



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
División de Estudio de Posgrado e Investigación
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

Prevalencia de infección/replicación de VBK en
receptores pediátricos de Trasplante Hepático y su
relación con la pérdida de la función renal a largo plazo

TESIS

Que para obtener el título de especialidad en
CIRUGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA

DR. BERNARDO RUSSEK PORTALES

TUTOR

DR. GUSTAVO VARELA FASCINETTO

México, D.F. Octubre 2009



A handwritten signature in black ink, likely belonging to the tutor, Dr. Gustavo Varela Fascinetta.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Prevalencia de infección/replicación de VBK
en receptores pediátricos de Trasplante
Hepático y su relación con la pérdida de la
función renal a largo plazo

Tesista:

Dr. Bernardo Russek-Portales

Tutor de Tesis:

Dr. Gustavo Varela-Fascinetto
Jefe del Departamento de Trasplantes

Asesor de Tesis:

Dra. Mara Medeiros Domingo
Laboratorio de Nefrología

Colaboración:

M. en C. Pilar García Roca
Laboratorio de Nefrología

México, D.F. a 28 de Octubre, 2009

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Introducción	5
Marco Teórico	7
Planteamiento del Problema	10
Justificación	10
Preguntas de Investigación	11
Hipótesis	11
Objetivos	11
Material y Métodos	12
Discusión y Resultados	15
Conclusiones	21
Referencias	22

DEDICATORIAS

A Hania: por toda tu paciencia, por todo el tiempo que no estuve contigo durante la realización de ésta tesis, por todo el amor que me brindas cada día.

A mis Padres: por todo su esfuerzo, que gracias a Ustedes he podido llegar hasta donde estoy hoy día

A mis Maestros: por el tiempo que cada uno de Ustedes dedicó en enseñarnos a ser cirujanos, y por la oportunidad que nos brindaron de poder disfrutarla día con día.

AGRADECIMIENTOS

A Don Gustavo: por todo el tiempo y apoyo que me brindó para la realización de ésta tesis, por ser ejemplo, por sus enseñanzas.

A la Dra. Mara: por toda la ayuda y conocimiento del tema, que fueron indispensables para la realización de ésta tesis.

A Pilar: por tu trabajo invaluable, ya que aportó la materia prima de éste trabajo con los datos que proporcionaste.

INTRODUCCIÓN

En Pediatría, el área de trasplante hepático es una en la que se han visto avances a pasos agigantados en las últimas décadas, mejorando el pronóstico y calidad de vida de los pacientes trasplantados. En la actualidad, se tiene una sobrevida cercana al 85% a 1 año, y del 75-80% a los 5 años post-trasplante.¹ En el Hospital Infantil de México Federico Gómez, se realizaron 62 trasplantes de hígado en 60 pacientes de 1998 al 2008, con una sobrevida actuarial de 80% a 1 año, y 75% a 5 años. Ésta sobrevida permite que existan nuevas y diversas complicaciones relacionadas al trasplante hepático; entre ellas, la pérdida de la función renal a lo largo del tiempo. Existen en la literatura reportes con incidencia acumulada de 13.9% de falla renal crónica severa en pacientes con trasplantes hepático con seguimiento a 36 meses.^{2,3}

En la población de pacientes trasplantados, podemos identificar cuatro categorías de falla renal en la literatura:

- Cuando hay enfermedad renal pre-existente y asociada a la enfermedad hepática, como la tirosinemia con Síndrome de Fanconi.
- El síndrome hepato-renal, en el que la resolución dependerá de un trasplante exitoso.
- La falla renal peri o post-trasplante temprano – las influencias tempranas para la función renal en el periodo post-trasplante son: la función renal pre-trasplante, la función temprana del injerto, la inducción con ciclosporina y tacrolimus, y el uso de otros fármacos nefrotóxicos.
- *La nefrotoxicidad crónica por Ciclosporina y Tacrolimus.*

En el campo de los trasplantes renales, se encuentra ya bien estudiada la relación que existe entre el poliomavirus BK (VBK) y la insuficiencia renal post-trasplante.

La infección primaria por el VBK se da entre los 4 y 5 años de vida. Aún no se conoce el mecanismo exacto de transmisión para éste virus, pero se cree que es a través del tracto respiratorio. El menor índice de sero-prevalencia se da a los 6 meses de vida, que es cuando se pierden los anticuerpos maternos. Posteriormente, la prevalencia aumenta hasta 75% entre adultos en el mundo entero, con un rango de 46 a 94%.

El sitio principal de alojamiento para el VBK es el tracto reno-urinario. Posterior a la infección, se monta una respuesta inmune de tipo humoral, que consiste en IgG, IgM, e IgA, las cuales están dirigidas a la proteína VP1 de la cápside del VBK. En ésta infección, existen diversos patrones de enfermedad por poliomavirus:

- el citopático no-inflamatorio
- el citopático inflamatorio
- el de la reconstitución inmune
- el auto-inmune
- el transformante.

La enfermedad por VBK tiene varios factores determinantes, entre los que destacan los factores del hospedero, del órgano blanco, y propios del virus. Por ende resulta de capital importancia, la relación de estos factores con la administración de inmuno-supresores, co-infecciones, mediadores inflamatorios, antivirales, e inmuno-globulinas.

Los pacientes con trasplante de órgano sólido necesitan recibir supresión de la respuesta inmune, para evitar que exista daño inmunológico al injerto con el riesgo de pérdida del mismo. Esta inmuno-supresión favorece la replicación de virus endógenos y exógenos.

En los pacientes post-trasplantados de riñón, se encuentra replicación asintomática del VBK desde el 10 al 68% de los pacientes. Debido al régimen de inmunosupresión en el que se encuentran, en algunos de éstos pacientes la enfermedad se puede manifestar como estenosis ureteral, falla transitoria del injerto, o falla irreversible debida a Nefritis Asociada a Poliomavirus (NAP). La prevalencia de la NAP se encuentra entre el 1 a 7% según estudios retrospectivos publicados. El diagnóstico de NAP se realiza en promedio a las 44 semanas post-trasplante (rango 6-270), con un

pico alrededor de las 24 semanas. La persistencia de NAP se asocia a falla irreversible del injerto del 10 al 100% de los casos, con seguimiento entre 12 a 240 semanas.

Con todo lo anterior, podemos entonces identificar dos líneas de pensamiento al hablar de falla renal en pacientes trasplantados:

1. Se identifica a pacientes con trasplante hepático y falla renal, en los que se atribuye la pérdida de la función renal al uso crónico de fármacos inmuno-supresores, tales como la ciclosporina y el tacrolimus. Sin embargo, cabe mencionar que en los pacientes de trasplante hepático, las dosis de inmunosupresión habitualmente son bajas.
2. Se identifica a pacientes con trasplante renal y falla renal, en los que se atribuye la pérdida de la función renal a la NAP, debido a la conocida relación de la inmuno-supresión, la reactivación del VBK, y el daño que genera el virus en éstos pacientes.

