+	-	-	-	+	-	M	1	1.2
-	-	+	-	+	+	+	+	M-G	1	1.2
Aloanticuerpos no determinados									10	3
TOTAL									65	32

contra células B en tres pacientes. Presencia simultánea de autoanticuerpos y de aloanticuerpos contra linfocitos T y B del tipo IgG se encontró solamente en dos pacientes. En ningún paciente se encontró reacción positiva exclusivamente contra los linfocitos T ni autólogos ni alogénicos. Los demás pacientes presentaron patrones diferentes individuales de reacciones autólogas o alogénicas contra una o ambas poblaciones de linfocitos.

Efecto de las transfusiones previas. Con respecto al antecedente de transfusiones previas y la presencia de autoanticuerpos no se encontró ninguna diferencia en la proporción de pacientes con autoanticuerpos positivos y negativos entre los pacientes que habían sido o no transfundidos. En los pacientes en los que se encontraron aloanticuerpos positivos 12 (85.7%) habían recibido por lo menos una transfusión y sólo dos no habían recibido ninguna, mientras que en los pacientes negativos para aloanticuerpos 41 (60.3%) habían sido transfundidos y 27 no tenían este antecedente (RR=3.95, p=0.07).

Efecto de los embarazos previos. El promedio de embarazos de las pacientes con aloanticuerpos positivos y negativos no fue significativamente diferente, pues se encontraron 2.3+1.6 y 1.24+1.7 respectivamente. El antecedente de embarazo no tuvo ninguna relación con la presencia de autoanticuerpos (datos no mostrados).

Efecto de los autoanticuerpos en la sobrevida del injerto renal. Al momento de redactar este informe (agosto de 1991) se han trasplantado 62 pacientes, de los cuales 40 eran negativos para autoanticuerpos y 22 positivos para los mismos (Tabla 5). Del grupo de pacientes con autoanticuerpos positivos se trasplantaron 15 con donante relacionado y siete con donante no relacionado. Es importante recalcar que todos los pacientes (100%) continúan con sus injertos funcionantes hasta un año después del trasplante. En el grupo sin autoanticuerpos se trasplantaron 26 con donante relacionado y se observó una sobrevida entre 96 y 92% después de uno a 12 meses de trasplantados. Los 14 restantes fueron trasplantados con donante no relacionado y la

Tabla 5. Efecto de la presencia de autoanticuerpos linfocitotóxicos en la sobrevida de injertos renales.

Auto Ac receptor	Donante	Meses postrasplante				
		1	3	6	9	12
Positivos	Vivo relac.	15/15	15/15	13/13	12/12	8/8*
	No relac.	7/7	7/7	7/7	4/4	2/2
Negativos	Vivo relac.	25/2	24/25	21/22	16/14	11/13**
	No relac.	11/14	9/12	6/10	4/6	2/6**

* Injertos funcionantes/total de injertos.
 ** $p < 0.05$ a partir del tercer mes entre los injertos con donante vivo relacionado y no relacionado en el grupo de pacientes sin autoanticuerpos.

sobrevida observada estuvo entre 79 y 33% ($p=0.05$).

DISCUSION

Los resultados presentados en este estudio muestran la complejidad de las pruebas cruzadas en los pacientes pretrasplante. De los pacientes que se estudiaron como candidatos a un trasplante renal 41.6% exhibieron reacciones positivas en las pruebas de citotoxicidad con los linfocitos de sus donantes. De acuerdo con el concepto clásico que prevaleció hasta principios de la década pasada estos pacientes no podrían trasplantarse con el donante con el cual presentaron estas reacciones. Sin embargo, el hecho de que 40.2% de los pacientes presentara reacciones positivas contra sus propios linfocitos sugiere que las reacciones positivas contra las células de sus donantes pueden deberse, en algunos casos, a los autoanticuerpos que reconocen antígenos presentes no sólo en las células autólogas sino también en las de sus posibles donantes (I-6, 11).

