

## REVISIÓN

# Trasplante renal y obtención de órganos bioartificiales

Sánchez, Mercedes Leonor

Centro de estudios Farmacológicos y Botánicos CEFYBO. CONICET. Facultad de Medicina-UBA. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Contacto:** e-mail: mercedes.sanchez@conicet.gov.ar; mercedessanchez57@yahoo.com.ar

## Resumen

El trasplante de riñón es el tratamiento de elección para los pacientes que presentan enfermedad renal terminal. En el trasplante renal el rechazo se caracteriza por el daño de la membrana basal glomerular, con proteinuria y falla progresiva del injerto<sup>1</sup>. La condición renal luego del trasplante adopta dos formas: (1) rechazo celular agudo (ACR – del inglés: acute cellular rejection), en la que los linfocitos T citotóxicos y otras células inflamatorias invaden el parénquima renal; y (2) rechazo mediado por anticuerpos, que se define por la presencia de anticuerpos específicos del donante, la evidencia morfológica de lesión aguda y la evidencia histológica de un proceso mediado por anticuerpos<sup>2</sup>. Las terapias requeridas para prevenir el rechazo mediado por linfocitos T consisten en modificar el camino de la IL-2 y la pérdida de los linfocitos. Se está trabajando en el descubrimiento de nuevas drogas que actúen sobre los anticuerpos anti-injerto, sus mecanismos de acción y el tratamiento del rechazo mediado por los mismos. La enfermedad renal aguda es una condición común y devastadora asociada con una morbilidad significativa y mortalidad. Los esfuerzos para identificar marcadores de la enfermedad renal han sido múltiples, pero un sólo marcador no es suficiente para realizar el diagnóstico<sup>3,4</sup>. Se ha descrito la participación de los microARNs en la enfermedad renal aguda, así como en el desarrollo de antagomirs y microARNs miméticos para producir la inhibición de los ARNm que participan en el daño. Con el objeto de solucionar el problema de la escasez de órganos se han desarrollado varias estrategias de tratamiento. Numerosos investigadores están trabajando en el campo de los órganos bioartificiales para realizar trasplantes, así como para evaluar la toxicidad y eficacia de ciertas drogas. El método para desarrollar tejidos bioartificiales implica la descelerización de los órganos diana, la recelularización con tipos celulares apropiados, y la maduración del neo-órgano en un biorreactor fisiológicamente apropiado<sup>5-10</sup>. Los órganos descelerizados producen un andamio de la matriz extracelular en la que las células pueden adherirse y formar tejido funcional. Varias fuentes de células se utilizan actualmente para repoblar andamios acelulares, sin embargo, todos tienen limitaciones. Las células madre pluripotentes derivadas de los pacientes son muy prometedoras para la ingeniería de tejidos y órganos, cuando las células maduras pueden ser dirigidas de una manera fiable y segura. Los andamios celulares se cultivan en condiciones biomiméticas “*in vitro*”. Los órganos pueden ser implantados aprovechando la capacidad regenerativa del receptor. Los recientes avances en la bioingeniería de órganos plantean la esperanza de que se pueda superar la escasez de donantes de órganos y eliminar la necesidad de inmunosupresión de por vida. Sin embargo, siguen existiendo problemas importantes en la generación de órganos bioartificiales y numerosos grupos de investigación están llevando a cabo experimentos para solucionarlos<sup>11</sup>. Es difícil pronosticar el universo de pacientes potenciales que podrían beneficiarse con la generación de estos órganos.

## Abstract

Kidney transplantation is the treatment of choice for patients with end-stage renal disease. Renal transplant rejection is characterized by damage to the glomerular basement membrane with proteinuria and progressive graft failure<sup>1</sup>. The condition of the kidney after transplantation takes two forms: (1) acute cellular rejection (ACR), in which cytotoxic T lymphocytes and other inflammatory cells invade the renal parenchyma; and (2) antibody-mediated rejection, which is defined by the presence of specific donor antibody, the morphological evidence of acute injury and histological evidence of an antibodies mediated process<sup>2</sup>. Therapies required to prevent T lymphocytes mediated rejection involve

modifying the IL-2 pathway and the loss of lymphocytes. Researchers are searching for new drugs and antibodies that act on the anti-graft effect, its mechanisms of action and treatment of antibody-mediated rejection. Acute kidney injury is a common and devastating condition associated with significant morbidity and mortality. Multiple efforts have been made to identify biomarkers to aid in early diagnosis of acute kidney injury but a single biomarker may not be enough for diagnosis<sup>3,4</sup>. The involvement of microRNAs in acute kidney injury as well as the development of mimetic micro-RNA and antagomirs to inhibit the mRNAs involved in the damage have been described. To solve the problem of organ availability, researchers have developed various treatment strategies. Many groups are working in the field of bioartificial organs for transplantation and evaluating the toxicity and efficacy of drugs. The method of developing bioartificial tissue involves decellularization of the target organs, recellularization with appropriate cell types, and maturation of the neo-organ in a physiologically appropriate bioreactor<sup>5-10</sup>. Decellularized organs produce a scaffold of extracellular matrix in which the cells can adhere and form functional tissue. Several sources of cells are currently used to repopulate acellular scaffold; however, all have limitations. Pluripotent stem cells derived from patients are very promising for tissue and organ engineering, when mature cells can be reliably and safely directed. Cellularized scaffolds are cultured in *in vitro* biomimetic conditions. The organs can be implanted taking advantage of the regenerative capacity of the receiver. Recent advances in bioengineering organ raise hopes that it is possible to overcome donors availability and eliminate the need for lifelong immunosuppression. However, there are still major problems in the generation of bioartificial organs and numerous research groups are conducting experiments to solve them<sup>11</sup>. It is difficult to predict the universe of potential patients who could benefit from the generation of these organs.

ISSN 1515-6761 Ed. Impresa  
ISSN 2250-5903 Ed. CD-ROM  
Código Bibliográfico: RByPC  
Fecha de Recepción:  
16/11/2016  
Fecha de aceptación:  
27/12/2016

## Incompatibilidad por grupo sanguíneo y antígenos leucocitarios humanos.

Los antígenos sanguíneos más importantes consisten en aquellos de grupo A, B y O. Estos antígenos se encuentran en muchas células, incluyendo eritrocitos, plaquetas y células endoteliales de todos los órganos vasculares. Los humanos presentan anticuerpos naturales contra los antígenos A y/o B que ellos no poseen. El grupo sanguíneo A presenta los antígenos A1 y A2, siendo la expresión de A2 menor a la de A1, aunque el porcentaje depende del grupo étnico. Los riñones A2 tienen menor probabilidad de desarrollar rechazo agudo mediado por anticuerpos (AMR) en presencia de anticuerpos A2. Los receptores no-A que reciben riñones de donantes A2 pueden aceptar el trasplante sin precondicionamiento. Los anticuerpos contra grupos sanguíneos A y B son isohemaglutininas porque reaccionan con el antígeno A y el antígeno B en los glóbulos rojos e inducen la aglutinación. Los anticuerpos anti-ABO son del tipo IgM o IgG. Estos anticuerpos son fabricados durante el desarrollo del sistema inmune contra epitopes de reacción cruzada sobre la pared celular de las bacterias del intestino y su título se incrementa con la edad<sup>12,13</sup>.

En los trasplantes se deben considerar, también, los anticuerpos anti-antígenos leucocitarios humanos del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) preformados y los anticuerpos HLA específicos del donante que se pueden desarrollar "de novo" después del trasplante<sup>1,4-19</sup>. Los anticuerpos HLA pueden jugar un papel importante en el AMR.

Se han desarrollado varias estrategias de desensibilización para eliminar ciertas barreras inmunológicas como la incompatibilidad por presencia de anticuerpos específicos

del dador y los de grupo sanguíneo ABO. Los antígenos de grupo sanguíneo son polisacáridos que no requieren la sensibilización de las células T en la inducción de la producción de los anticuerpos por los linfocitos B<sup>20</sup>.

Los anticuerpos dirigidos contra el receptor de angiotensina resultan de particular interés. Fueron observados como una causa de rechazo agudo mediado por anticuerpos (AAMR), asociada con hipertensión severa. También tienen un rol en el rechazo crónico mediado por anticuerpos (CAMR), y su presencia ha sido asociada con pérdida del injerto, independientemente de los anticuerpos HLA<sup>21,22</sup>.

Los anticuerpos específicos del donante pueden desaparecer después del trasplante. Esto ha sido observado en trasplantes con anticuerpos HLA incompatibles y ABO incompatibles<sup>23-25</sup>.

Los trasplantes ABO-incompatibles (ABOi) difieren de los trasplantes HLA incompatibles (HLAi) en que el CAMR no es atribuible a los anticuerpos ABO. Las biopsias a las que se le practica tinción de CD4d sobre la membrana basal peritubular sugieren que existe cierto grado de inflamación. La deposición de CD4d es un signo de CAMR. Cuando se informa CAMR en injertos ABOi, se piensa en la presencia de anticuerpos HLA.