El propósito de éste trabajo fue el de demostrar o anular la hipótesis siguiente: siendo que los pacientes de trasplante hepático cuentan con inmuno-supresión, podrá la NAP ser una causa de pérdida de la función renal en estos pacientes?

Se analizó la población de pacientes de trasplante hepático del Hospital Infantil de México, obteniendo muestras de orina y sangre para búsqueda del VBK mediante PCR, y realización de examen general de orina. Se analizaron los resultados en relación a la función renal de cada uno de los pacientes y se buscaron asociaciones significativas.

MARCO TEÓRICO

VIROLOGÍA - VIRUS BK

Los poliovirus se encuentran con una amplia distribución entre los vertebrados. El ser humano es el hospedero natural para los Poliovirus hominis 1 y 2, mejor conocidos como Virus BK (VBK) y Virus JC (VJC), nombrados respectivamente por las iniciales de los pacientes en los que fueron aislados por primera vez en la década de los setentas.^{4,5,6}

El VBK pertenece a la familia polioviridae, con la característica de presentar DNA no-envuelto, con cápsides icosaédricas de 45 micras de diámetro. Las cápsides contienen los genomas virales, 5300 pares de bases, que forman el DNA circular de doble hélice. Los viriones son introducidos a la célula mediante endocitosis, y sus genomas se liberan dentro del núcleo de la célula hospedera⁷, para que posteriormente se ensamblen los viriones en el núcleo de la célula. En ésta etapa pueden observarse las partículas virales en el núcleo, aún en la microscopía de luz. Ésta etapa se caracteriza por la exfoliación de las Células en señuelo a la orina.

La infección primaria por VBK ocurre durante la infancia, en promedio entre los 4 y 5 años de vida, según estudios epidemiológicos realizados^{8, 9}. Aún se desconoce la vía de transmisión, pero se cree que pueda ser a través del tracto respiratorio. La sero-prevalencia es menor a la edad de 6 meses, cuando termina la protección por anticuerpos maternos, y aumenta hasta 75% en la población adulta (rango 46-94%). Posterior a la primo-infección, el VBK permanece latente en el tracto urinario como sitio principal, por lo que se piensa que existe una diseminación virémica dado el sitio de entrada. La reactivación y eliminación del virus por vía urinaria en los inmuno-competentes está reportada desde 0 a 62%^{9,10,11}.

PATRONES DE PRESENTACIÓN

Existen varios patrones de presentación en la enfermedad provocada por los poliovirus, que a continuación se describen:

A) El patrón *citopático* provoca disfunción orgánica secundaria a la lisis celular inducida por la replicación del poliovirus, con mínima o nula inflamación – esto por disfunción inmune como en los pacientes con SIDA avanzado o posterior a trasplante de médula ósea, o afección de órgano “santuario”. El prototipo de éste patrón es la Leucoencefalopatía Multifocal Progresiva (LMP).

B) El patrón *citopático inflamatorio* provoca la disfunción orgánica secundaria a la replicación del poliovirus asociada a respuesta inflamatoria limitada, también generada por la lisis celular y necrosis. Los infiltrados inflamatorios incluyen polimorfonucleares, macrófagos y monocitos, linfocitos, y células plasmáticas. El prototipo de éste patrón es la Nefropatía Asociada a Poliovirus.

C) El patrón de *reconstitución inmune* provoca disfunción orgánica por una respuesta inflamatoria intensa, cuando existe una recuperación de neutrófilos, células Natural-Killer, y funcionamiento de las células T. La entidad prototipo es la LMP posterior a la recuperación de la función inmune, una vez que se inicia tratamiento anti-retroviral.

D) El patrón *auto-inmune* presenta disfunción orgánica en relación a respuestas auto-inmunes inducidas por la replicación de los poliovirus. Puede inducir Lupus en pacientes predispuestos.

E) El patrón de *transformación* degenera hacia la malignidad, provocado también por la replicación del poliovirus – se ha relacionado la infección por VBK de manera controversial a algunas entidades como el ependimoma, el mesotelioma, y el carcinoma del urotelio¹².

FACTORES DE RIESGO

Existen diversos factores de riesgo para la presentación de la enfermedad por VBK:

- Del hospedero, el estado serológico con respecto al VBK, su estado inmunológico, y la edad.

- De los órganos, que tanto permite la replicación del VBK, o si presenta daño inmunológico o tóxico.
- De los virus, sus características de replicación y serológicas.
- Misceláneos: influyen moduladores de la respuesta inmune tales como drogas inmunosupresoras, co-infecciones, mediadores de la inflamación, anti-virales, e inmunoglobulinas.

PRESENTACIÓN CLÍNICA

En los pacientes inmunocompetentes, se presenta enfermedad en la primo-infección, caracterizada por un curso sub-clínico o inespecífico (cuadro catarral). En los pacientes con disfunción inmune heredada, se aumenta la susceptibilidad a varias complicaciones infecciosas¹³. Se presume que la afectación se debe a una elevada replicación de VBK en órganos que lo permiten. Finalmente, en los pacientes con disfunción inmune adquirida, como los infectados por VIH, la progresión de la inmunodeficiencia permite que aumente la replicación del virus, generando manifestaciones tales como la nefritis.

Otro grupo de pacientes es aquel en los que se modifica la respuesta inmune de manera terapéutica, como en los receptores de trasplante de órgano sólido. En trasplante renal, la replicación asintomática del VBK se ha encontrado en 10-68% de los pacientes^{14, 15, 16}. En algunos de éstos pacientes, la enfermedad por VBK puede presentarse como estenosis ureteral, disfunción del injerto, y falla irreversible secundaria a NAP. La presentación dependerá también del régimen de inmunosupresión de cada paciente.

VBK Y TRASPLANTE RENAL

En los pacientes con trasplante renal, la NAP se atribuye al VBK en la mayoría de los casos. La prevalencia se reporta entre 1-7%, según estudios retrospectivos realizados¹⁶⁻³³, con diagnóstico promedio a las 44 semanas post-trasplante, con un pico a las 24 semanas. La persistencia de la NAP se asoció a falla irreversible del injerto de un 10-100% en un seguimiento desde 12-240 semanas. No obstante, la detección y monitoreo para replicación del VBK mediante citología urinaria o biopsia programada, permitió el diagnóstico oportuno de la NAP en etapas más tempranas. Esto procuró una mejor respuesta a la disminución de la inmunosupresión realizada. Con respecto al uso de medicamentos inmunosupresores, lo que está identificado claramente hasta ahora, es la relación entre la intensidad del tratamiento y la presentación del VBK. Cabe mencionar que es la intensidad del tratamiento, el principal objetivo de intervención en el manejo de la NAP.

