

Tromboxano B₂ urinario y trasplante renal: Importancia de un valor elevado en ausencia de otros signos y síntomas de rechazo.

J. González Revaldería, J.L. Teruel Briones, J.J. Villafruela Sanz, J. Sabater Lorenzo, J. Ortuño Mirete.

En la búsqueda de un marcador precoz y fiable de rechazo en trasplante renal se ha estudiado la utilidad de una determinación aislada de tromboxano B₂ (TxB₂) en orina.

Se estudiaron 45 enfermos en 49 situaciones clínicas diferentes, considerándose todas las determinaciones en los que evolucionaron sin rechazo y las de los 3 días previos al diagnóstico clínico en los que sí lo presentaron. Los enfermos fueron sometidos a inmunosupresión convencional con azatioprina y prednisona. Se recogieron orinas de 24 horas diariamente sobre indometicina 0,05 mmol/L, determinándose las concentraciones de TxB₂ mediante radioinmunoanálisis (New England Nuclear) tras extracción orgánica.

En ausencia de signos o síntomas de rechazo agudo, la concentración de TxB₂ en orina posee un valor predictivo positivo de 0,88, similar al del cociente urinario [TxB₂]/[creatinina], independientemente de la presencia o ausencia de necrosis tubular aguda (NTA). Las mayores dificultades diagnósticas se dan en el caso de injerto previamente no funcionando por NTA. En este grupo es donde mayor utilidad presenta la concentración de TxB₂ en orina con una sensibilidad diagnóstica de 1,00 y de 0,89 para el cociente [TxB₂]/[creatinina].

In the search for a simple rejection marker, the usefulness of an isolated determination of thromboxane B₂ (TxB₂) has been studied. The study was made over 45 patients in 49 clinical situations. When patients have not rejection all the determinations were considered, and only the 3 previous to diagnosis when they suffered rejection. Immunosuppressive therapy consisted of azathioprine and prednisone.

Twenty four hours urines were collected daily in indomethacin 0,05 mmol/L and TxB₂ concentrations were determined by radioimmunoassay (New England Nuclear) after organic extraction.

In absence of rejection, urine TxB₂ concentration has a positive predictive value of 0,88, similar to the urinary [TxB₂]/[creatinine] ratio. It is independent of the presence/absence of acute tubular necrosis (ATN). Greatest diagnostic difficulties are in grafts previously nonfunctioning by ATN. In this group is where urine TxB₂ concentration has the principal utility showing a diagnostic sensibility of 1,00 and 0,89 for [TxB₂]/[creatinine].

Introducción

Las principales dificultades que existen en el manejo clínico del enfermo con trasplante renal son consecuencia de la falta de un marcador fiable de la crisis de re-

Tabla I
Especificidad diagnóstica del TxB₂ urinario en el diagnóstico de rechazo

	<i>Falsos Positivos</i>		<i>Especificidad Diagnóstica</i>	
	<i>TxB₂</i>	<i>TxB₂/Creatinina</i>	<i>TxB₂</i>	<i>TxB₂/Creatinina</i>
Grupo I (n = 10)	2	3	0,80	0,70
Grupo II (n = 5)	1	2	0,80	0,60
Grupo I + II (n = 15)	3	5	0,80	0,67

Grupo I: Enfermos sin rechazo sin NTA.

Grupo II: Enfermos sin rechazo con NTA.

Se han considerado como falsos positivos aquellos enfermos que han tenido al menos una determinación elevada a lo largo de la evolución.

TxB₂: Concentración urinaria de TxB₂

TxB₂/Creatinina: Cociente entre las concentraciones urinarias de TxB₂ y creatinina.

chazo. El diagnóstico de rechazo agudo se basa en la valoración juiciosa de una serie de datos clínicos, analíticos, radiológicos, ecosonográficos, isotópicos e histológicos. En muchas ocasiones este diagnóstico conlleva un alto grado de incertidumbre y se realiza mediante la exclusión de otras posibilidades clínicas.

En 1981, Foegh y cols. (1) observaron un aumento de la eliminación urinaria de tromboxano B₂ (TxB₂) durante las crisis de rechazo agudo, que se atribuye a la activación dentro del injerto de linfocitos, plaquetas y monocitos.