En trasplantes HLAi, los anticuerpos HLA específicos del donante pueden estar presentes por muchos años previos al trasplante, luego del mismo, un monitoreo de sus niveles puede indicar un aumento o una disminución.

La producción de nuevos anticuerpos es inicialmente de clase IgM y los anticuerpos HLA específicos del donante se han asociado con AAMR en ausencia de anticuerpos IgG equivalentes<sup>23</sup> y reportados en la producción de anticuerpos HLA de novo<sup>21</sup>.

Los anticuerpos HLA de la clase IgA pueden presentarse frecuentemente, pero su significado aún no ha sido comprendido<sup>26</sup>. La producción de anticuerpos IgG puede ser del tipo IgG3, luego IgG1 y finalmente IgG4. Se ha observado una mayor incidencia de la subclase IgG4 previa al trasplante y la subsecuente AMR y sobrevida del injerto<sup>27</sup>.

El trasplante renal de donante vivo, incompatible con el grupo ABO (ABOi KT) es otra estrategia para expandir la disponibilidad de órganos y disminuir los largos tiempos de espera del trasplante renal de donante cadavérico<sup>28-30</sup>. Los anticuerpos anti-ABO son producidos principalmente por células B1 extra-foliculares en contraste con los anticuerpos anti-péptidos, que son producidos por las células B-2. Sin embargo, las poblaciones de células B específicas anti-ABO aún no han sido establecidas. Por otro lado, la respuesta anti-ABO se considera clásicamente como una respuesta IgM independiente de las células T; sin embargo, estudios recientes sugieren que también juegan un rol las células NK o las células T en la respuesta de anticuerpos anti-ABO<sup>31</sup> y demuestran que la respuesta IgG anti-ABO fue más importante que la respuesta de IgM en AMR después del ABOi KT<sup>32</sup>. El AMR se diagnostica después del ABOi KT sobre la base de evidencias morfológicas, inmunohistológicas y serológicas con al menos un hallazgo de una de estas 3 categorías<sup>33-35</sup>. Los cambios morfológicos incluyen la infiltración leucocitaria en capilares peritubulares y/o glomérulos, la necrosis fibrinoide arterial, la trombosis glomerular y la injuria tubular aguda. Los cambios inmunohistológicos involucran la deposición de C4d en capilares peritubulares y la deposición de inmunoglobulina y/o complemento en la necrosis fibrinoide arterial. Se deben encontrar en el momento de la biopsia anticuerpos específicos del donante circulantes. Sin embargo, la deposición de C4d sin otra evidencia de AMR en la biopsia es observada en un alto porcentaje en pacientes ABOi KT<sup>36-39</sup>. Un protocolo de estudio de biopsia demostró que no hay diferencias en la incidencia de AMR o la glomerulopatía del trasplante de acuerdo con la positividad de C4d<sup>38</sup>.

Cuando el nivel de creatinina sérica es elevado, en relación al valor basal, se sospecha clínicamente que existe AMR. Los anticuerpos naturales e inducidos anti-ABO pueden causar AMR en ABOi KT y pueden manifestar un CAMR<sup>40</sup>.

La acomodación se refiere a la resistencia de un injerto al AMR, más allá de la presencia de niveles significativos de anticuerpos anti-ABO y la deposición de C4d. La acomodación difiere de la tolerancia en la ausencia de anticuerpos específicos del donante y anticuerpos anti-ABO. Varios estudios tratan de explicar su mecanismo de acción, los cuales incluyen cambios en la función de los anticuerpos específicos del donante, cambios en el antígeno, resistencia adquirida al aloinjerto a través de la expresión de genes anti-apoptóticos, tales como el de la hemo-oxigenasa-1, A20, bcl-2 y bcl-xL; expresión de proteínas regulatorias de complemento tales como CD45, CD55 y CD59 e inactivación de la quinasa-1/2 regulada por la señal extracelular<sup>41-45</sup>. En SMAD, la proteína tirosin quinasa, el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  y la mucina 1 tendrían un rol en el fenómeno de acomodación<sup>28</sup>.

## Mecanismos de acción de los anticuerpos monoclonales inmunosupresores

En 1980 Alexandre y colaboradores introdujeron un protocolo de desensibilización efectivo, basado en plasmaféresis y esplenectomía, para prevenir el rechazo hiperagudo producido por los anticuerpos ABO<sup>46</sup>.

Los agentes terapéuticos que tienen como blanco la funcionalidad de los linfocitos T pueden ser clasificados como aquellos que inhiben la señal 1: la interacción del complejo receptor de linfocitos T (TCR) con la células presentadoras de antígeno (CPA), la activación intracelular resultante y aquellos que inhiben la señal 2, señal coestimuladora provista por la interacción entre linfocitos T y la CPA, la que conduce a la activación completa de los linfocitos T. También existen agentes que inhiben la activación y la proliferación (señal 3).

Los anticuerpos monoclonales se usan en regímenes inmunosupresores, tanto para prevenir el rechazo como para tratar los episodios del mismo. La esplenectomía fue reemplazada por el rituximab, que es un anticuerpo monoclonal que se une al CD20 sobre los linfocitos B inmaduros y maduros induciendo la apoptosis por el mecanismo de la citotoxicidad celular, dependiente de anticuerpos o directamente por mecanismos apoptóticos. Sin embargo, el rituximab no puede inducir la apoptosis de algunos linfocitos B de memoria y células plasmáticas. La depleción de linfocitos B con rituximab puede prevenir el desarrollo de linfocitos B maduros en células plasmáticas productoras de anticuerpos, reducir la producción de anticuerpos aloreactivos y atenuar la respuesta de linfocitos T reduciendo la presentación de antígeno por linfocitos B y la coestimulación<sup>47</sup>. Los anticuerpos monoclonales rituximab y alemtuzumab (anti-CD52) son ambos capaces de eliminar a los linfocitos B<sup>48-50</sup>.

El rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico murino y humano, obtenido por ingeniería genética. Es una inmunoglobulina (Ig) glicosilada constituida por las regiones constantes de las inmunoglobulinas de clase G y subclase 1 (IgG1) humanas y las secuencias de la región variable de las cadenas ligeras y pesadas murinas. Este anticuerpo se produce a partir de un cultivo en suspensión de células de mamífero (células de ovario de hámster chino), se purifica mediante cromatografía de afinidad y de intercambio iónico, más procedimientos específicos de inactivación y de eliminación de virus. El rituximab se une específicamente al antígeno CD20, una fosfoproteína transmembrana no glicosilada que se expresa en los linfocitos pre-B y B maduros. El antígeno CD20 se expresa tanto en linfocitos B normales como en células tumorales, pero no en las células madre hematopoyéticas, linfocitos pro-B y las células plasmáticas normales ni en otros tejidos normales. Este antígeno no se internaliza tras la unión del anticuerpo ni se elimina de la superficie celular. El rituximab puede afectar macrófagos y células NK a través de la unión del receptor Fc. La depleción de los linfocitos B por rituximab ocurre de 1-3 días después de la administración y persiste por 2 años<sup>51</sup>.

El alemtuzumab es un anticuerpo monoclonal que se

emplea en protocolos terapéuticos de trasplante de médula ósea y trasplante de riñón. Actúa sobre la proteína CD52 que se encuentra en la superficie de los linfocitos, pero no en las células de la médula ósea de las que se originan los linfocitos maduros.

El muromonab (OKT3) fue el primer anticuerpo monoclonal de origen murino del tipo IgG2a utilizado en pacientes transplantados, creado mediante la tecnología del empleo de hibridomas y utilizado en trasplantes renales, cardíacos y hepáticos. Reconoce la molécula CD3 que se encuentra en la superficie de los linfocitos T, pero presenta efectos adversos relacionados con la mitogenicidad asociada con la fuente murina, por lo que ha salido del mercado farmacéutico.

El basiliximab es un anticuerpo monoclonal quimérico murino/humano, producido por tecnología de ADN-recombinante, que actúa como inmunosupresor al fijarse específicamente a la cadena alfa del receptor para la interleukina 2 (también conocido como antígeno CD25), con alta  $K_a = 1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$  y por lo tanto, inhibiendo la unión de la IL-2. El basiliximab es una glicoproteína obtenida por cultivo de una línea celular de mieloma murino, modificada genéticamente para expresar plásmidos, que contiene los genes humanos de las cadenas constantes livianas y pesadas y los genes de las cadenas variables livianas y pesadas que codifican el anticuerpo RFT5, el que actúa como ligando selectivo para el receptor para la IL-2. El basiliximab está dirigido específicamente contra el receptor a IL-2, que se expresa en la superficie de los linfocitos T activados. Esta unión inhibe la activación de los linfocitos, mediada por la interleukina; un mecanismo crítico en la respuesta inmune, que tiene lugar en el rechazo de los trasplantes.