La presentación clínica de la NAP es sutil. La función del injerto disminuye progresivamente con la enfermedad persistente, lo que indica daño progresivo. Se ha reportado obstrucción ureteral, linfocele, hidronefrosis, e infecciones de vías urinarias como forma de presentación en algunos pacientes^{23, 28, 29}.

MONITOREO - DETECCIÓN

En relación al monitoreo y detección de VBK, se puede lograr mediante la búsqueda de replicación de VBK en la orina o sangre de pacientes en riesgo. Se puede realizar citología urinaria en búsqueda de las células en señuelo, PCR cuantitativa para DNA o RNA viral, y microscopia electrónica para detección de viriones. Para que el virus pueda ser liberado después de la replicación, es necesario que haya lisis celular. Es por eso que la replicación del virus puede considerarse como citopática por el daño celular que provoca.

El diagnóstico de NAP amerita de biopsia del injerto, lo que provee una alta especificidad para el estadio, y permite el diagnóstico de otros procesos patológicos del injerto, tales como rechazo agudo, toxicidad a fármacos, o recurrencia de la enfermedad subyacente. Se ha considerado una carga de 6000 copias o más de VBK en biopsias renales como mínimo para diagnóstico de Nefritis Asociada a Poliomavirus (NAP).

MANEJO

Actualmente, el manejo es complicado debido a la falta de protocolos validados y antivirales efectivos. Se utiliza la propia respuesta inmune del paciente para controlar la replicación del VBK. La

intervención más recomendada es la reducción de la inmunosupresión, con el riesgo consabido de presentar rechazo agudo. Se puede realizar reducción, cambio, o detención del tratamiento inmunosupresor. En los pacientes en los que presentan rechazo, es recomendable iniciar manejo anti-rechazo primero, y una vez estabilizada la función del injerto, entonces disminuir el manejo inmunosupresor para permitir el aclaramiento del VBK, que requiere de mayor tiempo de manejo.

Aún no se ha establecido el tratamiento de elección para el VBK. La experimentación in-vitro sugiere que el Cidofovir tiene actividad en contra de los poliomavirus, mientras que otros (aciclovir, ganciclovir, foscarnet, brivudina, ribavirina, citarabina, y amantadina) fueron inefectivos. El cidofovir se acumula en los túbulos renales, y es excretado a través del riñón. Éste medicamento provoca nefrotoxicidad, pero se puede reducir mediante la administración de Probenecid. En los protocolos realizados hasta el momento, se ha logrado aclaramiento del VBK con la administración del Cidofovir. No obstante, en todos los protocolos se realizó igualmente disminución o suspensión del esquema de inmunosupresión, sea antes o durante el tratamiento con Cidofovir^{34,35}. Por lo tanto, no es posible separar por completo el efecto logrado mediante una y otra maniobra terapéutica.

VBK y TRASPLANTE EXTRA-RENAL

Existen escasos reportes de incidencia y efectos del VBK en pacientes de trasplante de órgano sólido no-renal^{36, 37, 38}. En trasplante cardíaco, Puliyanda reporta una población de 24 pacientes trasplantados en los que tuvo 0% de viremia para VBK, y sólo 1 de 37 pacientes de trasplante hepático tuvieron una cantidad baja de copias de VBK detectadas³⁹. En trasplante pancreático, la mayoría de las series reportan casos de trasplante Páncreas-Riñón Simultáneo, con dosis de inmunosupresión mucho mayores debido a que son dos los órganos trasplantados. La incidencia acumulada de nefropatía por Virus BK en ésta población se reporta en 5.6%⁴⁰. En trasplante intestinal la evidencia es prácticamente inexistente. Loeches presenta en una población de 62 adultos trasplantados de hígado, viruria de 14.5% y viremia de 5.1%, con 18% de sus pacientes infectados⁴¹.

TRASPLANTE HEPÁTICO

El trasplante hepático en humanos ve su primer caso exitoso en 1967, realizado por Starzl y colaboradores⁴³. Para 2004, se han realizado 68mil trasplantes en los Estados Unidos. En 2003 solamente, se realizaron 5670 trasplantes⁴⁴, y en 2002, fueron 1818 pacientes los que fallecieron en lista de espera¹, dada la falta de órganos trasplantables. Se indica el trasplante para cualquier tipo de falla hepática, sea aguda o crónica, provocada por diversas causas tanto congénitas como adquiridas⁴²; también puede ser indicado en casos con calidad de vida extremadamente mala, tales como prurito intratable, enfermedad ósea metabólica, colangitis bacteriana recurrente, o desnutrición progresiva. En algunas enfermedades hepáticas terminales, el trasplante hepático es la única y última alternativa de tratamiento. La evolución en cuanto al manejo, y sobretodo en la sobrevida en ésta población de pacientes, ha mejorado notablemente a través de los años.

Actualmente, la sobrevida en general de los pacientes trasplantados de hígado, se reporta de 85% al año de vida, y 75% a 5 años¹. En el Hospital Infantil de México Federico Gómez, se han realizado 62 trasplantes de hígado en 60 pacientes de 1998 a 2008, con una sobrevida actuarial de 80% a 1 año, y 75% a 5 años. Este aumento de la sobrevida trae consigo como consecuencia, la aparición de algunas complicaciones que antes no se presentaban, ya que los pacientes fallecían de manera prematura. De las complicaciones tardías que hoy se reportan a largo plazo, destaca la pérdida de la función renal en 13.9% de los pacientes, que puede culminar en insuficiencia renal.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Conforme los cuidados en los pacientes de trasplante hepático avanzan, y el arsenal de inmunosupresores disponibles es más numeroso, la sobrevida de los pacientes post-trasplante aumenta progresivamente. Estos avances, y el incremento de la sobrevida mencionado, generan nuevos problemas en ésta selecta población de pacientes pediátricos, entre los que destaca la insuficiencia renal.

Sin embargo, se desconoce si en los pacientes de trasplante hepático, la pérdida de la función renal que hoy es atribuida en la mayoría de los casos a la inmunosupresión y los medicamentos utilizados, pueda deberse a reactivación del VBK por la inmunosupresión y a nefritis secundaria al virus.

JUSTIFICACIÓN

Debido a que aún se desconocen las causas exactas de la falla renal en pacientes de trasplante, es necesario investigar al respecto para poder esclarecer cuál es el origen de ésta problemática. Consecuentemente, se podrían establecer estrategias para mejorar las condiciones de éstos pacientes, y por consiguiente mejorar la sobrevida actual de los mismos.