En estudios realizados en nuestro grupo hemos podido comprobar que el TxB₂ en orina puede estar aumentado durante las primeras 48 horas de evolución del trasplante renal en relación con el acto quirúrgico. Más allá de este período, tanto la elevación de la concentración urinaria de TxB₂ como del cociente [TxB₂]/[creatinina] en orina son buenas magnitudes para el diagnóstico de rechazo agudo. En estudios longitudinales en el mismo enfermo hemos observado que el aumento en la excreción urinaria de TxB₂ puede preceder en 3 días al resto de signos, síntomas y estudios complementarios que configuran el diagnóstico de rechazo agudo (2).

En el presente estudio se pretende averiguar qué valor predictivo para el diagnóstico de rechazo posee una determinación elevada de TxB₂ urinario en un enfermo sin síntomas ni signos de rechazo agudo.

Material y métodos

Se estudiaron 45 enfermos trasplantados, 34 hombres y 11 mujeres, 43 de cadáver y 2 de donante vivo, con edades comprendidas entre 14 y 56 años (35,8 ± 9,9; $\bar{x} \pm s$). El período evolutivo estudiado comprende desde el día del trasplante hasta el alta del hospital, nefrectomía o fallecimiento, con una media de 21,7 días y un intervalo de 3-65 días.

En todos los casos se empleó inmunosupresión convencional con azatioprina y prednisona según pauta previamente descrita (3). El diagnóstico de rechazo agudo fue realizado de forma independiente por dos de los autores (J.L.T.B. y J.O.M.). Se basó en el análisis retrospectivo de datos clínicos (síntomas, temperatura, masa cor-

poral, tensión arterial y diuresis), analíticos (concentraciones de urea, creatinina e ion sodio en sangre y orina), estudios isotópicos y ecosonográficos. Se descartaron todos los casos dudosos.

Quince de los enfermos no presentaron ninguna crisis de rechazo durante el período estudiado; 5 de ellos tuvieron NTA postrasplante y el resto, función renal normal desde el inicio. Por otra parte, 30 enfermos presentaron alguna crisis de rechazo; 21 de ellos con función normal del injerto previamente a la aparición del proceso de rechazo sufrieron un total de 25 episodios de rechazo agudo; en los 9 casos restantes la crisis de rechazo incidió sobre un injerto en fase de NTA.

Para valorar la sensibilidad y especificidad diagnósticas se han descartado las muestras pertenecientes a los dos primeros días postrasplante. En enfermos sin rechazo agudo se han valorado todas las determinaciones sucesivas realizadas a lo largo de la evolución. En los enfermos con rechazo agudo, sólo se han tenido en cuenta las muestras de orina pertenecientes a los 3 días previos al inicio de los síntomas o signos del rechazo. Es decir, eran enfermos que en ese momento estaban asintomáticos.

Las orinas se recogieron durante períodos de 24 horas a partir del trasplante sobre indometacina 0,05 milimoles por litro (Sigma, St. Louis, USA) para inhibir la posible generación de TxB₂ por parte de células o fragmentos celulares que pueden pasar a la orina.

Tras ello, se centrifugaron alícuotas de 10 mL a 1000 × g y 4°C y se almacenaron las muestras a -80°C hasta su procesamiento.

Las muestras de orina se acidificaron a pH 3,5 con ácido fórmico 2 mol/L y se extrajeron con un volumen doble de cloroformo; se evaporó la fase orgánica con corriente de N₂ a temperatura ambiente y se reconstituyó el extracto en tampón fosfato 50 mmol/L, pH 7,3. Éstos se analizaron por duplicado mediante radioinmunoanálisis utilizando los componentes de un equipo comercial (New England Nuclear NEK 007, Drieich, WG). La mezcla de antígenos y anticuerpo se incubó durante 18 horas a 4°C y, posteriormente, se separaron los antígenos libres de la mezcla de reacción mediante la adición de una suspensión de carbón y dextrano seguida de centrifugación a 4°C.

Tabla II
Sensibilidad diagnóstica del TxB_2 en el diagnóstico de rechazo

		Casos Positivos		Sensibilidad Diagnóstica	
		TxB_2	TxB_2 /Creatinina	TxB_2	TxB_2 /Creatinina
Grupo III	(n = 25)	12	20	0,48	0,80
Grupo IV	(n = 9)	9	8	1,00	0,89
Global, III + IV	(n = 34)	21	28	0,62	0,82

Se han considerado casos positivos aquéllos con aumento del TxB_2 en los 3 días previos a la aparición de algún otro signo o síntoma de rechazo agudo.