El eculizumab es un anticuerpo monoclonal dirigido contra la proteína C5 del complemento. Previene la ruptura de C5 a C5a y C5b y por lo tanto la formación del poro lítico en la membrana. Es utilizado en el tratamiento de la AMR<sup>52-54</sup>.

El belatacept es una proteína de fusión que consiste en el dominio extracelular modificado de CTLA-4, fusionado a la región bisagra en los dominios CH2 y CH3 del fragmento Fc de la IgG1 humana. Es producido mediante técnicas de ADN recombinante en un cultivo celular de mamífero. Presenta dos sustituciones: leucina 104 por ácido glutámico y alanina 29 por tirosina en la región de unión al ligando de CTLA-4. Como resultado de estas modificaciones el belatacept se une con mayor afinidad que la molécula principal de la que procede (la CTLA4-Ig) a CD80 y CD86.

### Otros agentes inmunosupresores empleados en trasplantes

El tacrolimus es un macrólido con un anillo de lactona de 23 miembros, descubierto en 1984 del caldo de fermentación de una muestra de suelo japonés que contenía la bacteria *Streptomyces kubaensis*. Este inhibe la formación de linfocitos citotóxicos, que son los principales responsables del rechazo del implante y la activación de los linfocitos T, la proliferación de los linfocitos B dependiente de los linfocitos T auxiliares, así como la formación de linfocinas.

Se emplea en la profilaxis del rechazo del trasplante en receptores de aloinjertos hepáticos, renales o cardíacos y en el tratamiento del rechazo de aloinjertos resistente a tratamientos con otros medicamentos inmunosupresores.

El micofenolato bloquea la síntesis "*de novo*" de los nucleótidos de purina mediante la inhibición de la enzima inosinamonofosfato deshidrogenasa. Esta enzima tiene una importancia vital en la síntesis "*de novo*" de las purinas y es un factor limitante en la conversión de inosinamonofosfato a guaninamonofosfato. Esta última es un importante intermediario en la síntesis del ADN, ARN, proteínas y glicoproteínas. A diferencia de otras células que pueden utilizar guaninamonofosfato procedente del catabolismo, los linfocitos necesitan sintetizarlo "*de novo*". El ácido micofenólico impide la proliferación de linfocitos y la formación de moléculas de adhesión en respuesta a un estímulo antigénico o mitogénico. Las moléculas de adhesión se encuentran en la superficie de los linfocitos T activados. En la práctica médica las sustancias que se administran son micofenolato de sodio o micofenolatomofetilo (profármaco), las cuales liberan ácido micofenólico que es la sustancia activa. En comparación con otros fármacos inmunosupresores, el micofenolatomofetilo presenta la ventaja de bloquear las respuestas secundarias de los anticuerpos, moduladas por los linfocitos B de memoria. Además, a diferencia de la azatioprina y del metotrexato, que tienen un efecto no selectivo sobre la síntesis del ADN en todo tipo de células, el micofenolatomofetilo actúa solamente sobre la proliferación de los linfocitos. Por otra parte, el micofenolatomofetilo no se incorpora al ADN y, por tanto, no causa la rotura de los cromosomas. Finalmente, inhibe la proliferación de líneas celulares derivadas de los linfocitos B humanos transformados por el virus de Epstein-Barr. En resumen, todas estas propiedades permiten explicar que el micofenolatomofetilo es un inmunosupresor tan potente como la azatioprina cuando se utiliza en combinación con ciclosporina y corticoides.

Desafortunadamente, la inmunosupresión aumenta la susceptibilidad del receptor a infecciones oportunistas y neoplasmas. La incidencia de cáncer se incrementa tanto como 100 veces, en los receptores de trasplante que han sido inmunosuprimidos durante mucho tiempo. Cánceres comunes en estos pacientes incluyen carcinoma de células escamosas de la piel, adenocarcinoma de colon, de pulmón y linfoma.

Los medicamentos inmunosupresores (por ejemplo, ciclosporina) también reducen las reacciones injerto contra huésped. Aunque estos fármacos inhiben la reacción del injerto, la tolerancia al injerto de tejido no se produce. Por lo tanto, la mayoría de los pacientes deben tomar estos medicamentos durante toda su vida. La azatioprina es un profármaco, emparentado con la 6 mercaptopurina. Ambas se suelen denominar conjuntamente tiopurinas, y se usan preferentemente en el tratamiento de enfermedades en las que el sistema inmune está activado de manera equivocada, por lo que es necesario modularlo. Algunos ejemplos son la

enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la hepatitis autoinmune, la esclerosis múltiple y otras enfermedades. En años anteriores, fue un medicamento básico en los trasplantes de órganos, asociado a esteroides u otros agentes. En la actualidad, se emplea menos en esta indicación, pero aún es importante. Fue la primera medicación que se mostró efectiva para el aumento de la supervivencia en los trasplantes de riñón, corazón e hígado. La azatioprina es un inhibidor de la síntesis de ADN y del crecimiento de los linfocitos T.

La ciclosporina impide la activación de los linfocitos T mediante la inhibición de la síntesis de interleucina 2 (IL-2) y el receptor de IL-2. Lo hace por medio de la inhibición de la calcineurina, una serina fosfatasa implicada en la activación de la transcripción de los genes para IL-2 y el receptor de IL-2. La ciclosporina es bien tolerada y es un éxito notable en la prevención del rechazo de trasplantes. La ciclosporina y el tacrolimus tienen el mismo modo de acción si bien el tacrolimus es más inmunosupresor, causa más efectos secundarios. El tacrolimus, además, inhibe la producción de IL-2.

La rapamicina o sirolimus también inhibe la transducción de señales, pero en un sitio diferente al de la ciclosporina y del tacrolimus.

A diferencia de su similar, el tacrolimus, el sirolimus no es un inhibidor de la calcineurina. Sin embargo, tiene un efecto inmunosupresor similar sobre el sistema inmune. El sirolimus inhibe la respuesta a la IL-2 y de esa forma bloquea la activación de los linfocitos T y B.

mTOR es una proteína quinasa serina / treonina que regula el crecimiento, la proliferación, la motilidad y la supervivencia celulares, además de la síntesis de proteínas y la transcripción.

El mecanismo de acción del sirolimus implica la unión a las proteínas citosólicas FKBP12 (del inglés *FK-binding protein 12*), de forma similar al tacrolimus. Sin embargo, a diferencia del complejo tacrolimus / FKBP12 que inhibe la calcineurina (PP2B), el complejo sirolimus / FKBP12 inhibe la vía del mTOR (del inglés *mammalian target of rapamycin*), por la unión al complejo mTOR (mTORC1). El complejo mTOR es también llamado FRAP (del inglés *FKBP-rapamycin associated protein*) o RAFT (del inglés *rapamycin and FKBP target*). Las denominaciones FRAP y RAFT son actualmente más adecuadas dado que reflejan el hecho de que el sirolimus debe unirse primero al FKBP12 y sólo el complejo FKBP12 / rapamicina puede unirse al FRAP / RAFT / mTOR.

Los corticosteroides actúan, principalmente, mediante la inhibición de citoquinas (por ejemplo: IL-1 y el factor de necrosis tumoral) en la producción por los macrófagos y por lisis de ciertos tipos de células T. Los corticosteroides inhiben la producción de citoquinas por medio del bloqueo de los factores de transcripción, tales como NF- $\kappa$ B y AP-1, que impiden la síntesis del ARNm para estas citoquinas.

La prednisolona es un fármaco corticosteroide predominantemente glucocorticoide y de baja actividad mineralocorticoide, que resulta útil para tratar un amplio rango de inflamaciones y trastornos propios de la enfermedad

autoinmune, tales como el asma, la artritis reumatoidea, la colitis ulcerosa, la enfermedad de Crohn (o enteritis regional), la esclerosis múltiple, la cefalea en racimos y el lupus eritematoso sistémico.

La globulina antitimocítica (timoglobulina) es un anticuerpo policlonal contra los timocitos humanos, que se utiliza también en regímenes inmunosupresores. La timoglobulina contiene anticuerpos contra muchos antígenos de linfocitos (por ejemplo: CD3, CD4, CD8, CD25 y otros). Como consecuencia, tiene un efecto inmunosupresor más amplio que los anticuerpos monoclonales descritos en el párrafo anterior.

Las estrategias inmunosupresivas para ABOi KT tienen dos principios: por un lado, la disminución de los anticuerpos pretrasplante y, por el otro, la inducción y mantenimiento de la inmunosupresión para inhibir la reaparición de anticuerpos anti-ABO.