El encontrar relación entre el VBK y la falla renal de éstos pacientes, permitirá orientar esfuerzos hacia la erradicación del virus en éstos pacientes. Se podría evitar la nefritis secundaria al VBK y conservar la función renal de éstos pacientes. Si se descarta ésta relación, se habrán de encaminar esfuerzos en la investigación más profunda de las causas hasta ahora identificadas, y sobre todo para encontrar causas aún no identificadas claramente.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1. ¿Cuál es la prevalencia de pérdida de la función renal a largo plazo en los receptores pediátricos de trasplante hepático?
2. ¿Cuál es la prevalencia de infección/replicación viral por Virus BK a largo plazo en los receptores pediátricos de trasplante hepático?
3. ¿Existe alguna relación entre la infección/replicación viral por Virus BK en los receptores pediátricos de trasplante hepático y el deterioro de la función renal?
4. ¿Tienen los receptores pediátricos de trasplante hepático y deterioro de la función renal, una mayor prevalencia de infección/replicación viral por Virus BK?

HIPÓTESIS

El deterioro a largo plazo de la función renal en receptores pediátricos de trasplante hepático, se asocia a una mayor prevalencia de infección/replicación por Virus BK.

OBJETIVOS

1. Calcular la prevalencia de la pérdida de la función renal a largo plazo en receptores pediátricos de trasplante hepático.
2. Calcular la prevalencia de la infección/replicación viral de VBK en receptores pediátricos de trasplante hepático.
3. Determinar si existe relación entre la infección/replicación viral y la pérdida de a función renal en los receptores pediátricos de trasplante hepático.

MATERIAL Y MÉTODOS

- DISEÑO: Estudio observacional, descriptivo, transversal
 - POBLACIÓN DE ESTUDIO: Receptores pediátricos de trasplante hepático.
 - POBLACIÓN ACEQUIBLE: Receptores pediátricos de trasplante hepático operados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez de 1998 a la fecha, con 3 meses o más de sobrevida post-trasplante.
 - MÉTODO DE MUESTREO: Sistemático, por conveniencia
 - MUESTRA: Consecutiva, todos los pacientes pediátricos operados de trasplante hepático, elegibles para el estudio.
 - CRITERIOS DE SELECCIÓN:
 - Criterios de inclusión: pacientes pediátricos operados de trasplante hepático de 1998 a la fecha en el HIMFG (menores de 18 años al momento del trasplante), con evolución de al menos tres meses posterior al trasplante, y que acepten participar en el protocolo mediante la firma del consentimiento informado.
 - Criterios de no inclusión: pacientes con trasplante multiorgánico, pacientes con insuficiencia renal al momento del trasplante hepático, pacientes con enfermedad renal asociada
 - Criterios de eliminación: pacientes con expediente incompleto
 - VARIABLES DE ESTUDIO:
 - Número consecutivo
 - Registro: se utilizará el número de registro permanente del Hospital
 - Edad: medida en años. Escala de medición: cuantitativa continua
 - Peso: medida en kilogramos
 - Talla: medida en centímetros
 - Sexo: masculino/femenino. Escala de medición: cualitativa nominal dicotómica
 - Fecha de Trasplante
 - Fecha de Muestras
 - Diagnóstico
 - Inmunosupresión:
 - Dosis total de FK
 - Dosis ponderal de FK
 - Creatinina
 - Nivel sérico de FK
1. Infección/Replicación de Virus BK:
 - Definición conceptual: presencia anormalmente elevada de replicación viral en el líquido corporal estudiado (orina, sangre)
 - Definición operacional: detección de 1×10^5 copias por μg de mRNA o más se considera como resultado positivo
 - Escala de medición: variable cuantitativa discreta
 2. Pérdida de la Función Renal:
 - Definición conceptual: decremento progresivo de la tasa de depuración de creatinina, calculado de acuerdo a la fórmula de Schwartz.
 - Definición operacional: Decremento igual o mayor al 20% de la tasa de depuración de creatinina según la fórmula de Schwartz.
 - Escala de medición: variable nominal dicotómica

DESCRIPCIÓN OPERATIVA

1. Se realizará la revisión de los expedientes de los pacientes operados de trasplante hepático en el Hospital Infantil, realizando la inclusión y exclusión de los pacientes según los criterios ya definidos.
2. Se iniciará la captura de datos desde los expedientes en el formato anexo a éste trabajo. Los datos obtenidos de los expedientes serán vaciados en una hoja de Excel, como la que se muestra en el formato anexo.
3. Se calculará la depuración de creatinina de acuerdo a la fórmula de Schwartz:
 - Depuración de Creatinina:
 $\text{mL/min/1.73 m}^2 = [k \times \text{talla (cm)}] / [\text{creatinina sérica (mg/dL)}]$ donde:
k = 0.45 para pacientes <2 años de edad; k = 0.55 para varones de 2 años y menores de 13 años, y para mujeres de 2 a 16 años; k = 0.7 para varones de 13 años y mayores.
4. Se citará a los pacientes que califican para el estudio, se les explicará el mismo, y se ofrecerá la hoja de consentimiento informado, la cuál será firmada en caso de aceptar participar en el protocolo
5. En sus visitas de seguimiento por el departamento de Trasplantes del Hospital Infantil de México, en las que habitualmente se toman muestras a los pacientes, se tomarán las muestras extras para el estudio:
 - 50cc de orina, de chorro medio, de la primera micción del día, del mismo día en que se entrega, a temperatura ambiente, en un frasco limpio y cerrado.
 - 1 tubo con EDTA (con anti-coagulante) con 2-4cc de sangre, obtenida mediante venopunción.
 - 1 tubo "seco" (sin anti-coagulante) con 2-4cc de sangre, obtenida mediante venopunción.
 - *Tratándose de un estudio transversal, se tomará solamente una muestra de sangre y una muestra de orina por cada paciente.*
6. Se realizará el proceso de las muestras en el Laboratorio de Nefrología del Hospital Infantil de México: Determinación de Creatinina, y Procesamiento para determinar PCR de VBK:

PROCESO PARA LA ORINA

1. Se centrifuga la muestra de 50cc de orina, 30 minutos, a 3,000rpm, para la obtención del sedimento, retirando el sobrenadante.
2. Se realiza el lavado del sedimento con solución PBS (buffer de fosfatos, 1cc), en dos ocasiones, con centrifuga a 12,000rpm durante 5 minutos en cada lavado. Se obtiene sedimento limpio y se retira sobrenadante.
3. Se agrega solución "RNA-Later" para conservación.
4. Se congela el sedimento a -70°C para su conservación hasta el momento de su procesamiento.
5. Al momento de su procesamiento, se realiza extracción de mRNA mediante el kit QIAGEN
 - a. Se obtendrá cDNA a partir del mRNA por PCR
 - b. Se cuantificará y determinará la calidad del cDNA a través del equipo NANO DROP 1000
6. Se determinará el número de copias mediante la técnica de PCR en tiempo real, con el 7500 REAL TIME PCR SYSTEM. Sensibilidad del 93.8% y especificidad del 93.9%⁴³
7. La determinación de Virus BK en cada una de las muestras, se realizará por duplicado. Para que una muestra sea considerada como válida, no deberá de existir una variabilidad mayor al 5% entre los resultados de la muestra y su duplicado⁴⁴.