Es interesante anotar que 16.5% de los donantes clínicamente sanos presentaron también autoanticuerpos antilinfocíticos. Es un hecho aceptado que la presencia de autoanticuerpos no implica la existencia de una enfermedad autoinmune. En ancianos, aunque no es el caso en nuestro estudio, se presenta una mayor frecuencia de fenómenos autoinmunes no asociados a enfermedad (15). Igualmente factores genéticos influyen en la presencia de estos fenómenos, lo cual explica nuestro hallazgo de un riesgo significativamente mayor de encontrar donantes positivos en las fa-

milias de los enfermos con autoanticuerpos, comparativamente con los de los pacientes negativos.

Los autoanticuerpos detectados estaban dirigidos principalmente contra los linfocitos B o contra las dos poblaciones conjuntamente pero no se encontraron autoanticuerpos dirigidos sólo contra los linfocitos T. La mayor frecuencia de autoanticuerpos anti-B está de acuerdo con otros autores (1, 16) y ha llevado a sugerir que algunos de estos autoanticuerpos pudieran estar dirigidos contra las inmunoglobulinas presentes en la superficie de estas células. Sin embargo, la presencia de autoanticuerpos contra los linfocitos T y B conjuntamente, en una tercera parte de los pacientes sugiere, que deben existir otros antígenos comunes para linfocitos T y B que pueden inducir la producción de estos autoanticuerpos.

Otro hallazgo interesante en nuestro estudio es la alta frecuencia de autoanticuerpos de tipo IgG. Tradicionalmente se ha aceptado que la gran mayoría de los autoanticuerpos antilinfocíticos corresponden a la clase IgM, mientras que los aloanticuerpos son IgG (1, 4, 18, 19). En nuestro estudio 38.4% de los sueros de pacientes reaccionaron con células autólogas independientemente de la presencia de DTT, indicando que se trataba de IgG; y en el caso de un individuo sano se encontró que su suero tenía anticuerpos anti-T IgM, sensibles al DTT y anti-B de tipo IgG, resistentes al mismo agente. Igualmente en el caso de los aloanticuerpos se encontró que alrededor de una cuarta parte de los pacientes poseían aloanticuerpos IgM y que la mayoría de los anticuerpos

independientemente del isotipo reaccionaban exclusivamente con linfocitos B, sugiriendo que se trata de anticuerpos contra los antígenos HLA clase dos, los cuales no siempre desencadenan reacciones de rechazo hiperagudo, aunque el pronóstico no es tan bueno como en los pacientes totalmente negativos (20). En nuestro grupo, hemos mantenido la política de preferir, en el caso de los donantes cadavéricos, los receptores que son completamente negativos para aloanticuerpos, pero en caso de no existir ninguno, o de pacientes con prioridad médica de trasplante, se autorizan trasplantes en los cuales las pruebas cruzadas muestran reacciones positivas contra linfocitos B alogénicas debidas a IgM y detectadas a 4°C. En los trasplantes con donante vivo relacionado asumimos una actitud más conservadora e insistimos en hacer el injerto con pruebas cruzadas completamente negativas para aloanticuerpos. Estos anticuerpos son frecuentemente enmascarados por los autoanticuerpos lo cual refuerza la idea de que el estudio de las reacciones cruzadas pretrasplante debe ser realizado en diferentes circunstancias y con múltiples controles para evitar informaciones confusas. Aunque el DTT brinda una información valiosa que facilita en muchos casos la decisión sobre un trasplante al definir que un anticuerpo corresponde a la IgM, éste debe siempre complementarse con un estudio de autoanticuerpos que demuestre que además de la reactividad con las células del posible donador también hay reacción positiva con las células autólogas.