El tratamiento de reducción de los anticuerpos en el plasma es la base de la desensibilización para ABOi KT. Los métodos corrientes para la remoción de anticuerpos anti-ABO son la plasmaféresis clásica, la plasmaféresis de doble filtración y la inmunoadsorción antígeno-específica y la antígeno no-específica.

La plasmaféresis clásica remueve completamente todas las proteínas plasmáticas de la circulación, y el plasma es reemplazado por albúmina, plasma congelado fresco o una combinación de ambos. La plasmaféresis por doble filtración implica que el plasma es separado por filtración y pasado a través de un segundo filtro donde las inmunoglobulinas son filtradas selectivamente y descartadas. Puede minimizar la inestabilidad hemodinámica y la cantidad de volumen de reemplazo requerido. Remueve el 60 - 70% de los anticuerpos por sesión, mientras que la plasmaféresis clásica remueve sólo el 40 - 50%<sup>55</sup>.

En 2003 Tyden y col.<sup>56,57</sup> emplearon la inmunoadsorción antígeno específica ABO (IA). La inmunoadsorción puede remover anticuerpos antígeno-específicos, tales como los anticuerpos anti-ABO o las inmunoglobulinas no específicas del antígeno. En la inmunoadsorción específica de ABO, el plasma es procesado a través de una columna inmunoadsorbente para ABO, que es recubierta con antígenos del tipo A o B. Esto permite la remoción selectiva de anticuerpos anti-A o anti-B y el plasma procesado es luego retransfundido en el receptor. La inmunoadsorción es segura y eficaz, sin embargo, tiene un alto costo y no siempre es cubierta por la seguridad en salud.

La depleción de anticuerpos post-trasplante se usa de rutina en algunos centros con un número variable de sesiones, dependiendo del título pre-trasplante<sup>58</sup>.

La inmunoglobulina intravenosa (IVIg) también se usa en el trasplante renal para suprimir el rechazo mediado por células y el AMR. Los modos potenciales de acción incluyen: supresión de las células plasmáticas, neutralización de aloanticuerpos, inhibición de la activación de complemento, neutralización de citoquinas pro-inflamatorias e inducción de citoquinas anti-inflamatorias. La IVIg es administrada usualmente después de

la plasmaféresis para reconstituir los niveles naturales de IgG. Sin embargo, no hay una dosis uniforme de IVIG usada en el protocolo de desensibilización de ABOi KT.

### Patogénesis molecular de la injuria post-trasplante y participación de los micro-ARN

La enfermedad renal aguda (AKI) es una complicación frecuente en los trasplantes de riñón y está asociada con una disminuida sobrevida del injerto<sup>59-61</sup>. Varios factores de riesgo han contribuido al desarrollo de la enfermedad renal aguda post-trasplante, incluyendo la edad del donante, los tiempos de isquemia fría y caliente y el uso de órganos provenientes de donantes cadavéricos<sup>62,63</sup>. Los mecanismos moleculares que determinan el destino de los aloinjertos renales en el desarrollo de la enfermedad aguda permanecen no explicados tales como la isquemia y la injuria reperfusión (IRI), las cuales ocurren a diferentes niveles en todos los órganos transplantados. Las alteraciones moleculares y celulares asociadas con IRI incluyen principalmente daño del tejido causado por especies reactivas del oxígeno (ROS), el óxido nítrico o el peroxinitrilo<sup>64</sup>, así como también, una disminuida actividad de la adenilatociclasa y niveles intracelulares de cAMP bajos. Luego, tienen lugar alteraciones de los niveles transcripcionales en el control de la expresión génica, tales como la regulación positiva del factor inducible 1A (HIF1A) o del factor nuclear NF-κB<sup>65</sup>. Finalmente, se produce la muerte celular vía apoptosis y necrosis. La activación de la respuesta inmune innata y adaptativa contribuye al daño tisular y la injuria, incluyendo los receptores de reconocimiento de patrones (PRRs), tales como los receptores de tipo Toll (TLRs) y/o la infiltración de macrófagos y/o linfocitos T<sup>67</sup>. Los micro ARNs están involucrados en la cascada molecular que lleva a la injuria reperfusión.

Los perfiles de miARN ofrecen nuevas vías de diagnóstico y pronóstico, que junto con los perfiles de ARNm permiten una mayor precisión y plausible interpretación biológica de los resultados<sup>68,69</sup>. La primera evidencia de los roles de los miARNs en la patología en AKI fue informada en un modelo de ratón *knock-out* para Dicer, en la que Dicer fue eliminado específicamente de las células tubulares proximales. Estos ratones muestran una baja regulación de microARNs en la corteza renal<sup>70</sup>. La determinación de los niveles de miARN en el tejido, en la sangre y en la orina pueden ayudar a dilucidar la fisiopatología de los procesos relacionados con el trasplante, como rechazo o la fibrosis y pueden tener utilidad como biomarcadores. Los paneles de miARN pueden ser útiles en el monitoreo del injerto<sup>71</sup>.

El seguimiento de la aloinmunidad humoral ha tenido un gran avance con la introducción de tecnologías de base sólida, tal como Luminex. Sin embargo, el seguimiento y la determinación de la inmunidad de linfocitos T se realiza únicamente en biopsias invasivas de aloinjerto.

Los miARN son determinados también en el plasma (sangre).

Otras revisiones discuten la utilidad como biomarcadores, presentando los mecanismos moleculares y las potenciales implicaciones terapéuticas de los miARNs<sup>72,73</sup>.

### Antagomirs y miARN mimético

El miARN mimético es sintetizado químicamente. Consiste en un ARN de doble cadena que imita a los miARNs endógenos maduros después de la transfección en células.

Los antagomirs son inhibidores de microARN, pero, debido a la promiscuidad de los microARN, los antagomirs podrían afectar la regulación de muchas diferentes moléculas de ARNm. También se denominan blockmirs y están diseñados para tener una secuencia que es complementaria a una secuencia de ARNm y que sirve como un sitio de unión para el microARN. Tras la unión, los blockmirs bloquean estéricamente a la molécula de microARN al mismo sitio, lo que evita la degradación del ARNm blanco a través del complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC).

Los blockmirs permiten la modulación de la regulación génica basada en microARN con alta especificidad. Es importante destacar que los blockmirs son típicamente agonistas de su ARNm blanco, es decir, aumentan la síntesis de la proteína codificada por esta molécula. Los blockmirs se unen al extremo 3' de la región no traducida (UTR) de la cadena de ARNm, que bloquea la unión del microARN.

### Utilización de células madre y órganos bioartificiales para trasplantes.

Los desarrollos recientes en el campo de la ingeniería de tejidos (TE) y la medicina regenerativa (RM) han provisto varios enfoques para el tratamiento de la enfermedad renal<sup>74</sup>; los mismos incluyen a sistemas renales bioartificiales, trasplante de células e implantación de construcciones de riñón bioartificiales.

En estudios tempranos, la fabricación de construcciones renales bioartificiales fue llevada a cabo para mejorar la sobrevida clínica de pacientes con enfermedad renal aguda o crónica.

Un tipo de construcción renal bioartificial fue creada incorporando células renales al sistema de diálisis convencional<sup>75,76</sup>. La diálisis reemplaza la función de la filtración del riñón removiendo ciertas sustancias tóxicas de la sangre, mientras que otras moléculas como la eritropoyetina (EPO) y la vitamina D no son restauradas<sup>77</sup>. Con la siembra de células tubulares renales sobre membranas de diálisis se pudo obtener una construcción renal bioartificial capaz de reemplazar las funciones renales en un modelo de perro, usando un sistema de perfusión<sup>76</sup>. Se encontró una mejoría en las funciones renales, como la filtración, el transporte y la metabolización del riñón dañado.

Otro tipo de terapias basadas en células para los tratamientos renales es a través de la implantación de construcciones de riñón obtenidas por bioingeniería. La estrategia básica es sembrar células en cultivo en andamios tridimensionales (3D) in vitro e implantarlos in vivo. Han sido reportados sistemas de andamiaje que incluyen materiales biodegradables naturales como el colágeno<sup>78-80</sup> y materiales biodegradables sintéticos<sup>81,82</sup> combinados con otros tipos celulares, que se integran al sistema tisular del huésped.

En la actualidad se están desarrollando órganos bioartifi-

ciales (riñón, córnea, mama, corazón, pulmones, páncreas, hígado y ovario) y plataformas biológicas para su aplicación en el área de la medicina regenerativa y, también, como estrategia para la evaluación de la efectividad de fármacos, que podrían ser utilizados en el contexto de una medicina personalizada. De esta forma se obtienen plataformas biológicas, que tendrán también la finalidad de evitar o reducir el uso de animales en la fase experimental pre-clínica.

Basándose en la metodología de descelularización y recelularización se han logrado avances significativos en la generación de riñones bioartificiales<sup>83</sup>.