PROCESO PARA LA SANGRE

1. La determinación de Virus BK en las muestras de sangre será realizada tanto en células nucleadas, así como en el suero. En las muestras con anticoagulante se centrifugan las muestras para separar el paquete celular, y poderlo almacenar o procesar. La muestra sin anticoagulante inicialmente se deja en reposo para que haya retracción del coágulo, posteriormente se centrifuga y se separa el suero. Si las muestras ameritan almacenamiento, esto se hace a -70°C hasta el momento en que sean procesadas. Posteriormente se sigue la misma metodología explicada previamente en el proceso de la orina.
2. La determinación de Virus BK en cada una de las muestras, se realizará por duplicado. Para que una muestra sea considerada como válida, no deberá de existir una variabilidad mayor al 5% entre los resultados de la muestra y su duplicado⁴⁴.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizaron medidas de tendencia central y dispersión para descripción de las variables continuas y para las variables cualitativas se utilizaron frecuencias y proporciones. Para establecer si existió asociación entre dos variables cualitativas nominales se utilizaron tablas de contingencia las cuales fueron analizadas con prueba de Chi cuadrada o en su caso con prueba exacta de Fisher (si presenta tamaños muestrales pequeños en al menos alguna celda). En el caso de variables ordinales se realizó prueba de U de Mann-Whitney entre dos grupos de muestras independientes.

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

POBLACIÓN DE ESTUDIO

En el período de 1998 al 2008 se realizaron 62 trasplantes de hígado en 60 pacientes en el Hospital Infantil de México. La sobrevivencia actuarial al año es del 80%. En el estudio se incluyeron 39 pacientes, y los diagnósticos de los pacientes fueron los esperados para una serie pediátrica de trasplante de hígado: atresia de vías biliares 18, síndrome de Alagille 5, hepatitis fulminante 5, hepatitis neonatal 2, tirosinemia 2, hepatocarcinoma 2, enfermedad de Caroli 1, hepatitis crónica autoinmune 1, leiomioma hepático 1, hipercolesterolemia 1, hipoplasia de vías biliares 1.

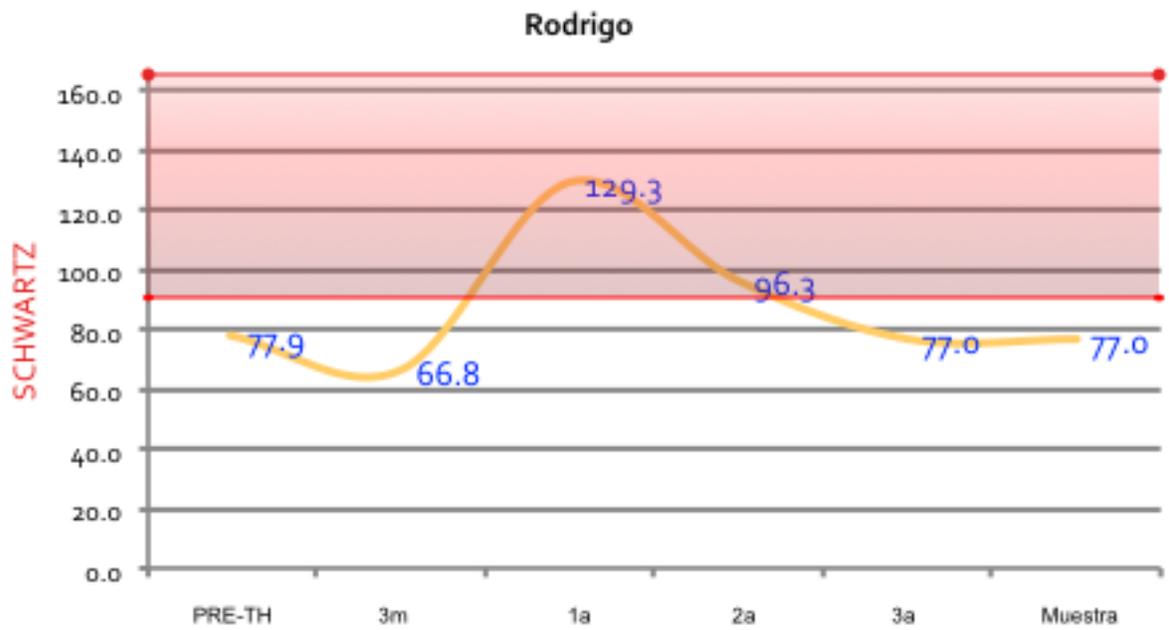
FUNCIÓN RENAL

El rango de seguimiento de los pacientes fue de 8 a 124 meses post-trasplante, con una media de seguimiento de 65.7 meses. Consideramos que nuestro seguimiento es apropiado para poder valorar la función renal del grupo. En la Tabla 1 podemos observar todas las depuraciones de creatinina según la fórmula de Schwartz (DCrS) de cada uno de los pacientes, a lo largo de su evolución post-trasplante. En la última determinación de cada paciente, que corresponde a la fecha de toma de muestras para el estudio, resalta que todos los valores se encuentran dentro de normalidad para la edad, excepto por un paciente. Este paciente presentó una DCrS de 77 contra un esperado para la edad de 89. Sin embargo, en el análisis individualizado de éste paciente, observamos que incluso antes del trasplante el paciente ya presentaba cifras anormales, lo que sugiere daño renal pre-trasplante, y en las siguientes determinaciones realizadas, la depuración de creatinina se ha mantenido estable, lo que demuestra que no ha existido pérdida de la función renal (Gráfica 1).