Grupo III: Rechazo sobre injerto funcionante

Grupo IV: Rechazo sobre NTA.

TxB_2 : Concentración urinaria de TxB_2

TxB_2 /Creatinina: Cociente entre las concentraciones urinarias de TxB_2 y creatinina.

La radioactividad de la fracción unida se midió en un contador de centelleo líquido Mark II (Nuclear Chicago, USA).

Tanto durante la recogida y almacenamiento como durante el análisis, las muestras sólo estuvieron en contacto con material de polipropileno para disminuir las pérdidas por adsorción inespecífica del TxB_2 a las paredes de los recipientes que contienen sus disoluciones.

No se observaron interferencias con el método analítico por parte de prednisona, 6-metilprednisolona, azatioprina, furosemida, tobramicina o indometacina a las concentraciones utilizadas en la recolección de las muestras. La imprecisión intraserial del método está comprendida entre 4,5 y 7,0 %, y entre 10,0 y 12,7 % la interserial, según concentraciones. Asimismo, para comprobar la fiabilidad de la técnica se realizaron estudios de paralelismo y exactitud.

Se determinaron las concentraciones de TxB_2 y $[TxB_2]/[creatinina]$ urinarios en 12 sujetos sanos, 9 hombres y 3 mujeres, con edades comprendidas entre 16 y 40 años que no habían tomado inhibidores de la prostaglandina sintasa durante, al menos, 7 días antes de la recolección de la orina, encontrando como límites de referencia provisionales (orientativos) los valores de 0,87 nmol/L y de 2,02 nmol/L para la concentración urinaria de TxB_2 y de 0,08 nmol/mmol y 0,15 nmol/mmol para el cociente urinario $[TxB_2]/[creatinina]$. No se encontró diferencia entre los valores en función del sexo.

Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante pruebas de Wilcoxon de la suma de rangos.

La sensibilidad diagnóstica, especificidad diagnóstica y valor predictivo se han calculado según las normas de la Comisión de la SEQC para el estudio del valor semiológico de las determinaciones bioquímicas (4).

Resultados

1. Enfermos sin rechazo agudo

Quince enfermos no han tenido ningún episodio de rechazo agudo. Diez de ellos tuvieron función renal normal desde el inicio (Grupo I) y los 5 restantes sufrieron NTA y precisaron tratamiento con hemodialisis después

del trasplante renal (Grupo II).

De los 10 enfermos sin rechazo agudo ni NTA, en 2 de ellos se han observado concentraciones elevadas de TxB_2 (falsos positivos, con lo que la especificidad diagnóstica es 0,80. Por lo que respecta al cociente $[TxB_2]/[creatinina]$, se encuentran valores altos en 3 enfermos: especificidad diagnóstica 0,70 (Tabla I).

En los 5 casos de NTA se ha encontrado un falso positivo en la concentración urinaria de TxB_2 (especificidad 0,80) y 2 en el cociente $[TxB_2]/[creatinina]$ (especificidad 0,60).

Considerando todos los enfermos sin rechazo agudo la especificidad diagnóstica es 0,80 y la del $[TxB_2]/[creatinina]$, 0,67.

2. Enfermos con rechazo agudo

Treinta enfermos han tenido al menos una crisis de rechazo agudo. Estos enfermos han sido clasificados en dos subgrupos: veintiún enfermos con injerto funcionante han sufrido un total de 25 crisis de rechazo (Grupo III). Los 9 enfermos restantes han tenido un episodio de rechazo agudo sobre un injerto en fase de NTA (Grupo IV). En los 25 episodios de rechazo agudo sobre riñón funcionante, la concentración urinaria de TxB_2 se elevó en 12 ocasiones (intervalo: 2,2-15,2 nmol/L, $p < 0,001$ respecto de los normales) y fue normal en las restantes (sensibilidad = 0,48). El cociente $[TxB_2]/[creatinina]$ se elevó en 20 ocasiones entre 0,21 y 1,99 nmol/mmol ($p < 0,001$ frente a normales). En cuanto a los episodios de rechazo sobre NTA, todos ellos mostraron elevaciones de la concentración de TxB_2 (intervalo: 4,08-106,08 nmol/L, $p < 0,001$ frente a normales y rechazo, sensibilidad = 1,00) y 8 del cociente $[TxB_2]/[creatinina]$ (intervalo: 1,92-3,84 nmol/mmol, $p < 0,001$ frente a normales y rechazo, sensibilidad = 0,89).