Igualmente fue notorio el hallazgo de que cerca de la tercera parte de los pacientes presentaron autoanticuerpos IgG. DTT resistentes, detectables sólo cuando se realizó el estudio con las células autólogas. Este tipo de autoanticuerpos no contraindicarían el injerto. Se han propuesto otras pruebas complementarias en la definición de auto y aloanticuerpos en las reacciones positivas de linfocitotoxicidad como son: la reactividad contra células de leucemia linfóide crónica (negativa para los autoanticuerpos) (1, 20), o con células de la línea K-562 (21), o absorción con plaquetas o con células autólogas. Sin embargo, creemos que el estudio de la reactividad contra linfocitos T y B

con células del donante a diferentes temperaturas, como se realiza rutinariamente, debe complementarse con el estudio de la reactividad contra las células autólogas y con la adición de DTT. Estas modificaciones no aumentan considerablemente la complejidad de la prueba ni sus costos y sí brindan una información valiosa que permite que el número de individuos clasificados como "altos reactivos", que se acumulan en los programas de diálisis por considerarse intrasplantables, se reduzca al demostrarse que muchos de ellos tienen autoanticuerpos y no aloanticuerpos y, lo que es más interesante, que un número importante de ellos puede trasplantarse exitosamente.

Con respecto a este último punto, la sobrevivencia de los injertos, nuestros resultados son bastante relevantes, aunque el número de injertos realizados no permita todavía un análisis estadístico riguroso. Llama la atención que todos los injertos realizados en individuos con autoanticuerpos linfocitotóxicos tengan sus injertos funcionantes hasta después de un año del trasplante independientemente del origen del injerto, de donador vivo relacionado o de cadáver. En contraste, en los pacientes sin autoanticuerpos la sobrevivencia de los injertos fue inferior especialmente en los que recibieron injertos de cadáver de los cuales sólo la tercera parte estaba funcionando un año después del trasplante. Resultados similares han sido previamente reportados por otros autores e indican que la presencia de autoanticuerpos pudiera ejercer un efecto supresor sobre las células del receptor, lo cual favorecería la sobrevivencia del injerto. Este hallazgo resalta aún más la importancia de estudiar la presencia de autoanticuerpos en los posibles receptores de un injerto renal pues no sólo ayudaría a aclarar si se hace o no el injerto sino que además tendría un valor pronóstico.

SUMMARY

The crossmatch for the detection of lymphocytotoxic antibodies is a very important requirement in the study of candidates to kidney transplantation. Herein, we report the findings in 97 patients with chronic renal failure and 127 prospective living related donors. The

crossmatches included the study of anti-T and anti-B antibodies at 4, 40 and 37°C against donor cells as well as autologous lymphocytes. Furthermore, the sera were treated with dithiotreitol (DTT) to differentiate between IgM, DTT sensitive, and IgG, DTT resistant. The results show that 40.2% of the patients and 16.5% ($P < 0.04$) of their healthy donors had auto-antibodies. Alloantibodies were detected in 38% of the patients. Most of the sera reacted with B lymphocytes (71.7%) and were defined as IgM (66.7%), although there were also auto and alloantibodies of the IgG class. There was not a significant effect of neither previous transfusions nor pregnancies in the presence of auto or alloantibodies. Patients with autoantibodies had a significantly higher frequency of living related donors with autoantibodies as compared with negative patients ($p < 0.00009$). Twenty two patients with autoantibodies, that have been transplanted with kidneys from either living related or cadaveric donors, had their grafts functioning up to one year after transplantation. Patients without autoantibodies had good survival rates when transplanted with kidneys from living related donors but only one third had their cadaveric grafts functioning after one year of transplantation. The results emphasize the importance of a complete evaluation of the lymphocytotoxic antibodies present in the sera of candidates to kidney transplantation.

AGRADECIMIENTOS

A los pacientes y sus donantes. Al personal de la Unidad Renal del Hospital Universitario San Vicente de Paúl por su constante colaboración.