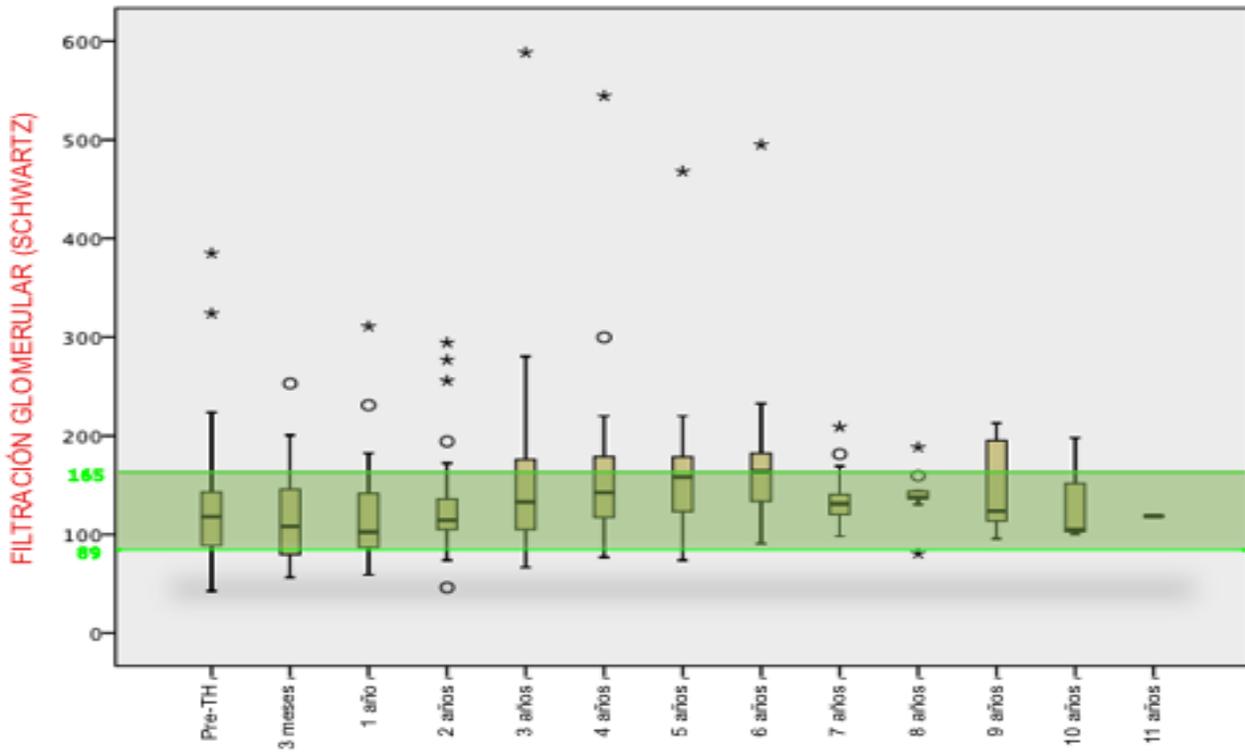
Al analizar las DCrS, agrupadas de acuerdo a los tiempos de evolución post-trasplante en que fueron obtenidas, observamos que durante todo el periodo de seguimiento, la DCrS se ha encontrado dentro de la normalidad (mediana, PC 25-75) y que ningún paciente ha presentado pérdida o deterioro de la función renal (Gráfica 2).

En todos los pacientes se realizaron exámenes generales de orina al momento de la obtención de muestras para el estudio. Todos los resultados se encontraron dentro de normalidad, con excepción de el paciente que tuvo DCrS con valores anormales, ya que presentó proteinuria como anomalía en su examen general de orina.

GRÁFICA 1: EVOLUCIÓN DE LA FUNCIÓN RENAL



GRÁFICA 2: DIAGRAMA DE CAJAS, DCrS POR TIEMPO POST-TH

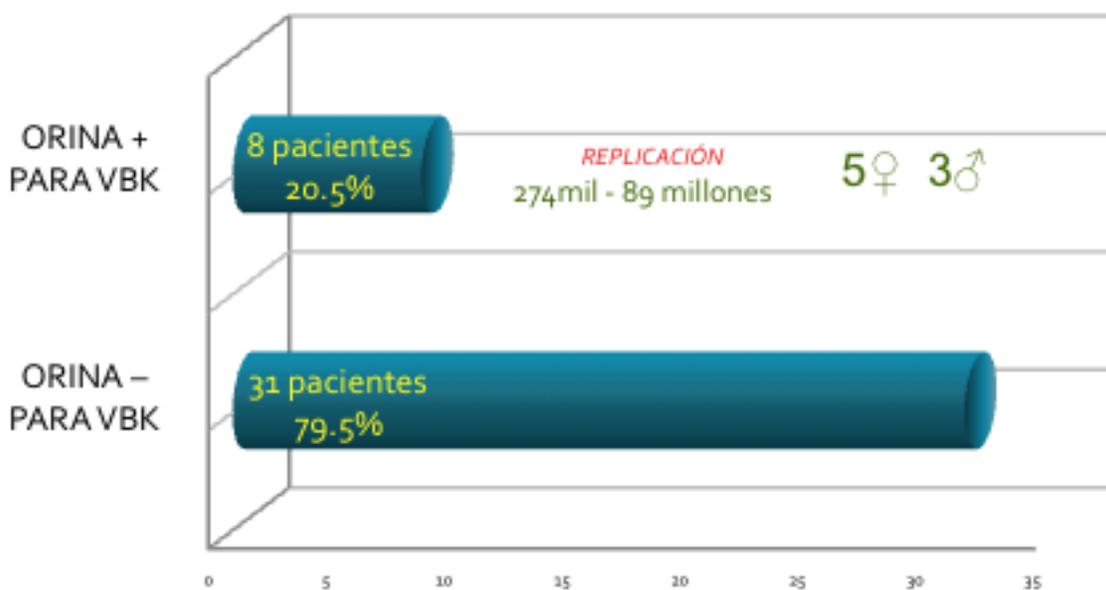


CARGA VIRAL

Todas las muestras de sangre procesadas, tanto en leucocitos como en suero, fueron negativas para Virus BK mediante PCR. Esto nos arroja una viremia del 0% en nuestra población.

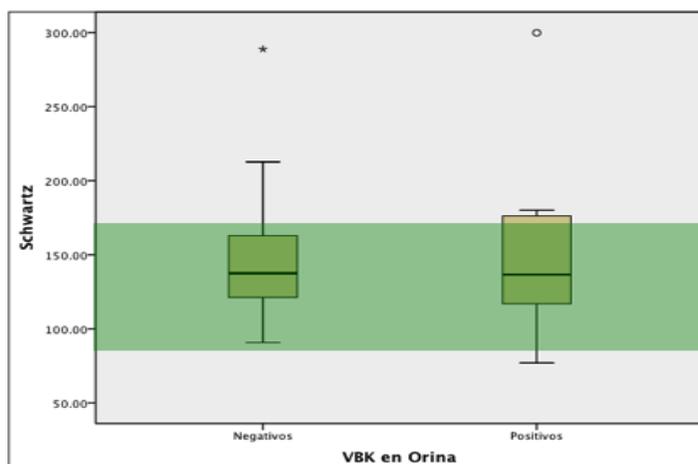
De las 39 muestras de orina que fueron procesadas mediante PCR, 8 resultaron positivas para Virus BK, representando una prevalencia de 20.5% del total de muestras. El rango de copias de Virus BK detectado fue de 274mil a 89 millones, todas en rangos de replicación activa. La distribución por sexo y diagnóstico en las muestras positivas fue regular (Gráfica 3).