Los riñones de rata, porcinos y humanos son descelularizados por perfusión con detergente, produciendo andamios acelulares con arquitectura vascular, cortical y medular, un sistema colector y uréteres<sup>83</sup>. Para regenerar tejido funcional, se han sembrado andamios de riñón de rata con células epiteliales y endoteliales y, luego, estas construcciones con células fueron perfundidas en un biorreactor. Los injertos resultantes produjeron orina rudimentaria *in vitro* cuando fueron perfundidos a través de su lecho vascular intrínseco. Luego, fueron trasplantados en posición ortotópica en la rata, y perfundidos por la circulación del receptor para producir orina *in vivo* a través del conducto uretral.

Los riñones de rata provenientes de cadáveres fueron descelularizados a través de la perfusión de la arteria renal con 1% de dodecilsulfato de sodio (SDS) a presión constante de 40 mmHg. La histología de los riñones acelulares mostró preservación de la arquitectura de los tejidos y la eliminación completa de los núcleos y los componentes celulares. La descelularización por perfusión conserva la estructura y composición de la matriz extracelular renal integral en la filtración (membrana basal glomerular), secreción y reabsorción (membrana basal tubular). Como se ha visto con otros tejidos, la red de fibra elástica arterial permaneció conservada en el parénquima cortical y medular acelular. La tinción inmunohistoquímica confirmó la presencia de los componentes clave de la matriz extracelular, como son la laminina y el colágeno IV en la distribución fisiológica, como la membrana basal glomerular acelular.

Las membranas basales tubulares fueron preservadas con evaginaciones dentadas, que se extienden hacia el lumen del túbulo proximal. SDS, agua desionizada y Triton X-100 reducen el contenido de ADN total por el riñón a menos del 10%. Después de lavar con PBS, el SDS es indetectable en los andamios del riñón acelular.

Para regenerar el tejido renal funcional, los riñones acelulares de rata pueden ser repoblados con células endoteliales y epiteliales. Las suspensiones de células humanas endoteliales de cordón umbilical (HUVEC) se introducen a través de la arteria renal y las suspensiones de células de riñón de rata neonatales (NKC) a través del uréter.

Otra alternativa de celularización es la utilización de células madre mesenquimales y hematopoyéticas para favorecer la recelularización renal. Posteriormente, se evaluó la funcionalidad del órgano recelularizado con técnicas *ex vivo*

e *in vivo*. El tejido renal consiste en más de 20 tipos de células especializadas que están estructuralmente organizadas en distintos compartimientos anatómicos y funcionales. Son las células de riñón primarias, que pueden ser cosechadas del tejido de riñón normal y enfermo y expandidas en cultivo, manteniendo el fenotipo y la función de las cuales son derivadas. Entre los diferentes tipos de células renales en el riñón nativo, las células tubulares proximales (PTCs) tienen roles importantes en las funciones renales que incluyen la reabsorción de proteínas y electrolitos, la actividad hidrolasa y la producción de EPO<sup>84,85</sup>. En el riñón normal, las PTCs ocupan el porcentaje más alto de la población popular [aproximadamente 60% de la población celular total], entre otros tipos celulares, los cuales incluyen células tubulares distales, células del asa descendente, células del conducto colector y podocitos<sup>86</sup>.

El aislamiento y la expansión de PTCs de tejido renal pueden ser considerados como una fuente atractiva de células renales para la terapia basada en células. Los cultivos PTC primarios presentan muchas ventajas y son más representativos de la fisiología de PTC normales que las líneas celulares inmortalizadas; sin embargo, las células renales primarias, incluyendo PTCs, pierden la expresión de genes específicos durante el cultivo y están limitadas a 2 - 5 pasajes<sup>87</sup>. La combinación óptima de alta pureza, consistente en la proliferación y la diferenciación se observó en el pasaje 2 - 388.

Las células madre renales o células progenitoras han sido identificadas en la cápsula de Bowman<sup>89</sup>, los glomérulos<sup>90</sup>, los túbulos proximales<sup>91-94</sup> y la papilla renal<sup>95</sup>. Las células renales humanas pueden ser aisladas de donadores renales, expandidas en cultivo y mantener su fenotipo renal a través de numerosos pasajes<sup>80</sup>. Las células epiteliales renales diferenciadas, aisladas de las estructuras tubulares renales, tienen capacidad proliferativa a través de la desdiferenciación de los epitelios sobrevivientes durante el cultivo celular. La evidencia reciente demuestra que los nefrones renales contienen una población con capacidad proliferativa<sup>77-91-94-96-97</sup>. Esas células madre o células progenitoras expresan varios marcadores de células madre, tales como el CD24, el CD133, el CD106, la vimentina y Pax-2, y poseen alto potencial clonogénico, que es la habilidad de renovarse a sí mismas y diferenciarse en linajes celulares renales específicos, los cuales sugieren una fuente terapéutica potencial para la regeneración renal.

Dentro de las células madre pluripotentes encontramos a las células madre embrionarias (ES) que han sido estudiadas como una fuente de células para varias terapias basadas en estas<sup>98</sup>. Las células ES exhiben dos propiedades remarcables: la habilidad para crecer en un estado indiferenciado (auto renovación) y la capacidad para diferenciar a varios tipos celulares del mesodermo, endodermo y linajes ectodermales (multidiferenciación).

Esto hace a las células ES una fuente celular atractiva para la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa. La diferenciación renal de las células ES ha sido reportada por

varios investigadores<sup>99-102</sup>. Ha sido demostrado que la integración de células ES en el riñón metanefricoembrionario produce órganos similares al riñón *“in vitro”*. Esta integración y creación de nuevo tejido renal apoya el uso de células ES con potencial terapéutico; sin embargo, varias limitaciones disminuyen el entusiasmo por su desarrollo activo. Estos incluyen el crecimiento descontrolado y el desarrollo en teratoma *“in vivo”*, así como problemas legales y éticos asociados con el uso de tejido embrionario.

Otra fuente celular que posee capacidad pluripotencial es la célula madre pluripotente inducida (iPS), la cual fue primero desarrollada<sup>103</sup> reprogramando fibroblastos humanos por introducción de 4 genes (Oct3/4, Sox2, c-Myc y Klf4). Avances recientes en la producción de iPS a partir de células mesangiales y epiteliales derivadas de la orina<sup>104</sup> han incrementado la aplicación de células iPS para el tratamiento de enfermedad renal. iPS también han sido generadas de otras fuentes renales tales como PTCs y podocitos<sup>106</sup>, las cuales demostraron la alta universalidad de la tecnología de células iPS. Las células iPS pueden ser una fuente celular promisoría para el tratamiento de enfermedades renales en la etapa clínica una vez que la seguridad y otros puntos, incluyendo el control de crecimiento y la formación de teratoma de células iPS, se hayan resuelto.

Varios estudios han demostrado que las células iPS expresan genes anormales e inducen la respuesta inmune dependiente de células T<sup>106</sup>. Esta respuesta inmune inesperada por la infusión de células iPS debe ser clarificada antes de la aplicación clínica. Así, los protocolos de diferenciación renal deben ser establecidos definiendo condiciones de cultivo celular óptimas y factores adicionales tales como un tipo celular blanco y opciones de reprogramación<sup>107</sup>.

Las células madre, fetales y adultas o las células progenitoras pueden ser utilizadas en terapias basadas en células con menos restricciones de seguridad y consideraciones éticas.

Las células madre derivadas de fluido amniótico (AFSCs), como células madre multipotentes en el estadio fetal han sido consideradas como una fuente interesante para la medicina regenerativa<sup>108</sup>. AFSCs son, en teoría, fácilmente cultivadas y retienen el potencial de alta auto renovación con capacidad de diferenciación múltiple<sup>108</sup>. hAFSCs humanas, aisladas de fluido amniótico fueron expandidas *in vitro* sobreviviendo, proliferando e integrándose en el riñón embrionario y favorecieron el desarrollo del órgano, demostrando una fuente potencial para la regeneración renal.

Las células madre adultas han sido utilizadas con fines regenerativos. Estas incluyen células madre hematopoyéticas de sangre, células madre neurales de cerebro y médula espinal, células madre de hígado, células satélite y progenitores musculares de tejidos de músculo esquelético, y células madre mesenquimales (MSC) de médula ósea (BM) y tejido graso<sup>109</sup>. En particular, las MSCs han sido utilizadas en terapias y son aisladas por extracción mínimamente invasiva. MSCs pueden ser aisladas y cultivadas *“in vitro”* y presentan menos problemas éticos comparadas con otras fuentes de células. El potencial

de diferenciación múltiple y la habilidad de migración y reparación permite la restauración de órganos lesionados<sup>110</sup>, MSCs han sido extensamente utilizadas en el campo de la medicina regenerativa para favorecer la regeneración de una variedad de tejidos y órganos.