REFERENCIAS

1. Braun W. Laboratory and clinical management of the highly sensitized organ transplant recipient. *Human Immunol* 1989; **26**: 245-260.
2. Ting A. The lymphocytotoxic antibodies in sensitized patients awaiting renal transplantation. *Transplantation* 1983; **35**: 403-407.
3. López O, Cavalli N, Raimondi E, Verruno L, Gottlieb D. False positive crossmatch owing to autoantibodies induced by donor-specific transfusions with out development of alloantibodies. *Transpl Proc* 1989; **21**:768-770.
4. Lerino F, Miach P. Lymphocytotoxic antibodies in sensitized patients awaiting renal transplantation. *Transpl Proc* 1989; **21**: 3777-3778.
5. Ettenger R, Jordan S, Fine R. Autolymphocytotoxic antibodies in patients in dialysis awaiting renal transplantation. *Transplantation* 1981; **32**:248-251.
6. Ettenger R, Jordan S, Fine R. Cadaver renal transplantation outcome in recipients with autolymphocytotoxic antibodies. *Transplantation* 1983; **35**: 429-431.
7. Shroyer T, Diethelm A, Dierhol M, Barber W, Barger B. Lymphocytic IgM antibody in highly sensitized (>50% PRA) autologous negative renal allograft candidates. *Transpl Proc* 1989; **21**: 739-741.
8. Spees E, McCalmon R. Successful kidney transplantation with a positive IgM crossmatch. *Transpl Proc* 1990; **22**: 1887-1888.
9. Mickey MR, Lau M, Carnahan B, Cho Y. Improved crossmatch prediction with DTT-treated sera. *Transp Proc* 1989; **21**: 722-723.
10. Urlacher A, Pasquali J, Tongio M. IgM with antiidiotypic activity against anti-HLA antibodies detected in Dithiothreitol-treated sera. *Transp Proc* 1990; **22**: 1982.
11. Tellis V, Matas A, Senitzer D, Glicklich D, Soberman R, Veith F. Successful transplantation after conversion of a positive crossmatch to negative by dissociation of IgM antibody. *Transplantation* 1989; **47**:127-129.
12. Danilovs J, Ayoub G, Terasaki PI. B Lymphocyte isolation by thrombin-nylon wool. En: Terasaki PI. ed. *Histocompatibility Testing 1980*, UCLA Tissue Typing Lab., Los Angeles, 287-288.
13. Rudy T, Opelz G. Dithiothreitol treatment of crossmatch sera in highly immunized transplant recipients. *Transpl Proc* 1987; **21**: 800-802.
14. Louis P, Senitzer D, Tellis V, Matas A. Successful transplantation after conversion of a positive crossmatch to negative by dissociation of IgM antibody. *Transp* 1989; **21**: 764-765.
15. Blandford G, Zeitz JH, Samter M. Immunology in old age. En: Samter M, Talmadge D, Frank M, Austen K, Claman H. eds. *Immunological Diseases*. Little Brown and Co., Boston, Bourth Ed. 1978 Vol II p 2035-2043.
16. Terness P, Berteli AJ, Steinitz M, Mytilineos J, Opelz G. IgM anti-IgG antibody as a cause of positive B cell crossmatches. *Transp Proc* 1990; **22**: 1885-1886.
17. Opelz G. Relevance of "Remote positive" crossmatches and positive B cell crossmatches in renal transplantation. *Transp Proc* 1990; **22**: 1878-1880.
18. Nicholis C, Russ G. Comparison of Dithiothreitol (DTT) treatment and absorption using autologous EBV-transformed lymphoblastoid cell lines for the depletion of autoreactive antibodies. *Transp Proc* 1989; **21**: 774-776.
19. Raffoux C, Sabah C, Hors J, Busson M, Ozdemir E, Colombani J. Improvement of crossmatch using Dithiothreitol Before kidney transplantation. *Transpl Proc* 1990; **22**: 1989.
20. Ting A. Positive crossmatches when is it safe to transplant. *Transpl Int* 1989; **2**: 2-7.
21. Dierhoi T, Ting A, Morris P. Reactivity of lymphocyte cytotoxic autoantibodies from renal patients with cell line K562. *Transplantation* 1984; **38**: 557-558.