GRÁFICA 3: RESULTADOS DE VIRUS BK EN MUESTRAS DE ORINA



COMPARACIÓN DE PACIENTES VBK+ VS VBK-

GRÁFICA 4: DCrS vs. Resultado de VBK



Se compararon algunas de las variables demográficas de éstos grupos, y observamos que las dos poblaciones son muy similares, tanto en las edades al trasplante y al muestreo, el peso al momento de la muestra, e incluso en la función renal obtenida en la última muestra realizada en cada uno (Tabla 2). Cuando se comparó la DCrS entre ambos grupos, no se encontró una diferencia significativa, siendo la media de DCrS para los pacientes VBK+ de 154.6 vs. 140.6 en los VBK-. En la gráfica 4 se observa que en ambos grupos la DCrS siempre cae dentro de los valores de normalidad.

TABLA 2: COMPARACIÓN DE VARIABLES

	Orina VBK positiva	Orina VBK negativa	p
Edad al Trasplante	4.1 años	5.5 años	ns
Edad al Muestreo	9.1 años	10.8 años	ns
Peso al Muestreo	31.2kg	31.9kg	ns
Schwartz al Muestreo	154.6	140.6	ns

TABLA 3: VIRUS BK VS. EVENTOS DE RECHAZO

La incidencia de rechazo agudo para el grupo VBK+ fue de 62.5% (5 de 8 pacientes) vs. el 45.2% para los VBK- (14 de 31 pacientes), lo que no mostró diferencia significativa y sugiere que el hecho de haber presentado eventos de rechazo, no resultan un factor de riesgo para presentar Virus BK en orina.

x² (p = 0.38)	CON RECHAZO	SIN RECHAZO
ORINA VBK POSITIVA	n = 5 (62.5%)	n = 3
ORINA VBK NEGATIVA	n = 14 (45.2%)	n = 17

Los pacientes que presentan eventos de rechazo agudo, habitualmente son manejados con dosis adicionales de esteroides. La utilización de éstos medicamentos aumenta el grado de inmunosupresión como efecto secundario. En nuestro estudio hicimos una comparación entre los grupos con orina positiva y negativa para Virus BK en relación al número de rechazos promedio por cada paciente. Con orina positiva, los pacientes tuvieron 2.6 eventos de rechazo promedio, y los que tuvieron orina negativa, 1.6 eventos por paciente. Aunque sí existe una diferencia aparente, no es estadísticamente significativa (p=0.34)

Cuando se analizó el tipo de inmunosupresión entre ambos grupos, no se encontró diferencia significativa. La dosis ponderal de Tacrolimus para los pacientes VBK+ fue de 0.07mg/kgd y para los VBK- de 0.08mg/kgd. De manera similar, los niveles séricos de Tacrolimus fueron de 5.2ng/ml y 5.4ng/ml respectivamente ($p=0.58$). Podemos interpretar que ambos grupos recibieron la misma inmunosupresión, por lo que no representa un factor que marque diferencia para la positividad de Virus BK en orina.

TABLA 4: INMUNOSUPRESIÓN Y VIRUS BK

<u>ORINA VBK NEGATIVA</u>	<u>ORINA VBK POSITIVA</u>
Dosis media: 0.08 _{mg/kgd}	Dosis media: 0.07 _{mg/kgd}
Mediana: 0.07 _{mg/kgd}	Mediana: 0.06 _{mg/kgd}
Rango: 0 – 0.20 _{mg/kgd}	Rango: 0.03 – 0.21 _{mg/kgd}
Niveles Tacro: 5.4 _{ng/ml}	Niveles Tacro: 5.2 _{ng/ml}
Prueba exacta de Fisher ($p = 0.58$)	

CONCLUSIONES

Nuestro estudio demuestra que sí existe replicación activa del Virus BK en la orina de algunos de nuestros pacientes. La prevalencia de replicación que encontramos en esta cohorte de pacientes fue de 20.5% (8 de 39 pacientes). Las prevalencias encontradas en éste estudio son semejantes a las de la población inmunocompetente, las cuales se reportan entre 0-62%^{9,10,11}.

A pesar de haber utilizado pruebas de detección tan sensibles como la PCR de tiempo real, no logramos detectar presencia del virus en sangre – ni en células nucleadas, ni en plasma, obteniendo una viremia de 0%. Esto puede ser explicado por el tropismo que tiene el virus hacia el urotelio, lo que nos hizo imposible detectarlo en sangre.

La función renal de nuestra cohorte se encuentra sin deterioro. Al evaluar a cada uno de los pacientes a lo largo de su evolución, no encontramos pérdida de la función renal a largo plazo. Esta función renal conservada probablemente se deba a que nuestros pacientes reciben Tacrolimus como monoterapia, y las dosis que reciben son muy bajas, lo que indirectamente actúa como factor de protección hacia la función renal.

En el análisis de las diferentes variables que fueron incluidas en nuestro estudio, no encontramos asociaciones significativas que mencionar.

Finalmente, podemos concluir que la presencia de virus BK positivo en orina no tuvo relación con pérdida de la función renal en nuestros pacientes. Si bien el Virus BK se encuentra presente en algunos de nuestros pacientes, no ha tenido repercusión alguna en la función renal de nuestros pacientes, y no representa problema para su evolución hasta el momento.