## Referencias bibliográficas

- Higgins RM, Daga S, Mitchell DA. Antibody-incompatible kidney transplantation in 2015 and beyond, Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association. 2015;30:1972-1978.
- Merhi B, Bayliss G, Gohh RY. Role for urinary biomarkers in diagnosis of acute rejection in the transplanted kidney, World journal of transplantation. 2015; 5:251-260.
- Fliser D, Novak J, Thongboonkerd V, Argiles A, Jankowski V, Girolami MA, Jankowski J, Mischak H. Advances in urinary proteome analysis and biomarker discovery, Journal of the American Society of Nephrology: JASN. 2007;18:1057-1071.
- Rifai N, Gillette MA, Carr SA. Protein biomarker discovery and validation: the long and uncertain path to clinical utility, Nature biotechnology. 2006;24:971-983.
- Ott HC, Matthiesen TS, Goh SK, Black LD, Kren SM, Netoff TI, Taylor DA. Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart, Nature medicine. 2008;14:213-221.
- Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF. Decellularization of tissues and organs, Biomaterials. 2006;27:3675-3683.
- Badylak SF, Taylor D, Uygun K. Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds, Annual review of biomedical engineering. 2011;13:27-53.
- Badylak SF, Weiss DJ, Caplan A, Macchiarini P. Engineered whole organs and complex tissues, Lancet. 2012;379:943-952.
- Niklason LE, and Langer R. Prospects for organ and tissue replacement, Jama. 2001;285:573-576.
- Schenke-Layland K, and Nerem RM. In vitro human tissue models--moving towards personalized regenerative medicine, Advanced drug delivery reviews. 2011;63:195-196.
- Moser PT, and Ott HC. Recellularization of organs: what is the future for solid organ transplantation?, Current opinion in organ transplantation. 2014;19:603-609.
- Fehr T, and Stussi G. ABO-incompatible kidney transplantation, Current opinion in organ transplantation. 2012;17:376-385.
- Conway J, Manlhiot C, Allain-Rooney T, McCrindle BW, Lau W, and Dipchand AI. Development of donor-specific isohemagglutinins following pediatric ABO-incompatible heart transplantation, American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2012;12:888-895.

14. Higgins R, Lowe D, Hathaway M, Williams C, Lam FT, Kashi H, Tan LC, Imray C, Fletcher S, Chen K, Krishnan N, Hamer R, Daga S, Edey M, Zehnder D, and Briggs D. Human leukocyte antigen antibody-incompatible renal transplantation: excellent medium-term outcomes with negative cytotoxic crossmatch, *Transplantation*. 2011;92:900-906.
15. Gupta A, Iveson V, Varagunam M, Bodger S, Sinnott P, and Thuraisingham RC. Pretransplant donor-specific antibodies in cytotoxic negative crossmatch kidney transplants: are they relevant?, *Transplantation*. 2008;85:1200-1204.
16. Lefaucheur C, Loupy A, Hill GS, Andrade J, Nochy D, Antoine C, Gautreau C, Charron D, Glotz D, and Suberbielle-Boissel C. Preexisting donor-specific HLA antibodies predict outcome in kidney transplantation, *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. 2010;21:1398-1406.
17. Singh N, Djamali A, Lorentzen, D, Pirsch JD, Levenson G, Neidlinger N, Voss B, Torrealba JR, Hofmann RM, Odorico J, Fernandez LA, Sollinger HW, and Samaniego M. Pretransplant donor-specific antibodies detected by single-antigen bead flow cytometry are associated with inferior kidney transplant outcomes, *Transplantation*. 2010;90:1079-1084.
18. Willicombe M, Brookes P, Santos-Nunez E, Galliford J, Ballow A, McLean A, Roufosse C, Cook HT, Dorling A, Warrens AN, Cairns T, and Taube D. Outcome of patients with preformed donor-specific antibodies following alemtuzumab induction and tacrolimus monotherapy, *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2011;11:470-477.
19. Bentall A, Cornell LD, Gloor JM, Park WD, Gandhi MJ, Winters JL, Chedid MF, Dean PG, and Stegall MD. Five-year outcomes in living donor kidney transplants with a positive crossmatch, *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2013;13:76-85.
20. Mond JJ, Lees A, and Snapper CM. T cell-independent antigens type 2, *Annual review of immunology*. 1995; 13:655-692.
21. Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, Briley KP, Bolin P, Kendrick WT, Kendrick SA, Morgan C, Maldonado AQ, Harland RC, and Terasaki PI. Impact of IgM and IgG3 anti-HLA alloantibodies in primary renal allograft recipients, *Transplantation*. 2014;97:494-501.
22. Lowe D, Higgins R, Zehnder D, and Briggs DC. Significant IgG subclass heterogeneity in HLA-specific antibodies: Implications for pathogenicity, prognosis, and the rejection response, *Human immunology*. 2013;74:666-672.
23. Bentall A, Tyan DB, Sequeira F, Everly MJ, Gandhi M J, Cornell LD, Li H, Henderson NA, Raghavaiah S, Winters JL, Dean PG, and Stegall MD. Antibody-mediated rejection despite inhibition of terminal complement, *Transplant international: official journal of the European Society for Organ Transplantation*. 2014;27:1235-1243.
24. Montgomery JR, Berger JC, Warren DS, James NT, Montgomery RA, and Segev DL. Outcomes of ABO-incompatible kidney transplantation in the United States, *Transplantation*. 2012; 93:603-609.
25. Higgins R, Lowe D, Hathaway M, Lam F, Kashi H, Tan LC, Imray C, Fletcher S, Chen K, Krishnan N, Hamer R, Zehnder D, and Briggs D. Rises and falls in donor-specific and third-party HLA antibody levels after antibody incompatible transplantation, *Transplantation*. 2009;87:882-888.
26. Arnold ML, Heinemann FM, Horn P, Ziemann M, Lachmann N, Muhlbacher A, Dick A, Ender A, Thammanichanon D, Fischer GF, Schaub S, Hallensleben M, Mytilineos J, Hitzler WE, Seidl C, Doxiadis II, and Spriewald BM. 16(th) IHIW: anti-HLA alloantibodies of the of IgA isotype in re-transplant candidates, *International journal of immunogenetics*. 2013;40:17-20.
27. Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, Prugger C, Duong van Huyen JP, Mooney N, Suberbielle C, Fremeaux-Bacchi V, Mejean A, Desgrandchamps F, Anglicheau D, Nochy D, Charron D, Empana JP, Delahousse M, Legendre C, Glotz D, Hill GS, Zeevi A, and Jouven X. Complement-binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival, *The New England journal of medicine*. 2013;369:1215-1226.
28. Park WD, Grande JP, Ninova D, Nath KA, Platt JL, Gloor JM, and Stegall MD. Accommodation in ABO-incompatible kidney allografts, a novel mechanism of self-protection against antibody-mediated injury, *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2003;3:952-960.
29. Tobian AA, Shirey RS, Montgomery RA, Cai W, Haas M, Ness PM, and King KE. ABO antibody titer and risk of antibody-mediated rejection in ABO-incompatible renal transplantation, *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2010;10:1247-1253.
30. Koo TY, and Yang J. Current progress in ABO-incompatible kidney transplantation, *Kidney research and clinical practice*. 2015;34:170-179.
31. Tazawa H, Irei T, Tanaka Y, Igarashi Y, Tashiro H, and Ohdan H. Blockade of invariant TCR-CD1d interaction specifically inhibits antibody production against blood group A carbohydrates, *Blood*. 2013;122:2582-2590.
32. Toki D, Ishida H, Setoguchi K, Shimizu T, Omoto K, Shirakawa H, Iida S, Horita S, Furusawa M, Ishizuka T, Yamaguchi Y, and Tanabe K. Acute antibody-mediated rejection in living ABO-incompatible kidney transplantation: long-term impact and risk factors, *American journal of transplantation: official journal of the American*

- Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2009;9:567-577.
33. Fidler ME, Gloor JM, Lager DJ, Larson TS, Griffin MD, Textor SC, Schwab TR, Prieto M, Nyberg SL, Ishitani MB, Grande JP, Kay PA, and Stegall MD. Histologic findings of antibody-mediated rejection in ABO blood-group-incompatible living-donor kidney transplantation, American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2004;4:101-107.
  34. Gloor JM, Lager DJ, Fidler ME, Grande JP, Moore SB, Winters JL, Kremers WK, and Stegall MD. A Comparison of splenectomy versus intensive posttransplant anti-donor blood group antibody monitoring without splenectomy in ABO-incompatible kidney transplantation, Transplantation. 2005;80:1572-1577.
  35. Racusen LC, and Haas M. Antibody-mediated rejection in renal allografts: lessons from pathology, Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN. 2006;1:415-420.
  36. Haas M, Segev DL, Racusen LC, Bagnasco SM, Locke JE, Warren DS, Simpkins CE, Lepley D, King KE, Kraus ES, and Montgomery RA. C4d deposition without rejection correlates with reduced early scarring in ABO-incompatible renal allografts, Journal of the American Society of Nephrology: JASN. 2009;20:197-204.
  37. Setoguchi K, Ishida H, Shimmura H, Shimizu T, Shirakawa H, Omoto K, Toki D, Iida S, Setoguchi S, Tokumoto T, Horita S, Nakayama H, Yamaguchi Y, and Tanabe K. Analysis of renal transplant protocol biopsies in ABO-incompatible kidney transplantation, American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2008;8:86-94.
  38. Haas M, Rahman, MH Racusen LC, Kraus ES, Bagnasco SM, Segev DL, Simpkins CE, Warren DS, King KE, Zachary AA, and Montgomery RA. C4d and C3d staining in biopsies of ABO- and HLA-incompatible renal allografts: correlation with histologic findings, American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2006;6:1829-1840.
  39. Takahashi K, Saito K, Nakagawa Y, Tasaki M, Hara N, and Imai N. Mechanism of acute antibody-mediated rejection in ABO-incompatible kidney transplantation: which anti-A/anti-B antibodies are responsible, natural or de novo?, Transplantation. 2010;89:635-637.
  40. Takahashi K. Recent findings in ABO-incompatible kidney transplantation: classification and therapeutic strategy for acute antibody-mediated rejection due to ABO-blood-group-related antigens during the critical period preceding the establishment of accommodation, Clinical and experimental nephrology. 2007;11:128-141.
  41. Iwasaki K, Miwa Y, Haneda M, Uchida K, Nakao A, and Kobayashi T. Significance of HLA class I antibody-induced antioxidant gene expression for endothelial cell protection against complement attack, Biochemical and biophysical research communications. 2010;391:1210-1215.
  42. Chen Song S, Zhong S, Xiang Y, Li JH, Guo H, Wang WY, Xiong YL, Li XC, Chen Shi S, Chen XP, and Chen G. Complement inhibition enables renal allograft accommodation and long-term engraftment in presensitized non-human primates, American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2011;11:2057-2066.
  43. Iwasaki K, Miwa Y, Ogawa H, Yazaki S, Iwamoto M, Furusawa T, Onishi A, Kuzuya T, Haneda M, Watarai Y, Uchida K, and Kobayashi T. Comparative study on signal transduction in endothelial cells after anti-a/b and human leukocyte antigen antibody reaction: implication of accommodation, Transplantation. 2012;93:390-397.
  44. West LJ. Targeting antibody-mediated rejection in the setting of ABO-incompatible infant heart transplantation: graft accommodation vs. B cell tolerance, Current drug targets. Cardiovascular & haematological disorders. 2005;5:223-232.
  45. Smith RN, Kawai T, Boskovic S, Nadazdin O, Sachs DH, Cosimi AB, and Colvin RB. Four stages and lack of stable accommodation in chronic alloantibody-mediated renal allograft rejection in Cynomolgus monkeys, American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2008;8:1662-1672.
  46. Alexandre GP, Squifflet JP, De Bruyere M, Latinne D, Reding R, Gianello P, Carlier M, and Pirson Y. Present experiences in a series of 26 ABO-incompatible living donor renal allografts, Transplantation proceedings. 1987;19:4538-4542.
  47. Clatworthy MR. Targeting B cells and antibody in transplantation, American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2011;11:1359-1367.
  48. Jackson AM, Kraus ES, Orandi BJ, Segev DL, Montgomery RA, and Zachary AA. A closer look at rituximab induction on HLA antibody rebound following HLA-incompatible kidney transplantation, Kidney international. 2015;87:409-416.
  49. Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D, Chang J, Hidalgo LG, Beuscart T, Verine J, Aubert O, Dupleumortier S, Duong van Huyen JP, Jouven X, Glotz D, Legendre C, and Halloran PF. Molecular microscope strategy to improve risk stratification in early antibody-mediated kidney allograft rejection, Journal of the American Society of Nephrology: JASN. 2014;25:2267-2277.
  50. Vo AA, Choi J, Cisneros K, Reinsmoen N, Haas M, Ge S, Toyoda M, Kahwaji J, Peng A, Villicana R, and Jordan SC. Benefits

- of rituximab combined with intravenous immunoglobulin for desensitization in kidney transplant recipients, *Transplantation*. 2014;98:312-319.
51. Genberg H, Kumlien G, Wennberg L, Berg U, and Tyden G. ABO-incompatible kidney transplantation using antigen-specific immunoadsorption and rituximab: a 3-year follow-up, *Transplantation*. 2008;85:1745-1754.
  52. Venetz JP, and Pascual M. New treatments for acute humoral rejection of kidney allografts, *Expert opinion on investigational drugs*. 2007;16:625-633.
  53. Crew RJ, and Ratner LE. ABO-incompatible kidney transplantation: current practice and the decade ahead, *Current opinion in organ transplantation*. 2010;15: 526-530.
  54. Stewart ZA, Collins TE, Schlueter AJ, Raife TI, Holanda DG, Nair R, Reed AI, and Thomas CP. Case report: Eculizumab rescue of severe accelerated antibody-mediated rejection after ABO-incompatible kidney transplant, *Transplantation proceedings*. 2012;44:3033-3036.
  55. Higgins R, Lowe D, Hathaway M, Lam FT, Kashi H, Tan LC, Imray C, Fletcher S, Chen K, Krishnan N, Hamer R, Zehnder D, and Briggs D. Double filtration plasmapheresis in antibody-incompatible kidney transplantation, *Therapeutic apheresis and dialysis: official peer-reviewed journal of the International Society for Apheresis, the Japanese Society for Apheresis, the Japanese Society for Dialysis Therapy*. 2010;14:392-399.
  56. Tyden G, Kumlien G, and Fehrman I. Successful ABO-incompatible kidney transplantations without splenectomy using antigen-specific immunoadsorption and rituximab, *Transplantation*. 2003;76:730-731.
  57. Tyden G, Kumlien G, Genberg H, Sandberg J, Lundgren T, and Fehrman I. ABO incompatible kidney transplantations without splenectomy, using antigen-specific immunoadsorption and rituximab, *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2005;5:145-148.
  58. Tobian AA, Shirey RS, Montgomery RA, Ness PM, and King KE. The critical role of plasmapheresis in ABO-incompatible renal transplantation, *Transfusion*. 2008;48:2453-2460.
  59. Hariharan S, McBride MA, Cherikh WS, Tolleris CB, Bresnahan BA, and Johnson CP. Post-transplant renal function in the first year predicts long-term kidney transplant survival, *Kidney international*. 2002;62:311-318.
  60. Yarlagadda SG, Coca SG, Formica RN Jr, Poggio ED, and Parikh CR. Association between delayed graft function and allograft and patient survival: a systematic review and meta-analysis, *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2009;24:1039-1047.
  61. Legendre C, Canaud G, and Martinez F. Factors influencing long-term outcome after kidney transplantation, *Transplant international: official journal of the European Society for Organ Transplantation*. 2014;27:19-27.
  62. Siedlecki A, Irish W, and Brennan DC. Delayed graft function in the kidney transplant, *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2011;11:2279-2296.
  63. Irish WD, Ilesley JN, Schnitzler MA, Feng S, and Brennan DC. A risk prediction model for delayed graft function in the current era of deceased donor renal transplantation, *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2010;10:2279-2286.
  64. Chatterjee PK. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review, *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2007;376:1-43.
  65. Eltzschig HK, and Carmeliet P. Hypoxia and inflammation, *The New England journal of medicine*. 2011;364:656-665.
  66. Agnew KJ, Aura J, Nunez N, Lee Z, Lawler R, Richardson CE, Culhane J, and Hitti J. Effect of semen on vaginal fluid cytokines and secretory leukocyte protease inhibitor, *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*. 2008;820845.
  67. Chen GY, and Nunez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage, *Nature reviews. Immunology*. 2010;10:826-837.
  68. Wilflingseder J, Reindl-Schwaighofer R, Sunzenauer J, Kainz A, Heinzel A, Mayer B, and Oberbauer R. MicroRNAs in kidney transplantation, *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2015;30:910-917.
  69. Wilflingseder J, Regele H., Perco P, Kainz A, Soleiman A, Muhlbacher F, Mayer B, and Oberbauer R. miRNA profiling discriminates types of rejection and injury in human renal allografts, *Transplantation*. 2013;95:835-841.
  70. Wei Q, Bhatt K, He HZ, Mi QS, Haase VH, and Dong Z. Targeted deletion of Dicer from proximal tubules protects against renal ischemia-reperfusion injury, *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2010;21:756-761.
  71. Scian MJ, Maluf DG, David KG, Archer KJ, Suh JL, Wolen AR, Mba MU, Massey HD, King AL, Gehr T, Cotterell A, Posner M, and Mas V. MicroRNA profiles in allograft tissues and paired urines associate with chronic allograft dysfunction with IF/TA, *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2011; 11:2110-2122.
  72. Spiegel JC, Lorenzen JM, and Thum T. Role of microRNAs in immunity and organ transplantation, *Expert reviews in molecular medicine*. 2011; 13:e37.
  73. Amrouche L, Rabant M, and Anglicheau D. MicroRNAs as biomarkers of graft outcome, *Transplantation reviews*. 2014; 28:111-118.
  74. Aboushwareb T, and Atala A. Stem cells in urology, *Nature clinical practice. Urology*. 2008; 5:621-631.