En el análisis conjunto del rechazo, la concentración urinaria de TxB_2 muestra una sensibilidad de 0,62, siendo la del cociente $[TxB_2]/[creatinina]$ 0,82 (Tabla II).

En la Tabla III expresamos el valor predictivo de una determinación aislada de la concentración urinaria de TxB_2 o del cociente $[TxB_2]/[creatinina]$, calculada según el teorema de Bayes (4).

Tabla III
Valor predictivo de un aumento del TxB_2 en orina en ausencia de otros signos o síntomas de rechazo agudo

	TxB_2			TxB_2 /Creatinina		
	PC	PF	VP(+)	PC	PF	VP(+)
Sin NTA (n = 35)	12	1	0,86	20	3	0,87
Con NTA (n = 14)	9	1	0,90	8	2	0,80
Global (n = 49)	21	3	0,88	28	5	0,81

Se han considerado un total de 49 situaciones clínicas diferentes en 45 enfermos.

PC: Muestras positivas ciertas.

PF: Muestras positivas falsas.

VP(+): Valor predictivo de un resultado positivo ($VP = PC / [P + PF]$)

TxB_2 : Concentración urinaria de TxB_2

TxB_2 /Creatinina: Cociente entre las concentraciones urinarias de TxB_2 y creatinina.

Discusión

El TxB_2 se aproxima al marcador ideal para el diagnóstico de rechazo agudo: es un procedimiento inocuo, precoz y con especificidad y sensibilidad aceptables.

Nuestros resultados indican que después de las primeras 48 horas de evolución del trasplante renal, un enfermo que tenga un aumento de la concentración urinaria de TxB_2 , en ausencia de otros signos o síntomas, tiene una probabilidad de 0,88 de sufrir un rechazo agudo en los 3 días siguientes a la determinación; este valor predictivo es independiente de la existencia o no de NTA (0,86 en enfermos sin NTA, 0,90 en enfermos con NTA).

Por lo que respecta al cociente [TxB_2]/[creatinina] urinario, el valor predictivo global es del 0,81, ligeramente superior en enfermos sin NTA (0,87) que en enfermos con NTA (0,80).

La mayor dificultad clínica en el diagnóstico del rechazo agudo se da en los enfermos con injerto no funcionante por NTA. Es precisamente en este grupo de enfermos donde la determinación de TxB_2 en orina ha manifestado ser una magnitud especialmente útil, con una sensibilidad diagnóstica de 1,00 para la concentración urinaria y de 0,89 para el cociente [TxB_2]/[creatinina]. Es, pues, en los enfermos con NTA donde pensamos que el

TxB_2 tiene un gran valor y podría ser incluido en el grupo de determinaciones analíticas de rutina.

La determinación de TxB_2 por radioinmunoanálisis es un procedimiento rápido que permite tener los resultados en 24 horas. Tiene el inconveniente del coste económico, que exige la realización de 40 muestras clínicas para conseguir un rendimiento óptimo. El abaratamiento del proceso sería un aspecto fundamental para poder llevar a cabo de forma rutinaria la determinación de TxB_2 urinario en el seguimiento de enfermos trasplantados.

Bibliografía

1. Foegh ML, Zmuda M, Cooley C, Winchester JF, Helfrich GB, Ranwell FW, Schreiner GE. Urine i- TxB_2 in renal allograft rejection. *Lancet* 1981; ii: 434-443.
2. Ortuño J, González Revaldería J, Teruel JL, Villafruela JJ, Sabater J, Matesanz R, Quereda C. Value of Thromboxane B_2 (TxB_2) urinary excretion in the diagnosis of acute rejection (AR). *Kidney Int* 1986; 30: 132.
3. Teruel JL, Pérez Rodríguez JA, Martín R, Fernández A, Liaño F, Marcén R, Quereda C, Matesanz R, Ortuño J. Alteraciones del cristalino posttrasplante renal. *Nefrología* 1985; 5: 147-152.
4. Fuentes J, Cases E, Macía M, Martínez M, Miró J, Navarro JM, Queraltó JM, Tutor JC, Valdigué P. Capacidad discriminante (I). *Quim Clin* 1985; 4: 129-132.