REFERENCIAS

1

1. 2004 OPTN/SRTR annual report. Available at: <http://www.optn.org/AR2004/default.htm>. Accessed April 17, 2005.
2. Randhawa PS. Chronic renal failure after liver transplantation. *Am J Transplant* 2005; 5: 967-968
3. Ojo AO. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med*, 2003; 349: 931-940
4. Hirsch HH. Poliovirus BK. *Lancet Infect Dis*, 2003; 3: 611-623
5. Gardner SD, Field AM, Coleman DV, Hulme B. New human papovavirus (BK) isolated from urine after transplantation. *Lancet* 1971; 1: 1253-57.
6. Padgett BL, Walker DL, Zu Rhein GM, Eckroade RJ, Dessel BH. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leucoencephalopathy. *Lancet* 1971; 1: 1257-60.
7. Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Wali R, Cubitt CL, Ramos E. BK polyoma virus allograft nephropathy: Ultrastructural features from viral cell entry to lysis. *Am J Transplant*. 2006; 4: 452-459
8. Shah KV, Daniel R, Warszawski R. High prevalence of antibodies to BK virus, an SV40-related papovavirus, in residents of Maryland. *J Infect Dis* 1973; 128: 784-87.
9. Knowles WA. The epidemiology of BK Virus and the occurrence of antigenic and genomic subtypes. In: Khalili K, Stoner GL, eds. *Human polioviruses: molecular and clinical perspectives*. New York: Wiley-Liss; 2001: 527-59.
10. Jin L, Gibson PE, Knowles WA, Clewley JP. BK virus antigenic variants: sequence analysis within the capsid VP1 epitope. *J Med Virol* 1993; 39: 50-56.
11. Ling PD, Lednicky JA, Keitel WA, et al. The dynamics of herpesvirus and poliovirus reactivation and shedding in healthy adults: a 14-month longitudinal study. *J Infect Dis* 2003; 187: 1571-80.
12. Corallini A, Tognon M, Negrini M, Barbanti-Brodano G. Evidence for BK virus as a human tumor virus. In: Khalili K, Stoner GL, eds. *Human polioviruses: molecular and clinical perspectives*. New York: Wiley-Liss; 2001: 431-60.
13. Rosen S, Harmon W, Krensky AM, et al. Tubulo-interstitial nephritis associated with poliovirus (BK type) infection. *N Engl J Med* 1983; 308: 1192-96.
14. Gardner SD, Mackenzie EF, Smith C, Porter AA. Prospective study of the human polioviruses BK and JC and cytomegalovirus in renal transplant recipients. *J Clin Pathol* 1984; 37: 578-86.
15. Hogan TF, Borden EC, McBain JA, Padgett BL, Walker DL. Human poliovirus infections with JC virus and BK virus in renal transplant patients. *Ann Intern Med* 1980; 92: 373-78.
16. Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, et al. Prospective study of poliovirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2002; 347: 488-96.
17. Randhawa PS, Finkelstein S, Scantlebury V, et al. Human polyoma virus-associated interstitial nephritis in the allograft kidney. *Transplantation* 1999; 67: 103-09.
18. Mackenzie EF, Poulding JM, Harrison PR, Amer B. Human polyoma virus (HPV)—a significant pathogen in renal transplantation. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 1978; 15: 352-60.
19. Trofe J, Cavallo T, First M, et al. Poliovirus in kidney and kidney-

- pancreas transplantation: a defined protocol for immunosuppression reduction and histologic monitoring. *Transplant Proc* 2002; 34: 1788.
20. Li RM, Mannon RB, Kleiner D, et al. BK virus and SV40 co-infection in poliomyovirus nephropathy. *Transplantation* 2002; 74: 1497–504.
 21. Mengel M, Marwedel M, Radermacher J, et al. Incidence of poliomyovirus-nephropathy in renal allografts: influence of modern immunosuppressive drugs. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1190–96.
 22. Mathur VS, Olson JL, Darragh TM, Yen TS. Poliomyovirus-induced interstitial nephritis in two renal transplant recipients: case reports and review of the literature. *Am J Kidney Dis* 1997; 29: 754–8.
 23. Howell DN, Smith SR, Butterly DW, et al. Diagnosis and management of BK poliomyovirus interstitial nephritis in renal transplant recipients. *Transplantation* 1999; 68: 1279–88.
 24. Nickeleit V, Klimkait T, Binet IF, et al. Testing for poliomyovirus type BK DNA in plasma to identify renal-allograft recipients with viral nephropathy. *N Engl J Med* 2000; 342: 1309–15.
 25. Hurault de Ligny B, Etienne I, Francois A, et al. Poliomyovirus-induced acute tubulo-interstitial nephritis in renal allograft recipients. *Transplant Proc* 2000; 32: 2760–61.
 26. Ahuja M, Cohen EP, Dayer AM, et al. Polyoma virus infection after renal transplantation. Use of immunostaining as a guide to diagnosis. *Transplantation* 2001; 71: 896–99.
 27. Barri YM, Ahmad I, Ketel BL, et al. Polyoma viral infection in renal transplantation: the role of immunosuppressive therapy. *Clin Transplant* 2001; 15: 240–46.
 28. Ramos E, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, et al. Clinical course of polyoma virus nephropathy in 67 renal transplant patients. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2145–51.
 29. Trofe J, Gaber LW, Stratta RJ, et al. Poliomyovirus in kidney and kidney-pancreas transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2003; 5: 21–28.
 30. Smith JM, McDonald RA, Limaye AP. BK polyoma virus nephropathy in pediatric renal transplant patients: A case series. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 780A.
 31. Kang YN, Han SM, Park KK, Jeon DS, Kim HC. BK virus infection in renal allograft recipients. *Transplant Proc* 2003; 35: 275–77.
 32. Rahaminov R, Lustig S, Tovar A, et al. BK polyoma virus nephropathy in kidney transplant recipients: the role of new immunosuppressive agents. *Transplant Proc* 2003; 35: 604–5.
 33. Maiza H, Fontaniere B, Dijoud F, Pouteil-Noble C. Graft dysfunction and poliomyovirus infection in renal allograft recipients. *Transplant Proc* 2002; 34: 809–11.
 34. Vats A, Shapiro R, Singh RP, et al. Quantitative viral load monitoring and cidofovir therapy for the management of BK virus-associated nephropathy in children and adults. *Transplantation* 2003; 75: 105–12.
 35. Kadambi PV, Josephson MA, Williams J, et al. Treatment of refractory BK virus-associated nephropathy with cidofovir. *Am J Transplant* 2003; 3: 186–91.
 36. Haririan A, Ramos ER, Drachenberg CB, Weir MR, Klassen DK. Poliomyovirus nephropathy in native kidneys of a solitary pancreas transplant recipient. *Transplantation* 2002;

- 73: 1350–53.
37. Etienne I, Francois A, Redonnet M, et al. Does poliovirus infection induce renal failure in cardiac transplant recipients? *Transplant Proc* 2000; 32: 2794–95.
 38. Puliyaanda D, Amet N, Dhawan A, et al. Heart and liver transplant recipients are at a low risk for BK viremia and nephropathy. *Am J Transplant* 2003; 3: 510 (abstr 1397).
 39. Puliyaanda DP, Amet N, Dhawan A, et al. Isolated heart and liver transplant recipients are at low risk for polyomavirus BKV nephropathy. *Clin Transplant* 2006 May-Jun;20(3):289-94
 40. Ison MG, Parker M, Stosor V, Kaufman DB. Development of BK nephropathy in recipients of simultaneous pancreas-kidney transplantation. *Transplantation* 2009 Feb 27;87(4):525-30
 41. Loeches B, Valerio M, Pérez M, et al. BK virus in liver transplant recipients: a prospective study. *Transplant Proc.* 2009 Apr;41(3):1033-7
 42. Carithers Jr RL. Liver transplantation. *American Association for the Study of Liver Diseases. Liver Transpl* 2000;6:122 –35.
 43. Noninvasive diagnosis of BK Virus Nephritis by measurement of Messenger RNA for BK Virus VP1 in Urine, *del Transplantation*, vol 74, No 7, Oct 15, 2002.
 44. Laboratorio de Investigación en Nefrología, Hospital Infantil de México Federico Gómez.