75. Jansen J, Fedecostante M, Wilmer MJ, van den Heuvel LP, Hoenderop JG, and Masereeuw R. Biotechnological challenges of bioartificial kidney engineering, *Biotechnology advances*. 2014;32:1317-1327.
76. Humes HD, Buffington DA, MacKay SM, Funke AJ, and Weitzel WF. Replacement of renal function in uremic animals with a tissue-engineered kidney, *Nature biotechnology*. 1999; 17:451-455.
77. Bussolati B, Hauser PV, Carvalhosa R, and Camussi G. Contribution of stem cells to kidney repair, *Current stem cell research & therapy*. 2009;4:2-8.
78. Wang PC, and Takezawa T. Reconstruction of renal glomerular tissue using collagen vitrigel scaffold, *Journal of bioscience and bioengineering*. 2005; 99:529-540.
79. Lu SH, Lin Q, Liu YN, Gao Q, Hao T, Wang Y, Zhou J, Wang H, Du Z, Wu J, and Wang CY. Self-assembly of renal cells into engineered renal tissues in collagen/Matrigel scaffold in vitro, *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. 2012;6:786-792.
80. Guimaraes-Souza NK, Yamaleyeva LM, AbouShwareb T, Atala A, and Yoo JJ. In vitro reconstitution of human kidney structures for renal cell therapy, *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2012;27:3082-3090.
81. Kim SS, Park HJ, Han J, Choi CY, and Kim BS. Renal tissue reconstitution by the implantation of renal segments on biodegradable polymer scaffolds, *Biotechnology letters*. 2003;25:1505-1508.
82. Lanza RP, Chung HY, Yoo JJ, Wettstein PJ, Blackwell C, Borson N, Hofmeister E, Schuch G, Soker S, Moraes CT, West MD, and Atala A. Generation of histocompatible tissues using nuclear transplantation, *Nature biotechnology*. 2002;20:689-696.
83. Song JJ, Guyette JP, Gilpin SE, Gonzalez G, Vacanti JP, and Ott HC. Regeneration and experimental orthotopic transplantation of a bioengineered kidney, *Nature medicine*. 2013;19:646-651.
84. Strutz F, Zeisberg M, Renziehausen A, Raschke B, Becker V, van Kooten C, and Muller G. TGF-beta 1 induces proliferation in human renal fibroblasts via induction of basic fibroblast growth factor [FGF-2], *Kidney international*. 2001;59: 579-592.
85. Phillips AO, and Steadman R. Diabetic nephropathy: the central role of renal proximal tubular cells in tubulointerstitial injury, *Histology and histopathology*. 2002;17:247-252.
86. Helbert MJ, Dauwe S, and De Broe ME. Flow cytometric immunodissection of the human nephron in vivo and in vitro, *Experimental nephrology*. 1999;7:360-376.
87. Cummings BS, Lasker JM, and Lash LH. Expression of glutathione-dependent enzymes and cytochrome P450s in freshly isolated and primary cultures of proximal tubular cells from human kidney, *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2000;293:677-685.
88. Qi W, Johnson DW, Vesey DA, Pollock CA, and Chen X. Isolation, propagation and characterization of primary tubule cell culture from human kidney, *Nephrology*. 2007;12:155-159.
89. Sagrinati C, Netti GS, Mazzinghi B, Lazzeri E, Liotta F, Frosali F, Ronconi E, Meini C, Gacci M, Squecco R, Carini M, Gesualdo L, Francini F, Maggi E, Annunziato F, Lasagni L, Serio M, Romagnani S, and Romagnani P. Isolation and characterization of multipotent progenitor cells from the Bowman's capsule of adult human kidneys, *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. 2006;17:2443-2456.
90. Bruno S, and Camussi G. Isolation and characterization of resident mesenchymal stem cells in human glomeruli, *Methods in molecular biology*. 2012;879:367-380.
91. Angelotti ML, Ronconi E, Ballerini L, Peired A, Mazzinghi B, Sagrinati C, Parente E, Gacci M, Carini M, Rotondi M, Fogo AB, Lazzeri E, Lasagni L, and Romagnani P. Characterization of renal progenitors committed toward tubular lineage and their regenerative potential in renal tubular injury, *Stem cells*. 2012;30:1714-1725.
92. Maeshima A, Yamashita S, and Nojima Y. Identification of renal progenitor-like tubular cells that participate in the regeneration processes of the kidney, *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2003;14:3138-3146.
93. Kitamura S, Yamasaki Y, Kinomura M, Sugaya T, Sugiyama H, Maeshima Y, and Makino H. Establishment and characterization of renal progenitor like cells from S3 segment of nephron in rat adult kidney, *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2005;19:1789-1797.
94. Lindgren D, Bostrom AK, Nilsson K, Hansson J, Sjolund J, Moller C, Jirstrom K, Nilsson E, Landberg G, Axelson H, and Johansson ME. Isolation and characterization of progenitor-like cells from human renal proximal tubules, *The American journal of pathology*. 2011;178:828-837.
95. Al-Awqati Q, and Oliver JA. The kidney papilla is a stem cells niche, *Stem cell reviews*. 2006;2:181-184.
96. Sallustio F, De Benedictis L, Castellano G, Zaza G, Lovre A, Costantino V, Grandaliano G, and Schena FP. TLR2 plays a role in the activation of human resident renal stem/progenitor cells, *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2010;24:514-525.
97. Smeets B, Boor P, Dijkman H, Sharma SV, Jirak P, Mooren F, Berger K, Bornemann J, Gelman IH, Floege J, van der Vlag J, Wetzels JF, and Moeller MJ. Proximal tubular cells contain a phenotypically distinct, scattered cell population involved in tubular regeneration, *The Journal of pathology*. 2013;229:645-659.
98. Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1981;78:7634-7638.

99. Morizane R, Monkawa T, and Itoh H. Differentiation of murine embryonic stem and induced pluripotent stem cells to renal lineage in vitro, *Biochemical and biophysical research communications*. 2009;390:1334-1339.
100. Kim D, and Dressler GR. Nephrogenic factors promote differentiation of mouse embryonic stem cells into renal epithelia, *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2005;16:3527-3534.
101. Steenhard BM, Isom KS, Cazcarro P, Dunmore JH, Godwin AR, St John PL, and Abrahamson DR. Integration of embryonic stem cells in metanephric kidney organ culture, *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. 2005;16:1623-1631.
102. Vigneau C, Polgar K, Striker G, Elliott J, Hyink D, Weber O, Fehling HJ, Keller G, Burrow C, and Wilson P. Mouse embryonic stem cell-derived embryoid bodies generate progenitors that integrate long term into renal proximal tubules in vivo, *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. 2007;18:1709-1720.
103. Takahashi K, and Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors, *Cell*. 2006;126:663-676.
104. Zhou T, Benda C, Dunzinger S, Huang Y, Ho JC, Yang J, Wang Y, Zhang Y, Zhuang Q, Li Y, Bao X, Tse HF, Grillari J, Grillari-Voglauer R, Pei D, and Esteban MA. Generation of human induced pluripotent stem cells from urine samples, *Nature protocols*. 2012;7:2080-2089.
105. Song B, Smink AM, Jones CV, Callaghan JM, Firth SD, Bernard CA, Laslett AL, Kerr PG, and Ricardo SD. The directed differentiation of human iPS cells into kidney podocytes, *PloS one*. 2012;7:e46453.
106. Okita K, Nagata N, and Yamanaka S. Immunogenicity of induced pluripotent stem cells, *Circulation research*. 2011;109:720-721.
107. Hendry CE, and Little MH. Reprogramming the kidney: a novel approach for regeneration, *Kidney international*. 2012;82:138-146.
108. De Coppi P, Bartsch G Jr, Siddiqui MM, Xu T, Santos CC, Perin L, Mostoslavsky G, Serre AC, Snyder EY, Yoo JJ, Furth ME, Soker S, and Atala A. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy, *Nature biotechnology*. 2007;25:100-106.
109. Caplan AI, and Bruder SP. Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century, *Trends in molecular medicine*. 2001;7:259-264.
110. Phinney DG, and Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair--current views, *Stem cells*. 2007;25:2896-2902.